



AÑO 7, NÚMERO 20
ENERO 2023
ISSN 2448-7341

Acta de Ciencia en Salud



**Memorias XXIV
Congreso Internacional
Inocuidad de Alimentos**



La publicación de esta revista se financió con recursos del Programa de Revistas Científicas Universitarias 2020.
© **Acta de Ciencia en Salud** Año 7, No. 20. Enero, 2023 es una publicación cuatrimestral editada por la Universidad de Guadalajara a través de la División de Ciencias de la Salud del Centro Universitario de Tonalá.
Avenida Nuevo Periférico No. 555, Ejido San José Tatepozco
C.P. 48525, Tonalá, Jalisco, México.
Teléfono: 33 3540 3020

Editor responsable: Dr. Milton Omar Guzmán Ornelas.
milton.guzman@academicos.udg.mx

Reservas de Derechos al Uso Exclusivo 04-2015-121013411000-102, ISSN 2448t-7341, otorgados por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.
Licitud de título en trámite. Licitud de contenido en trámite.
Ambos otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Fotografía de portada
[@unsplash.com](https://unsplash.com)

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.
Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Universidad de Guadalajara.

Efecto conservador de la SES con pH neutro en alimentos listos para su consumo: la fresa como modelo de estudio

Ventura Torres, P.¹ • Cano Buendía, J.A.¹ • Severiano Pérez, P.² • Ramírez Orejel, J.C.^{3*}

Palabras clave: Solución electrolizada de superoxidación, inocuidad, *Salmonella enterica*

Key words: : Electrolyzed superoxidation solution, safety, *Salmonella enterica*

Introducción

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una fuente importante de compuestos bioactivos con una gran capacidad antioxidante, además se ha demostrado que una dieta rica en frutas y vegetales se asocia a no padecer enfermedades patológicas [1].

Debido a que es una fruta cosechada a mano, empaquetada y comercializada como un producto listo para su consumo, no está sujeta a ningún tratamiento que ayude a eliminar los patógenos presentes después de su cosecha [2], se ha convertido en una de las frutas más importantes que en los últimos años ha ocasionado problemas de inocuidad alimentaria; las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) están

relacionadas con el consumo de fresa debido a la presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* spp [3]. Es por eso que la desinfección de este tipo de alimentos es un paso importante para garantizar su inocuidad y calidad.

La adición de un sanitizante al agua de lavado es una de las estrategias más seguras para inactivar o remover bacterias patógenas de este tipo de alimentos. El hipoclorito de sodio es el desinfectante más popular en la industria, sin embargo, presenta varias desventajas como su inestabilidad en el ambiente, corrosión en superficies metálicas y corrosión en vías respiratorias [4]. Es por eso que en los últimos años

1 Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán, 04510, México.

2 Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán 04510, México.

3 Departamento. de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán, 04510, México. 5622 5906

* jrorejel@unam.mx



se han generado otras alternativas en el control de patógenos y que ofrecen ventajas en su uso. La solución electrolizada de superoxidación (SES) con pH neutro es un novedoso agente sanitizante ya que tiene una alta eficacia en el control de patógenos, no ocasiona corrosión de superficies metálicas ni de las vías respiratorias, no genera resistencia bacteriana, es estable y ecológico. Su efecto bactericida se debe a la cantidad de ácido hipocloroso (HClO) con la que cuenta, las formas activas del cloro (Cl_2 , HClO y ClO^-) dañan la membrana externa de la bacteria permitiendo el paso del HClO al interior de la célula, oxidando a las proteínas y enzimas involucradas en los procesos metabólicos bacterianos [5]. Se ha demostrado que ayuda a reducir la cuenta microbiana en manzana, fresas, lechuga, pepino, tomates, carne de cerdo, carne de pollo, carne de res, huevo y pescado [5, 6]

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto conservador de la solución electrolizada de superoxidación con pH neutro en fresas contaminadas con *Salmonella enterica*.

Metodología

En el presente estudio se emplearon las siguientes soluciones: Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con pH neutro (Esteripharma México ® S.A. de C.V.); hipoclorito de sodio (NaClO) y solución salina fisiológica (SSF) como solución control de lavado. Debido a que la actividad antimicrobiana depende de las características fisicoquímicas [5] se evaluaron el pH, potencial óxido-reducción (ORP) [7] y la concentración de cloro mediante un ensayo yodométrico de cada una de las soluciones estudiadas.

Las soluciones fueron evaluadas para determinar su actividad germicida de forma *in vitro* [7].

La bacteria utilizada fue *Salmonella enterica* (ATCC 13311) y las fresas fueron obtenidas en un supermercado y seleccionadas para que todas tuvieran el mismo grado de madurez, tomando como referencia una tonalidad rojo-cereza completa.

Diseño experimental

Las fresas fueron divididas en dos grupos para ser tratadas por dos métodos: aspersión e inmersión. Cada grupo fue contaminado por 1 minuto con *Salmonella enterica* con un inóculo conteniendo una concentra-

ción de 107 UFC/mL. Posteriormente las fresas se dividieron en tres subgrupos, donde cada subgrupo fue tratado con SSF, NaClO (100 ppm) y SES (54 ppm). La aspersión se realizó con 13.5 mL de cada solución evaluada y la inmersión se llevó a cabo durante 1 min. con 200 mL de la solución a estudiar.

Conteo bacteriano

Las fresas contaminadas y tratadas se colocaron en una bolsa plástica estéril con 40 mL de SSF, se realizó un masaje por 1 minuto y posteriormente se tomó 1 mL del sobrenadante para realizar diluciones decimales. Las diluciones fueron sembradas en medio Agar Tripticosa Soya (TSA). Se determinó la cuenta viable obtenida para cada solución [7]; Los experimentos fueron realizados por triplicado.

Pruebas fisicoquímicas de fresas tratadas

Las fresas fueron divididas en dos grupos conteniendo cada uno 60 fresas; las cuales se subdividieron en tres grupos para ser tratadas con las soluciones a estudiar (SSF, SES y NaClO). La aspersión se realizó con 30 mL y la inmersión con 550 mL. Los tratamientos de inmersión fueron realizados por 5 min.

A las fresas tratadas se les midió el espectro CIE-Lab para determinar el cambio en el color [8] (se tomaron cinco lecturas de cada fresa) y se determinó la cantidad de sólidos solubles [8]. Las mediciones se realizaron a los días 0, 1, 2, 3 y 4.

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de uno y dos factores respectivamente empleando el software Graphpad Prism® 9 con un nivel de confianza del 95%.

Resultados y discusión

Análisis fisicoquímico de las soluciones

Los valores fisicoquímicos de las soluciones se muestran en la Tabla 1. El análisis mostró que la SES presentó un mayor valor de ORP ya que el 95% de la SES es ácido hipocloroso lo que hace que exhiba su poder oxidante, mientras que su pH neutro le da su estabilidad [5]. El NaClO mostró un menor ORP lo que indica un menor poder oxidativo, sin embargo, mostró una mayor concentración de cloro libre.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de las soluciones desinfectantes

	SES	NaClO	SSF
pH	6.8 ± 0.02	9.8 ± 0.01	6.9 ± 0.06
ORP (mV)	861 ± 1	528 ± 10.71	380 ± 1.43
Cl ₂ (ppm)	54.96 ± 0.58	100.18 ± 1.48	ND

Evaluación *In vitro*

El efecto bactericida de la SES y del NaClO fueron comparados con los resultados obtenidos de la bacteria tratada con SSF. Las cuentas bacterianas mostraron que las soluciones SES y NaClO son consideradas como productos germicidas, debido a que generaron una reducción de *Salmonella enterica* > 99.999% [7].

Pruebas microbiológicas

La SES mostró una disminución bacteriológica de 1.81 log(UFC/mL) al ser aplicada por aspersión y 2.07 log(UFC/mL) por inmersión. En comparación, el NaClO generó una disminución bacteriológica de 0.23 log(UFC/mL) cuando fue aplicada por aspersión y 1.76 log(UFC/mL) por inmersión (Figura 1). El hipoclorito de sodio y la SSF no mostraron diferencia significativa cuando son aplicados por aspersión.

La SES es un desinfectante con un mayor poder bactericida con respecto al NaClO, ya que existe diferencia significativa entre estas soluciones para ambos métodos. La diferencia significativa entre SES y la SSF en ambos métodos demuestra que la SES es un bactericida efectivo contra *Salmonella enterica* en fresas.

Pruebas fisicoquímicas

Color. Se evaluó el cambio de color debido a que es un parámetro de calidad sobre el cual, el consumidor decide su compra. Para obtener el cambio global de color (ΔE), se utilizaron los valores promedio del día 0 y se compararon con los valores promedio del día 4. En el método de aspersión la SSF, NaClO y SES obtuvieron valores de 8.19, 6.28 y 10.41 respectivamente; mostrando que el tratamiento con SES obtuvo un mayor cambio de color con respecto al control.

En el método de inmersión la SSF, NaClO y SES obtuvieron los valores 7.90, 5.61 y 7.84 mostrando que la SES generó un menor cambio que la SSF mientras que el tratamiento con NaClO fue el que menor cambio de color generó. Al hacer el análisis del espectro CIELab que intervienen en el cambio de coloración se identificó que la SES favorece la aparición prematura de un color rojo oscuro al ser aplicada por aspersión.

Sólidos solubles. Son compuestos principalmente por azúcares (glucosa y fructosa) los cuales se representan como °Bx. Se evaluó el contenido de éstos ya que son importantes indicadores de calidad y frescura. Durante la maduración, los ácidos orgánicos son utilizados como sustratos durante el proceso de respiración transformándose en azúcares, como consecuencia ocurre una disminución del porcentaje de ácido cítrico [8]. Cuando la solución de NaClO es aplicada mediante una aspersión, se afecta la síntesis de azúcares reductores en el día 1, 2 y 3 de almacenamiento a 6°C (Figura 2). En comparación, la SES afecta esta síntesis en el día 3 de almacenamiento al ser aplicada por aspersión. Existen diferencias significativas entre SSF y NaClO así como entre SSF y SES en los días 2 y 4 del método inmersión, ya que las fresas tratadas con NaClO y SES demostraron tener mayor cantidad de sólidos solubles. Estos resultados muestran una ventaja con respecto a los atributos sensoriales de la fruta, debido a que contienen una mayor cantidad de azúcares. También se observa una desventaja, ya que, al contener una mayor cantidad de azúcares, las fresas pueden ser contaminadas por microorganismos con mayor facilidad.

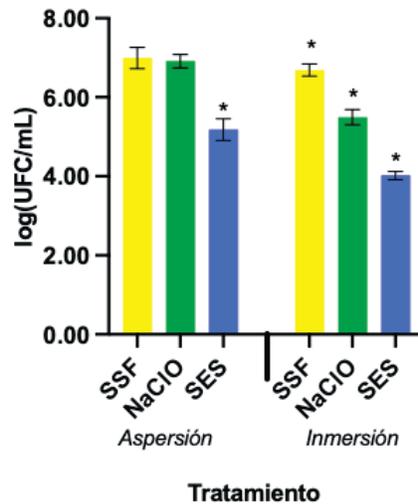


Figura 1. Reducción en cuentas bacterianas de *Salmonella enterica* con (* $p < 0.001$) en fresa contaminada después de la aplicación de los tratamientos por ambos métodos.

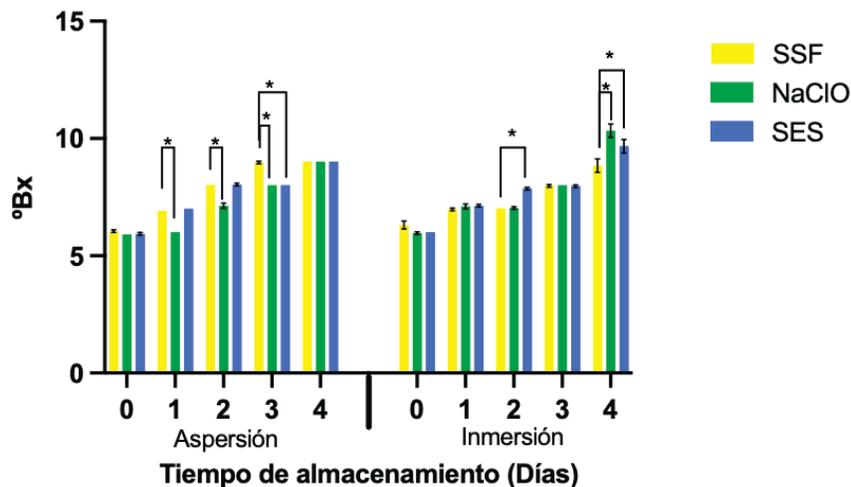


Figura 2. Comparación de los sólidos solubles para cada método. Se muestra la media de tres repeticiones por tratamiento (* $p < 0.0001$).

Conclusión

La SES demostró ser una solución con actividad bactericida efectiva en fresas contaminadas con *Salmonella enterica* mediante aspersión o inmersión. Sin embargo, la mayor efectividad se obtuvo mediante el tratamiento por inmersión. El NaClO también demostró ser una solución con actividad bactericida en fresas contaminadas con *Salmonella enterica*, al aplicarse por inmersión.

En cuanto al cambio de color, la SES obtuvo el valor más alto, seguido de la SSF y finalmente el NaClO al

ser aplicadas por aspersión. Al ser aplicadas por inmersión, la SSF obtuvo el valor más alto, seguido de la SES y finalmente el NaClO. La SES y el NaClO al ser aplicados por aspersión inhiben la síntesis de azúcares. Cuando se aplican por inmersión el dulzor de las fresas aumenta, sin embargo, son propensas a sufrir una contaminación microbiológica.

El uso de la SES puede ser una alternativa en el lavado/desinfección de fresas, sin embargo, hace falta un mayor número de estudios.

Referencias

1. Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. Th st 1. Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*. 2012;28(1):9-19. doi:10.1016/j.nut.2011.08.009
2. Ortiz-Solà J, Abadías M, Colás-Medà P, Sánchez G, Bobo G, Viñas I. Evaluation of a sanitizing washing step with different chemical disinfectants for the strawberry processing industry. *International Journal of Food Microbiology*. 2020;334.
3. Gómez R, Villarreal T, Vázquez A, Arteaga Garibay RI, Osuna García JA. Actividad esporicida de la Solución Electrolizada con pH neutro en hongos de Importancia Poscosecha. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2017;19:3993-4007.
4. Ortiz-Solà J, Colás-Medà P, Nicolau-Lapeña I, Alegre I, Abadías M, Viñas I. Pathogenic potential of the surviving *Salmonella Enteritidis* on strawberries after disinfection treatments based on ultraviolet-C light and peracetic acid. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;364. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109536.
5. Orejel JCR, CanoBuendía JA. Applications of electrolyzed water as a sanitizer in the food and animal-by products industry. *Processes*. 2020;8(5). doi:10.3390/PR8050534
6. Ampiauw RE, Yaqub M, Lee W. Electrolyzed water as a disinfectant: A systematic review of factors affecting the production and efficiency of hypochlorous acid. *Journal of Water Process Engineering*. 2021;43. doi:10.1016/j.jwpe.2021.102228.
7. Torres E, Rivera A, Rosario PJ, et al. Application of Neutral Electrolyzed Water on pork chops and its impact on meat quality. *Scientific Reports*. 2020;10(1). doi:10.1038/s41598-02076931-4
8. Janurianti NMD, I Made Supartha Utama, Ida Bagus Wayan Gunam. Colour and Quality of Strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) at Different Levels of Maturity. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*. 2021;5(1):22-28. doi:10.22225/seas.5.1.3166.22-28.

Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* en pollo crudo comercializado en mercados de Veracruz, México

Rivera Ramón, K.¹ • Pardío Sedas, V.T.^{1*} • López Hernández, K.M.¹ • Vicente Martínez, J.G.¹
Andrade Moreno, A.¹ • Cruz Ruiz, L.F.¹ • Rodríguez Trujillo, A.X.¹ • Ochoa Valencia, J.L.¹

Palabras clave: avicultura, salmonelosis, antibiótico
Key words: poultry farming, salmonelosis, antibiotic

Introducción

El consumo de carne de pollo es el más importante en México y el segundo a nivel mundial ya que es una fuente de nutrientes de bajo costo, por lo que constituye el principal tipo de carne producido internacionalmente. En México, se registró un consumo per cápita de 33.12 kg y se produjeron 3,792,273 toneladas de carne de pollo en 2021, ocupando México el cuarto lugar en producción a nivel internacional [1]. A pesar de su alta demanda, la contaminación microbiológica de este producto y sus subproductos representa un riesgo a los consumidores, situación que constituye un serio problema en la cadena alimentaria global.

La carne de pollo puede ser portadora de diversas zoonosis alimentarias, siendo una de las más relevantes la salmonelosis que es una de las enfermedades

de transmisión alimentaria (ETA) producida por la bacteria *Salmonella* spp. que genera un cuadro clínico gastrointestinal cuyos síntomas incluyen dolor abdominal, diarrea, vómito, fiebre y, en algunos casos, enfermedad sistémica y muerte. Este patógeno puede contaminar cualquier punto de la cadena de producción de la carne de ave. En ese contexto, se han detectado cepas resistentes de *Salmonella* provenientes de carne de ave y humanos en México [2]. En los últimos años, la aparición y propagación de cepas de *Salmonella* resistentes a antimicrobianos por el uso indiscriminado de antibióticos en animales ha impactado significativamente en la salud pública debido a las consecuencias en la salud humana por el incremento de infecciones de mayor severidad y de la frecuen-

1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Miguel Ángel de Quevedo S/N, esq. Yáñez, 91710, Veracruz, Veracruz, México.

* vpardio@uv.mx



cia en la ineficacia de los tratamientos. De ahí que el monitoreo de los serotipos de *Salmonella* farmacorresistentes que puedan contaminar los alimentos debe conducir a la toma de medidas de prevención y al tratamiento eficaz de este patógeno.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de carne de pollo crudo expendido en establecimientos de mercados municipales de la ciudad de Veracruz, que permitirá establecer patrones de comportamiento de resistencia.

Metodología

Se realizó un estudio epidemiológico observacional transversal mediante un muestreo aleatorio estratificado con asignación proporcional de la muestra con una prevalencia del 50% y un nivel de confianza del 95% comprendido de mayo a octubre del 2021 en el área urbana del Puerto de Veracruz, México. Se consideraron cuatro mercados públicos del municipio de Veracruz denominados para este estudio: Mercado A, Mercado B, Mercado C y Mercado D. Se analizaron un total de 49 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de pechuga y pierna/muslo con dos repeticiones (A y B) de 20 pollos enteros crudos. Cada muestra de pollo se obtuvo de cada uno de los 5 establecimientos seleccionados al azar dentro de cada mercado y se recolectaron bajo los siguientes criterios: 1) Inclusión: pollos enteros crudos que se expendan dentro de los mercados municipales del Puerto de Veracruz. 2) Exclusión: pollos expendidos en las afueras de los mercados municipales del Puerto de Veracruz. 3) Eliminación: pollos que sean expendidos en piezas en los mercados municipales del Puerto de Veracruz. Posterior a su recolección las muestras se transportaron en hielera con refrigerantes a 4° C al laboratorio El aislamiento de *Salmonella* spp. se realizó por microbiología convencional de acuerdo con el método BAM/FDA [3] modificado y se identificaron por PCR [4].

El perfil de sensibilidad de las cepas de *Salmonella* spp. a 10 agentes antimicrobianos se realizó de acuerdo con la técnica de Kirby-Bauer estandarizada de acuerdo con el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) [5]. Los antimicrobianos probados fueron ampicilina (AM 10 µg), amikacina (AMK 30 µg), gentamicina (GTN 10 µg), ceftriaxona (CRO

30 µg), ciprofloxacina (CIP 5 µg), cloranfenicol (C 30 µg), trimetoprim-sulfametoxazol (SXT 23.75/1.25 µg), cefotaxima (CFT 30 µg), amoxicilina-ácido clavulánico (AAC 20/10 µg) y azitromicina (AZT 15 µg) (BD BBL™) y se empleó la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 como control. Los antimicrobianos se seleccionaron con base a la lista de los antimicrobianos de importancia crítica de la OMS, así como aquéllos que se utilizan en México en animales de producción y humanos [6].

Se calculó la frecuencia de aislamientos resistentes a por lo menos una clase de antimicrobiano. La diferencia en las zonas de inhibición para cada clase de antimicrobiano se evaluó por ANOVA mediante la prueba de Bonferroni $P < 0.05$ utilizando el software STATA v. 14. El Índice de Resistencia Antimicrobiana Múltiple (MAR Index) se calculó mediante la fórmula [7]: MAR Index: y/x , donde, y = número de antibióticos al cual un aislamiento particular fue resistente, x = número total de antibióticos probados.

Resultados y discusión

Del total de canales de pollo analizadas se detectaron 49 cepas presuntivas de las cuales se confirmaron 8/49 (16.32 %) cepas de *Salmonella enterica*.

En la Tabla 1 se aprecia que de las 8 cepas aisladas de *S. enterica*, el 100 % (4/8 del Mercado A y 4/8 del C) fueron resistentes a azitromicina (30 µg) y a amoxicilina-ácido clavulánico (20/10 µg), 50 % (2/4 Mercado A) y 75 % (3/4 Mercado C) a cloranfenicol (30 µg) y un 100 % (4/4 Mercado C) fueron resistentes a ciprofloxacina (5 µg). Asimismo, se encontró que el 25 % (1/4 Mercado A) fue resistente a ampicilina (10 µg) y 75 % (3/4 Mercado A) a trimetoprim-sulfametoxazol (23.75/1.25 µg) y el 25 % (1/4 Mercado A) de las cepas mostraron resistencia a ampicilina (10 µg), el 50 % (2/4 Mercado A) y 75 % (3/4 Mercado C) a cloranfenicol (30 µg) y 75 % (3/4 Mercado A) a ciprofloxacina; el 75 % (3/4 Mercado A y C) y 25 % (1/4 Mercado A) manifestaron una susceptibilidad intermedia a cefotaxima (30 µg) y gentamicina (10 µg), respectivamente. El 100 % (8/8 Mercado A y C) de las cepas fueron susceptibles a ceftriaxona (30 µg) y amikacina (30 µg), el 75 % (3/4 Mercado A) y 100% (4/4 Mercado C) a trimetoprim-sulfametoxazol (23.75/1.25 µg), 100 % (4/4 Mercado A) y 75 %

(3/4 Mercado C) a gentamicina (10 µg).

Se detectó que un total de 75 % (6/8) de las cepas fueron multirresistentes a los antibióticos probados, siendo un 33.33 % (2/6) resistentes a por lo menos 3 antibióticos, un 50 % (3/6) resistentes a 4 antibióticos y un 16.66 % (1/6) resistente a 5 antibióticos. Así mismo, se demostró un 100 % de susceptibilidad al 20 % de los antimicrobianos (ceftriaxona y amikacina) probados. El MAR Index mostró que todas las cepas tuvieron un MAR Index ≥ 0.20 , lo que indica que provienen de una fuente de contaminación de alto riesgo en la que se utilizan varios agentes antimicrobianos. En la presente investigación el 100 % de las cepas aisladas presentaron resistencia a los macrólidos y beta-lactámicos, el 62 % a fenicoles y 50 % a quinolonas, mientras que, a cefalosporinas, las sulfamidas y los aminoglucósidos mostraron susceptibilidad. Se detectó la presencia de *Salmonella enterica* resistente a quinolonas (ciprofloxacina) en un 50% (4/8), el 37.50 % (3/8) presentó una susceptibilidad intermedia y solamente el 12.50 % (1/8) fue susceptible. La importancia de este hallazgo es que este agente se encuentra en la lista de importancia de la OMS ya que también es usado en el tratamiento contra la salmonelosis en humanos. De igual forma, se encontró resistencia a cefotaxima, una cefalosporina de amplio espectro. Estos

hallazgos son preocupantes debido al riesgo a la salud pública que representan [6].

Al desconocer el origen de las cepas, el riesgo de adquirir una bacteria que sea resistente engloba a los trabajadores en las granjas, rastros, distribuidores, comercializadores y consumidores del producto. Se han reportado infecciones en los dependientes por *Salmonella* y otras zoonosis que han sido asociadas a la exposición en granjas y rastros, lo cual es importante ya que generalmente en los puntos de venta en los mercados no siempre se cuenta con una higiene adecuada y el producto, al venir posiblemente contaminado, seguirá afectando a los involucrados en la cadena de consumo [2].

Basado en la definición de multirresistencia, es de relevancia para la salud pública el hallazgo que el 100 % (8/8) de los aislamientos de esta investigación fueran resistentes al menos a dos antibióticos y más aún que el 75 % (6/8) fueran multirresistentes, ya que puede representar una posible propagación de cepas de *Salmonella* resistentes. Los antimicrobianos de uso tradicional de primera línea, tales como azitromicina, amoxicilina, cloranfenicol y ciprofloxacina entre otros, tienen reportes frecuentes de resistencia, lo que es consistente con los resultados en este estudio [8].

Tabla 1. Porcentaje de susceptibilidad de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de mercados municipales de la ciudad de Veracruz

Antimicrobiano	Concentración (µg)	Mercado A			Mercado C		
		S	I	R	S	I	R
Azitromicina	15	N/P	N/P	100 %	N/P	N/P	100 %
Ceftriaxona	30	100 %	N/P	N/P	100 %	N/P	N/P
Ampicilina	10	50 %	25 %	25 %	N/P	100 %	N/P
Amoxicilina-Ácido clavulánico	20/10	N/P	N/P	100 %	N/P	N/P	100 %
Cloranfenicol	30	25 %	25 %	50 %	N/P	25 %	75 %
Ciprofloxacina	5	25 %	75 %	N/P	N/P	N/P	100 %
Trimetoprim-Sulfametoxazol	23.75/1.25	75 %	N/P	75 %	100 %	N/P	N/P
Cefotaxima	30	75 %	75 %	N/P	75 %	75 %	N/P
Amikacina	30	100 %	N/P	N/P	100 %	N/P	N/P
Gentamicina	10	100 %	N/P	N/P	75 %	25 %	N/P

S = Sensible, I = Intermedio, R = Resistente, N/P = No presentó.

Conclusión

Se encontró susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de pollo crudo comercializado en mercados del Puerto de Veracruz, México. Las cepas de *S. enterica* aisladas del mercado A y del mercado C presentaron multirresistencia a antimicrobianos utilizados para el control de este patógeno en humanos y aves. El hallazgo de resistencia intermedia a cefotaxima en una cepa de *Salmonella enterica* multirresistente representa un riesgo crítico a la salud pública.

Dada la presencia de cepas de *Salmonella enterica*

multirresistentes en la carne de pollo es de vital importancia realizar mayor investigación para conocer la situación en el país a fin de tomar medidas preventivas e implementar estrategias que minimicen la presentación de resistencia tanto en antibióticos de uso veterinario como de uso humano debido a las repercusiones significativas en salud pública.

Agradecimientos

A la Universidad Veracruzana por el financiamiento parcial de esta investigación.

Referencias

1. Unión Nacional de Avicultores. UNA. (2022). Industria. <https://una.org>
2. Borah, P., Dutta, R., Das, L., Hazarika, G., Choudhury, M., Deka, N.K., Malakar, D., Hussain, M.I., Barkalita, L.M. (15 de febrero 2022). Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes of *Salmonella* serovars isolated from humans and animals. *Vet. Res. Commun* [online]. <<https://doi.org/10.1007/s11259-022-09900-z>> Consultado: 1 junio 2022.
3. Food and Drug Administration. FDA. (2007). *Salmonella*. Chapter 5. Bacteriological analytical manual online. <https://www.fda.gov/media/79991/download>
4. Achtman, M., Wain, J., Weill, F.X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., Krauland, M.G., Hale, J.L., Harbottle, H., Uesbeck, A., Dougan, G., Harrison, L.H., Brisse, S. (21 de junio 2012). Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog.* Vol. 8. <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002776>> Consultado: 2 junio 2022.
5. CLSI. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. *CLSI standard M02*. Wayne, PA. Decimotercera edición. Clinical and Laboratory Standards Institute.
6. Organización Mundial de la Salud OMS. (2018). Critically Important Antimicrobial for Human Medicine. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515528>
7. Krumperman, P. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of faecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165–170. <<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3887-3>>
8. Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud. CENETEC. (2021). Guía de referencia rápida: diagnóstico y tratamiento para la fiebre tifoidea. <<http://evaluacion.ssm.gob.mx/pdf/gpc/grr/imss-259-10.pdf>>

DetECCIÓN RÁPIDA DE *Salmonella* spp. MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA POR CONVECCIÓN E INMUNOENSAYO DE FLUJO LATERAL

Chávez Almanza, A.F.^{1*} • González García, I.¹ • Figueroa López, A.M.¹ • Cantú Soto, E.U.¹

Palabras clave: Especificidad, sensibilidad, ADN

Key words: Specificity, sensitivity, DNA

Introducción

El género *Salmonella* está integrado de bacilos Gram negativos perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, a este género pertenecen algunos patógenos zoonóticos que representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; puede colonizar animales, humanos, plantas, y también se encuentra en el medio ambiente [1]. Se han identificado más de 2500 serotipos diferentes en dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*, a esta última, le sobresalen dos serotipos, *Salmonella enterica* serotipo *Enteritidis* y *Salmonella enterica* serotipo *Typhimurium*. Estos dos serotipos se encuentran con frecuencia en alimentos contaminados, especialmente en la carne [2], y se consideran los dos serotipos más importantes de *Salmonella* transmitida

de animales a seres humanos en la mayor parte del mundo, ya que son causantes de la enfermedad llamada salmonelosis, ocasionando gastroenteritis [3]. Esta enfermedad suele ser autolimitada y se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, vómito y diarrea; niños menores de 5 años, ancianos y personas inmunocomprometidas corren el riesgo de una infección sistémica del patógeno [4].

Es importante realizar un buen control en la contaminación microbiana de los alimentos, para disminuir las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), para esto se necesitan métodos de detección rápidos y sensibles, realizando un seguimiento eficaz de los microorganismos patógenos, específicamente la *Salmonella* [5].

¹ Instituto Tecnológico de Sonora, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Calle 5 de febrero 818 sur, C.P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

* andres.chavez@itson.edu.mx



En la actualidad existen métodos para la identificación de microorganismos, conocidos como métodos tradicionales, como la inmunológica y los perfiles bioquímicos, pero son lentos y laboriosos, lo que repercute negativamente en su aplicación. Para contrarrestar estos problemas, se han empleado métodos moleculares, donde se destaca la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), recibiendo el mayor interés debido a su precisión, sensibilidad y rapidez [1,2,6].

Una nueva herramienta de tipo molecular rápida y sensible es la PCR por convección (CPCR); la técnica emplea el uso de tres placas de calentamiento para desnaturalización, hibridación y extensión el cual genera convección en los tubos de PCR y al no requerir rampas de temperaturas hace que el tiempo de reacción se reduzca drásticamente [5].

Para complementar la rapidez y sensibilidad de la CPCR, se han desarrollado recientemente, dispositivos de ensayo de flujo lateral de ácidos nucleicos (NALF) [6], que permite una detección indirecta de los productos de PCR amplificados mediante el uso de anticuerpos contra etiquetas de oligonucleótidos específicos, como la carboxifluoresceína (FAM), la digoxigenina (DIG) y la biotina [7].

El objetivo de este estudio es estandarizar un método rápido y sensible para la detección in situ de *Salmonella* spp., mediante la combinación de CPCR y el inmunoensayo NALF.

Metodología

Condiciones del cultivo.

La cepa utilizada en este estudio fue *Salmonella enterica* ATCC 14028, la cual se encontraba criopreservada a -70 °C. La activación de la cepa se realizó mediante estría por agotamiento en agar tripticasa de soya (TSA) (Cat. 236950, BD®) y se incubó a 35-37 °C por 24 h. Se seleccionó una colonia aislada para inocular 10 mL de caldo tripticasa de soya (TSB) (Cat. 211825, BD®) y se incubó a 35-37 °C por 24 h.

Extracción del ADN genómico.

La extracción del ADN genómico de la cepa control de *Salmonella enterica* ATCC 14028, se realizó por medio de un extractor portátil de ácidos nucleicos Palm Tron™ E1, (Ahram BIOSYSTEM™, y se siguió la metodología del fabricante, que consiste en mez-

clar 200 µL de buffer Quick DE con 20 µL de la cepa incubada en TSB a 35°C por 24 h; consecutivamente se tomaron 5 µL de la mezcla anterior y se colocó en el tubo DE PALM PCR™ con 20 µL de reactivo DE, se centrifugó por 1 minuto a 8500 rpm en una centrifuga Ahram™ RX1, BIOSYSTEM, se colocaron los tubos en el equipo Palm Tron™ E1 por 6 minutos y se centrifugó a 8500 rpm por 1 minuto, tomando 5 µL del sobrenadante para la PCR; el resto de la extracción se mantuvo en almacenamiento a -20°C.

Se determinó la concentración y pureza del ADN utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific™); se evaluó la integridad mediante un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio al 0.33 mg/mL y se documentó el resultado con el sistema Minibis Pro DNR (sistemas Bio-Imaging™); la especificidad de los oligonucleótidos se evaluó de la misma manera con electroforesis en gel de agarosa.

Condiciones de la reacción cPCR.

La CPCR se realizó en un volumen de 20 µL, conteniendo 4 µL de 5X PalmTaq™ Express Mastex mix (suplementada con 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP's, y 0.8 U Taq Polimerasa) (Ahram Biosystems™, Part No. RK2010) y 1 µL de cada oligonucleótido (10 µM cada uno) marcados con biotina y fluoresceína, respectivamente [5] (Tabla 1). Se utilizó 1 µL (20 ng) de ADN genómico como templado. La CPCR se realizó en un termociclador portátil operado por batería y de convección térmica PALM PCR (Mod. G3, Ahram Biosystem™). La velocidad utilizada fue turbo 3 (T3) con una temperatura de alineamiento de 58°C y 35 ciclos (11 minutos). El ensayo se realizó por triplicado.

Especificidad y sensibilidad de cPCR.

La especificidad de los oligonucleótidos empleados en la identificación de *Salmonella* spp., se evaluó en nueve diferentes muestras de ADN genómico de las siguientes cepas: *Salmonella* ATCC 14028, *Listeria innocua* ATCC 33091, *Listeria ivanovii* ATCC 19119, *E. coli* O157:H7-CIBNOR (cepa H28-1), *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y agua grado molecular como control negativo.

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados en el ensayo cPCR.

Nombre	Secuencia 5' - 3'	Ta (°C)	Amplicón (pb)	Especie
SPP-FAM f	Biosg-CACGTCGGGCAATTCGT	56.2	241	<i>Salmonella</i> spp.
SPP-FAM r	6-FAM-CGCTTTCCCTTTCCAGTACGC	56.3		

Ta: Temperatura de alineamiento. pb: pares de bases

La sensibilidad del ensayo se determinó mediante el promedio del tamaño del genoma en pares de bases, usando 5 cepas de *Salmonella* (ATCC 14028, ATCC 35640, ATCC BAA1715, ATCC BAA1585, ATCC BAA1582) obtenidas del portal de genomas ATCC <https://genomes.atcc.org/>. El promedio fue utilizado para determinar el número de copias de ADN presentes en 1 µl (20 ng/µl) con ayuda de la calculadora científica del programa “*Science Primer*” <https://scienceprimer.com/copy-number-calculator-for-realtime-pcr>.

Se realizaron diluciones seriadas partiendo de 10^6 hasta 10^0 . A cada dilución se le realizó un cPCR, con el fin de identificar el número mínimo de copias que el termociclador portátil PALM PCR (Mod. G3, Ahram Biosystem™) puede amplificar. Los productos de cPCR fueron analizados con una electroforesis en gel de agarosa, y simultáneamente se utilizó el inmunoensayo NALF (*Nucleic Acid Lateral Flow*) (Ahram Biosystems™). Este proceso se realizó por triplicado para tener validez estadística.

Resultados y discusión

La cPCR se estandarizó con los oligonucleótidos específicos (Tabla 1) para la detección de *Salmonella* spp., así mismo en las reacciones de especificidad solo se amplificó en la cepa control de *Salmonella* spp obteniendo un amplicón de 241 pb. El resto de las cepas analizadas no mostraron un amplicón (Figura 1A), también se corroboró con los bioensayos NALF, observándose claramente líneas rojas, pero no se desarrolló ninguna línea de color detectable en las otras alícuotas de ADN genómico utilizadas como se muestra en la Figura 1B, trabajos similares de Kim y colaboradores [8] demostraron que un ensayo adecuado para su uso in situ, debe ser lo suficientemente rápido, sensible, y no requerir un equipo complejo, tal es el caso del

PALM PCR (Mod. G3, Ahram Biosystem™) usado en esta investigación, además de una revelación de resultados utilizando los bioensayos NALF, debido a su fácil transportación y manejo.

Se determinó la sensibilidad para la cPCR, mezclando el ADN genómico diluido de 3.753×10^6 hasta 3.753×10^0 número de copias, a una velocidad T3 con una temperatura de alineamiento de 58°C y 35 ciclos equivalente a 11 minutos; donde se aprecia una amplificación del ADN hasta 3.753×10^3 en el gel de agarosa al 1%, como se muestra en la Figura 2A. Sin embargo, al momento de revelarlo con los bioensayos NALF, se observó una línea roja tenue en 3.753×10^2 (Figura 2B), confirmando la sensibilidad de estos Inmunoensayos. Estudios similares realizados por Kim[8], demostraron una sensibilidad del equipo menor, amplificando un nivel de copia de 100, usando la cepa *Salmonella* spp. ATCC 14028, con velocidad de T1, 30 ciclos en un tiempo de 21 minutos.

Conclusión

En este estudio se estandarizó la detección de *Salmonella* spp., por el método de cPCR a una velocidad de 11 minutos, con una sensibilidad de detección de 375 copias de ADN genómico, complementado con la detección rápida (5 minutos) por medio de bioensayos NALF, la cual es una herramienta molecular que puede ser aplicada en industrias alimentarias, por su fácil manejo, rapidez y sensibilidad del método.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo brindado para el desarrollo del proyecto a la empresa BIOERA México S.A. de C.V., distribuidor exclusivo en México de Ahram Biosystems™.

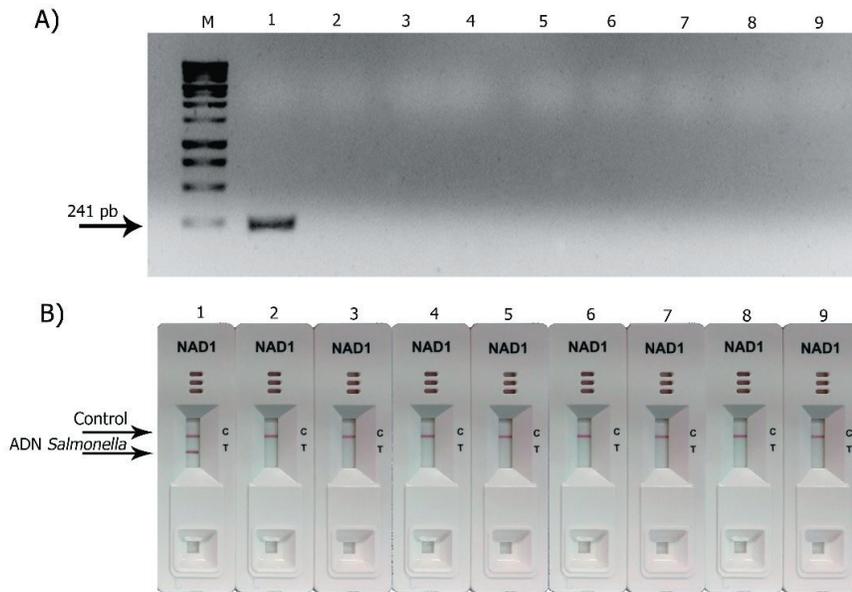


Figura 1. Especificidad de los oligonucleótidos para *Salmonella* spp.

M: marcador de peso molecular 1kb DNA Ladder (Cat. G571A, PROMEGA); Carril 1. ADN *Salmonella* ATCC 14028; Carril 2. *Listeria innocua* ATCC 33091; Carril 3. *Listeria ivanovii* ATCC 19119; Carril 4. *Escherichia coli* O157:H7 (cepa H281); Carril 5. *Escherichia coli* ATCC 25922; Carril 6. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; Carril 7. *Listeria monocytogenes* ATCC 7644; Carril 8. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; Carril 9. Sin templado (agua ultra pura); Control: Control interno del inmunoensayo NALF.

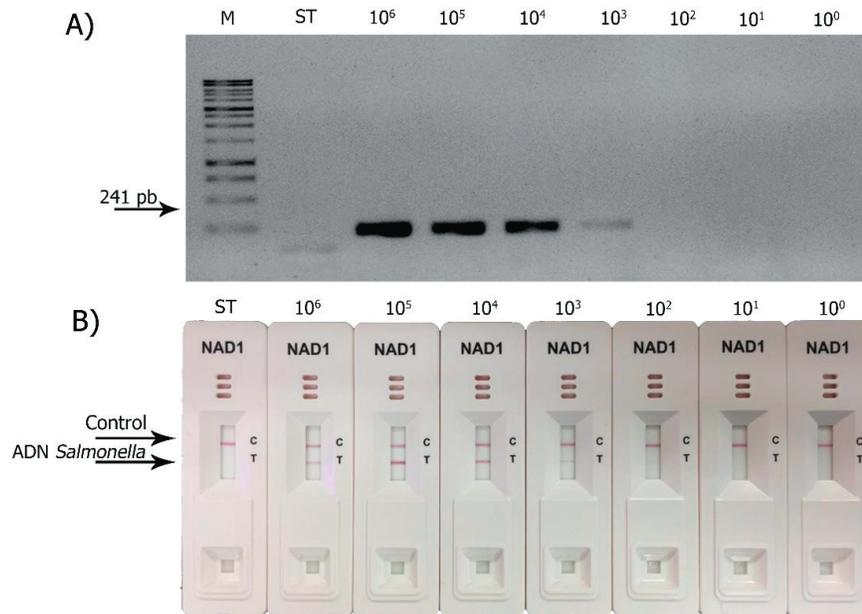


Figura 2. Detección de *Salmonella* ATCC 14028 mediante cPCR y el ensayo NALF1.

Los amplicones de ADN se analizaron mediante A) electroforesis en gel de agarosa y B) Ensayo NALF. MM: marcador de peso molecular 1kb DNA Ladder (Cat. G571A, PROMEGA); ST. Sin templado (agua ultra pura); Control: Control interno del inmunoensayo NALF.

Referencias

1. He X, Xu X, Li K, Liu B, Yue T. Identification of *Salmonella enterica* Typhimurium and variants using a novel multiplex PCR assay. *Food control*. 2016;65:152-159.
2. Liu B, Zhou X, Zhang L, et al. Development of a novel multiplex PCR assay for the identification of *Salmonella enterica* Typhimurium and *Enteritidis*. *Food Control*. 2012;27(1):87-93.
3. OMS. *Salmonella* (no tifoidea). *Organización Mundial de la Salud*. 2018;
4. Knodler LA, Elfenbein JR. *Salmonella enterica*. *Trends in microbiology*. 2019;27(11):964-965.
5. Kim T-H, Hwang HJ, Kim JH. Ultra-fast on-site molecular detection of foodborne pathogens using a combination of convection polymerase chain reaction and nucleic acid lateral flow immunoassay. *Foodborne pathogens and disease*. 2018;16(2):144-151.
6. Kamphée H, Chaiprasert A, Prammananan T, Wiriya-chaiporn N, Kanchanatavee A, Dharakul T. Rapid molecular detection of multidrug-resistant tuberculosis by PCR-nucleic acid lateral flow immunoassay. *PLoS One*. 2015;10(9):e0137791.
7. Kim T-H, Hwang HJ, Kim JH. Optimization of ultra-fast convection polymerase chain reaction conditions for pathogen detection with nucleic acid lateral flow immunoassay. *International Journal of Oral Biology*. 2019;44(1):8-13.
8. Kim T-H, Hwang HJ, Kim JH. Development of a novel, rapid multiplex polymerase chain reaction assay for the detection and differentiation of *Salmonella enterica* serovars enteritidis and typhimurium using ultra-fast convection polymerase chain reaction. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2017;14(10):580-586.

El impacto de la capacitación en inocuidad para la adopción de buenas prácticas de higiene en una cooperativa de producción de chocolate artesanal

López Pérez, A. A.^{1*} • Francisco-Márquez, M¹

Palabras clave: adiestramiento, enfermedad transmitida por alimentos, chocolate

Key words: training, foodborne illness, chocolate

Introducción

El incumplimiento de las normas relacionadas a la inocuidad alimentaria, por parte de los establecimientos en donde se elaboran alimentos, a menudo conducen a peligros químicos, biológicos y físicos que dan como resultados brotes de enfermedades transmitidas por alimentos [1]. Estos constituyen un riesgo para la salud pública en diferentes partes del mundo [2] especialmente, en los países en vías de desarrollo y es muy común que los casos graves de enfermedades, estén ligados a las malas prácticas de higiene de los manipuladores de los procesos alimenticios [3, 4], ya que pueden ser vectores de patógenos como los diferentes serotipos de *Salmonella* [1, 5, 6] sin embargo, las actividades que realizan a lo largo de la cadena alimenta-

ria es fundamental para la obtención de un producto de calidad e inocuo [1].

Es injustificable pensar que los manipuladores de alimentos poseen conocimientos acerca de la prevención de la contaminación, reducción de riesgos o eliminación de peligros químicos, biológicos o físicos de manera inherente, ya que en su mayoría la inocuidad alimentaria o calidad microbiológica de los alimentos no ha sido parte de su formación académica [7], y para contrarrestar estas fallas, las capacitaciones son instrumentos adecuados para las buenas prácticas de higiene, y además, ayudan a mejorar los conocimientos de las personas que se encuentran involucradas en el proceso de alimentos, así como mejorar la inocui-

1 Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería y Ciencias Sociales y Administrativas, Av. Té 950, Col. Granjas México, 08400, Ciudad de México, México.

* alopezp2010@alumno.ipn.mx



dad microbiana y la calidad de los productos terminados en las PYMES [1].

La *Salmonella* spp, es un patógeno muy común, asociado especialmente a la inapropiada e incorrecta higiene y salud del personal en la producción de los alimentos [1] también puede estar presente a lo largo de la cadena de producción de los alimentos. La contaminación del producto durante la producción y procesamiento ya sea convencional o artesanal de chocolate asociado a este patógeno desde 1970 [8] exponen la necesidad de brindar educación en buenas prácticas de higiene alimentaria para garantizar la salud de los consumidores, asimismo, independientemente de que las organizaciones estén o no sujetas a la legislación nacional deben conocer los requisitos reglamentarios que rige para no eludir su responsabilidad en la cadena alimentaria y tener alguna infracción por la omisión de éstas [7].

El objetivo de las capacitaciones para los directivos y colaboradores en el tema de inocuidad alimentaria, basado en las buenas prácticas de higiene, es fundamental para la concientización de los operadores, acerca de los peligros relativos al alimento y las fuentes de contaminación, y que va de la mano en la disminución de quejas por parte de los clientes tanto internos como externos, y dar cumplimiento a la norma NOM-251-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios en su numeral 5.14 capacitación. Lo anterior es muy importante para la toma de decisiones adecuadas para producir alimentos que no dañen a la salud de los consumidores.

Metodología

El estudio se centró en la capacitación, tipo exposición a los miembros socios de una cooperativa, productora de chocolate artesanal que produce a pequeña escala, ubicada en la Ciudad de México. Los participantes están implicados en la cadena de valor de la organización, y como primera etapa se realizó un diagnóstico de las condiciones de operación con base en una lista de verificación del grado de cumplimiento de la NOM-251-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios del numeral 5.14 capacitación, como parte de la detección de necesidades, en donde se observó, la deficiencia de

conocimientos del personal implicado en la cadena de valor se propuso la capacitación.

En la segunda etapa, se tuvo una reunión previa para la organización de un plan de capacitación y la autorización de dicha actividad, también se consideró el tiempo de duración, la modalidad ya que fue en tiempo de la pandemia (COVID -9) y los requisitos con los cuales deberían contar los participantes como: equipo de cómputo, conexión a internet, disponibilidad de tiempo, así como los temas a tratar en la capacitación.

En la tercera etapa, como requisito previo a la capacitación, a los integrantes se les aplicó una encuesta de pre-evaluación en temas de Inocuidad alimentaria, con 19 preguntas cerradas de opción múltiple, se les pidió seleccionar la respuesta correcta a cada una de las preguntas, esto con la finalidad de conocer el nivel de conocimientos relacionada a sus actividades en la empresa y las buenas prácticas de higiene de los participantes, y al mismo tiempo se realizó otro cuestionario, con 10 preguntas abiertas, para el diseño de la capacitación ambos fueron enviados mediante correo electrónico y se les sugirió honestidad.

En la cuarta etapa se hizo la validación del plan por parte de una persona experta en el tema de capacitación en la industria de alimentos, se realizaron los ajustes necesarios en cuanto a los temas a tratar y se elaboraron las herramientas de ayuda.

La quinta etapa corresponde a la capacitación que se llevó a cabo mediante la plataforma zoom con una duración de 5 horas, se proporcionaron las directrices importantes a las que se deben regir los manipuladores en cuanto a los requisitos mínimos aplicables a los fabricantes de alimentos y que comercializan en México, así como, sus procesos de limpieza y desinfección COP, controles de tiempo y temperatura en la elaboración del chocolate, higiene y salud del personal, lavado correcto de manos, además de diferenciar entre inocuidad, calidad así como seguridad alimentaria, la cadena alimentaria, la protección de productos alimenticios de una intencionada alteración por agentes biológicos, químicos, físicos o radioactivos, a las acciones deliberada perpetradas por organizaciones o alguna persona con el objetivo de falsear en relación con la integridad de los alimentos a fin de obtener una ganancia indebida, diseño higiénico de las

instalaciones en la industria alimentaria y su entorno además de los temas relacionados a los numerales de la NOM-251-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios de la sección de disposiciones generales y disposiciones para fábricas, de esta forma se proveyó los conocimientos necesarios para la comprensión y entendimiento de las acciones necesarias para su implementación, prevenir la contaminación a lo largo del proceso de producción, almacenamiento, distribución y la reducción de los riesgos a la salud asociados a las enfermedades transmitidas por alimentos.

A mitad de la capacitación, se realizaron actividades para resolver dudas de los participantes, así como la solicitud de su registro de asistencia en el chat de la plataforma, y la captura de pantalla como modo de evidencia, posteriormente se aplicó una post-evaluación para comparar los resultados antes y después de la capacitación, los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva.

Resultados y discusión

En la Figura 1, se puede observar las 6 etapas que se consideraron en el sistema de capacitación de los integrantes de la cooperativa productora de chocolate artesanal, de los resultados obtenidos de la lista de verificación de requisitos mínimos de buenas prácticas de higiene, se observó que los integrantes nunca habían llevado un curso de capacitación en inocuidad alimentaria, por lo tanto, no cumplían con dicho requisito.

En la segunda etapa del sistema de capacitación se realizó la reunión en donde se propuso dar respuesta a la problemática mediante alguna sesión de capacita-

ción, en la que los socios de la cooperativa manifestaron tener la intención de adquirir un curso relacionado a inocuidad alimentaria y los temas relacionados a éste.

En la tercera etapa del diseño del sistema de capacitación como herramienta de diagnóstico de la pre-evaluación de conocimientos se aplicó una encuesta con preguntas cerradas de las cuales los resultados generales como se observa en la figura 2, en su mayoría desconocían los tipos de peligros asociados a los alimentos, la base fundamental de los prerrequisitos, la diferencia entre calidad, seguridad e inocuidad alimentaria, entre otros, además los resultados de los datos descriptivos como se puede observar en la figura 3 se percibió que el socio 3 es quién poseía más conocimientos en el Manejo higiénico de los alimentos, cabe señalar que el socio 3 ha laborado en la Industria de la restauración con distintivo H por lo cual sería una formación previa y la razón posible del resultado positivo, sin embargo, esta persona a pesar de que labora dentro de la cadena de valor sus actividades se encuentran fuera de las instalación de elaboración del chocolate, en cuanto a la socia 1 y la socia 2 tienen conocimientos por debajo del promedio, cabe señalar que ellas no han tenido experiencia en alguna otra organización relacionada a la industria de alimentos y bebidas, es una de las razones que no tenían los conocimientos con temas relacionados a buenas prácticas de higiene, algo importante a destacar es que son personas que se encuentran en el área de operaciones en el establecimiento, por lo tanto, fue necesario reforzar, proveer de información y compartir la información acerca del tema.

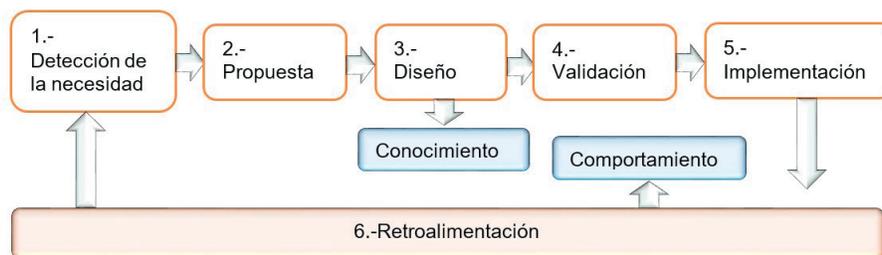


Figura 1. Etapas de un sistema de capacitación para la cooperativa productora de chocolate artesanal..

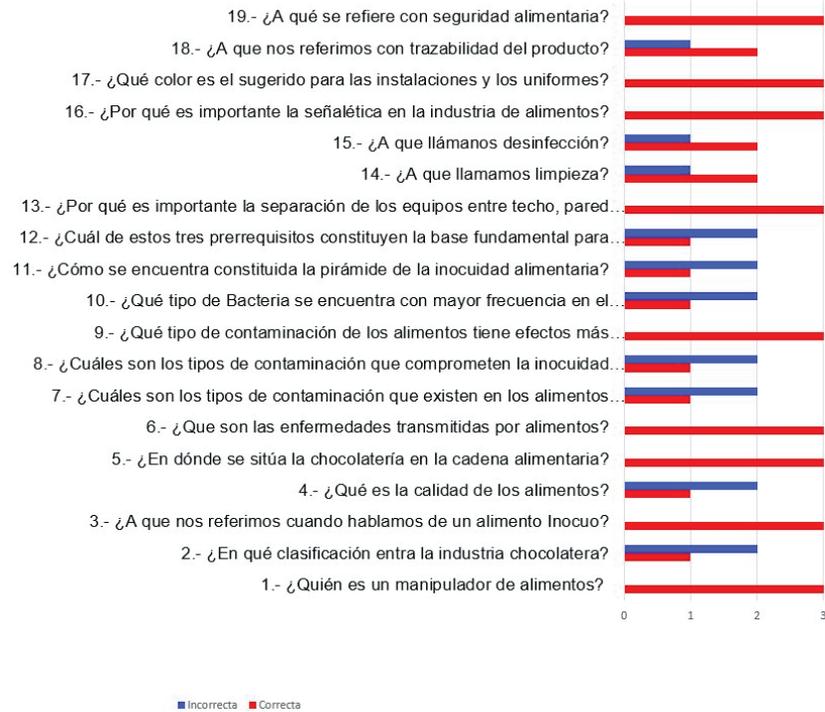


Figura 2. Resultados de encuesta preevaluación por pregunta.

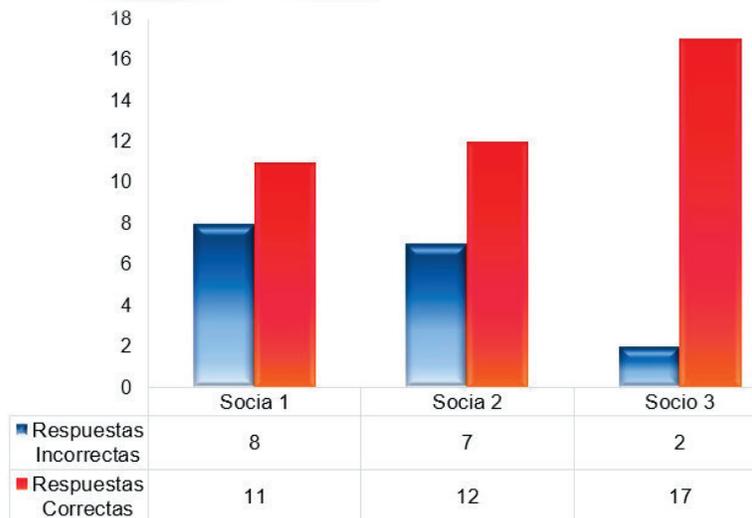


Figura 3. Resultados preevaluación de conocimientos por participante.

En la cuarta etapa, se elaboró un manual de capacitación como se observa en la figura 4, el cual fue enviado mediante correo electrónico con la finalidad de que los asistentes pudieran revisarlo y consultarlo previo a la capacitación, así como, en cualquier momento que los colaboradores les surja alguna duda. La estructura del manual de capacitación contiene el objetivo, introducción, así como el desarrollo de los temas relacionados a la inocuidad alimentaria, las disposiciones generales y para fábricas de la NOM-251-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, todos estos adaptados a la industria del chocolate.

En la quinta etapa, se realizó la capacitación en donde únicamente asistieron 3 de los 5 socios, en un total de 5 horas, es importante mencionar que los integrantes de este tipo de organizaciones de economía social y solidaria suelen asistir de manera voluntaria a diferencia de la economía tradicional que lo realizan por la indicación de alguna autoridad superior con el único fin de obtención de alguna certificación o por la obligación de asistir.

Finalmente, para la sexta etapa de retroalimentación se implementó la encuesta de post-evaluación de preguntas cerradas, se usó como alternativa una herramienta en línea, ya que ayuda a la obtención de resultados de manera rápida y los participantes se adaptan de manera fácil, para dar respuesta al documento al ser las instrucciones claras y sencillas, las preguntas fueron las mismas de la encuesta de pre-evaluación, se tuvo la participación de 2 de los 3 socios que asistieron a la capacitación dieron respuesta a dicha actividad voluntaria, como se puede observar en la figura 5, inocuidad, calidad y seguridad alimentaria no existe claridad, sigue causando confusión, así como la limpieza y desinfección que es la base fundamental de los prerrequisitos. Los integrantes de la cooperativa les cuesta trabajo diferenciar los peligros biológicos de los químicos, como puede observar en la figura 6, los resultados de la encuesta post-evaluación, la socia 1 obtuvo mayor cantidad de respuestas correctas en la encuesta post-evaluación y que el socio 3 disminuyó la cantidad de respuestas correctas por lo que se intuye el sesgo de memoria o recuerdo.

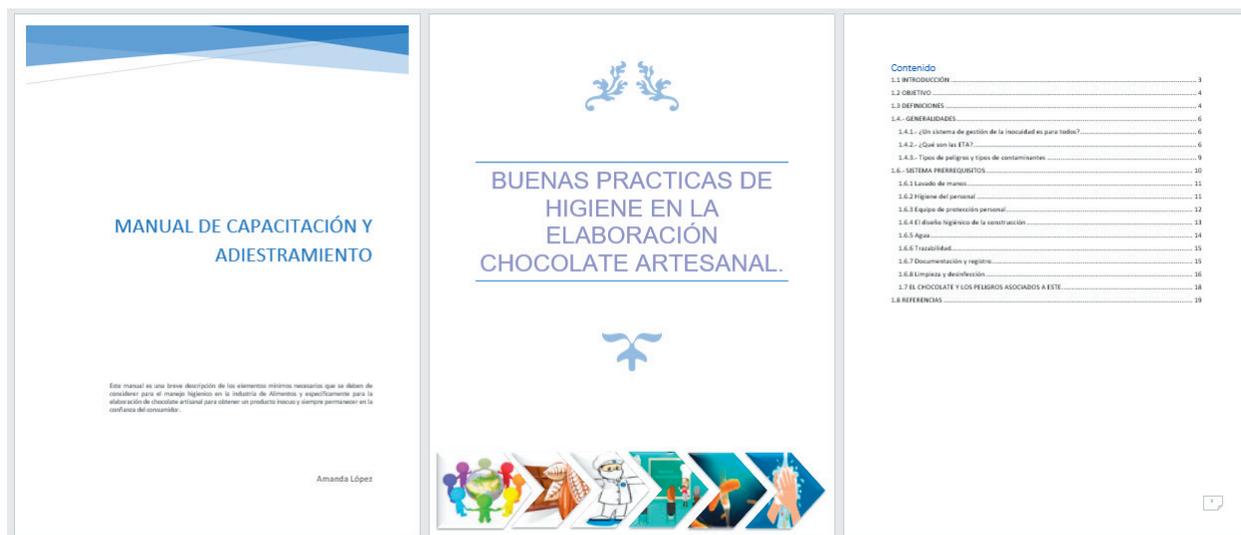


Figura 4. Manual de capacitación y adiestramiento en buenas prácticas de higiene en la elaboración de chocolate artesanal.

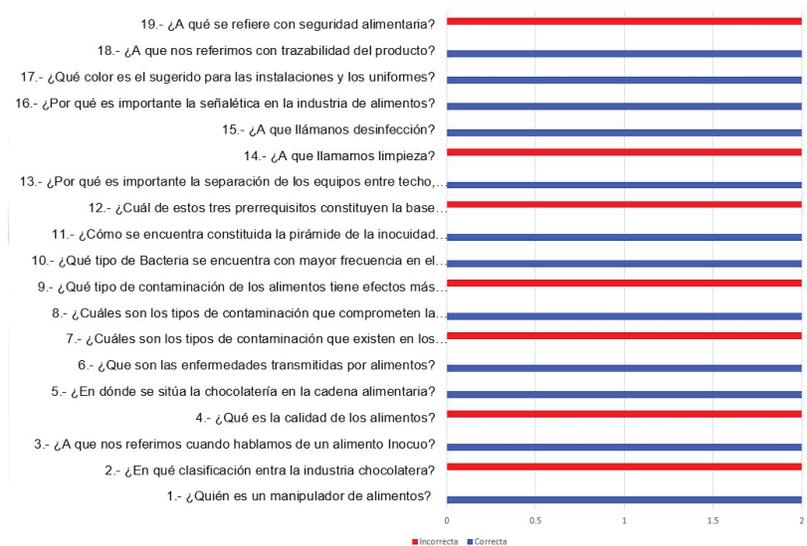


Figura 5. Resultados de encuesta post-evaluación por pregunta.

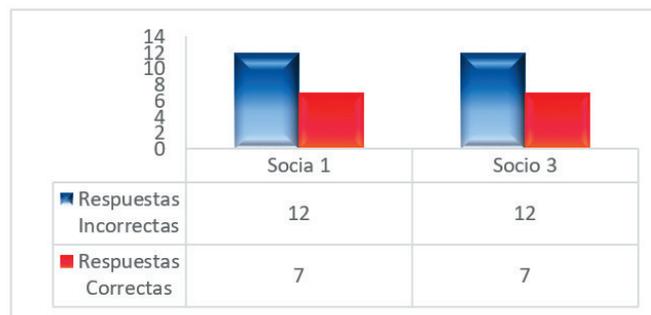


Figura 6. Resultados de post-evaluación de conocimientos.

Por último, se hicieron 8 visitas de inspección observacional a la cooperativa productora de chocolate artesanal sin dar previo aviso a los integrantes, para tener una validación del comportamiento relacionado a los temas de la capacitación, en donde, como se observa en la Tabla 1 se tuvieron algunos cambios en los hábitos de los manipuladores de alimentos, sin embargo, se sigue con el incumplimiento de algunos de ellos.

Conclusión

Los resultados obtenidos después de la capacitación, se observa que el aprendizaje virtual no es tan efectiva como la presencial, la capacitación *in situ* ayuda a practicar las técnicas adecuadas para los procesos de limpieza y desinfección, sin embargo, se lograron los siguientes cambios: limpieza adecuada de equipos y el

lugar de trabajo, uso adecuado de cofia y cubrebocas, procedimiento correcto de lavado de manos, uso de señalizaciones en establecimiento, separación y resguardo de residuos sólidos, aplicando las reglas de las buenas prácticas de higiene lograron reducir las quejas de los clientes internos y externos, con este primer acercamiento se lograron cambios significativos en la organización en la forma de manipular los alimentos.

Las herramientas propuestas en este trabajo pueden contribuir a una capacitación continua e híbrida en el tema de inocuidad alimentaria, como apoyo en la gestión de las buenas prácticas de higiene ya que es un elemento clave para mejorar la calidad y la inocuidad en el proceso de producción de alimentos, la asistencia voluntaria de los participantes coadyuva a la implementación de mejoras y protección de los alimentos.

Tabla 1. Resultados obtenidos después de la capacitación

Observaciones	
Cumple	No cumple
<ul style="list-style-type: none"> • Cambio del uso de gorro de cocina por cofias que cubriesen todo el cabello. • El lavado de manos se realiza al entrar al área de operaciones, lo cual no se realizaba. • El lavado de manos se realiza hasta el área del codo. • El tiempo o duración en el lavado de manos entra en el rango de tiempo sugerido. • Lavado frecuente de las manos posterior a manipular algún objeto que no sea parte del proceso. • Se almacenan materias primas en frascos sellado. • Uso de señalización en el área de operaciones. • Uso de botes de basura con tapa tipo columpio, con bolsa plástica e identificados. • Cambio de cucharón de madera por acero inoxidable en el área de tostado. • Se siguen procesos y procedimientos adecuados para la limpieza y desinfección de los equipos. • Las paredes se encuentran ya se encuentran limpias y sin desprendimientos de pintura. 	<ul style="list-style-type: none"> • No se realiza el cambio de ropa de calle por ropa de trabajo. • Se siguen usando joyas especialmente las personas que no han tomado el curso. • Aún se tienen utensilios de madera. • No se llevan registros en el área de tratamiento térmico. • No se tienen identificados aún los frascos con materia prima. • Aún se tienen utensilios de madera. • Aun no se tiene contemplado un sistema de etiquetado. Lo cual conlleva a no tener una fecha de caducidad y tampoco un plan de trazabilidad implementado.

Referencias

1. Malavi DN, Abong GO, Muzhingi T. Effect of food safety training on behavior change of food handlers: A case of orange-fleshed sweetpotato purée processing in Kenya. *Food Control*. 2021;119(April 2020):107500. doi:10.1016/j.foodcont.2020.107500
2. Anil de Sequeira JS, Haysom I, Marshall R. *Food Safety Training and Teaching in the United Kingdom and Europe*. Elsevier Inc.; 2015. doi:10.1016/b978-0-12-800245-2.00021-6
3. Howton J, Keifer E, Murphy CA, et al. A comparison of food safety programs using the Customizable Tool for Online Training Evaluation. *Food Control*. 2016;59:82-87. doi:10.1016/j.foodcont.2015.04.034
4. Griffith C, Redmond E. Food Safety Training and Health Education : *Principles and Methods*. In: *Encyclopedia of Food Safety*. Vol 1. Elsevier Ltd.; 2014:142-151. doi:10.1016/B978-0-12-378612-8.00043-3
5. Regan A, McConnon A, Holah J. *Food Hygiene and Food Workers: From Complacency to Compliance*. Elsevier Ltd; 2016. doi:10.1016/B978-0-08-100155-4.00014-5
6. Medeiros CO, Cavalli SB, Salay E, Proença RPC. Assessment of the methodological strategies adopted by food safety training programmes for food service workers: A systematic review. *Food Control*. 2011;22(8):1136-1144. doi:10.1016/j.foodcont.2011.02.008
7. Clements DP, Bihn EA. The impact of food safety training on the adoption of good agricultural practices on farms. In: *Safety and Practice for Organic Food*. Elsevier; 2019:321-344. doi:10.1016/B978-0-12-812060-6.00016-7
8. Winkler A. Coffee, Cocoa and Derived Products (e.g. Chocolate). In: *Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry*. Elsevier Inc.; 2014:251-282. doi:10.1016/B978-0-12-381504-0.00010-X

Relación de parámetros productivos y de calidad en leche de vaca cruda de la región norte del estado de Veracruz

Prado Solís, G.¹ • Rojas Ronquillo, M.R.^{1*} • Lammoglia Villagómez, M.A.¹
Cabrerá Núñez, A.¹ • Chagoya Fuentes J.L.¹ • Sánchez Montes, D.S.¹

Palabras clave: contenido nutricional, células somáticas, correlación
Key words: nutritional content, somatic cells, correlation

Introducción

La producción de leche de vaca se puede estudiar desde dos puntos de vista, por parte del consumidor es deseado un producto de buena presentación, saludable y seguro de consumir, para el ganadero además se trata de tener una mayor producción, con un hato sano y por lo tanto una mayor ganancia, para esto es necesario un buen manejo, sanidad y control de instalaciones en cada producción pecuaria.

En las producciones lecheras es importante tomar en cuenta el bienestar animal, el manejo correcto del hato, y mantener en buena salud a los animales. En las últimas décadas el concepto de bienestar animal ha mejorado mucho gracias a que ha cambiado la percepción de los animales por parte de las personas [1].

Uno de los indicadores de salud en los hatos leche-

ros es el conteo de células somáticas. Este parámetro brinda información sobre la calidad microbiológica de la leche y sobre la salud de la glándula mamaria en cada vaca [2].

Otro aspecto importante de la calidad de la leche es el contenido nutricional de la misma, como en cualquier otro alimento son importantes los porcentajes de proteína, y de grasa, en el caso de carbohidratos la leche tiene como componente principal a la lactosa

También debe tomarse en cuenta los métodos y estrategias que siguen las diferentes unidades de producción ya que estas repercutirán directamente no solo en la calidad del producto si no en los parámetros productivos como el volumen de leche producido, los días en leche de cada vaca, el periodo inter-parto.

1 Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Región Poza Rica - Tuxpan. Universidad Veracruzana. Carretera Tuxpan-Tampico, Km7.5, Col. Universitaria, 92860, Tuxpan, Veracruz, México.

* rebrojas@uv.mx



Todos estos aspectos ayudarán a conocer hasta qué punto está funcionando de forma adecuada la producción si debe haber un cambio para mejorar, con la finalidad de que el productor pueda tener la mayor calidad posible, que se verá reflejado en un hato saludable y un mayor ingreso monetario [3].

Este trabajo tuvo como finalidad determinar si existe una relación entre parámetros de producción y de calidad de la leche de vaca de la zona norte del estado de Veracruz

Metodología

Se tomaron muestras en una unidad de producción pecuaria (UPP) de la región norte del estado de Veracruz en el municipio de Tuxpan, donde se cuenta con ordeña mecánica una vez al día. Las muestras fueron colectadas directamente de cada animal y transportadas en vasos estériles desechables, en refrigeración, al Laboratorio de Lácteos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Este procedimiento se realizó por 6 semanas sumando un total de 30 vacas observadas.

Parámetros productivos

Los parámetros productivos se obtuvieron directamente del registro del encargado y del médico veterinario responsable de la UPP, se obtuvieron los siguientes datos, producción total diaria cada que se recolecten muestras, periodo inter-parto, días en leche y número de partos de cada animal muestreado.

Parámetros de calidad

Se realizó una prueba de california en cada cuarto de cada vaca para tener una medida cualitativa del número de células somáticas presentes en la leche. También se llevó a cabo un conteo de células somáticas por microscopía usando la técnica de Prescott-Breed. Las muestras recolectadas se analizaron en el Laboratorio de Lácteos usando el analizador de leche Lactoscan LA (Milkotronic Ltd®, Nova Zagora, Bulgaria) para determinar el porcentaje de proteína, grasa, lactosa, sólidos no grasos y densidad (g/L)

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron por medio del programa PSPP versión 1.6.2 (Free Software Founda-

tion®, 2020) para establecer si existe una relación lineal entre los parámetros observados por medio de una Correlación de Pearson.

Resultados y discusión

En este trabajo se determinaron varios parámetros productivos y de calidad de la leche de vaca en la zona norte del estado de Veracruz, los valores promedio se muestran en la Tabla 1.

En los parámetros de calidad, se encontró que, en promedio existe un nivel bajo de grasa (<3%), proteína (<3.5%) y lactosa (<4.7%) esto podría deberse al pobre contenido nutrimental de los alimentos que consume el ganado. En las células somáticas parece haber un promedio normal, la desviación estándar es alta debido a que se detectaron dos casos de animales con niveles aproximados a los 2 millones de células/mL.

En cuanto los parámetros productivos se observó un periodo inter-parto relativamente normal para la zona, pero largo para el beneficio del productor. Los días en leche presentaron una gran variabilidad, la cual es normal ya que se muestrearon vacas en diferentes etapas de la ordeña. Un aspecto relevante es que el volumen de producción individual es bajo, este valor tiene que ver con una gran cantidad de aspectos como la raza, la genética, y por supuesto la cantidad de alimento y agua disponible para el animal. La mayoría del ganado lechero de esta zona comúnmente presenta valores bajos de producción, constantemente se alimenta a libre pastoreo, y muchas veces no se cuenta con el alimento y agua suficientes para mejorar este parámetro.

Un claro ejemplo de este comportamiento es el contenido de lactosa que depende estrechamente de la calidad de la nutrición del animal. Se ha descrito que un mayor consumo de gramíneas ayuda a mantener a lactosa en niveles adecuados [4]. Los niveles bajos de lactosa encontrados en este estudio pueden deberse al bajo valor nutrimental de los forrajes y la escases de gramíneas en la zona.

Los parámetros productivos y la calidad nutricional no presentaron relaciones significativas según el análisis de correlación realizado (Tabla 2). Esto podría deberse al número bajo de vacas estudiadas (n=30), y al corto periodo que duró la investigación.

Tabla 1. Parámetros de calidad y producción observados (n=30).

	Parámetro	Media	Desviación estándar
Calidad	% Grasa	1.49	1.34
	% Proteína	3.22	0.15
	% Lactosa	4.55	0.28
	% Sólidos no grasos	7.96	1.54
	Densidad g/L	1031.22	1001.98
	Conductividad	5.43	0.41
	Células somáticas/mL	255,836	506,953
	Prueba de california	1.3	0.8
Producción	Volumen (L)	3.5	2.1
	Días en leche	238	149
	P. Inter parto (Meses)	16.4	2.0
	No. de parto	4	5

Tabla 2. Correlación de Pearson entre parámetros de producción y calidad.

Parámetro		G	SNG	P	L	CS	PC	DL	PIP	NP	V
G	R	1	0.09	-0.10	-0.08	0.28	0.46	0.32	0.14	0.11	-0.01
	P		0.65	0.59	0.66	0.13	0.01	0.09	0.45	0.57	0.97
SNG	R	0.09	1	0.27	0.28	0.07	0.09	0.16	-0.01	0.03	0.16
	P	0.64		0.15	0.14	0.70	0.63	0.41	0.96	0.88	0.41
P	R	-0.10	0.27	1	0.58	-0.05	-0.03	-0.08	0.30	-0.03	-0.08
	P	0.59	0.15		<0.01	0.78	0.87	0.66	0.11	0.87	0.70
L	R	-0.08	0.28	0.58	1	-0.03	-0.09	-0.07	0.12	0.14	0.14
	P	0.66	0.14	<0.01		0.89	0.65	0.73	0.52	0.45	0.48
CS	R	0.28	0.07	-0.05	-0.03	1	0.88	0.1	0.04	0.07	-0.08
	P	0.13	0.70	0.78	0.89		<0.01	0.59	0.82	0.70	0.67
PC	R	0.46	0.09	-0.03	-0.09	0.88	1	0.17	0.19	0.21	-0.06
	P	0.01	0.63	0.87	0.65	<0.01		0.37	0.30	0.26	0.76
DL	R	0.32	0.16	-0.08	-0.07	0.10	0.17	1	0.35	0.19	-0.56
	P	0.09	0.41	0.66	0.73	0.59	0.37		0.06	0.31	<0.01
PIP	R	0.14	-0.01	0.30	0.12	0.04	0.19	0.35	1	0.06	0.12
	P	0.45	0.96	0.11	0.52	0.82	0.30	0.06		0.77	0.53
NP	R	0.11	0.03	-0.03	0.14	0.07	0.21	0.19	0.06	1	-0.14
	P	0.57	0.88	0.87	0.45	0.70	0.26	0.31	0.77		0.49
V	R	-0.01	0.16	-0.08	0.14	-0.08	-0.06	-0.56	0.12	-0.14	1
	P	0.97	0.41	0.70	0.48	0.67	0.76	<0.01	0.53	0.49	

Los valores en negritas significan valores significativos ($\alpha = 0.05$)

Abreviaturas: G, grasa; SNG, sólidos no grasos; P, proteína; L, lactosa; CS, células somáticas, PC, prueba de California, DL, días en leche; PIP, periodo interparto; NP, Número de partos; V, volumen; R, Correlación de Pearson; P: Significancia de dos colas.

Sin embargo, cabe señalar que son pocos los estudios sobre la relación entre estos parámetros.

Se observaron algunas relaciones entre los parámetros nutricionales y los parámetros productivos de forma aislada (Tabla 2), estas relaciones ya son reconocidas y por tanto eran esperadas, por ejemplo, la relación entre la cantidad de lactosa y proteína [5]. Del mismo modo se esperaba una fuerte relación positiva entre el conteo de células somáticas y la prueba de california, ya que la prueba de california está diseñada para medir los niveles de este tipo de células de forma cualitativa; del mismo modo se observó la relación negativa entre el volumen y los días en leche, ya que es común que al extenderse la lactancia, la producción disminuya.

Se ha observado relación positiva entre la proteína y la grasa, así como la disminución de la proteína al aumentar los días en leche [6]. En este trabajo ninguna de estas fue detectada. Como ya se mencionó, estas diferencias se pueden dar también por la variabilidad entre la raza, y las diferencias del manejo en las unidades de producción.

En el caso de las células somáticas, se ha encontrado que al presentar el ganado mayor grado de mastitis y por tanto un número más alto de células somáticas, hay una menor producción de leche [7]. Esta relación no fue observada en este trabajo, no se observaron cambios en la producción láctea, esto puede deberse al bajo número de vacas estudiadas con niveles altos de mastitis (n= 2).

Conclusión

En este trabajo se registraron los parámetros de producción (volumen, días en leche, periodo número de partos y número de partos) y de calidad de leche de vaca cruda (proteína, grasa, lactosa, densidad, conductividad, número de células somáticas en leche), tras realizar un análisis de correlación lineal no se encontró relación entre ambos grupos de parámetros estudiados. No obstante, se observaron relaciones lógicas esperadas al interior de cada grupo de parámetros. Es muy probable que no se detectara ninguna otra relación debido al número de vacas estudiadas (n= 30).

Referencias

1. Tadich N. Bienestar animal en bovinos lecheros. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. 2011;24(3):293-300.
2. Bradley A, Green M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In *Practice*. 2005;27(6):310-315. doi:10.1136/inpract.27.6.310
3. Loera J, Banda J. Industria lechera en México: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*. 2017;19(1):419-426. doi:10.18271/ria.2017.317
4. Troncoso Humberto. Producción de leche y biosíntesis. Entorno Ganadero. Published online 2020:12-18.
5. García CAC, Montiel RLA, Borderas TF. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. *Archivos de zootecnia*. 2014;63:85-105.
6. Vargas Sobrado D, Murillo Herrera J, Hueckmann Voss F, Romero Zúñiga JJ. Valores de la relación grasa/proteína y nitrógeno ureico en leche de vacas lecheras de la zona norte de Alajuela y Heredia, Costa Rica. *Revista Ciencias Veterinarias*. 2017;34(2):67. doi:10.15359/rcv.34-2.1
7. Pedraza G. C, Mansilla M. A, Fajardo R. P, Agüero E. H. Cambios en la producción y composición láctea por efecto del incremento de células somáticas en leche de vacas. *Agricultura Técnica*. 2000;60(3):251-258. doi:10.4067/S0365-28072000000300005

Aislado proteínico de semilla de naranja (*Citrus sinensis*): Solubilidad proteínica y fraccionamiento proteico

Rosas Ulloa, P.^{1,4*} • Ulloa J.A.^{1,4} • Ulloa Rangel, B.E.²
López Mártir, K.U.⁴ • Ramírez Ramírez, J.C.^{3,4} • Flores Jiménez, N.T.⁴ • Gutiérrez Leyva, R.^{3,4}

Palabras clave: semilla de naranja, aislado proteico, fraccionamiento proteico
Key words: orange seed, protein isolate, protein fractionation

Introducción

La naranja dulce (*Citrus sinensis*) es una de las frutas más consumidas a nivel mundial. Se estima que del total de la producción de cítricos, alrededor del 50 % se utilizan para la obtención de jugos, y ello genera gran cantidad de desechos, como cáscaras y semillas [1]. Las semillas derivadas del procesamiento de las frutas, pueden recuperarse para su uso como ingredientes de alimentos, debido a la presencia de cantidades importantes de proteínas, lípidos, compuestos bioactivos y fibras dietéticas [2]. La harina de semillas de cítricos como subproducto de la industria de jugos, contiene entre 17.9% y 26.5% de proteína, que

se puede utilizar como fuente rentable para la producción de ingredientes proteínicos [3]. El objetivo de este trabajo fue evaluar la solubilidad proteínica y el fraccionamiento proteico de la harina de semilla de naranja y el aislado proteínico obtenido a partir de la misma (APSN).

Metodología

Obtención del aislado proteínico.

Se preparó el aislado proteínico de semilla de naranja (APSN) a partir de 50 g harina de semilla de naranja

1 Unidad de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, Nayarit, México

2 Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, Nayarit, México

3 Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nayarit, Compostela, Nayarit, México

4 Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México.

* petrosas@uan.edu.mx



desengrasada (HSND), de acuerdo al procedimiento utilizado en un aislado proteico de maracuyá [4].

Solubilidad proteínica.

La solubilidad proteínica de la HSND y el APSN se determinó de acuerdo al método reportado por Ma et al. [5].

Fraccionamiento proteínico.

La extracción y fraccionamiento de proteínas de la HSND y APSN se realizaron de forma secuencial por el método de Osborne [6], con modificaciones. La primera etapa consistió en la extracción de las albúminas. Una muestra de 3.5 g de HSND y APSN, se suspendió en agua destilada (1:10 p/v) y se agitó durante 1 h a 4 °C, para enseguida centrifugarse a 10,000 rpm a 4 °C por 20 min. El sobrenadante recuperado correspondió a la fracción de albúminas (Alb), el cual se almacenó a 4 °C para su posterior uso, mientras que el precipitado resultante (precipitado-1) se utilizó para la segunda extracción, el cual se re-suspendió en una solución 0.4 M NaCl (pH 8) en una relación 1:10 (p/v), bajo las mismas condiciones antes mencionadas para obtener las globulinas (Glb). Los siguientes precipitados (precipitado-2 y precipitado-3), fueron resuspendidos en etanol al 70% y NaOH 0.1 N, para obtener las fracciones de prolaminas (Pro) y glutelinas (Gt), respectivamente. La cuantificación fracciones proteicas

se realizó mediante el método de Kjeldahl.

Análisis estadístico.

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza de una sola vía, por comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia $p < 0.05$, usando el paquete StatSoft, versión 7.1 (TIBICO Software, Inc. California, USA).

Resultados y discusión

La solubilidad de las proteínas depende de la composición, el peso molecular y las características superficiales de los aminoácidos constitutivos, además de factores ambientales como el pH, fuerza iónica, temperatura y la presencia de disolventes [7]. Las interacciones que influyen de forma más destacada en las características de solubilidad de las proteínas son las hidrófobas e iónicas; las hidrófobas promueven la asociación proteína-proteína y disminuyen la solubilidad, en tanto las iónicas promueven las interacciones proteína-agua y aumentan la solubilidad

En la Figura 1, se muestra el efecto del pH sobre la solubilidad proteica de la HSND y el APSN. La mínima solubilidad proteica para ambas muestras se observó a pH 4.5, el cual corresponde al punto isoeléctrico (pI). Este comportamiento coincide con los reportados por Espinosa-Murillo et al. [4], con puntos isoeléctricos de 4.0 y 4.5, para la harina desengrasada y para el aislado

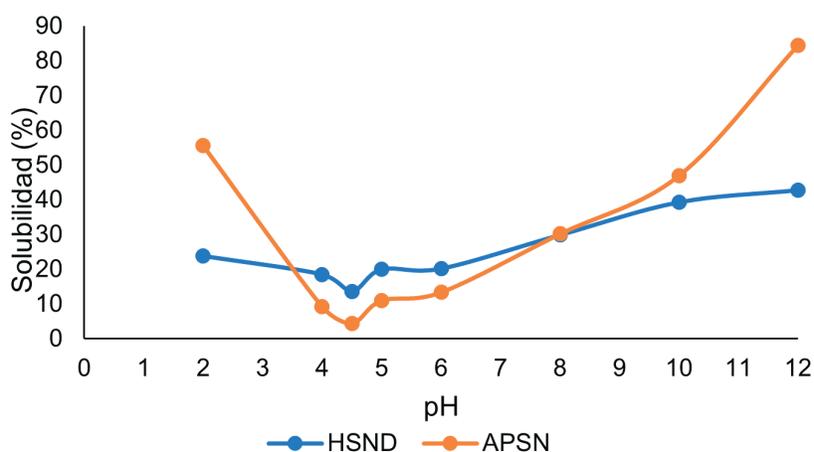


Figura 1. Perfil de solubilidad en función del pH de las proteínas de HSND y APSN.

proteínico de semillas de maracuyá, respectivamente. La mínima solubilidad proteica de HSND y APSN fue a pH de 4.5 con valores de solubilidad de 13.67 % y 4.35 %, respectivamente, los cuales resultaron similares a los obtenidos por Flores-Jiménez et al. [7] con solubilidad de 14.30 % y 13.75 % a pH de 4, para pasta de canola y aislado proteico de canola, respectivamente. Por otra parte, la máxima solubilidad proteica de la HSND y el APSN fue de 42.83 % a 84.47 % respectivamente, a pH 12. Estos resultados fueron inferiores a los observados por en el aislado proteínico de cártamo que fue de 95.72 % [8].

El fraccionamiento de las proteínas, de acuerdo a la técnica de Osborne [6], genera información acerca del patrón de solubilidad de estos polímeros en distintos solventes. Al respecto, la HSND presentó la siguiente composición fraccional: albuminas 25.59 % (solubles en agua), globulinas 49.26% (solubles en soluciones salinas), prolaminas 4.57 % (solubles en

etanol) y glutelinas 20.11 % (solubles en soluciones diluidas de NaOH). Tal composición fraccional, se modificó totalmente por el proceso de obtención del APSN a partir de la HSND (Tabla 1), siendo la fracción proteínica predominante en el APSN las glutelinas (70.13 %), seguida de las globulinas (18.59 %), albúminas (10.39 %) y prolaminas (0.86 %).

Conclusión

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que la mayor solubilidad proteínica de la HSND y APSN fue a pH 12.0. Con respecto al fraccionamiento proteico, las fracción mayoritarias fueron las globulinas y glutelinas, por lo tanto el APSN tiene mayor solubilidad en soluciones alcalinas (NaOH). Debido al perfil de solubilidad del APSN evaluado en este estudio, se concluye que podría utilizarse como ingrediente potencial en la elaboración de diversos productos alimenticios.

Tabla 1. Fracciones proteínicas de la HSND y APSN.

Tratamiento	Fracción (%)			
	Albúminas	Globulinas	Prolaminas	Glutelinas
HSND	25.59 ± 0.20 ^a	49.26 ± 0.34 ^a	4.57 ± 0.09 ^a	20.11 ± 0.28 ^b
APSN	10.39 ± 0.29 ^b	18.59 ± 0.13 ^b	0.86 ± 0.02 ^b	70.13 ± 0.18 ^a

Los valores son las medias (n = 3) ± desviación estándar. Diferentes superíndices en las columnas indican diferencia significativa (p < 0.05) entre tratamientos.

Referencias

1. McKay, S., Sawant, P., Fehlberg, J., Almenar, E. 2021. Antimicrobial activity of orange juice processing waste in powder form and its suitability to produce antimicrobial packaging. *Waste Management*. 120: 230-239.
2. Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, N., Londoño-Hernández, L., Martínez-Medina, G.A., Díaz-Herrera, R., Navarro-Macias, V., Álvarez-Pérez, O.B., Picazo, B., Villarreal-Vázquez, M., Ascacio-Valdes J., Aguilar, C. N. 2018. Food waste and byproducts: An opportunity to minimize malnutrition and hunger in developing countries. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2:52. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00052>
3. Mazloomi, S.N., Mahoonak, A.S, Ghorbani, M., Houshousmand, G. 2020. Physicochemical properties of chitosan-coated nanoliposome loaded with orange seed protein hydrolysate. *Journal of Food Engineering*. 280:109976. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109976>

4. Espinosa-Murillo, N.C., Ulloa, J.A., Urías-Silvas, J.E., Rosas-Ulloa, P., Ramírez-Ramírez, J.C., Gutiérrez-Leyva, R., Ulloa-Rangel, B.E. 2021. Impact of high-intensity ultrasound on the physicochemical and functional properties of a protein isolate from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *International Journal of Food Engineering*, <https://doi.org/10.1515/ijfe-2021-0050>.
5. Ma, M., Ren, Y., Xie, W., Zhou, D., Tang, S., Kuang, M., Wang, Y., Du, S. 2018. Physicochemical and functional properties of protein isolate obtained from cottonseed meal. *Food Chemistry*. 240: 856-862.
6. Osborne, T.B. 1924. The vegetable proteins; in monographs in biochemistry. (2nd ed.). New York: Longmans, Green.
7. Flores-Jiménez, N.T., Ulloa J.A., Urias, J.M., Ramírez, J.C., Rosas, P., Bautista, P., Silva, Y., Gutiérrez, R. 2019. Effect of high-intensity ultrasound on the compositional, physicochemical, biochemical, functional and structural properties of canola (*Brassica napus* L.) protein isolate. *Food Research International*. 121:947-956.
8. Zúñiga-Salcedo, M. R., Ulloa, J. A., Bautista-Rosales, P. U., Rosas-Ulloa, P., Ramírez-Ramírez, J. C., Silva Carrillo, Y., Gutiérrez-Leyva, R., Hernández, C. 2019. Effect of ultrasound treatment on physicochemical, functional and nutritional properties of a safflower (*Carthamus tinctorius* L.) protein isolate. *Italian Journal of Food Science*. 31:591-603.

Estudio del potencial de dispersión de *Escherichia coli* O157:H7 en áreas de producción agropecuaria del Valle del Yaqui, Sonora, México

Cantú Soto, U.E.^{1*} • Meza Vizcarra, V.A.¹ • Chávez Almanza, A.F.¹
Ruvalcaba Velázquez, M.²⁺ • Figueroa López, A.M.¹ • Alcalá Rosas R.I.¹

Palabras clave: aire/partícula suspendida, STEC, cPCR
Key words: air/suspended particle, STEC, cPCR

Introducción

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC) es un importante agente causal de diarrea y la principal causa de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) post diarreico. STEC pertenece a un grupo de patógenos zoonóticos emergentes, caracterizado por poseer dentro de su genoma los genes *stx1* y *stx2*, responsables de codificar para dos potentes verocitotoxinas llamadas toxina Shiga 1 (Stx1) y toxina Shiga 2 (Stx2), las cuales son reconocidas como su principal factor de patogenicidad [1].

Tanto el serotipo O157:H7 como los serogrupos no-O157 son patógenos reconocidos de transmisión alimentaria, con un aumento de reportes de infecciones por STEC no-O157 [2]. El SUH es causado en mu-

chos de los casos por cepas STEC, principalmente por *E. coli* O157:H7, y se caracteriza por anemia microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal. La asociación entre SUH y toxina Shiga es la causa de 90% de casos de este padecimiento entre niños [3].

El bovino, se ha identificado como el principal portador asintomático de la STEC O157:H7, y son considerados como el principal reservorio y súper propagadores de este serotipo [4]. Acorde al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP-SADER), México cría y exporta al año en promedio 1,046,219 bovinos en pie a los Estados Unidos de América. El estado de Chihuahua es el exportador principal y Sonora ocupa el segundo lugar; en el primer trimestre

1 Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. Instituto Tecnológico de Sonora. Calle 5 de febrero 818 sur Col. Centro, cp. 85000, Cd. Obregón Sonora, México.

2 Bioera México. Naciones Unidas 5414, oficina 4, cp.45110, Jardines Vallarta, Zapopan, Jalisco, México.

* ernesto.cantu@itson.edu.mx

+ marcos.ruvalcaba@bioera.com.mx



del 2022, Sonora exportó 55,592 becerros (53,712) y vaquillas (1,880) en pie. Esta condición de productor de bovino en pie con fines de exportación pone de relieve la importancia de realizar monitoreo ambiental respecto al movimiento post-excreción en el aire de STEC.

Un estudio previo realizado por el equipo de trabajo del Laboratorio de Investigación en Microbiología del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON) estableció el primer reporte de la presencia de STEC O157:H7 en heces de bovinos asintomáticos en el Noroeste de México; en el estudio desarrollado en el año 2018, se encontró que la incidencia de la STEC O157:H7 fue del 3.1% y de STEC no O157 de 19.8%. Estos resultados sugieren que el ganado bovino es un reservorio primario de STEC en esta región del país y se sugirió avanzar en el estudio de las heces de bovinos como vector importante de contaminación hacia otras matrices [5].

El grupo de trabajo coincide en que, el uso del estado del arte de herramientas de tipo molecular será lo que coadyuve a mantener la pertinencia hacia la iniciativa privada y hacia la sociedad. En ese contexto, y bajo un convenio de colaboración Bioera México – ITSON se incorporó el uso de la PCR por convección (cPCR), la cual es una tecnología novedosa que incluye el uso de tres placas de calentamiento para la desnaturalización, anillamiento y polimerización para generar la convección en los tubos de PCR; el método no requiere rampas entre temperaturas como ocurre en los termocicladores tradicionales, y por ello el tiempo de reacción es drásticamente reducido.

Es importante también resaltar que, el grupo de trabajo transita hacia el uso de ensayos de flujo lateral de ácidos nucleicos (NALF), el cual es un método reciente desarrollo para la detección de patógenos de interés en alimentos; básicamente es una detección indirecta de los productos de PCR amplificados a través del uso de anticuerpos contra oligos específicos etiquetados con Carboxy-fluoresceína (FAM), digoxigenina (DIG) y biotina, lo cual permite ir dejando en uso reducido el gel de agarosa y fluoróforos intercalantes de alta toxicidad como el bromuro de etidio.

Los resultados que presentamos en este trabajo permiten avanzar en la identificación de la STEC O157:H7 como un potencial contaminante, a través

del aire, de matrices agroalimentarias en esta región de México.

Así mismo, como parte de las aportaciones relevantes, el grupo de trabajo universidad – empresa plantea, a manera de debate, para posteriores estudios lo siguiente: el uso y aplicación de estas técnicas de cPCR y NALF en campo, atendiendo la necesidad en el lugar donde se encuentre “*in situ*”, lo que las nuevas tendencias definen como POCT (Point Of Care Testing). Se dejara sobre la mesa la posibilidad y deseo de desarrollar nuevos trabajos en el futuro cercano que nos brinden la oportunidad de generar nuevas conclusiones que nos acerquen a ser de los pioneros en México, en la implementación y desarrollo de procedimientos que permitan integrar estas nuevas tecnologías en los protocolos estándar de laboratorios de diagnóstico público y privado; constituyéndose como un análisis tipo tamizaje que permite tomar una decisión rápida en campo, pero que al mismo tiempo permita cotejar de manera tradicional en laboratorio, ya que al usar solo un 10% del producto de PCR del ensayo para revelar el resultado por NALF, el resto puede integrarse en una cadena de custodia y de frío que demande cualquier sistema de calidad con marco de referencia nacional y/o internacional.

Finalmente, señalar que se aspira a contribuir en México, con la actualización de las Normas de diagnóstico animal, así como para la identificación de organismos patógenos zoonóticos; para ello el grupo de trabajo está preparándose para documentar lo necesario en la evolución del diagnóstico molecular en el país.

El objetivo del estudio fue establecer un piloto sobre el potencial de dispersión de *E. coli* O157:H7 en áreas de crianza de bovinos en el sur de Sonora, mediante el estudio de aire/partículas suspendidas con aislamiento en agar selectivo y empleando cPCR e inmunoensayos NALF

Metodología

El muestreo de aire/partícula suspendida se realizó durante el primer semestre del año 2022 en dos sitios de crianza de bovino; uno a escala de producción micro para consumo local (sitio 1) y otro con fines de macro producción para exportación (sitio 2). Para el sitio 1 la dirección del viento fue de norte a sur, mien-

tras que para el sitio 2 de este a oeste; utilizando el sistema CESAVE – SIAFESON (www.siafeson.com/remas) se verificó que en los días de colecta de muestra la velocidad del viento fuera mayor a 10km/h.

Para el muestreo de aire/partícula suspendida se utilizó el equipo aspirador de aire SAS super 100® colocado por el operador a una altura de 1.5 m, conteniendo en el cabezal una placa de contacto con agar cromogénico Rainbow® O157. En cada sitio de muestreo se marcaron sitios a 0, 50 y 100 metros a partir del cerco perimetral de la granja de bovinos y se colectaron muestras simples a las 0, 6 y 24 horas para un total de 36 muestras. Utilizando el SAS super 100® se aspiró un volumen de 1 m³ de aire y posteriormente, entre cada muestreo, la caja se retiraba del cabezal y la tapa y compartimiento para la placa de contacto se desinfectaba con solución de alcohol etílico al 70%, y la placa se resguardó en una bolsa estéril para después ser transportadas en refrigeración; una vez en el Laboratorio se colocaron a temperatura ambiente y se incubaron a 37°C ± 1°C de 18 a 24 h. De cada placa de agar cromogénico Rainbow® O157 se seleccionaron el total de las colonias que presentaban coloración negras, grises, púrpuras-azules y se sembraron en agar de tripticasa de soya (TSA) (Cat. 236950, BD®), incubadas a 37°C ± 1°C por 18 h, se verificó mediante tinción Gram que la morfología de los aislados correspondiera a la característica de *E. coli* (bacilo corto Gram negativo) y finalmente se preservaron a -70°C en caldo de tripticasa de soya (TSB) (Cat. 211825, BD®) con 20% de glicerol hasta su análisis.

Para la extracción de ADN del control positivo (cepa O157:H7-CIBNOR) y de las cepas aisladas a partir de aire/partícula suspendida, se utilizó un extractor portátil de ácidos nucleicos (Palm Tron® E1, Ahram BIOSYSTEM) con batería de Li Polímero, siguiendo la metodología del fabricante que consiste en mezclar 200 µL de *buffer* Quick DE con 20 µL de muestra (cepa incubada en TSB a 35°C/18 h); posteriormente se toman 5 µL de la mezcla y se depositan en un tubo DE PALM PCR™ con 20 µL de reactivo DE, se centrifugó por 1 minuto a 8500 rpm en una centrifuga Ahram® RX1, BIOSYSTEM, para después colocar los tubos en el equipo Palm Tron® E1 por 6 minutos y finalmente centrifugar por 1 minuto a 8500 rpm, tomando 5 µL del sobrenadante para la PCR; el

resto de la extracción se mantuvo en almacenamiento a -20°C. La concentración y pureza del ADN fue determinada utilizando un espectrofotómetro Nano-Drop 2000c (Thermo Scientific®); la integridad y la especificidad de los oligonucleótidos se verificaron mediante gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio (0.33 mg/mL), visualizándolo con un sistema Minibis Pro DNR (sistemas Bio-Imaging®).

La cPCR se desarrolló en 20 µL de volumen de reacción, conteniendo: 5X PalmTaq® Express Master Mix (5X) (suplementada con 2.5 nM de MgCl₂ y 0.2 mM dNTPs, 0.8 U *Taq high-speed DNA polymerase*) (Ahram Biosystems®) y 10 µM de cada oligonucleótido. Para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 y verificar la especificidad de la reacción se utilizó el inmunoensayo NALF2 (*Nucleic Acid Lateral Flow*) doble línea de Ahram Biosystems®. Los oligonucleótidos utilizados para el gen del antígeno O157 (rfbE; GenBank acceso No. S83460.1): f-Biotin-GGAT-GACAAATATCTGCGCTGC y r-Digoxigenin-GGT-GATTCCTTAATTCCTCTCTTCC, y para el gen del antígeno flagelar H7 (fliC; GenBank acceso No. AF228487): f-Biotin-GCGCGAAGTTAAACACCACG y r-FAM-CGGTGACTTTATCGCCATTCC [6]; se utilizó 1 µL de ADN genómico como templado. La cPCR se llevó a cabo utilizando un termociclador portátil operado por batería y de convección térmica PALM PCR (Mod. G3, Ahram Biosystem®). La velocidad utilizada fue turbo 3 (T3) con una temperatura de anillamiento de 56°C. Las reacciones de cPCR incluyeron 35 ciclos (11 minutos).

Resultados y discusión

Los resultados de la especificidad de los oligonucleótidos con la cPCR se presentan en la Figura 1. A) muestra la altura de los amplicones para el gen del antígeno O157 (rfbE, 213 pb) y el gen del antígeno flagelar H7 (fliC, 108 pb) cuando se utilizó ADN puro de la cepa STEC O157:H7-CIBNOR siendo consistente con lo reportado por Kim et al., 2018 [6]. B) muestra el inmunoensayo de flujo lateral marcando adecuadamente las líneas para los amplicones de los genes bajo estudio en el caso del control positivo (cepa O157:H7-CIBNOR), mientras que en el caso del control negativo (ST) solo se observa la banda en el control.

A partir de las 36 muestras de partícula suspendida se obtuvo una colección de 79 aislados que presentaron características macroscópicas en agar Rainbow® O157; al momento 13 aislados han sido analizados utilizando cPCR (sitio 1, 4 cepas; sitio 2, 9 cepas). La figura 2 muestra los resultados que demuestra la ausencia de la STEC O157:H7, siendo congruentes con lo reportado por Yanamala et al. (2011) [7] y Berry et al. (2015) [8] donde la STEC O157:H7 estuvo ausente en muestras de partícula suspendida (1m³), en distancias de hasta 45 y 180 metros respectivamente, contiguas a corrales de ganado bovino. Se continuará con el estudio del resto de los aislados, y adicionalmente se trabajará con la PCR multiplex acorde a Rivas-Ruíz y cols., (2020) [5], a efecto de establecer la presencia de los genes *stx1* y *stx2*.

Conclusión

El estudio continúa en desarrollo; sin embargo, de forma preliminar y considerando el aislamiento selectivo de cepas sospechosas a STEC O157:H7 y no O157 en agar cromogénico Rainbow® O157 es factible su movimiento en aire/partícula suspendida debiendo esto demostrarse por el grupo de trabajo.

Agradecimientos

Este estudio fue soportado financieramente por el Laboratorio de Investigación en Microbiología del Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias a través del proyecto autofinanciable folio 2022-0373 y la empresa BIOERA México® con el apoyo y soporte internacional de Ahram Biosystems® en Corea del Sur.

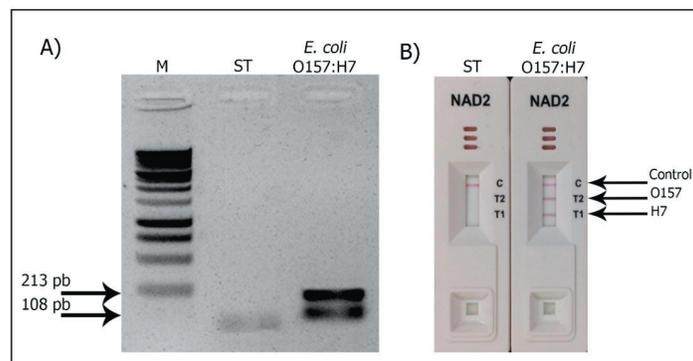


Figura 1. Detección específica de *E. coli* O157:H7 empleando cPCR. A) Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio (0.33 mg/mL) B) Ensayos NALF2.

ST: Sin Templado (agua ultrapura); M: marcador de peso molecular 1kb DNA Ladder (Cat. G571A, PROMEGA); ADNg de *E. coli* O157:H7 (cepa CIBNOR)

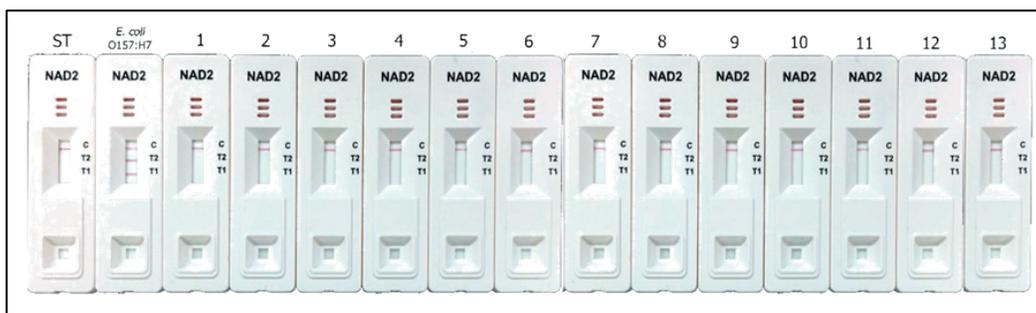


Figura 2. Detección específica de *E. coli* O157:H7 empleando cPCR y ensayos NALF2.

Sin Templado (agua ultrapura); ADNg de *E. coli* O157:H7 (cepa CIBNOR); 1 – 13, cepas aisladas en el estudio.

Referencias

1. Terajima J, Izumiya H, Hara-Kudo Y, Ohnishi M. Shiga Toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* and Foodborne Disease: A Review. *Food Safety*. 2017;5(2):35-53.
2. Gould LH, Walsh KA, Vieira AR, et al. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 1998–2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries*. 2013;62(2):1-34.
3. Boyer O, Niaudet P. Hemolytic uremic syndrome: new developments in pathogenesis and treatment. *International Journal of Nephrology*. 2011;2011
4. Heredia N, García S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Animal nutrition*. 2018;4(3):250-255.
5. Rivas-Ruiz CM, Cantú-Soto EU, Maldonado-Mendoza IE, et al. Detección de *Escherichia coli* productora de toxina-Shiga en bovinos asintomáticos del sur de Sonora, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. 2020;7(2)
6. Kim T-H, Hwang HJ, Kim JH. Ultra-fast on-site molecular detection of foodborne pathogens using a combination of convection polymerase chain reaction and nucleic acid lateral flow immunoassay. *Foodborne pathogens and disease*. 2018;16(2):144-151.
7. Yanamala S, Miller M, Loneragan G, Gragg S, Brashears M. Potential for microbial contamination of spinach through feedyard air/dust growing in close proximity to cattle feedyard operations. *Journal of Food Safety*. 2011;31(4):525-529.
8. Berry ED, Wells JE, Bono JL, et al. Effect of proximity to a cattle feedlot on *Escherichia coli* O157: H7 contamination of leafy greens and evaluation of the potential for airborne transmission. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015;81(3):1101-1110.

Evaluación de buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de carnes rojas en el Mercado Juárez de Autlán

Jiménez Camberos, C^{1*} • Coba de Niz, F. S. ¹ • Toscano Vallejo, B. J ¹
Reynaga Briseño, D. ¹ • Rodríguez Bautista, G.¹

Palabras clave: salud pública, carnicería, manipulación
Key words: public health, butcher shop, handling

Introducción

Como menciona Cruz A. [1] las Buenas Prácticas de Higiene y Manipulación de Alimentos son imprescindibles para garantizar la provisión de alimentos saludables, inocuos y seguros. Las Buenas Prácticas deben cubrir aspectos relacionados con la estructura física y el equipamiento del centro de elaboración de alimentos, la forma en que se conducen los procedimientos tecnológicos, y el grado de entrenamiento del personal. Estas Buenas Prácticas deben constituir un elemento básico dentro de cualquier sistema de gestión de la calidad e inocuidad de los alimentos.

Constituyen una garantía de calidad e inocuidad que redundará en beneficio del empresario y del consumidor en vista de que ellas comprenden aspectos

de higiene y saneamiento aplicables en toda la cadena productiva, incluido el transporte y la comercialización de los productos [2]

Si no se cuidan las buenas prácticas en establecimientos como las carnicerías, que son parte importante en la cadena alimentaria, pueden surgir brotes de enfermedades como la Salmonelosis, que es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más frecuente en el mundo en carne molida. Sin embargo, es escaso el conocimiento sobre su presencia en las superficies que contactan con la carne así como muchas otras. Los establecimientos de venta de materia prima como las carnicerías, presentan condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos, como lo

¹ Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de la Costa Sur. Av. Independencia Nacional 151, Colonia centro, Autlán de Navarro, 40900, Jalisco, México. Tel: +52(317)3886182.

* cristina.jcamberos@academicos.udg.mx .



son la cantidad de agua y nutrientes [3]

De no aplicarse debidamente las buenas prácticas de manufactura y cocción, la carne picada fresca es un alimento de consumo masivo que se convierte en un potencial riesgo para la salud del consumidor [4]

Contaminación de la carne en diferentes etapas a lo largo de la cadena alimentaria, incluso en los puntos de venta, cuando ésta toma contacto con distintas superficies como tablas, picadoras y manos del personal, entre otras. Esta situación constituye un riesgo potencial para la salud de los consumidores y para la calidad de los productos [5]. Es por ello que el objetivo del presente trabajo, fue determinar las buenas prácticas de higiene en establecimiento de venta de carne, en el Mercado Juárez de Autlán

Metodología

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal. Todos los establecimientos participantes en este estudio, se encuentran ubicados en las instalaciones del mercado municipal Benito Juárez de la ciudad de Autlán, y participaron todas las carnicerías de dicho mercado, y dicha participación fue voluntaria. El acta de verificación, anexa a la Norma Oficial Mexicana 251 (Secretaría de Salud)[6] “Prácticas de Higiene para Establecimientos de Servicio de Alimentos o Bebidas”, contiene apartados que contemplan instalaciones, recepción de materia prima, equipo y utensilios, servicios, almacenamientos, personal, mantenimiento y limpieza, control de plagas, manejo de residuos, así como limpieza y desinfección. Cada apartado incluye cuestionamientos que fueron llenados con un puntaje, 2 en caso de cumplir, 1 si cumple parcialmente y 0 si no cumple. Al final fueron comparados los parámetros establecidos en la norma, para ver si el manejo higiénico es adecuado o deficiente

Resultados y discusión

La figura 1 representa los porcentajes obtenidos por las carnicerías (eje vertical), el color naranja para los porcentajes de “no cumple”, el color amarillo por “cumple parcialmente” y el color verde para “cumple”. Los apartados que incluye el acta de verificación anexa a la NOM 251 (eje horizontal).

En la gráfica se puede observar que la mayoría de los establecimientos presentan mayor problema en

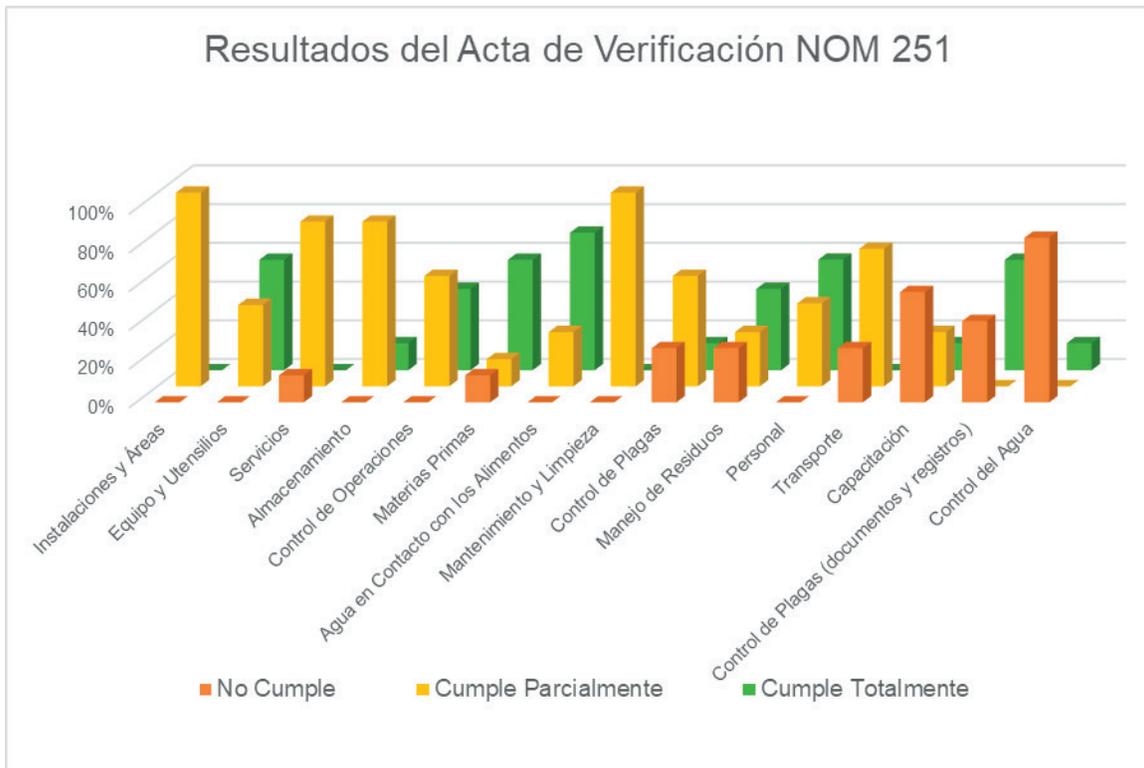
las áreas de control de plagas, pues el 57% cumple de manera parcial y el 28% no cumple con tener un programa de control de plagas, juntos suman 85% y sólo el 14% cumplen totalmente. En servicios el 85% cumplen de manera parcial y el 14% sencillamente no cumple, sumando un 100% de los establecimientos que no cuentan con adecuadas trampas contra olores, coladeras o canaletas con rejillas, libres de basura, sin estancamiento o en buen estado.

En almacenamiento el 85% cumple de manera parcial y sólo el 14% cumple totalmente, por lo que las condiciones de almacenamiento no son adecuadas al tipo de materia prima y/o producto que se maneja.

Instalaciones y áreas, ningún establecimiento participante cumple de manera total con lo que indica la norma, es decir, sus instalaciones como pisos, paredes, puertas y ventanas, no se encuentran en buenas condiciones y están limpias en el momento de la aplicación del acta. Además en el apartado de mantenimiento y limpieza, este apartado incluye manejo de residuos, todas las carnicerías están en cumplimiento parcial, es decir, no existen programas de limpieza constante y mantenimiento, y si existen, no son implementados correctamente. En un estudio realizado en Isla Trinitaria, donde también se investigaron la implementación de buenas prácticas en carnicería de un mercado, pudieron observar que las en el manejo de residuos en el parámetro de manejo de residuos tenían la presencia de animales callejeros en un 12.5% [7], lo que puede representar vectores de enfermedades, y por tanto un riesgo para la salud de los consumidores

En capacitación a su personal, el 85% de establecimientos o no han recibido capacitación nunca, o si caso de recibirla no es en manejo higiénico de alimentos. Es probable que debido a la falta de capacitación, se originan los problemas restantes en el manejo higiénico de los alimentos, ya que si los manejadores desconocen los lineamientos que deben seguirse para que el manejo sea apropiado, no se llevará a cabo. En 2020, Arellano-Narváez R y Acosta-Gonzaga E,[8] realizaron un estudio para evaluar la efectividad de la implementación de la NOM 251, además, implementaron dos capacitaciones a los dueños de los locales sobre el manejo higiénico de los alimentos para que estos comprendieran la importancia de la inocuidad,

Figura 1. Resultados de la aplicación del acta de verificación anexa a la NOM 251 en carnicerías del Mercado Juárez de Autlán.



con base a los resultados, se observó una mejoría en aspectos como “equipo y utensilios”, “operaciones”, “manejo de residuos”, “mantenimiento y limpieza” y “capacitación”.

Las áreas que presentaron menor problema porque cumplieron totalmente fue el manejo de materias primas y las instalaciones de áreas y servicios en las que algunos establecimientos cumplen.

El mantenimiento y la limpieza fueron áreas donde el cumplimiento no fue total, lo que también puede representar una área de oportunidad para los establecimientos participantes en éste estudio.

Conclusión

La mayoría de los establecimientos participantes tiene prácticas de higiene deficientes, ya que no cumple con lo establecido en la normatividad oficial. Se recomienda que en futuros trabajos se brinde capacitación al personal, a los propietarios de establecimientos y a las autoridades de los mercados, para que todos en conjunto, logren un mejor manejo higiénico en los establecimientos de venta de carne.

Referencias

1. Cruz A. Las buenas prácticas de higiene y manipulación como elemento básico del sistema de gestión de calidad e inocuidad de los alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 2013;23(1):21-30. doi:10.1111/j.1440-1754.2009.01567.x
2. Salgado MT, Castro K. Importancia de las buenas prácticas de manufactura en cafeterías y restaurantes. *Vector*. 2007;2:33-40.
3. Pardo SY. Enfermedades Transmitidas Por Alimentos (ETA) De Origen Microbiano Asociadas A Carne, Productos Cárnicos Comestibles Y Derivados Cárnicos En Colombia. *Universidad Nacional Abierta Y A Distancia - UNAD*. 2020: 1-145.
4. Ruiz MJ, Padola ND, Leotta G, Calello R, Passucci J, Rodríguez E, Fernandez Fellenz D, et al. Calidad microbiana de la carne picada y detección de patógenos en muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 2021:1-5. Doi:https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.04.003.

5. Correa Luna Barozzi P. Estudio transversal epidemiológico sobre contaminación microbiológica ambiental en carnicerías de Montevideo - Uruguay. Uruguay: Tesis de Maestría. 2015. Udelar. FV.
6. Secretaria de salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. 2009. Obtenido de *Diario Oficial de la Federación* <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>
7. Avecillas Guaranda, IC. Determinación de las buenas prácticas de manufactura en la venta de carne en el mercado isla trinitaria: Tesis de grado. *Universidad Agraria del Ecuador*. 2021.
8. Arellano-Narváez R, Acosta-Gonzaga E. Prácticas de higiene en el proceso de Elaboración de alimentos en microempresas de un mercado de Ciudad de México. *Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*. 2020;30(56): 1-27. Doi: <https://doi.org/10.24836/es.v39i56.1003>.

Efecto de extractos de chile serrano (*Capsicum annuum* L. var. serrano) sobre cepas probióticas

Origel-Rivas, I.^{1*} • Velasco-Olvera, I.¹ • Velázquez-Olivares, D.A.¹ • Marrón-Montiel, E.¹ • Rivas Castro, S.F.¹

Palabras clave: levadura, prebiótico, cinética de crecimiento.

Key words: yeast, prebiotic, growth kinetic

Introducción

En la actualidad existe un mercado creciente de alimentos funcionales que incluye una variedad importante de productos probióticos, estos productos pueden otorgar al consumidor beneficios a la salud cuando son ingeridos en cantidades adecuadas. Entre los principales beneficios derivados de consumo de probióticos se encuentran, el mejoramiento en la composición de la microbiota intestinal, la prevención y tratamiento de diarreas infecciosas, reducción de los síntomas de la inflamación intestinal, disminución de los niveles de colesterol, o bien revertir en cierto grado la intolerancia a la lactosa, entre otros [1, 2]. Sin embargo, también se conoce que en la dieta se encuentran compuestos que pueden evitar que los

probióticos se establezcan en el intestino de los consumidores o que inhiban el metabolismo de estos

Una de las características principales que destaca a la comida mexicana es sin duda el sabor picante, los mexicanos no podemos concebir nuestras comidas o golosinas principales sin dicho sabor, el ingrediente responsable de otorgar esta característica a nuestros alimentos son los chiles. La capsaicina es un compuesto que se encuentra en los chiles, es la molécula que produce sensación picante y es responsable del efecto de quemor e irritante tras su consumo. Se han realizado estudios para definir si la capsaicina puede tener en los alimentos el papel de conservador (agente bacteriostático o bactericida), además de aportar

1 Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero. Carretera Federal Toluca-Ixtapan de la Sal, kilómetro 64.5, C.P. 51760, La Finca, Villa Guerrero, Estado de México, México.

* tzlorigel@gmail.com



picor, la revisión realizada por Omolo y colaboradores en 2014 [3] cita trabajos que evaluaron el efecto de la capsaicina pura (obtenida de Sigma Aldrich®) y extractos de diferentes especies vegetales sobre cepas de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* y *Helicobacter pylori*, en todos los casos se reportaron efectos inhibitorios del crecimiento microbiano. Marini y colaboradores en 2015 [4] estudiaron la actividad antimicrobiana de la capsaicina sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* eritromicina resistentes, ellos reconocieron que en un intervalo de concentración entre 64 y 128 µg/mL, la capsaicina tiene un efecto bactericida contra *Streptococcus pyogenes*, y en concentraciones subletales las cepas pierden la capacidad de invasión sobre las células blanco. El presente trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto de extractos de chile serrano (*Capsicum annum* L. var. serrano) sobre la viabilidad de diferentes cepas de microorganismos probióticos

Metodología

Fase 1: Aislamiento de cepas probióticas comerciales.

Se seleccionaron tres cepas probióticas

- i. A partir de Yakult® se aisló la cepa probiótica *Lactobacillus casei* Shirota en medio de cultivo Agar Man Rogosa Sharpe (AMRS).
- ii. A partir de Floratil® se aisló la cepa probiótica *Saccharomyces boulardii* en medio de cultivo Agar Dextrosa Sabourad (ADS).
- iii. A partir del producto comercial Sinuberase® se aisló la cepa probiótica *Bacillus clausii* en medio de cultivo Agar nutritivo (AN).

Fase 2: Preparación de extractos

Se realizaron cinco extractos con una concentración de 0.36 g de chile serrano por cada mililitro de agua destilada, diferenciados por las partes del chile que componían los extractos, 1) cuerpo, vena y semilla, 2) cuerpo, 3) cuerpo y vena, 4) semilla y 5) vena. Posteriormente se realizaron 3 extractos distintos cada uno con diferente concentración del cuerpo del chile, extracto A) 0.5 g/mL, B) 0.25 g/mL y C) 0.1 g/mL. En todos los casos la extracción se realizó por 24 h a temperatura ambiente, el extracto se esterilizó en autoclave y fueron separados los sólidos presentes.

Fase 3. Evaluación cualitativa del efecto de los extractos de chile serrano sobre el crecimiento microbiano de las cepas probióticas de trabajo

- Evaluación en medio líquido, en tubos de ensayo estériles con capacidad de 5 mL se prepararon las muestras para evaluar cualitativamente el efecto de los extractos 1, 2 y 3 sobre los microorganismos. La formulación de las muestras en contacto con los extractos fue la siguiente, muestra E1 2.5 mL de medio de cultivo y 1 mL de extracto 1, muestra E2 2.5 mL de medio de cultivo y 1 mL de extracto 2 y la muestra E3 con 2.5 mL de medio de cultivo y 1 mL de extracto 3. Se empleó una muestra como control con 2.5 mL de medio de cultivo y 1 mL de solución salina. Los medios de cultivo líquidos empleados fueron caldo nutritivo para *Bacillus clausii*, caldo MRS para *Lactobacillus casei* y caldo dextrosa Sabouraud en el caso de *Saccharomyces boulardii*.
- Método en césped microbiano, sobre un césped microbiano (sembrado en el mismo medio de cultivo sólido empleado en el aislamiento de cada microorganismo) se colocaron 3 discos de papel de 0.5 cm de diámetro esterilizados con luz ultravioleta, el primer disco de papel no contenía ningún extracto, el segundo disco contenía 50 µL de extracto 4 y el tercer disco 50 µL de extracto 5, las placas se incubaron de acuerdo con los requerimientos ambientales de cada microorganismo durante el tiempo correspondiente, después de su periodo de incubación se revisaron las placas, la presencia de un halo generado por la ausencia de crecimiento microbiano alrededor de los discos de papel indicó un efecto de inhibición.

Fase 4. Evaluación del efecto de los extractos de chile serrano sobre el crecimiento de las cepas de *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus casei* en medio de cultivo líquido

La Tabla 1 muestra el diseño experimental del efecto de los extractos sobre *Saccharomyces boulardii*, el experimento se llevó a cabo en microtubos y por triplicado, el crecimiento microbiano fue medido por turbidez después de 24 h de cultivo empleando un espectrofotómetro (Absorbancia a 600 nm).

Posteriormente se realizó una cinética midiendo

el crecimiento a las 0, 24, 48 y 72 horas, utilizando una suspensión de *Saccharomyces boulardii* ajustada al tubo # 7 de McFarland. Para esta cinética se emplearon matraces Erlenmeyer de 50 mL, con un volumen de medio de 25 mL, cada muestra se evaluó por triplicado. En la Tabla 2 se muestra el diseño experimental.

Se realizó la cinética de crecimiento para *Lactobacillus casei* Shirota utilizando una suspensión ajustada al tubo # 5 de McFarland, el seguimiento de la cinética se realizó de la misma forma que para *Saccharomyces boulardii*. En la Tabla 3 se describe el diseño experimental

Tabla 1. Diseño experimental de la cinética de crecimiento de *S. boulardii* en microtubos.

Muestra	Volumen de caldo dextrosa Sabouraud (mL)	Volumen de extracto (mL)			Solución salina (mL)	Suspensión microbiana (mL)
		E1	E2	E3		
CS	0.9	-	-	-	0.1	-
CC	0.9	-	-	-	-	0.1
E1	0.6	0.3	-	-	-	0.1
E2	0.6	-	0.3	-	-	0.1
E3	0.6	-	-	0.3	-	0.1

CS: Control de reactivos. CC: Control de crecimiento.

Tabla 2. Diseño experimental de la cinética de crecimiento de *S. boulardii*

Muestra	Volumen de caldo dextrosa Sabouraud (mL)	Volumen de extracto (mL)			Solución salina (mL)	Suspensión microbiana (mL)
		EA	EB	EC		
CS	24	-	-	-	1	-
CC	24	-	-	-	-	1
EA	16	8	-	-	-	1
EB	16	-	8	-	-	1
EC	16	-	-	8	-	1

CS: Control de reactivos. CC: Control de crecimiento.

Tabla 3. Diseño experimental de la cinética de crecimiento de *L. casei*

Muestra	Volumen de caldo MRS (mL)	Volumen de extracto (mL)			Solución salina (mL)	Suspensión microbiana (mL)
		EA	EB	EC		
CS	24	-	-	-	1	-
CC	24	-	-	-	-	1
EA	16	8	-	-	-	1
EB	16	-	8	-	-	1
EC	16	-	-	8	-	1

CS: Control de reactivos. CC: Control de crecimiento.

Resultados y discusión

Evaluación cualitativa del efecto de los extractos de chile serrano sobre el crecimiento microbiano de las cepas de trabajo

La evaluación visual mostró crecimiento de las tres cepas probióticas en presencia de cualquier extracto de chile serrano tal como se muestra en la Tabla 4, las muestras que contenían extracto 3 (cuerpo y vena del chile) fueron en las que se apreció un mayor crecimiento visualmente, mientras que en el extracto 1 fue en el cual se observó un menor crecimiento, esto puede deberse a que el extracto 1 está compuesto de todas las partes del chile y por lo tanto la diversidad de componentes extraídos puede ser mayor.

Para comprobar si los extractos a partir de la vena y la semilla del chile provocaban la inhibición del crecimiento sobre las cepas se empleó la metodología de césped microbiano, en ningún caso se presentó inhibición de crecimiento.

*Evaluación del efecto de los extractos de chile serrano sobre el crecimiento de las cepas de *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus casei* en medio de cultivo líquido*

En la Figura 1 se observan los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento de *S. boulardii* cuando se puso en contacto con las diferentes formulaciones de los extractos.

El crecimiento de la levadura en el medio de cultivo sin la adición de ningún extracto (Control de crecimiento en el medio de cultivo) se encuentra por debajo del crecimiento presentado por la levadura cuando se pone en contacto con los diferentes extractos (A, B y C). Se puede observar que el cultivo con extracto A presentó un 18% más crecimiento en comparación con el control de crecimiento, un 7% más crecimiento en comparación con el extracto B y un 13% más crecimiento en comparación con el extracto C.

En la Figura 2 se observan los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento de *L. casei* cuando se puso en contacto con diferentes formulaciones de extractos.

El crecimiento de *L. casei* en el medio de cultivo sin

la adición de ningún extracto se encuentra por debajo del crecimiento presentado por los medios de cultivo adicionados con algún extracto. Se observa que el medio de cultivo adicionado con extracto A presenta un 37% más crecimiento en comparación con el medio de cultivo sin extracto (CC), un 2% más en comparación con el extracto B y un 5% más en comparación con el extracto C.

Se ha reportado un efecto antimicrobiano de extractos de *Capsicum annum* sobre microorganismos Gram negativos como *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* [5], este efecto se le ha atribuido principalmente al contenido de capsaicinoides, sin embargo se conoce que algunos otros componentes también son responsables de dicho efecto tales como el 2H-Tetrahidrotiopirano, ácido α -hidroxido-decanoico, α -D-glucopiranosido, entre otros [6], sin embargo, los resultados obtenidos al emplear extractos formulados con las diferentes partes que componen al fruto, mostraron que no existe un efecto inhibitorio sobre *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* y *Bacillus clausii* tanto en medio líquido como en medio sólido, lo efectos de inhibición referenciados se realizaron con microorganismos patógenos a diferencia de nuestro estudio.

Los resultados de ambas cinéticas de crecimiento muestran en todos los casos que, a mayor concentración de chile en el extracto, mayor crecimiento indistintamente del microorganismo empleado, estos resultados probablemente se deban a la presencia de componentes del fruto que puedan servir de sustrato de los microorganismos probióticos.

En recientes estudios donde se han realizados caracterizaciones bioquímicas de frutos del género *Capsicum*, se ha encontrado un contenido de carbohidratos que oscila en 9.5% de su peso seco, de los cuales 1.75% corresponde a fibra, una descripción más detallada de la composición de los carbohidratos presentes indica la existencia de cierto porcentaje de almidón, pectina y algunos azúcares reductores disponibles como Gal, Rha, Ara, Xyl y Glc.

Otro hallazgo importante indica que una de las fracciones de las pectinas está constituida de arabino-

Tabla 4. . Evaluación cualitativa del efecto de los extractos de chile serrano sobre el crecimiento microbiano de las cepas de trabajo.

Muestra	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bacillus clausii</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
Control	++	++	++
Extracto 1	+	+	+
Extracto 2	++	++	++
Extracto 3	+++	+++	+++
Extracto 4	++	+	++

(+) Presencia de crecimiento, (++) crecimiento notable, (+++) crecimiento abundante.

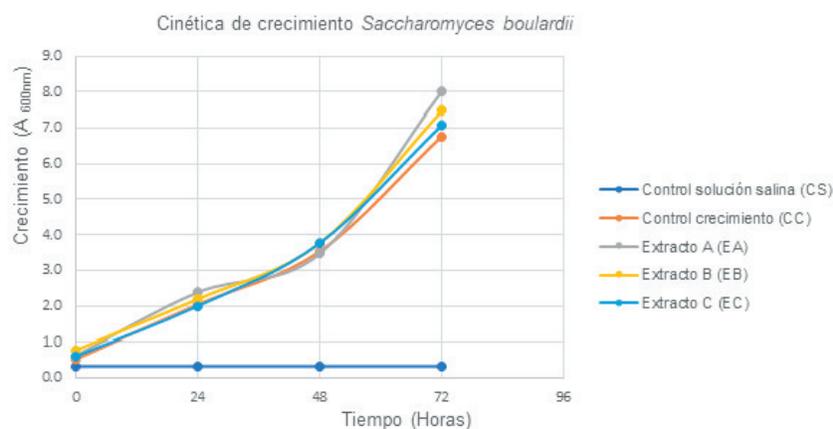


Figura 1. Cinética de crecimiento de *S. boulardii* en muestras control (CS y CC) y extractos (EA, EB y EC) a las 0 h, 24 h, 48 y 72 h. CS) medio de cultivo y solución salina, CC) medio de cultivo y suspensión de *S. boulardii*, EA) extracto con una concentración de 0.5 g/mL, EB) extracto con una concentración de 0.25 g/mL y EC) extracto con concentración de 0.1 g/mL.

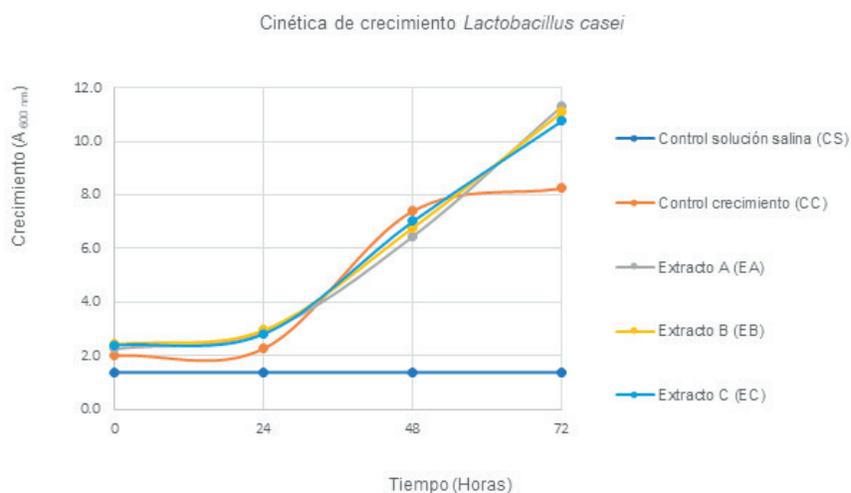


Figura 2. Cinética de crecimiento de *L. casei* en muestras control (CS y CC) y extractos (EA, EB y EC) a las 0 h, 24 h, 48 h, y 72 h. CS) medio de cultivo y solución salina, CC) medio de cultivo y suspensión de *L. casei*, EA) extracto con una concentración de 0.5 g/mL, EB) extracto con una concentración de 0.25 g/mL y EC) extracto con concentración de 0.1 g/mL.

galactanos del tipo I y II, los cuales se han identificado como sustratos que incrementan significativamente las poblaciones de lactobacilos en intestinos de adultos [6-8], los resultados obtenidos, en conjunto con lo citado anteriormente vislumbran la posibilidad de que ciertos componentes de los extractos obtenidos pudiesen ser considerados sustratos prebióticos.

Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos se concluye que los extractos empleados de chile serrano (*Capsicum annuum*) no solo no presentan efecto de inhibición sobre las cepas probióticas empleadas, sino que, promueven su crecimiento, vislumbrando un posible efecto prebiótico.

Referencias

1. Garrote A, Ramon Bonet Y. *Farmacia Abierta*. Vol 31.; 2017.
2. Serrano S, Burillo T, Fernández C, López J, Serrano P, Hernández C. Asociación Entre El Síndrome Coronario Agudo y El Consumo de Antiinflamatorios No Esteroides. *Ars Pharmaceutica* Vol 56.; 2015. <http://farmacia.ugr.es/ars>
3. Omolo M. Antimicrobial Properties of Chili Peppers. *Journal of Infectious Diseases and Therapy*. 2014. doi:10.4172/2332-0877.1000145
4. Marini E, Magi G, Mingoia M, Pugnali A, Facinelli B. Antimicrobial and anti-virulence activity of capsaicin against erythromycin-resistant, cell-invasive group A streptococci. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6(NOV). doi:10.3389/FMICB.2015.01281/ABSTRACT
5. Santos MMP, Vieira-Da-Motta O, Vieira IJC, et al. Antibacterial activity of *Capsicum annuum* extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans*. *Journal of Natural Medicines*. 2012. doi:10.1007/s11418-011-0579-x
6. Malakar S, Sarkar S, Kumar N, Santanu Malakar C, Jaganmohan R. Studies of biochemical characteristics and identification of active phyto-compounds of king chili (*Capsicum chinense* Jacq.) using GC-MS. ~ 3100 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(3):3100-3104.
7. do Nascimento GE, Iacomini M, Cordeiro LMC. New findings on green sweet pepper (*Capsicum annuum*) pectins: Rhamnogalacturonan and type I and II arabinogalactans. *Carbohydr Polym*. 2017. doi:10.1016/j.carbpol.2017.05.029
8. Chen O, Sudakaran S, Blonquist T, Mah E, Durkee S, Bellamine A. Effect of arabinogalactan on the gut microbiome: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial in healthy adults. *Nutrition*. 2021. doi:10.1016/j.nut.2021.111273

Estudio del control de *Listeria monocytogenes* en emulsiones modelo aceite/agua adicionadas con bagazo de lima y un tratamiento térmico de subpasteurización

Guillén-Valdes, S.¹ • Marín-Iniesta.F.² • Minor-Pérez, H.^{1*}

Palabras clave: actividad antimicrobiana, lima dulce, *Listeria monocytogenes*

Key words: antimicrobial activity, sweet lime, *Listeria monocytogenes*

Introducción

México es uno de principales productores de frutas cítricas a nivel internacional. Debido a esta condición se generan una gran cantidad de subproductos como el bagazo o la cáscara. La fruta de lima dulce (CITRUS LIMMETA) tiene un aporte importante de compuestos con actividad biológica, e.g. antioxidantes o sustancias con actividad antimicrobiana [1,2]. Algunos estudios indican que los polifenoles con actividad antioxidante presentan efecto bactericida sobre microorganismos como *Escherichia coli* y en general sobre microorganismos coliformes psicrótrofos [1]. *Listeria monocytogenes* es un microorganismo patógeno y psicrótrofo, que no forma esporas [3], es una bacteria ubicua y tiene una resistencia a tratamientos térmi-

cos, mayor a otras bacterias indicadoras [3]. Además, la bacteria puede provocar la contaminación de los alimentos en cualquier etapa de la cadena alimentaria. En este estudio se evaluó el control significativo de *L. monocytogenes* en emulsiones modelo aceite/agua adicionadas de bagazo de lima dulce y sometidas a un proceso térmico de subpasteurización de 55°C/45 min. Se realizó un análisis estadístico con las pruebas de ANOVA y Duncan para determinar los tratamientos significativamente diferentes.

Metodología

Bagazo de lima dulce (BLD).

La lima dulce se sometió a un proceso de lavado y

¹ División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n Esq. Av. Carlos Hank González (Av. Central), Col. Valle de Anáhuac, C. P. 55210, Ecatepec de Morelos, Estado de México, México

² Grupo de Biotecnología de Alimentos-BTA, Facultad de Veterinaria - Universidad de Murcia, Apartado N° 4021, 30.100 Murcia, España

* hminor@tese.edu.mx



desinfección. Las muestras de subproductos de la fruta de lima dulce (bagazo, cáscara y semilla) se sometieron a un proceso de secado a 40°C durante 48 h en un horno de charolas (Felisa® FE-294AD, México) y se molieron en una licuadora convencional durante 5 min. Se realizó un tamizado (Tamiz, Número 45) hasta alcanzar una tamaño de partícula de 0.42 mm. Las muestras de estudio se guardaron en bolsas estériles de polietileno a una temperatura de -20°C hasta su uso.

***Listeria monocytogenes* NCTC 11994 y condiciones de crecimiento**

L. monocytogenes NCTC 11994 pertenece a la colección microbiana de la Universidad de Murcia, España. Durante este estudio la cepa se conservó en crioviales a -80°C. Ésta se creció en medio TSAYE (Tryptic Soy Broth, Bioxon, México) suplementado con 0.6% de extracto de levadura para obtener el cultivo de estudio con una concentración inicial aproximada de 8.5 ciclos logarítmico.

Análisis microbiológico

En este estudio se elaboraron emulsiones modelo aceite/agua empleando aceite comercial de olivo virgen extra (AOL). Este aceite se adquirió en la “Central de Abastos de Ecatepec”, Ecatepec de Morelos, Edo. de México, México. Se empleó un diseño completamente aleatorizado para evaluar el efecto de las variables fijas: concentración de AOL (2%, 4% y 6%) y la concentración de bagazo de lima dulce (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL). En los diferentes tratamientos se agregó Tween® 80 al 1% como surfactante. En tubos Eppendorf® estériles se agregaron por separado volúmenes del aceite de estudio (AOL) de 20 µL, 40 µL y 60 µL. Previamente en los tubos Eppendorf® se agregó la muestra de bagazo de lima dulce (BLD). En cada tratamiento se adicionaron diferentes volúmenes de soluciones amortiguadoras de fosfato-citrato a pH 4,6 y 8. En estos tratamientos se adicionó el cultivo de *L. monocytogenes*. Todos los tratamientos se sometieron a agitación a 350 rpm en un vortex (Labnet®, EUA) durante 1 min y posteriormente se mantuvieron en condiciones de calentamiento a 55°C en un baño de temperatura controlada (Polystat Temperature Controller, Cole-Parmer®, EUA) durante los tiempos de

estudio. Las cuentas microbianas se realizaron con la técnica de gota [4] en medio de cultivo TSA.

Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a una prueba de ANOVA y una comparación múltiple de medias con la prueba de Duncan, utilizando el paquete estadístico SAS System, Windows™ Versión 6.12, USA.

Resultados y discusión

La Tabla 1 muestra los resultados del análisis estadístico de ANOVA para el estudio sobre el control significativo de *L. monocytogenes* en sistemas modelo de emulsiones aceite/agua. En los tres sistemas de estudio a los valores de pH 4, 6 y 8 se observó un efecto altamente significativo del modelo de estudio sobre la variable respuesta.

La Figura 1 muestra el tratamiento a pH 4, se observa una reducción significativa en las poblaciones de *L. monocytogenes* a partir de tiempo de tratamiento térmico a 55°C, de los 15 min (Prueba de Duncan, $P < 0.05$) de estudio para las emulsiones modelo adicionadas de bagazo de lima dulce. En este sistema no se observó un efecto significativo (Prueba de Duncan, $P < 0.05$) de la concentración del aceite de olivo sobre las poblaciones de *L. monocytogenes*. El bagazo de lima tuvo un efecto significativo (prueba de Duncan, $P < 0.05$) sobre la reducción de las poblaciones de *L. monocytogenes*, hasta valores de 2.98 ciclos logarítmicos a una concentración de BLD de 0.05 g/mL. En las emulsiones a pH 6 y 8 se observó una reducción significativa de la concentración de *L. monocytogenes* por efecto de la concentración de aceite de olivo. En el pH 6 se observó un comportamiento similar a los tratamientos de pH 4; hubo un efecto significativo en la reducción de *L. monocytogenes* a valores de 0.05 g/mL de bagazo de lima. La menor población de *L. monocytogenes* se observó en este pH al tiempo de tratamiento de 30 min con valores de 3.759 ciclos logarítmicos. El menor efecto sobre la inhibición de *L. monocytogenes* se observó en el pH 8. El coeficiente de determinación para los tres sistemas de estudio mostraron que para el pH 4, 6 y 8 solo el 1.05%, 3.62% y el 18.23% de la variación en la variable respuesta no es explicado por los parámetros de estudio

Tabla 1. Resumen de la ANOVA para la emulsión modelo de estudio.

Variables fijas	pH	R-Square	Valor de F	P > f
Concentración de aceite de olivo (2%, 4% y 6%)	4	0.9895	97.22	0.0001
Concentración de bagazo de lima (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL)	6	0.9638	27.44	0.0001
Tiempo (0 min, 15 min, 30 min y 45 min)	8	0.8177	4.62	0.0001

VARIABLES FIJAS: concentración de aceite de olivo (2%, 4% y 6%), concentración de bagazo de lima (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL) y el tiempo de (0 min, 15 min, 30 min y 45 min) sobre la variable respuesta: Log UFC/mL de *L. monocytogenes* a 55°C.*

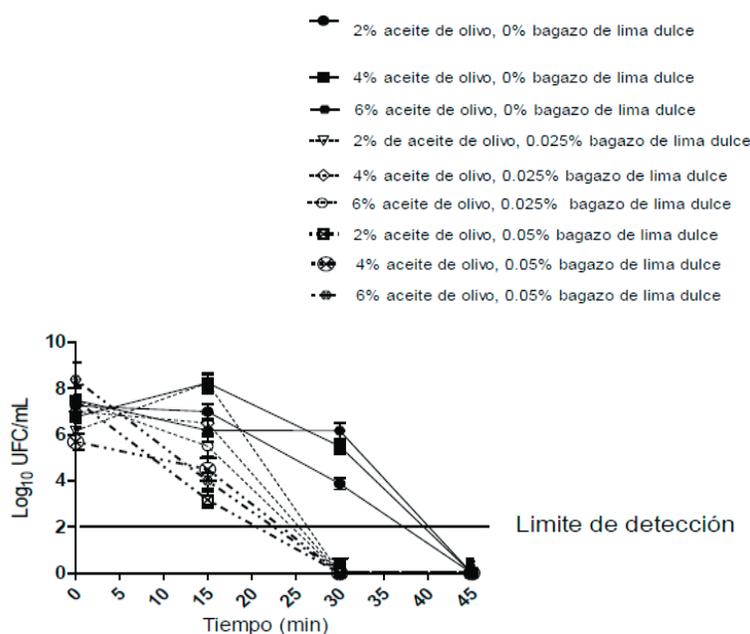


Figura 1. Inhibición de *L. monocytogenes* en una emulsión modelo con aceite de olivo adicionada de 0.0%, 0.025% y 0.05 % de bagazo de lima dulce (*Citrus limmeta*) a pH 4.0 a una temperatura de 55°C.

Conclusión

En las condiciones experimentales evaluadas se encontró una reducción significativa de *L. monocytogenes* NCTC 11994 para algunos tratamientos. Los tratamientos evaluados redujeron significativamente las poblaciones de la bacteria control.

Referencias

- Hall, C.I. 2001. Sources of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. En: *Antioxidants in food. Practical Applications*. Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. (Editores). CRC Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra.
- Ordoñez-Gómez, E.S., Reátegui-Díaz, D. y Villanueva-Tiburcio, J.E. 2018. Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, 9(1):113-121
- ICMSF. 1996. *Microorganismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos*. Editorial Acirbia, Zaragoza (España), pp 165-174
- Miles, AA; Misra, SS, Irwin, JO (1938 Nov). The estimation of the bactericidal power of the blood. *The Journal of hygiene*, 38 (6): 732-49.

Detección e incidencia de *Pseudomonas* en muestras de agua potable

Ramírez Zapata, E. L.^{1*} • Delgado Portales, R. E. ¹ • Moscosa Santillán, M. ¹
De La Cruz Martínez, A.¹ • Loredo Becerra, A. ¹.

Palabras clave: agua, NMP, coliformes.
Key words: water, NMP, coliform

Introducción

De acuerdo con datos de la CONAGUA [1], en México, el consumo promedio de agua por persona es de 380 litros al día, empleando un 4% de esta para la higiene personal o para su consumo. Para utilizar el agua con estos fines, esta debe estar purificada, lo cual puede requerir un tratamiento completo de filtración, coagulación, sedimentación y desinfección, de los cuales, el de mayor relevancia microbiológica es la desinfección.

La desinfección tiene como propósito la inactivación de los microorganismos patógenos en el agua que incluyen formas relativamente sensibles, como las bacterias no esporuladas. El germicida de mayor empleo en la desinfección del agua es el cloro, en forma de hipoclorito o de cloro molecular. En el agua, ambos generan ácido hipocloroso y ion hipoclorito en con-

centraciones relativas que dependen del pH [2]. Otro agente químico también utilizado en la potabilización del agua es el ozono, ya que tienen la capacidad de inactivar bacterias y virus más rápidamente que el cloro y, aparentemente, tienen cierto efecto contra parásitos [2]. En cuanto a los tratamientos físicos, se sabe que la luz ultravioleta es utilizada debido a la acción letal que tiene sobre los microorganismos, ya que sus bases de moléculas de ácido nucleico absorben la luz UV y pierden su funcionalidad [2].

Uno de los grupos microbianos de mayor interés en el agua es el de los Organismos Coliformes, ya que su hallazgo en esta puede indicar la falta o ineficiencia en el proceso de potabilización y/o recontaminaciones durante la distribución. Además, el hallazgo específico de *Escherichia coli* o de coliformes termotolerantes en

¹ Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava # 6, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S. L. P., México.

* elsa.ramirez@uaslp.mx



el agua, constituye evidencias de contaminación fecal reciente y obliga a la investigación de potenciales fuentes de contaminación y eventual pérdida de la integridad de los sistemas de conducción y almacenamiento. En este sentido la NOM 201-SSA1-2015 [3] establece en el apartado 5.1.5.1.2 que, para el agua destinada para consumo humano, los límites para Organismos Coliformes con valores menores que 1.1 NMP/100 mL, cero UFC/100 mL o bien la ausencia de estos cuando la técnica de análisis lo permita. Sin embargo, un indicador específico no muestra características de aplicación segura para satisfacer o cubrir la diversidad de patógenos potencialmente presentes en el agua, tal es el caso de *Pseudomonas*, un patógeno oportunista del cual, la normativa anteriormente señalada indica su análisis solamente cuando se trate de agua mineral.

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo, aerobio con flagelo polar. Cuando se cultiva en medios adecuados produce piocianina, un pigmento verde azulado no fluorescente. Muchas cepas producen también el pigmento verde fluorescente pioverdina. Es un microorganismo común en el ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y las aguas residuales [4]. Este patógeno oportunista puede causar diversos tipos de infecciones, coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos, donde puede invadir y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis. Los pacientes con fibrosis quística o inmunodeprimidos son propensos a la colonización por *P. aeruginosa*, lo que puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves [4].

Su presencia es significativa en algunos entornos como en los centros de salud y, aunque no hay evidencia de que los usos normales del agua de consumo humano sean una fuente de infección para la población en general, su capacidad de formar biopelículas representa un peligro para las personas con el sistema inmunológico comprometido.

En este sentido, el objetivo de este trabajo fue analizar la incidencia de *Pseudomonas* en muestras de agua potable proveniente de diversos ambientes mediante su seguimiento en la fase presuntiva de la detección de coliformes por la técnica de Número Más Probable

(NMP) y relacionar los resultados con la presencia o ausencia de los organismos coliformes.

Metodología

Se analizaron 66 muestras de agua provenientes de diferentes ambientes: 14 de bebederos, 16 del agua de la red, 29 de agua a granel y 7 de sistemas de filtración. Las muestras se colectaron en frascos estériles con tiosulfato de sodio al 10% y fueron transportadas en hieleras con refrigerantes sin que estos tocaran directamente los frascos. Todas las muestras se analizaron en un tiempo no mayor a 6 horas a partir de su muestreo.

Para la determinación de Organismos Coliformes se siguió la técnica de análisis señalada en el apéndice H de la NOM-210 SSA1-2014 [5]. Para la prueba presuntiva, en área de esterilidad se sembraron 5 porciones de 20 mL cada una de la muestra en tubos con 10 mL de Caldo Lactosado (BIOXON, Becton Dickinson de México®, México) triple concentración con campana de Durham estériles, dichos tubos se llevaron a incubar a 35°C por 48 horas. Una vez pasado este tiempo, de cada tubo que mostró la formación de gas, se tomaron tres asadas y se sembró en un número igual de tubos de Caldo Bilis Verde Brillante al 2% (DIFCO, Becton Dickinson Company,® USA) para la prueba confirmativa de Organismos Coliformes Totales y se llevaron a incubar por 48 horas a 35°C. Posterior a esto, se registró el número de tubos que presentó la formación de gas y, con los datos obtenidos, se calculó el NMP para Coliformes Totales, tomando como referencia la tabla H.8.4.3 de la NOM 210-SSA1-2014 [5].

Paralelamente, los tubos de las muestras presuntiva se mantuvieron en incubación a 35°C aún después de haber tomado la asada para la determinación de Organismos Coliformes hasta que presentaran una coloración verdosa (Figura 1). De los tubos que tuvieron dicha coloración, se sembraron por estría cruzada Agar *Pseudomonas* (DIFCO, Becton Dickinson Company®, USA) y se incubaron a 35°C por 24 horas. Aquellas cajas que presentaron la producción de pigmentos verdes y/o azules, se consideraron como *Pseudomonas* (Figura 1), se registraron los datos y se reportó de acuerdo con establecido en la tabla H.8.4.3 de la NOM 210-SSA1-2014 [5].

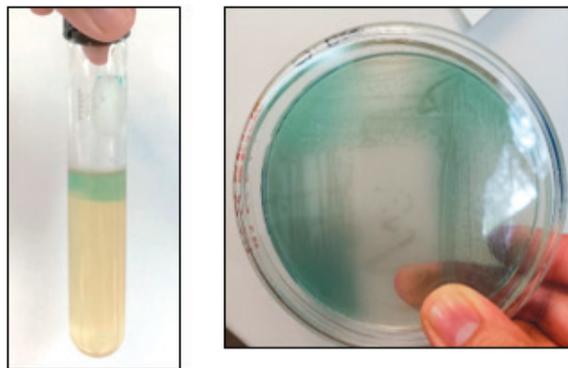


Figura 1. Tubo de prueba presuntiva de la técnica NMP (caldo lactosado) con coloración verdosa y sin gas y placa confirmativa en agar *Pseudomonas*

Resultados y discusión

Del total de las 66 muestras de agua analizadas el 37.87% (25/66) rebasan el límite de organismos coliformes (OCT) <1.1 NMP/100 mL, declarados como indicadores de la calidad sanitaria en la NOM-201-SSA1-2015 [3] que aplica para hielo y agua envasada y a granel. Esta norma establece la búsqueda de *Pseudomonas* sólo para agua mineral, sin embargo, se encontró *Pseudomonas* spp. en el 18.18% (12/66) de las muestras de agua analizadas.

En la Figura 2, se muestran los resultados del porcentaje de muestras positivas para OCT y/o *Pseudomonas* spp. en cada tipo de agua.

En primera instancia, se encontró que *Pseudomonas* spp. se presentó en el agua obtenida de bebederos, de los sistemas de filtración domésticos y del agua a granel. Esto se pudiera deber a que en los tres tipos de agua, involucran el paso de esta a través de zonas estrechas, tales como los filtros o cartuchos, por lo que, cuando el sistema no se utiliza, el agua puede quedarse estancada en las zonas estrechas y, si hay presencia de *Pseudomonas* spp. en el agua, está se puede quedar en estas zonas, creando biopelículas, mismas que causarían que el microorganismo persistiera durante un largo periodo de tiempo. Por otro lado, la presencia de OCT en los cuatro tipos de agua, refleja deficiencias en los procesos de potabilización, por ejemplo, en el agua a granel, pudiera indicar problemas durante el tratamiento de potabilización o incluso, deficiencias en el lavado de garrafones.

En segunda instancia, los resultados obtenidos revelaron que, para cada tipo de agua, cuando la incidencia de *Pseudomonas* era alta, la incidencia de OCT era baja, y cuando la incidencia de OCT era alta, la incidencia de *Pseudomonas* era baja. Fueron pocas las muestras que presentaron tanto OCT como *Pseudomonas* spp. al mismo tiempo (7.14% para el agua de bebederos; 14.28% para el agua de los sistemas de filtración; 6.89% para el agua a granel y 0% para el agua de la red municipal). Estos resultados, concuerdan con lo reportado por Coelho y col, 2010 [6], donde se reporta que el género *Pseudomonas* produce sustancias bacteriostáticas que afectan a algunos microorganismos pertenecientes al grupo coliforme.

Estos resultados adquieren especial relevancia cuando se contrastan con las especificaciones microbiológicas de la NOM-201-SSA1-2015, donde se señala la ausencia de los OCT en todos los tipos de agua para consumo humano, y que la determinación de *Pseudomonas* spp debe realizarse exclusivamente cuando se trate de agua mineral, sin embargo, dado lo observado en este trabajo, la ausencia de OCT no garantiza que no exista *Pseudomonas* spp. por lo se recomienda reconsiderar los parámetros microbiológicos estipulados actualmente y agregar la determinación de *Pseudomonas* spp a otros tipos de agua, con el objetivo de garantizar la calidad de la misma, principalmente para las personas con el sistema inmunológico comprometido.

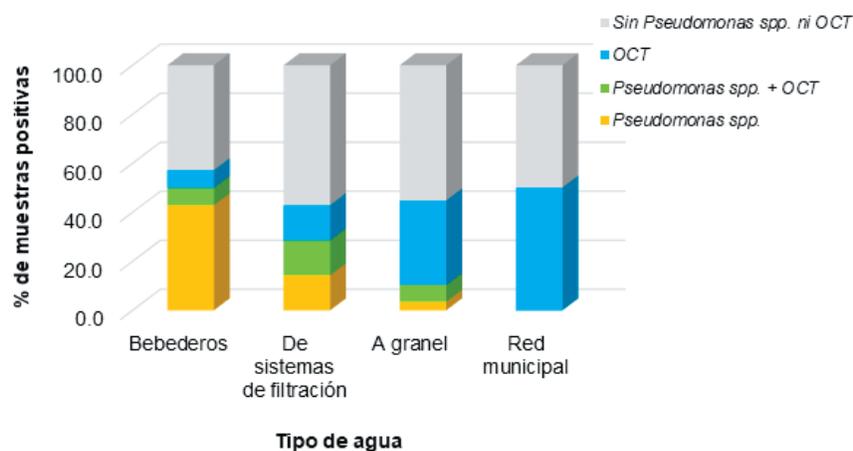


Figura 2. Porcentaje de incidencia de *Pseudomonas* spp. y de OCT en muestras de agua

Finalmente, se destaca que la metodología utilizada para la detección de *Pseudomonas* spp. puede realizarse de manera paralela a la prueba presuntiva en la detección de OCT, prolongando dicha prueba. Esta metodología pudiera servir para la identificación de *Pseudomonas* spp. sin la necesidad de adquirir otros tipos de caldos de cultivo.

Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la técnica de detección de Número Más Probable para Organismos Coliformes funcionó como un indicador de la presencia de *Pseudomonas* en la prueba presuntiva a través de la generación de tonalidades verdes en el caldo y esto a su vez, pudo ser confirmado mediante la siembra en el agar.

También, hay que tomar en consideración que, aunque hay una tendencia a que la presencia de *Pseudomonas* no esté relacionada con la presencia de OCT, no todos los tipos de agua presentan el mismo comportamiento. Aunque las normas establecen la búsqueda de *Pseudomonas* solo en agua mineral, este trabajo muestra la necesidad de su determinación en otros tipos de agua.

Referencias

- Hernández, C., Aguilera, M., Castro, G. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2011 31 (4): 137-151
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA); 2015 http://www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/carrera_agua_2015.pdf Acceso: 29 de agosto, 2022: 23.

www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/carrera_agua_2015.pdf Acceso: 29 de agosto, 2022: 23.

- Fernández Escartín E. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. 2nd ed. *Universidad Autónoma de Querétaro*; 2008:438-486.
- Diario Oficial de la Federación*. NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015#gsc.tab=0 Acceso: 29 de agosto, 2022.
- World Health Organization*. Guías Para la Calidad del Agua de Consumo Humano. 4ª Edición. Ginebra; 2011 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf?ua=1> Acceso: 29 de agosto, 2022: 290.
- Diario Oficial de la Federación*. NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015#gsc.tab=0 Acceso: 29 de agosto, 2022.
- Coelho, M.I.S., Mendes, E. S., Cruz, M. C. S., Bezerra, S. S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais consumidas na região metropolitana de Recife, Estado de Pernambuco (Evaluation of the microbiological quality of mineral water consumed in the metropolitan region of Recife, Pernambuco State). *Acta Scientiarum Health*. 2010. Sciences 32(1), 1–8.

Influencia de la materia prima en la carga microbiológica de tortillas de maíz en dos regiones de México

de la Rosa-Millán, J.^{1*}

Palabras clave: tortillas, nixtamal, análisis de componentes principales
Key words: tortillas, nixtamalized maize flour, principal component analysis

Introducción

En México, las tortillas representan una parte importante de nuestra identidad cultural, además que representan un aporte importante de calorías en la dieta. Durante su producción se presentan diferentes etapas en las que el contenido de los granos de maíz es sujeto a procesos de secado, molienda y cocción que modifican sus características funcionales, nutricionales y microbiológicas [1]. Desde hace algunas décadas, con el fin de mejorar el aporte nutricional de este producto se han realizado esfuerzos en su tecnificación, incrementando la biodisponibilidad de sus componentes, y mediante cambios en la legislación se han establecido estrategias enfocadas a su estabilización durante su vida de anaquel y equilibrio de nutrien-

tes. Es bien sabido que, en México, las preferencias de consumo de este importante producto están definidas por la región geográfica; teniendo influencia directa en la preferencia de la materia prima y procesos de elaboración que conducen a variaciones de color, sabor, textura y tamaño de producto [2]. Por lo anterior, existen estudios que relacionan la presencia de grupos de microorganismos muy variable, atribuido a diversas causas, entre las que han dejado de lado el origen de la materia prima. El objetivo de este trabajo fue analizar tortillas de maíz obtenidas en tortillerías o en puntos de venta en dos regiones, Nuevo León (Área metropolitana de Monterrey) y Bajío (Silao y sus alrededores), con el fin de conocer la influencia

1 Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias. Bio-Foods Research. Centro de Biotecnología FEMSA, Eugenio Garza Sada 2501, Monterrey, NL, México.

* juliandlrm@tec.mx



de la materia prima sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas de tortillas.

Metodología

Se recolectaron 80 muestras de tortilla de maíz en dos localidades del territorio nacional, Nuevo León (40), y Guanajuato (40), el criterio de selección fue al azar tanto en tortillerías y puntos de venta externos (tiendas de abarrotes, expendios de frutas y verduras). Se registraron los nombres de los establecimientos, municipalidad, tipo de materia prima, Harina de maíz nixtamalizado (NMF), Mezcla (Mezcla) y Nixtamal tradicional 100% utilizada para la elaboración del producto.

En los expendios de tortilla, se tomaron muestras a la salida de la máquina tortilladora, la cual fue empacada en papel nuevo y bolsa de plástico, mientras que en los puntos de venta externos se tomaron paquetes de 1/2 kg directamente del recipiente donde se almacenan para su venta (hielera). En ambos casos se registró la temperatura con un termómetro infrarrojo. Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio para su análisis, a cada muestra se le cuan-

tificó lo descrito en la Tabla 1.

Con el fin de profundizar en los cambios químicos ocasionados por el crecimiento bacteriano se seleccionaron 24 muestras, tomando en cuenta su carga microbiológica, 8 con muy baja cantidad y el resto (16) con las cargas máximas registradas en mesófilos aerobios y hongos. A estas, se realizaron análisis proximales, humedad, proteína, lípidos y cenizas, usando metodologías oficiales de la AACC (2000) y AOAC (1990).

Se caracterizaron sus carbohidratos en términos de contenido de almidón total, amilosa, amilopectina, contenido de fibra, azúcares libres utilizando kits comerciales (Megazyme®, icklow®, Ireland®), alfa amino nitrógeno e índice de peróxidos por metodologías oficiales de la AOAC (1990) como indicadores del crecimiento bacteriano.

En el análisis estadístico para los datos obtenidos se utilizó comparación de medias de Tukey y con el fin de conocer las variables que tienen influencia sobre el contenido de microorganismos se realizó análisis de componentes principales (ACP) por correlación de Pearson.

Tabla 1. Análisis y NOM correspondiente.

Análisis	NOM/metodología aplicable
% Humedad	AM-002
pH	AH-007
Acidez titulable (ml NaOH 0.1)	LC-FQ-11
Bacterias Mesofílicas Aerobias (UFC/g)	NOM-110-SSA1-1994 NOM-092-SSA1-1994
Hongos (UFC/g)	NOM-110-SSA1-1994 NOM-111-SSA1-1994
Levaduras (UFC/g)	
Coliformes totales (UFC/g)	NOM-110-SSA1-1994 NOM-113-SSA1-1994
Listeria monocytogenes /25 g	Detección Molecular por bioluminiscencia (MDS 100 3M)
Salmonella sp /25 g	
<i>E. coli</i> 0157:H7/ 25g	
Acido Benzoico (%)	LC-AD-010
Acido Sorbico (%)	
Acido Propiónico (%)	
Acido Fumárico (%)	

Resultados y discusión

En el total de muestras recolectadas (80) se observaron 3 componentes de importancia que en conjunto explican el 82% de las variaciones, siendo los componentes principales PC1: Temperatura de paquete cerrado, PC2: Temperatura de tortilla y PC3: bacterias mesófilas. La distribución de las muestras en torno a los dos primeros componentes resultó en una distribución heterogénea, donde se encontró un clúster de muestras diferenciadas por ser tomadas de tortillas de reparto, lo que puede influir en el comportamiento de los componentes 1 y 2 (Temperatura de la hielera y pH).

La gráfica (Figura 1) muestra una separación clara entre las muestras que se comercializan mediante

reparto con respecto a las que son comercializadas directamente en la tortillería siendo de un comportamiento opuesto

Las variables agruparon sus vectores en torno a las temperaturas, encontrándose una correlación negativa con la cantidad de bacterias mesófilas (Figura 2). En este caso la variable de ácido benzoico, utilizado como aditivo para el control de microorganismos no presenta una correlación clara, por lo tanto, no es una influencia directa en el conjunto de muestras; en cambio, los valores de pH registrados pudieron estar relacionados con las características de las tortillas.

En 28 muestras seleccionadas, la gráfica de agrupación muestra claramente que las tortillas con menor

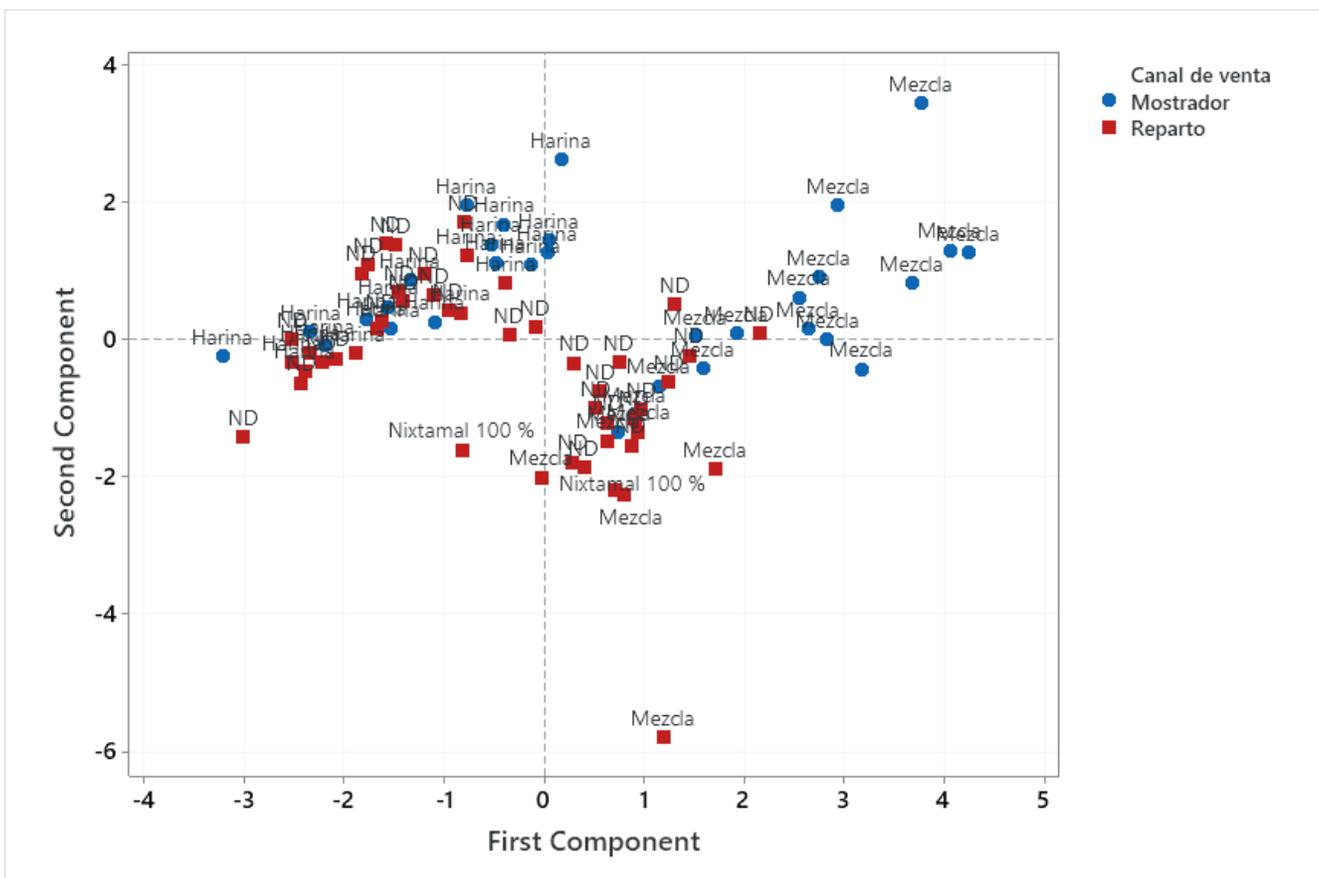


Figura 1. Gráfica de puntuación de las cargas vectoriales de las variables analizadas.

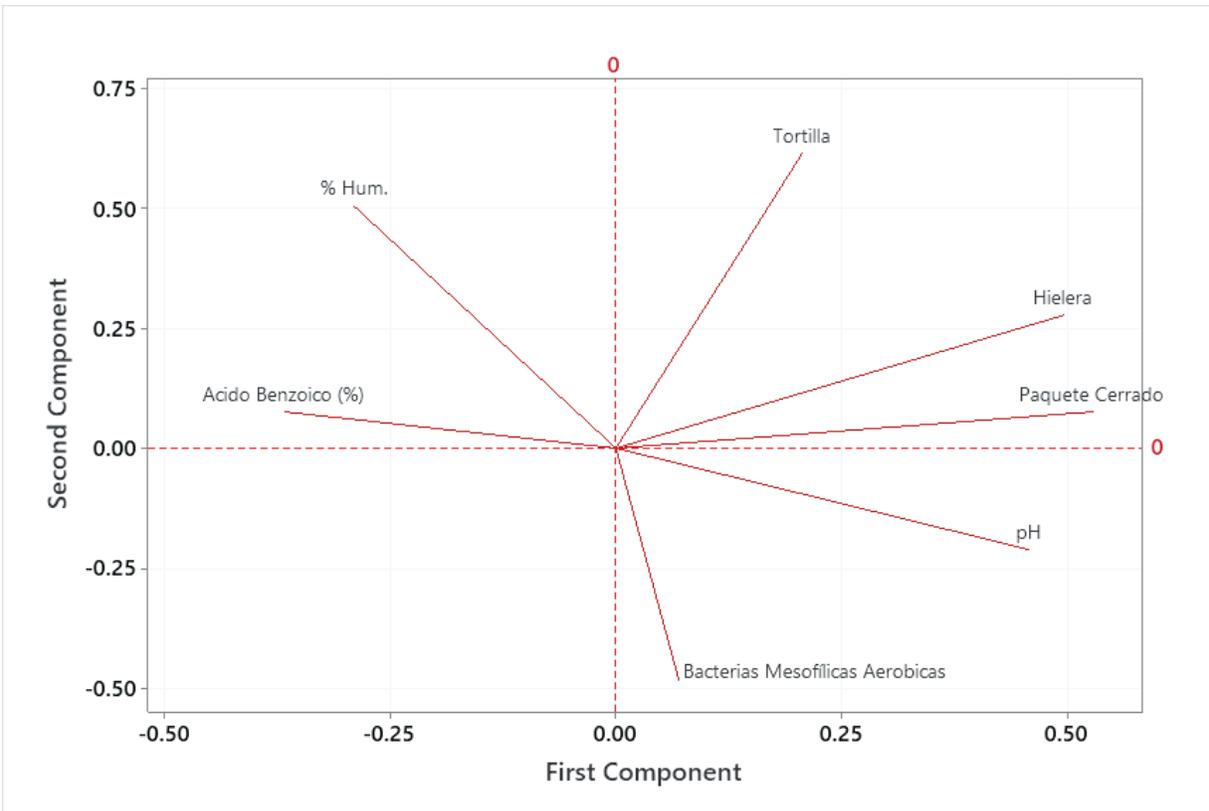


Figura 2. Gráfico de cargas vectoriales de las variables analizadas.

carga microbiológica fueron las elaboradas con NMF, sin importar el canal de venta, mientras que las que fueron elaboradas con mezcla y/o nixtamal muestran una amplia distribución de cargas microbiológicas. (Figura 3).

Se observaron 4 componentes de importancia que en conjunto explican el 80% de las variaciones. PC1: Valor de índice de peróxido. PC2: Contenido de lípidos. PC3: Hongos. PC4: Cenizas. Se encontraron 2 grupos de correlaciones de importancia. La primera entre el contenido de proteína, lípidos y la cantidad de hongos, y la segunda relacionada con el contenido de amilosa, el valor de índice de peróxidos y la cantidad de bacterias mesofílicas (Figura 4). Esta información puede ser de utilidad dado que puede ayudarnos a describir el crecimiento de estos microorganismos y su efecto en los productos durante su elaboración, manejo y almacenamiento.

Conclusión

Los parámetros de azúcares libres y amino nitrógeno libre fueron de utilidad para confirmar los cambios a nivel molecular que ocurren en la tortilla, debido al crecimiento de microorganismos.

Los análisis complementarios realizados a las 28 muestras seleccionadas, permiten observar con claridad la influencia de la materia prima sobre la prevalencia de microorganismos, demostrando que las tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizado presentan menor carga microbiana, comparadas con las elaboradas con mezcla y/o nixtamal.

Las tortillas elaboradas con mezclas de nixtamal presentan mayor carga microbiana, posiblemente debido a las condiciones de procesamiento de estas materias primas y/o pobres prácticas de manufactura y manejo de los productos.

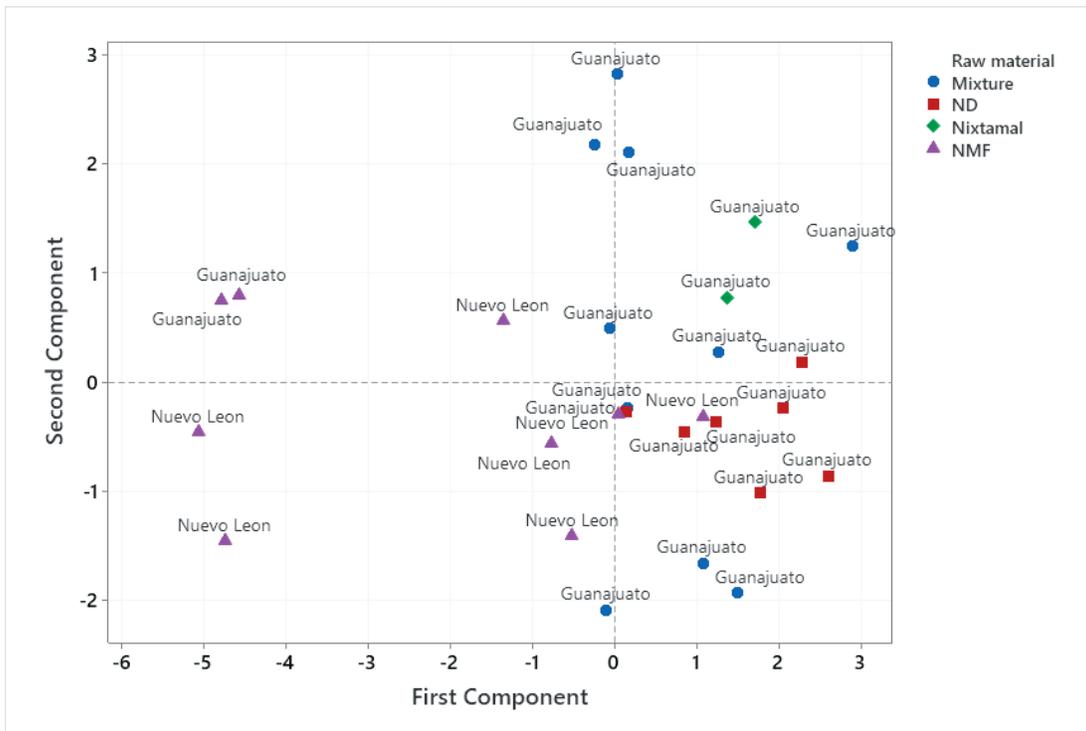


Figura 3. Distribución de variables en torno a los componentes.

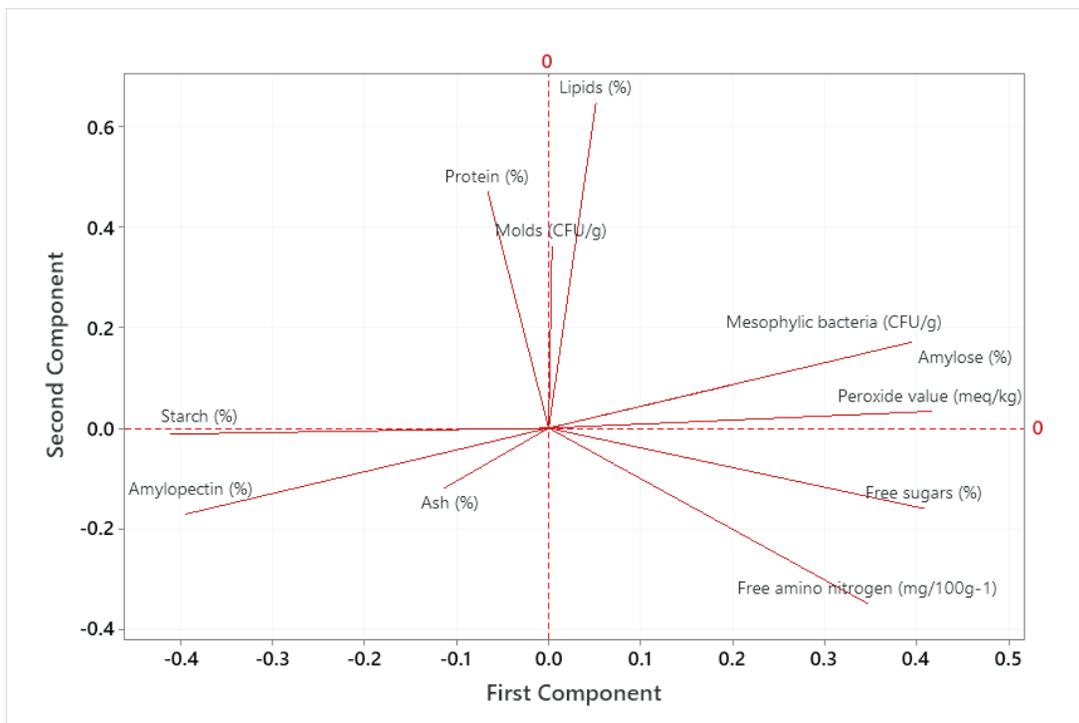


Figura 4. Vectores de correlación entre las variables analizadas en tortillas con diferente carga microbiológica.

Referencias

1. Campos-Baypoli, O. N., Rosas-Burgos, E. C., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., & Serna-Saldívar, S. O. (1999). Physiochemical Changes of Starch during Maize Tortilla Production. *Starch/Staerke*, 51(5), 173–177. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-379X\(199905\)51:5<173::AID-STAR173>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199905)51:5<173::AID-STAR173>3.0.CO;2-B)
2. Castro-Rosas, J., Estrada-Hernández, A., & Gómez-Al-dapa, A. (2008). Inocuidad de tortillas. *Proceedings of Congreso Internacional de Nixtamalización: Del Maíz a la Tortilla*, p. 40. Available from: http://congreso-de-nixtamalizacion.org/sites/congreso-denixtamalizacion.org/files/memorias/memoria_2008_CIN.pdf. Accessed 2.11.2012.
3. AACC International (2000) Approved Methods of the American Association of Cereal Chemist., 10th edn. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
4. AOAC (1990) Official methods of analysis (15th ed) Washington, DC: Association Official Analytical Chemists.
5. Mahalanobis, Prasanta Chandra (1936). "On the generalised distance in statistics". *Proceedings of the National Institute of Sciences of India*. 2 (1): 49–55.

Fotocatálisis con óxido de gadolinio para desinfección *in vitro* de cuatro serotipos de *Salmonella*

Hinojoza-Figueroa R. A.¹ • Macías-Rodríguez M. E.^{1*}
López-Álvarez M. A.¹ • Gutiérrez-González P.¹

Palabras clave: óxido de gadolinio, fotocatalisis, descontaminación, *Salmonella*
Key words: gadolinium oxide, photocatalysis, decontamination, *Salmonella*

Introducción

Según estadísticas de los CDC, 44% de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) que han llevado a la hospitalización por consumo de frutas frescas desde el año 1998 al 2018 son adjudicados a *Salmonella*. Se estima que este patógeno causa 1.35 millones de infecciones, 26,500 hospitalizaciones y 420 muertes anuales en Estados Unidos [1]. Por ello, continuamente se busca evaluar la efectividad de métodos comúnmente utilizados para la desinfección de frutas y hortalizas, donde los compuestos más utilizados son el cloro, peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio y ácidos orgánicos como el ácido cítrico, acético y láctico, entre otros [2].

Sin embargo, se buscan nuevos materiales de desin-

fección para reducir las limitaciones que pueden presentar los actuales. En este sentido, estudios recientes han mostrado que el uso de óxidos de lantánidos fotocatalizados, aportan beneficios medioambientales al oxidar contaminantes orgánicos sin dejar residuos tóxicos [3]. La fotocatalisis ha mostrado buenos resultados en la eliminación de virus y microorganismos; no obstante, se carece de experimentos enfocados a evaluar la efectividad de estos en la desinfección de alimentos y de manera particular de frutas y hortalizas. Por ello en este trabajo se propone sintetizar, caracterizar y estudiar el efecto del óxido de gadolinio nanoestructurado como fotocatalizador para la desinfección de una mezcla de *Salmonella* serotipos

1 Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán 1421, Guadalajara, 44430 Jalisco México.

* mesther.macias@academicos.udg.mx



Typhimurium, Enteritidis, Montevideo y Saintpaul utilizando un material de prueba (perlas de vidrio).

Aunado a esto, el hecho de que estos productos se consumen generalmente sin ningún tipo de cocción, eleva considerablemente la posibilidad de contraer enfermedades, lo cual está altamente influenciado por prácticas de consumo como el lavado o la desinfección previa.

Metodología

La síntesis del óxido de gadolinio se realizó utilizando el método de combustión. Para ello se empleó nitrato de gadolinio hexahidratado como material precursor y urea como combustible, en una relación molar equivalente de 1:2.5.

El análisis de la estructura cristalina se llevó a cabo mediante difracción de rayos X utilizando un difractómetro Empyrean®; la morfología del material se determinó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio TESCAN®, modelo MIRA, finalmente los valores Band-Gap fueron determinados en un equipo Cary Series Uv-Vis Spectrophotometer Agilent Technologies®.

Los ensayos de descontaminación se llevaron a cabo en una cámara cerrada construida de acrílico que en su interior cuenta con dos cámaras separadas por una base perforada parcialmente, de tal forma que la zona de fotocátalisis permite la no irradiación directa del alimento con las lámparas de UV (Figura 1).

Para las pruebas de descontaminación, se utilizaron perlas de vidrio estériles de 4mm de diámetro que fueron inoculadas e incubadas por 18h a 35°C con una mezcla de las cepas de *Salmonella*, serotipos Thyphi-

murium, Enteritidis, Montevideo y Saintpaul a una concentración de 1×10^6 cel/mL. Antes del ensayo de fotocátalisis las perlas se enjuagaron suavemente con 10 mL de búfer de fosfatos (PBS). Finalmente, las perlas se colocaron en cajas de Petri estériles, y cada caja se colocó abierta sobre el segundo nivel de la cámara, sometiéndolas a tratamiento fotocatalítico utilizando 1.5 y 3 mg/mL de óxido de gadolinio suspendido en agua destilada (colocado en la cámara inferior) por 5 y 10 min respectivamente.

Para el conteo de células viables, se colocaron las perlas de vidrio tratadas, en una bolsa de stomacher® la cual contenía 9mL de PBS estéril, se agitaron vigorosamente de manera manual con un ángulo de 90° por 1 min y se aplicó el método de frotación durante 3 min más. Posteriormente se prepararon diluciones seriadas y se sembró en superficie en placas de agar soya tripticaseína conteniendo 0.1% de rifampicina, incubando finalmente por 24h a 35°C.

El conteo de colonias fue realizado posteriormente y los resultados se expresaron en UFC/g de perlas. Los ensayos fueron realizados con un diseño experimental 2k y los resultados se analizaron con el Software Statgraphics® 18.

Resultados y discusión

La Figura 2 muestra la micrografía de los polvos de óxido de gadolinio. Como se observa, la superficie del material exhibe una morfología basada en la formación de abundantes poros. Esta morfología es típica del método de combustión y es atribuida al desprendimiento de los diversos gases generados durante la reacción de combustión.



Figura 1. Equipo de fotocátalisis.

Por otro lado, en la Figura 3 se presenta el patrón de difracción (difractograma) de los polvos obtenidos al finalizar la reacción de combustión y después de ser calcinados a 600°C. De acuerdo con el difractograma, no se observaron líneas de difracción que indicaran la formación de carbonatos o remanentes orgánicos provenientes de la descomposición térmica de la urea, esto indica que se obtuvo una fase pura y cristalina de este óxido. Cabe destacar que cada una de las líneas de difracción que aparecen en el difractograma fueron comparadas con las reportadas para el Gd₂O₃ utilizando el archivo de difracción JCPDF #1014 proveniente de la base de datos JADE. El valor de band gap obtenido fue de 5.2 eV, lo que es similar a lo previamente reportado (Figura 4).

Los ensayos de descontaminación microbiana se presentan en la Tabla 1. El análisis de varianza para el

diseño 2K (Tabla 2) muestra que todos los valores de P fueron mayores al nivel de confianza dado $\alpha=0.05$, lo que significa que ninguno de los efectos “tiempo, concentración del material o la interacción entre ellos” representa un valor significativamente diferente.

Debido a que los efectos del tiempo, concentración y su interacción no fueron significativos, se decidió realizar un segundo análisis en el cuál, se realizó un estadístico de T-*student* para comparar las medias de los resultados tras aplicar la fotocatalisis contra los controles que consistieron en perlas de vidrio inoculadas sin aplicar el tratamiento, obteniendo un valor de P=0.1095. Lo que significa que los valores no son significativamente diferentes entre las perlas con tratamiento de fotocatalisis o sin someterse al tratamiento.



Figura 2. Micrografía del óxido de gadolinio.

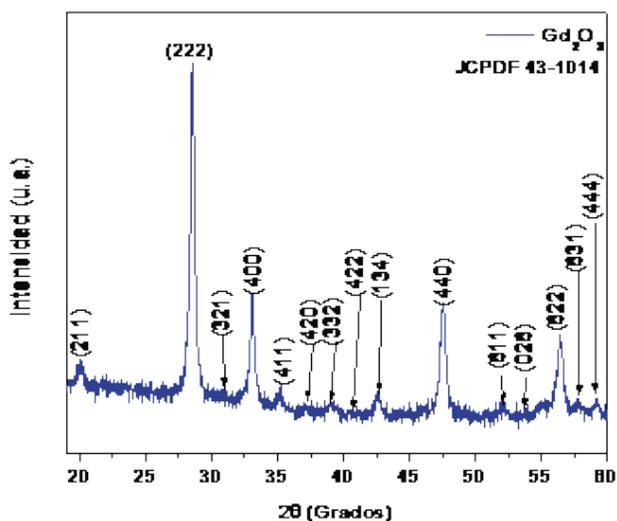


Figura 3. Difractograma del óxido de gadolinio.

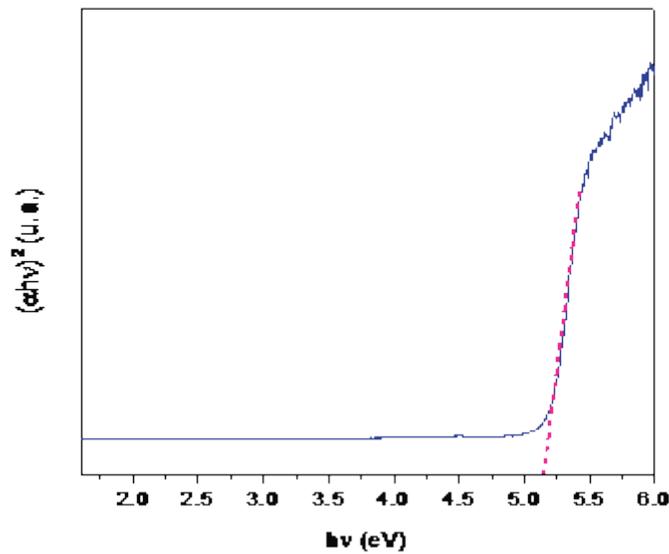


Figura 4. Band-gap del óxido de gadolinio.

Tabla 1. Log UFC/g a distintas condiciones de tratamiento fotocatalítico con óxido de gadolinio.

Tiempo de exposición (min)	Log UFC/g en perlas Concentración de óxido de gadolinio (mg/mL)		
	0	1.5	3
0	4.82 ± 0.07	ND	ND
5		3.70 ± 1.72	4.59 ± 0.51
10		3.77 ± 0.73	1.70 ± 0.00

Tabla 2. Análisis de varianza para la variable de respuesta Log UFC/g.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Tiempo	2.02005	1	2.02005	0.98	0.3776
B:Concentración	0.07605	1	0.07605	0.04	0.8568
AB	2.35445	1	2.35445	1.15	0.3447
Error total	8.2194	4	2.05485		
Total (corr.)	12.67	7			

Conclusión

Los resultados mostraron que las combinaciones elegidas de concentración de óxido de gadolinio y tiempos de exposición utilizados no fueron lo suficientemente efectivos para obtener un resultado significativamente diferente en la descontaminación de materiales inoculados con *Salmonella*, aunque se observa una tendencia que muestra una disminución en el número

de Log UFC/g de perlas con tratamiento fotocatalítico contra las perlas de vidrio sin tratamiento.

Agradecimientos

A la Universidad de Guadalajara y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada.

Referencias

1. Centers for Disease Control and Prevention. Salmonella. Available at: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html> Accessibility verified August 26, 2022.
2. Ortiz-Solà J., ;Abadias M., Colás-Medà P., Sánchez G., Bobo G., Viñas, I. Evaluation of a sanitizing washing step with different chemical disinfectants for the strawberry processing industry. *International Journal of Food Microbiology*. 2020 (334).
3. Veerachandra K., Yemmireddy, Yen-Con Hung. Using Photocatalyst Metal Oxides as Antimicrobial Surface Coatings to Ensure Food Safety—Opportunities and Challenges. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2017;4(16):617-631.

Aprovechamiento del suero lácteo para la elaboración de microcápsulas probióticas

Hernández Gaspar, V.¹ • de la Cruz Martínez, A.^{2*} • Sánchez Becerril, M.¹
Delgado Portales R. E.² • Borrás Enríquez A. J.³ • Valencia Medrano, A. E.¹

Palabras clave: secado por aspersión, goma Arabiga, inulina
Key words: spray drying, gum arabic, inulin

Introducción

Existe una gran variedad de quesos artesanales en México, representado por un aproximando de 40 tipos, el cual su proceso se basa en el uso de leche cruda y de ingredientes como el cuajo y la sal. Sin embargo, la elaboración de estos quesos, genera como principal residuo el suero lácteo en una cantidad de 200 millones de toneladas por año, ocasionando serios problemas de contaminación, principalmente en el agua y en el suelo, afectando seriamente la estructura física y química del mismo, generando una disminución de rendimiento de cultivos agrícolas y reduciendo la vida acuática al agotar el oxígeno disuelto [1].

Aunado a ello, el suero lácteo se puede considerar con alto valor nutrimental, principalmente lactosa, proteínas, materia grasa y minerales como calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio. Las proteínas presentes en el suero, lactoalbúmina y lactoglobulina, debido a su capacidad de formación de geles, solubilidad y viscosidad pueden dar pauta a ser usado por agente encapsulante. Por lo cual el objetivo de este trabajo es evaluar la factibilidad del uso de goma arábiga, inulina y suero lácteo como agentes encapsulantes en la microencapsulación mediante secado por aspersión de *Lactobacillus casei*.

1 División de Ingeniería en Industrias Alimentarias del Tecnológico de Estudios Superiores de San Felipe del Progreso. Av. Instituto Tecnológico s/n Ejido de San Felipe, 50640, San Felipe del Progreso, Estado de México, México.

2 Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Martínez #6, Av. Dr. Manuel Nava, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, México.

3 División de Ingeniería en Energías Renovables del Tecnológico de Estudios Superiores de San Felipe del Progreso. Av. Instituto Tecnológico s/n Ejido de San Felipe, 50640, San Felipe del Progreso, Estado de México, México.

* alejandro.decruz@uaslp.mx



Metodología

Cultivo de la Cepa

Se utilizó una cepa de cultivos liofilizados de la bacteria *Lactobacillus casei* (SACCO BGP 93) para su activación, realizando la activación con Caldo MRS y L-cisteína, incubando a 35°C a 24 horas para realizar la primera activación y posteriores activaciones cada 24 horas.

Preparación de muestras

Las suspensiones de material de pared que se prepararon fueron con Goma Arábica-suero lácteo e inulina-suero lácteo de acuerdo a la Tabla 1.

Encapsulación mediante secado por aspersión

La encapsulación se realizó en un equipo Büchi mini Spray Dryer B-290® con las condiciones de rendimiento de la bomba de alimentación a un 25%, rendimiento del Aspirador al 100% y a una presión de 1.5 bar y ajustando las temperaturas de acuerdo al diseño experimental de la Tabla 1.

Viabilidad de bacterias probióticas

La evaluación de la viabilidad se determinó en el caldo de la activación, en la solución encapsulante y en las microcápsulas obtenidas después del secado, utilizando la técnica de Miles y Misra que consiste en sembrar por triplicado alícuotas de 20 µL de muestras de solución, que previamente fueron diluidas en concentraciones de 10⁻¹ a 10⁻⁶, en una solución de fosfatos.

La siembra se realizó en cajas Petri con agar MRS y L-cisteína. Las placas fueron colocadas en un desecador de policarbonato a una presión de vacío de 17 inHg, para favorecer las condiciones de anaerobiosis, por 48h a 35°C.

Actividad de agua

Para la determinación de la actividad de agua se realizó mediante un higrómetro de la marca Aqualab Dew Point Water Activity Meter 4TE® utilizando aproximadamente 1 gramo del encapsulante obtenido inmediatamente después de finalizar el secado.

Humedad

La determinación de humedad se realizó en una termobalanza de la Marca OHAUS MB 90®, usando 1 gramo a 140°C durante 5 minutos.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa Statistica StatSoft inc. Versión 7.1®, para realizar la interpretación de resultados

Resultados y discusión

De acuerdo a la experimentación realizada se obtuvieron los siguientes resultados, expresados en la Tabla 2, donde de acuerdo a la Figura 1, la Humedad se vio afectada por la temperatura a la que fue sometido el tratamiento de secado, indicando que a menor temperatura (170°C) se obtuvieron datos de humedad bajos y a mayor temperatura (190°C), la humedad fue mayor.

Tabla 1. Valores del diseño experimental 2³ de la encapsulación por aspersión.

Variables	Valor máximo	Valor bajo	Punto central
Temperatura de secado (°C)	190°C	170°C	180°C
Concentración (%p/p)	60:40	40:60	25:25:50
Tipo de material de pared	GA-SL	I-SL	GA-I-SL

Donde: GA= Goma Arábica; SL= Suero Lácteo; I=Inulina

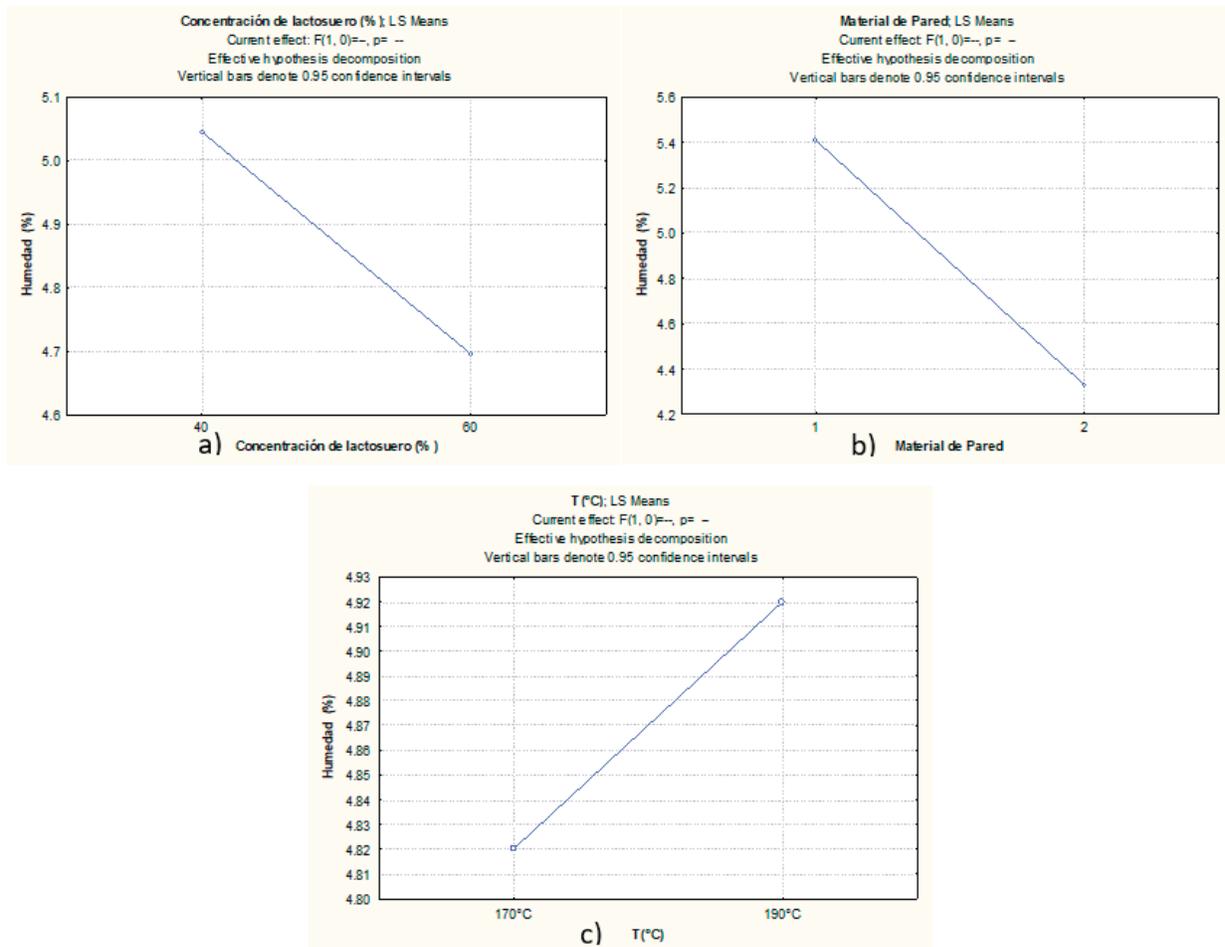


Figura 1. Humedad; a) Concentración de Lactosuero; b) Material de Pared (1-Goma Arábica y 2-Inulina) y c) Temperatura (°C).

Tabla 2. Resultados físicos y microbiológicos de los microencapsulados.

No. Experimento	Temperatura (°C)	Concentración (% p/p)	Material de pared	% Humedad	Actividad de agua (a_w)	Viabilidad Sol (UFC/g)	Viabilidad (UFC/g)	Peso obtenido (g)
1	170°C	60:40	Goma arábica-suero lácteo	4.88	0.2425	4.30E+08	4.60E+08	7.7
2	170°C	40:60	Goma arábica-suero lácteo	5.36	0.2791	2.70E+09	2.10E+09	4
3	190°C	60:40	Goma arábica-suero lácteo	6.77	0.3301	3.10E+08	1.60E+07	8
4	190°C	40:60	Goma arábica-suero lácteo	4.63	0.2607	2.10E+09	1.11E+09	1.6
5	170°C	60:40	Inulina-suero lácteo	3.96	0.1967	1.20E+09	1.30E+09	6.2
6	170°C	40:60	Inulina-suero lácteo	5.08	0.2949	3.90E+09	3.70E+09	3
7	190°C	60:40	Inulina-suero lácteo	4.57	0.254	2.30E+09	2.50E+09	6.9
8	190°C	40:60	Inulina-suero lácteo	3.71	0.1866	2.10E+09	1.80E+09	4.6
9	180°C	25:25:50	Goma arábica-Inulina-Suero lácteo	3.85	0.2187	2.70E+09	2.60E+09	5.1
10	180°C	25:25:50	Goma arábica-Inulina-Suero lácteo	4.19	0.2104	2.30E+09	2.60E+09	5.2
11	180°C	25:25:50	Goma arábica-Inulina-Suero lácteo	3.32	0.1756	1.20E+08	1.40E+09	5.1

Esto se puede ver afectando por la combinación de materiales encapsulantes. Principalmente por la combinación del suero lácteo, ya que se ha reportado que el incremento de la temperatura, genera un valor de humedad menor, sin embargo los valores que se obtuvieron pueden permitir la estabilidad en su almacenamiento y la vida útil [2].

La viabilidad del *Lactobacillus casei*, evaluada en los microencapsulados, se logra observar en mayor

cantidad, en temperaturas de 170°C, y cuando la matriz encapsulante está compuesta en mayor concentración por suero lácteo, esto debido a las proteínas y carbohidratos presentes en el suero. Con respecto a la combinación de inulina con suero lácteo se pudo apreciar una mayor presencia de *Lactobacillus casei*, debido a la acción prebiótica de la Inulina, ayudando a la estimulación del crecimiento del microorganismo [3], como se puede apreciar en la Figura 2.

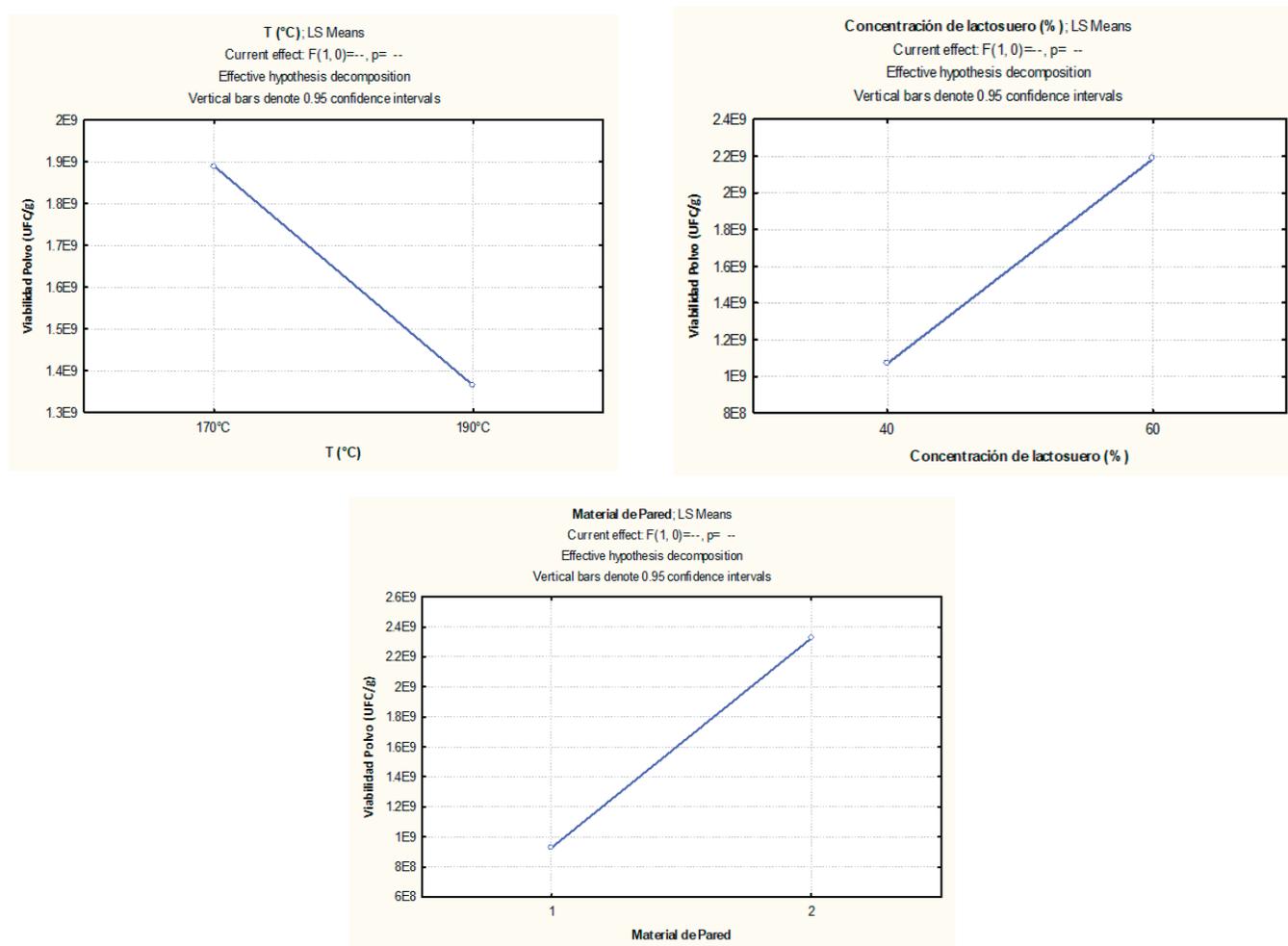


Figura 2. Viabilidad en microencapsulados: a) Temperatura (°C); b) Conc. Lactosuero y c) Material de Pared (1-Goma Arabiga y 2-Inulina).

Conclusión

Es factible el uso del suero lácteo como agente encapsulante, además que el proceso presenta un gran potencial para su escalado a nivel industrial, esto con el fin de aprovechar esta sustancia, que es desechada.

Las microcapsulas obtenidas tienen presente una gran cantidad del probiótico *Lactobacillus casei* por lo que su aplicación a una matriz alimentaria puede dar

pauta a la obtención de un alimento funcional, ayudando principalmente a equilibrar la microbiota intestinal del huésped.

Es necesario realizar la evaluación de la resistencia del *Lactobacillus casei* durante el proceso digestivo, es por ello que aún se debe continuar con la investigación del proyecto.

Referencias

1. Rodríguez, A.; Abad, C.; Pérez, A.; Diéguez, K. (2020). Preparation of a beverage based on whey and pulp of *Theobroma grandiflorum*. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. Volumen (18). Pp. 166-175.
2. Molina, M. (2016). Desarrollo de leche de soya en polvo con un ingrediente funcional por medio de la microencapsulación de cultivos probióticos (*Lactobacillus casei* 01) utilizando el método de secado por aspersión. Tesis para la Obtención del Título de Ingeniero Químico. Escuela Politécnica Nacional. Quito. Recuperado de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/16844>
3. Mariño, A.; Nuñez, M.; Barreto, J. (2016). Microbiota, Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. *Revista Acta Médica*. Volumen (17).

Análisis de terpenos en aceites esenciales obtenidos mediante extracción por microondas

Sánchez Pazos, Y.¹ • Rivera Márquez, J. A.¹ • Luna Guevara, M. L.¹ • Conde Hernández, L. A.^{1*}

Palabras clave: monoterpenos, sesquiterpenos, antimicrobianos
Key words: monoterpenes, sesquiterpenes, antimicrobials

Introducción

Los aceites esenciales (AE) son usualmente una mezcla compleja de compuestos naturales, tanto de compuestos polares como no polares [1]. En general, los constituyentes en los aceites esenciales son terpenos, terpenoides, fenilpropanoides y otros constituyentes. Los compuestos bioactivos que se encuentran en los AE, especialmente los terpenos y los terpenoides, poseen una amplia gama de actividades biológicas [2].

Los terpenos son moléculas químicas sintetizadas a partir del isopreno, 2-metil-1,3 butadieno que se polimerizan, obteniendo así una de las familias de metabolitos secundarios más diversificadas de la naturaleza. Los terpenos son clasificados en base al número y estructura de los átomos de carbono. Estos pueden estar en arreglo lineal y en arreglos cíclicos.

Una sola unidad de isopreno representa a los hemiterpenos (C5), siendo esta la estructura más básica de los terpenos. Los terpenos que presentan dos unidades de isoprenos son llamados monoterpenos (C10); los de tres, sesquiterpenos (C15); los de cuatro, diterpenos (C20); los de cinco, sesterterpenos (C25); los de seis, triperpenos (C30); los de ocho, tetraterpenos (C40) y los de más de diez, politerpenos. Todos estos compuestos bioactivos formados por varias unidades de isopreno son la mayor clase de compuestos orgánicos producidos en los AE de varias plantas. Tienen un papel importante en el tratamiento de varios tipos de enfermedades, en muchos estudios *in vitro* e *in vivo*, como agentes anticancerígenos, antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes, antialérgicos,

1 Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. San Claudio s/n, Cd Universitaria, La Hacienda, 72592 Puebla, Puebla, México

* lacondeh@hotmail.com



neuroprotectores, antiagregantes, anticoagulantes, sedantes y analgésicos a través de la actividad de los monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos y tetraterpenos y compuestos glucósidos [3]. Se ha informado de que los terpenos ejercen actividades antimicrobianas tanto contra las bacterias susceptibles a los antibióticos como contra las resistentes a los mismos, principalmente a través de su capacidad para promover la ruptura celular y la inhibición de la síntesis de proteínas y ADN [4]. El carvacrol, la carvona, el eugenol, el geraniol y el timol fueron algunos de los terpenos que demostraron una acción antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* [5].

Dentro de los métodos de extracción de los AE encontramos dos clasificaciones; métodos convencionales o clásicos: hidrodestilación, destilación por arrastre con vapor, extracción con solventes orgánicos y presión en frío; y métodos avanzados o innovadores: extracción con fluidos supercríticos, extracción con líquidos subcríticos, extracción asistida con ultrasonido, extracción por microondas sin disolventes, hidrodifusión de microondas y gravedad, la destilación de vapor por microondas y la difusión de vapor por microondas, la caída de presión controlada al instante y extracción asistida por microondas [6].

Como puede observarse son distintos métodos de obtención de aceites esenciales, por lo que este trabajo se centrará únicamente en la extracción asistida por microondas, ya que este método puede conside-

rarse como una tecnología verde que ofrece importantes ventajas sobre la hidrodestilación convencional: tiempos de extracción más cortos con rendimientos similares, considerable ahorro de energía, técnica respetuosa con el medio ambiente y menor costo.

El propósito de esta revisión es presentar una visión general de los terpenos encontrados en aceites esenciales obtenidos mediante extracción por microondas, haciendo énfasis en su aplicación como antimicrobianos.

Metodología

Toda la información disponible se recopiló (2010-2020) a partir de la base de datos electrónica “Scopus”®, los artículos pertenecen al “Journal Citation Report (JCR)”. La búsqueda se realizó en el año 2021, se utilizaron las siguientes palabras clave: “extracción por microondas”, “aceites esenciales”, “terpenos” y “optimización”. Este artículo presenta una revisión de la literatura que resume los mejores datos avanzados sobre únicamente terpenos (sin incluir a los terpenoides, fenilpropanidos y otros constituyentes) encontrados en los aceites esenciales obtenidos por extracción con microondas, centrándose en la aplicación como antimicrobianos.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran las especies analizadas, así como su nombre científico.

Tabla 1. Aceites esenciales investigados en este estudio.

Nombre científico de la especie	Nombre común
<i>Amomum tsao-ko</i>	Tsaoko, hierba fruta
<i>Amorpha fruticosa</i>	Falso índigo, anil bastardo de Cayena
<i>Cinnamomi cortex</i>	Corteza de cinamomo, tejpat
<i>Cinnamomun camphora</i>	Alcanforero
<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	Canela del pinar
<i>Ferulago angulata</i>	Ferulago, chavil
<i>Fructus forsythiae</i>	Lian Qiao
<i>Helichrysum arenarium</i>	Siempre viva del monte, pluma de príncipe
<i>Lavandula angustifolia</i>	Lavanda
<i>Magnolia sieboldii.</i>	Magnolia de oyama o de montaña coreana
<i>Nigella sativa</i>	Ajenuz, agenuz, arañuel, semilla o comino negro
<i>Ocimum basilicum</i>	Albahaca
<i>Pterodon emarginatus</i>	Sucupira- branca
<i>Salvia officinalis</i>	Salvia
<i>Vaccinium uliginosum</i>	Arándano azul o negro o nero, nadius
<i>Cinnamomum japonicum</i>	Canela japonesa
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero

Después de reunir la información se analizó y se integró en distintas tablas que poseen los siguientes campos: tipo de terpeno, índice de retención, nombre de la especie, técnica de análisis, referencia. Es importante destacar que se realizó la clasificación de terpenos, por lo tanto, la separación de las especies dependerá de ello, siendo el parámetro las unidades de isopreno con las que cuenta cada terpeno; es así como se clasifican en dos grandes grupos: monoterpenos y sesquiterpenos. En los artículos analizados no se encontraron diterpenos y sesterterpenos.

Los hemiterpenos son una parte menor de los terpenos que se encuentran en los AE. El más destacado es el isopreno, que emiten las hierbas y las hojas de muchos árboles, como las coníferas, los robles, los álamos y los sauces. Algunos ejemplos de hemiterpenos son los ácidos angélicos, tiglico, isovalérico y seneccioico [7]. En los artículos revisados, no se encontró ningún hemiterpeno, ya que principalmente se encuentran en hojas y hierbas de árboles.

En la Tabla 2 clasifica a los monoterpenos de distintas especies según la bibliografía consultada, recordemos que este tipo de terpenos poseen diez unidades de carbono y su forma química general es $C_{10}H_n$. De la tabla 2, podemos examinar que los monoterpenos más comunes dentro de las especies estudiadas, son α -pineno y γ -terpineno, los cuales dan a la planta la propiedad de antiinflamatoria, además cabe mencionar que sus estructuras aportan un olor característico a pino.

Los sesquiterpenos son el siguiente tipo de terpenos, los cuales están ordenados en la Tabla 3. El sesquiterpeno más común es el cariofileno, contenido en 11 especies de las 18 estudiadas, dicho compuesto es uno de los más utilizado en la industria alimentaria, ya que constituye parte de aditivos; además de tener propiedades antiinflamatorias. Jioa et al. [8] no reportan ningún sesquiterpeno en aceite esencial de *Fructus forsythiae*, únicamente monoterpenos. Mientras que Vila-Verde et al. [9] y Tran et al. [10] solo reportan monoterpenos para el aceite esencial de *Pterodon emarginatu* y de albahaca. Liu et al. [11] reportan valores de índices de retención, de los compuestos del aceite esencial de lavanda, muy diferentes a los reportados por otros autores, lo que podría deberse a que reportan los Índices Kovats a n-alcános (C5-C24) en

una columna HP-INNOWax®.

No todos los autores reportan todos los componentes del aceite esencial, como es el caso de Akhbari et al. [12], quienes solo reportan cuatro compuestos y entre ellos se encontró un monoterpeno.

Los aceites esenciales de lavanda obtenidos mediante hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por microondas (HDAM) se probaron contra cinco microorganismos diferentes, que incluían tres bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Actinomyces viscosus*) y dos hongos (*Aspergillus niger* y *Penicillium* sp.). Los valores de diámetro de la zona de inhibición del aceite esencial se determinaron por el método de difusión en disco de papel, tanto para HD, como para HDAM, los valores estuvieron en el rango de 9.3-10.2 mm y 9.0-10.5 mm, respectivamente. El aceite por HDAM mostró una mayor actividad antimicrobiana contra todos los microorganismos ensayados que el extracto por HD, excepto *Penicillium* sp. Los valores de la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial se determinaron por el método de macrodilución en caldo y se probaron contra cinco microorganismos. Los valores de CMI oscilaron entre 0.125 y 0.250 mg/mL para los aceites obtenidos por el método de HDAM y por el método de HD. Según el valor de la CMI, el aceite HDAM fue más eficaz contra *Actinomyces viscosus* (0.125 mg/mL) y el aceite HD fue más eficaz contra *Penicillium* sp. (0.125 mg/mL), respectivamente.

Por lo general, las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales están estrechamente relacionadas con sus componentes más abundantes en ellos. Sin embargo, los estudios que investigan la relación entre la actividad biológica y la composición química de la lavanda no han encontrado ninguna correlación entre el porcentaje de los componentes predominantes y la actividad antimicrobiana. Así, la actividad podría atribuirse a la presencia de componentes menores. Al comparar las muestras de aceite esencial extraídas mediante HDAM y HD no se observaron diferencias notables en cuanto a los compuestos identificados. Sin embargo, las concentraciones de los compuestos variaron mucho con el método de extracción.

Por lo tanto, el aceite esencial de lavanda extraído por diferentes métodos tenía una actividad antimicrobiana diferente, lo que sugiere que la actividad antimicro-

Tabla 2. Monoterpenos encontrados en aceites esenciales

No.	Monoterpeno	Índice de retención	Especie	Referencia
1	α -Tujeno (C ₁₀ H ₁₆)	930	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		929	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]
		1011	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		899	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		925	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
2	α -Pinoeno (C ₁₀ H ₁₆)	937	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		924	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		934	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]
		1023	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		924	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		931	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		911	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		940	<i>Rosmarinus officinalis</i>	[12]
		937	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		917	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		937	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
3	Camfeno (C ₁₀ H ₁₆)	953	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		1058	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		918	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		943	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		1084	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
		952	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		933	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
4	Sabineno (C ₁₀ H ₁₆)	952	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		935	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		1114	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		975	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		964	<i>Nigella sativa</i>	[22]
5	β -Tujeno (C ₁₀ H ₁₆)	969	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		1116	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		972	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
6	β -Pinoeno (C ₁₀ H ₁₆)	925	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		979	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
8	α -Felandreno (C ₁₀ H ₁₆)	980	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1103	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		958	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]
		941	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		980	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		979	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		961	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		974	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		980	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		989	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		1158	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
7	β -Mirceno (C ₁₀ H ₁₆)	992	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1178	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
		975	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		966	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		997	<i>Nigella sativa</i>	[22]
8	α -Felandreno (C ₁₀ H ₁₆)	1003	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1202	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		1006	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		984	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
9	3-Careno (C ₁₀ H ₁₆)	1013	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1011	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
10	δ -3-Careno (C ₁₀ H ₁₆)	1007	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		970	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
11	β -Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)	998	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
		1271	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]
		1044	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1044	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1046	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]

No.	Monoterpeno	Índice de retención	Especie	Referencia		
12	γ-Terpineno (C ₁₀ H ₁₆)	1060	<i>Anomum tsao-ko</i>	[13]		
		1010	<i>Ferulago angulata</i>	[18]		
		1247	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]		
		1054	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]		
		1060	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]		
		1023	<i>Nigella sativa</i>	[22]		
		1062	<i>Magnolia sieboldii.</i>	[24]		
		1061	<i>Salvia officinalis</i>	[14]		
		1060	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]		
		1064	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]		
		1054	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]		
		13	α-Terpineno (C ₁₀ H ₁₆)	1032	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
				1087	<i>Anomum tsao-ko</i>	[13]
				1080	<i>Cinnamomi cortex</i>	[25]
1067	<i>Cinnamomun camphora</i>			[17]		
1008	<i>Nigella sativa</i>			[22]		
1178	<i>Fructus forsythiae</i>			[8]		
1017	<i>Salvia officinalis</i>			[14]		
1017	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>			[19]		
14	(-)-Canfeno (C ₁₀ H ₁₆)	951	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
15	β-Sabineno (C ₁₀ H ₁₆)	952	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
16	α-Mirceno (C ₁₀ H ₁₆)	958	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
17	α-Felandreno (C ₁₀ H ₁₆)	966	<i>Ferulago angulata</i>	[18]		
		996	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
		998	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
		1296	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
18	(+)2-Careno (C ₁₀ H ₁₆)	1023	<i>Cinnamomun camphora</i>	[17]		
		1213	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]		
		1021	<i>Magnolia sieboldii.</i>	[24]		
19	β-Cimeno (C ₁₀ H ₁₄)	1013	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]		
		978	<i>Ferulago angulata</i>	[18]		
		1025	<i>Nigella sativa</i>	[22]		
20	β-Felandreno (C ₁₀ H ₁₆)	1023	<i>Salvia officinalis</i>	[14]		
		1026	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]		
		1021	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]		
21	p-Cimeno (C ₁₀ H ₁₄)	1021	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]		
		1044	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]		
		952	<i>Ferulago angulata</i>	[18]		
22	Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)	1211	<i>Fructus forsythiae</i>	[8]		
23	Mirceno (C ₁₀ H ₁₆)	995	<i>Magnolia sieboldii.</i>	[24]		
		1220	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
		1032	<i>Salvia officinalis</i>	[14]		
24	Limoneno (C ₁₀ H ₁₆)	-	<i>Ocimum</i>	[10]		
		-	<i>Basilicum</i>			
		990	<i>Ferulago angulata</i>	[18]		
		1037	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]		
25	Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)	1032	<i>Cinnamomi cortex</i>	[25]		
		1039	<i>Magnolia sieboldii.</i>	[24]		
		1050	<i>Salvia officinalis</i>	[14]		
		1252	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
26	Trans-β-Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)	1270	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
27	β-Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)	1296	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
28	β-Cimeno (C ₁₀ H ₁₄)	1308	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]		
29	Terpinoleno (C ₁₀ H ₁₆)	1088	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]		
		1131	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]		
30	2,4,6-octatrieno, 2,6-dimetil-, (E, Z)- (C ₁₀ H ₁₆)	1338	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]		
31	1,5,5-trimetil-6-metileno-ciclohexeno (C ₁₀ H ₁₆)	1000	<i>Nigella sativa</i>	[22]		
32	N-decano (C ₁₀ H ₂₂)	1038	<i>Salvia officinalis</i>	[14]		
33	(Z)-β-Ocimeno (C ₁₀ H ₁₆)					

Tabla 3. Sesquiterpenos encontrados en aceites esenciales.

Nº	Sesquiterpeno	Índice de retención	Especie	Referencia
1	γ -Elemeno (C ₁₅ H ₂₄)	1418	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1431	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1436	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
		1465	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1347	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
2	β -Elemeno (C ₁₅ H ₂₄)	1394	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1391	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
		1441	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1394	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
3	α -Cubebene (C ₁₅ H ₂₄)	1343	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
4	Ylangene (C ₁₅ H ₂₄)	1364	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1372	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1370	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
4	α -Copaeno (C ₁₅ H ₂₄)	1392	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		1376	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1376	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
5	β -Copaeno (C ₁₅ H ₂₄)	1376	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
		1376	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
		1753	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
6	β -Cubebeno (C ₁₅ H ₂₄)	1422	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1388	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
7	α -Gurjuneno (C ₁₅ H ₂₄)	1388	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1408	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
8	Cariofileno (C ₁₅ H ₂₄)	1423	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1643	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
		1423	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1410	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1417	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1446	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
		1417	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
		1423	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
9	E-Cariofileno (C ₁₅ H ₂₄)	1424	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		1494	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
10	β -Cariofileno (C ₁₅ H ₂₄)	1399	<i>Cinnamomum camphora</i>	[17]
		1418	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
11	α -Bergamoteno (C ₁₅ H ₂₄)	1433	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1617	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
12	γ -Gurjuneno (C ₁₅ H ₂₄)	1472	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1407	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
13	Humuleno (C ₁₅ H ₂₄)	1488	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1715	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
		1452	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1447	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1454	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
		1424	<i>Cinnamomum camphora</i>	[17]
		1455	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1453	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
14	Biciclosesquifelandreno (C ₁₅ H ₂₄)	1447	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
		1498	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
15	β -Sesquifelandreno (C ₁₅ H ₂₄)	1365	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
16	γ -Muroleno (C ₁₅ H ₂₄)	1477	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1457	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1479	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
17	β -Selineno (C ₁₅ H ₂₄)	1493	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1464	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1484	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
18	Selineno (C ₁₅ H ₂₄)	1470	<i>Cinnamomum camphora</i>	[17]
		1488	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
19	δ -Selineno (C ₁₅ H ₂₄)	1500	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
20	α -Muroleno (C ₁₅ H ₂₄)	1504	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1472	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1502	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		1504	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
		1494	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]

Nº	Sesquiterpeno	Índice de retención	Especie	Referencia
21	β-Muroloeno (C ₁₅ H ₂₄)	1474	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
22	γ-Muroloeno (C ₁₅ H ₂₄)	1475	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		1478	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
23	γ-Cadineno (C ₁₅ H ₂₄)	1524	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1511	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
		1516	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
24	δ-Cadineno (C ₁₅ H ₂₄)	1528	<i>Amorpha fruticosa</i>	[20]
		1519	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1484	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1522	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1522	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1498	<i>Amomum tsao-ko</i>	[13]
		1525	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
		1519	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
		1503	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
		25	α-Calacoreno (C ₁₅ H ₂₄)	1536
1528	<i>Helichrysum arenarium</i>			[21]
1542	<i>Cinnamomi Cortex</i>			[25]
26	α-Santaleno (C ₁₅ H ₂₄)	1608	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
27	α-Farneseno (C ₁₅ H ₂₄)	1487	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1545	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
28	Cis-β-Farneseno (C ₁₅ H ₂₄)	1685	<i>Lavandula angustifolia</i>	[11]
29	β-Farneseno (C ₁₅ H ₂₄)	1459	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
30	Aloaromandrendeno (C ₁₅ H ₂₄)	1459	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1454	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1469	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
		1459	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
31	Aromandrendeno (C ₁₅ H ₂₄)	1436	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
		1449	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		1440	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
32	D-Germacreno (C ₁₅ H ₂₄)	1480	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1442	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		1461	<i>Cinnamomum camphora</i>	[17]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
		1339	<i>Ferulago angulata</i>	[18]
33	β-Germacrene (C ₁₅ H ₂₄)	1535	<i>Cinnamomum camphora</i>	[17]
34	Biciclogermacreno (C ₁₅ H ₂₄)	1496	<i>Cinnamomum longepaniculatum</i>	[19]
		1492	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
35	α-Guaieno (C ₁₅ H ₂₄)	1439	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
		1478	<i>Magnolia sieboldii</i>	[24]
36	β-Bisaboleno (C ₁₅ H ₂₄)	1506	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
		1499	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
		1500	<i>Nigella sativa</i>	[22]
		1531	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
37	trans-α-Bisabolol (C ₁₅ H ₂₄)	1531	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
38	cis-Sesquisabineno	1523	<i>Pterodon emarginatus</i>	[9]
39	γ-Malieno (C ₁₅ H ₂₄)	1435	<i>Helichrysum arenarium</i>	[21]
40	α-Bulneseno (C ₁₅ H ₂₄)	1672	<i>Cinnamomum japonicum</i>	[23]
		-	<i>Ocimum basilicum</i>	[10]
41	Viridifloreno (C ₁₅ H ₂₄)	1495	<i>Salvia officinalis</i>	[14]
42	Curcumeno (C ₁₅ H ₂₂)	1481	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
43	α-Curcumeno (C ₁₅ H ₂₂)	1479	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
44	Calameneno (C ₁₅ H ₂₂)	1521	<i>Vaccinium uliginosum</i>	[26]
45	Sativen (C ₁₅ H ₂₄)	1396	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
46	α-Cedreno (C ₁₅ H ₂₄)	1408	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
47	Eremofileno (C ₁₅ H ₂₄)	1486	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
48	Cadaleno (C ₁₅ H ₁₈)	1652	<i>Cinnamomi Cortex</i>	[25]
49	α-Longipineno (C ₁₅ H ₂₄)	1353	<i>Nigella sativa</i>	[22]
50	Longifoleno (C ₁₅ H ₂₄)	1432	<i>Nigella sativa</i>	[22]

crobiana no es el resultado de estos compuestos, sino que también puede estar relacionada con las concentraciones de éstos. Además, también se especuló que un efecto sinérgico entre los componentes mayores y menores del aceite esencial contribuyó a la actividad antibacteriana. Estos resultados demostraron que el aceite esencial de lavanda producido por HDAM era relativamente más activo que el aceite HD. Por lo tanto, la HDAM podría ser un buen método alternativo para extraer el aceite esencial para el experimento antimicrobiano [11].

Por otra parte, Cui et al. [13] reportan las actividades antimicrobianas de los AE de *Amomun tsao-ko* contra cinco bacterias gram-positivas y dos gram-negativas. Estas se llevaron a cabo mediante la evaluación de los valores de las CMI y las concentraciones bactericidas mínimas (CBM). Por un lado, los AE de *Amomun tsao-ko* obtenidos por extracción por microondas libre de solventes modificado (EMLSM), poseían un amplio espectro de actividad contra todas las cepas probadas. Por otro lado, entre las cepas ensayadas, los valores de CMI y CBM de *S. epidermidis*, *P. acnes*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* oscilaban entre 2.94 mg/ml y 5.86 mg/ml y entre 5.86 mg/ml y 11.73 mg/ml, respectivamente. La actividad antimicrobiana de los AE estaba relacionada con su composición, los grupos funcionales, la naturaleza de las estructuras químicas y sus proporciones. Los componentes químicos de los AE de *Amomun tsao-ko* mostraron que el 1,8-cineol, el α -felandreno, el geraniol, el geranial, el α -terpineol y el β -pineno, eran los componentes principales. El componente α -felandreno y el geranial mostraron un buen efecto inhibidor contra varias bacterias. Se ha descubierto que el geraniol, un terpeno olefínico, inhibe el crecimiento de las cepas de *C. albicans* y *S. cerevisiae*. El predominio del β -pineno y el α -pineno en los AE y su eficacia contra las bacterias gram-positivas y los hongos también se han notificado en otros estudios. Por lo tanto, fue precisamente el alto contenido de monoterpenos oxigenados en los AE de *Amomun tsao-ko* extraídos por EMLSM lo que generó la mayor actividad antimicrobiana.

A su vez Wei et al. [14] evaluaron las actividades antimicrobianas de los aceites esenciales obtenidos por HD, extracción por microondas libre de solventes (EMLS) y EMLS de doble refrigeración. En general, es-

tos aceites esenciales mostraron un amplio espectro de actividad contra los microorganismos probados, y fueron más eficaces contra las bacterias gram-positivas, especialmente, *B. subtilis* y *S. epidermidis*. Esta discrepancia puede atribuirse a las diferencias en las membranas celulares de las cepas bacterianas. Curiosamente, los aceites esenciales obtenidos por EMLS y EMLS de doble refrigeración fueron más activos contra *B. subtilis* y *S. epidermidis* que los obtenidos por HD. Varios estudios han demostrado el potencial antimicrobiano del aceite esencial de *Salvia officinalis*. Delamare et al. [15] atribuyeron su propiedad antimicrobiana a la presencia de tres monoterpenos oxigenados principales (1,8-cineol, tuyona y alcanfor) que abundaban en los aceites esenciales obtenidos por EMLS y EMLS de doble refrigeración. Sin embargo, también es razonable creer que, debido a la complejidad del aceite esencial, es difícil atribuir su efecto antimicrobiano total a uno o unos pocos principios.

Muchos estudios han demostrado que los aceites esenciales mostraron actividades antimicrobianas más pronunciadas que sus componentes principales y los efectos sinérgicos de diferentes componentes en el aceite esencial fueron bien observados. Además, aparte de esos componentes principales, el β -cariofileno, el borneol y el α -pineno, así como otros constituyentes menores que abundaban en el aceite esencial obtenido por HD, también tenían una excelente actividad antimicrobiana [16]. Por lo tanto, era más posible que las actividades más pronunciadas de los aceites esenciales de *Salvia officinalis* obtenidos por EMLS y EMLS de doble refrigeración correspondieran a mejores efectos sinérgicos, aunque fueran más ricos en 1,8-cineol, tuyona y alcanfor.

Conclusión

La mayoría de las especies de plantas estudiadas reflejan la presencia de terpenos de los cuales usualmente más del 50% son sesquiterpenos. Los compuestos más encontrados dentro de los aceites esenciales analizados y clasificados son el α pineno como monoterpeno y el cariofileno como sesquiterpeno.

Es necesario explorar más a fondo la relación entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, para explicar claramente su actividad.

Referencias

1. Masango P. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J Clean Prod.* 2005;13(8):833-839. doi:10.1016/j.jclepro.2004.02.039
2. Masyita A, Mustika Sari R, Dwi Astuti A, et al. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chem X.* 2022;13. doi:10.1016/j.fochx.2022.100217
3. Zhao DD, Jiang LL, Li HY, Yan PF, Zhang YL. Chemical components and pharmacological activities of terpene natural products from the genus paeonia. *Molecules.* 2016;21(10). doi:10.3390/molecules21101362
4. Álvarez-Martínez FJ, Barrajon-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine.* 2021;90. doi:10.1016/j.phymed.2021.153626
5. Gallucci MN, Oliva M, Casero C, et al. Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour Fragr J.* 2009;24:348-354. doi:10.1002/ffj
6. Conde-Hernández LA, Botello-Ojeda AG, Alonso-Calderón AA, Osorio-Lama MA, Bernabé-Loranca MB, Chavez-Bravo E. optimization of extraction of essential oils using response surface methodology: a review. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants.* 2021;24(5):937-982. doi:10.1080/0972060X.2021.1976286
7. Falleh H, ben Jemaa M, Saada M, Ksouri R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chem.* 2020;330. doi:10.1016/j.foodchem.2020.127268
8. Jiao J, Gai QY, Fu YJ, et al. Microwave-assisted ionic liquids treatment followed by hydro-distillation for the efficient isolation of essential oil from *Fructus forsythiae* seed. *Sep Purif Technol.* 2013;107:228-237. doi:10.1016/j.seppur.2013.01.009
9. Vila Verde GM, Barros DA, Oliveira MS, et al. A Green Protocol for microwave-assisted extraction of volatile oil terpenes from *Pterodon emarginatus* Vogel. (Fabaceae). *Molecules.* 2018;23(3). doi:10.3390/molecules23030651
10. Tran TH, Nguyen HHH, Nguyen DC, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from Vietnamese basil (*Ocimum basilicum* L.) using response surface methodology. *Processes.* 2018;6(11). doi:10.3390/pr6110206
11. Liu B, Fu J, Zhu Y, Chen P. Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from lavender using response surface methodology. *J Oleo Sci.* 2018;67(10):1327-1337. doi:10.5650/jos.ess18019
12. Akhbari M, Masoum S, Aghababaei F, Hamed S. Optimization of microwave assisted extraction of essential oils from Iranian *Rosmarinus officinalis* L. using RSM. *J Food Sci Technol.* 2018;55(6):2197-2207. doi:10.1007/s13197-018-3137-7
13. Cui Q, Wang LT, Liu JZ, et al. Rapid extraction of *Amomum tsaoko* essential oil and determination of its chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2017;1061-1062:364-371. doi:10.1016/j.jchromb.2017.08.001
14. Wei ZF, Zhao RN, Dong LJ, et al. Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity. *Ind Crops Prod.* 2018;120:71-76. doi:10.1016/j.indcrop.2018.04.058
15. Longaray Delamare AP, Moschen-Pistorello IT, Artico L, Atti-Serafini L, Echeverrigaray S. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.* 2007;100(2):603-608. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.078
16. Dahham SS, Tabana YM, Iqbal MA, et al. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules.* 2015;20(7):11808-11829. doi:10.3390/molecules200711808
17. Liu Z, Deng B, Li S, Zou Z. Optimization of solvent-free microwave assisted extraction of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. *Ind Crops Prod.* 2018;124:353-362. doi:10.1016/j.indcrop.2018.08.016

18. Mollaei S, Sedighi F, Habibi B, Hazrati S, Asgharian P. Extraction of essential oils of *Ferulago angulata* with microwave-assisted hydrodistillation. *Ind Crops Prod.* 2019;137:43-51. doi:10.1016/j.indcrop.2019.05.015
19. Chen F, Xu M, Yang X, Liu J, Xiao Y, Yang L. An improved approach for the isolation of essential oil from the leaves of *Cinnamomum longepaniculatum* using microwave-assisted hydrodistillation concatenated double-column liquid-liquid extraction. *Sep Purif Technol.* 2018;195:110-120. doi:10.1016/j.seppur.2017.12.013
20. Chen F, Jia J, Zhang Q, Gu H, Yang L. A modified approach for isolation of essential oil from fruit of *Amorpha fruticosa* Linn using microwave-assisted hydrodistillation concatenated liquid-liquid extraction. *J Chromatogr A.* 2017;1524:254-265. doi:10.1016/j.chroma.2017.10.008
21. Liu X, Jing X, Li G. A process to acquire essential oil by distillation concatenated liquid-liquid extraction and flavonoids by solid-liquid extraction simultaneously from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench inflorescences under ionic liquid-microwave mediated. *Sep Purif Technol.* 2019;209:164-174. doi:10.1016/j.seppur.2018.07.028
22. Abedi AS, Rismanchi M, Shahdoostkhany M, Mohammadi A, Mortazavian AM. Microwave-assisted extraction of *Nigella sativa* L. essential oil and evaluation of its antioxidant activity. *J Food Sci Technol.* 2017;54(12):3779-3790. doi:10.1007/s13197-017-2718-1
23. Zhao C, Yang X, Tian H, Yang L. An improved method to obtain essential oil, flavonols and proanthocyanidins from fresh *Cinnamomum japonicum* Sieb. leaves using solvent-free microwave-assisted distillation followed by homogenate extraction. *Arabian Journal of Chemistry.* 2020;13(1):2041-2052. doi:10.1016/j.arab-jc.2018.03.002
24. Chen F, Zu Y, Yang L. A novel approach for isolation of essential oil from fresh leaves of *Magnolia sieboldii* using microwave-assisted simultaneous distillation and extraction. *Sep Purif Technol.* 2015;154:271-280. doi:10.1016/j.seppur.2015.09.066
25. Chen F, Du X, Zu Y, Yang L, Wang F. Microwave-assisted method for distillation and dual extraction in obtaining essential oil, proanthocyanidins and polysaccharides by one-pot process from Cinnamomi Cortex. *Sep Purif Technol.* 2016;164:1-11. doi:10.1016/j.seppur.2016.03.018
26. Chen F, Du X, Zu Y, Yang L. A new approach for preparation of essential oil, followed by chlorogenic acid and hyperoside with microwave-assisted simultaneous distillation and dual extraction (MSDDE) from *Vaccinium uliginosum* leaves. *Ind Crops Prod.* 2015;77:809-826. doi:10.1016/j.indcrop.2015.09.058

Desarrollo de totopos de maíz con espinaca y chapulines

Guadarrama Pérez, B.S.^{1*} • Vázquez Serrano, O.D.¹ • Millán Cruzalta, A.R.¹
Pulido Alba, E.M.¹ • Rivas Castro, S.F.¹

Palabras clave: totopos, chapulines, proteínas, entomofagia
Key words: tortilla chips, grasshoppers, proteins, entomophagy

Introducción

Los totopos a base de tortilla de maíz son parte del alimento más consumido entre los mexicanos, es la dieta tradicional de al menos 2 millones de personas. Los consumidores buscan productos que proporcionen múltiples beneficios en términos de sabor, calidad, salud, bienestar, naturalidad, comodidad y posicionamiento ético.

Así mismo, tomando en cuenta el recurso global que implica que los productores de ingredientes tienen un papel vital para desempeñar en la eficacia de los productos para ayudar a alimentar a la población, pues conducen a nuevas áreas y el aprovechamiento del potencial sin explotar, como es el caso de la entomofagia que cada vez reúne más adeptos.

De esta manera se toma en cuenta la mejora del producto, incorporando a la fórmula tradicional de los totopos, los chapulines y las espinacas; favoreciendo el minimizar el uso de las grasas vegetales ya que se utiliza como método de cocción el horneado, a través del cual se buscó no modificar las características organolépticas y fisicoquímicas; pretendiendo de esta manera aportar un alimento nutritivo para los consumidores de todas las edades.

Teniendo como objetivo el desarrollar totopos de harina de maíz adicionados con espinacas y polvo de chapulines de un sabor y características peculiares y cuantificar el contenido proteico que aporta. Desarrollar la etiqueta y selección de envase idóneo para una

1 Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero. Carretera Federal Toluca - Ixtapan de la Sal Km 65.4, La Finca, C.P. 51763, Villa Guerrero, Estado de México, México

* blancaguadarrama0956@gmail.com



vida de anaquel eficiente, sin dejar de lado el recordarles a los consumidores que es un producto 100% mexicano.

Es un producto con valor agregado en beneficio de todos los consumidores y sociedad en general, en un marco de desarrollo sustentable, de comercio justo, cumpliendo con las leyes y normas vigentes.

Metodología

Se trabajó con la especie de chapulines *Melanoplus mexicanus*, los cuales se obtuvieron dorados y deshidratados con un distribuidor de Tenancingo de Degollado; las espinacas se obtuvieron del mercado de Tenancingo de Degollado y la harina que se utilizó, se obtuvo de marca comercial de Garis® en el mismo municipio.

Una vez obtenida la materia prima necesaria para la elaboración de los totopos, se comenzó por preparar la masa teniendo como base la formulación para un totopo 100% de maíz, posteriormente se formuló teniendo como base la harina de maíz, la pulpa de espinaca y el chapulín en polvo, el cual se obtuvo de la molienda en la licuadora. Cabe señalar que el chapulín se agregó en dos momentos; uno dentro de la masa y posteriormente como tipo sazón del totopo, ya que de manera natural la fórmula no contiene sodio, solo la del mismo chapulín.

El procedimiento de formación de masas se llevó a cabo mezclando agregando 38% de harina, 4.1% de espinaca y 53% de agua una vez agregadas se mezcla todo hasta obtener una masa sin grumos, con una textura suave, y se agregó una parte a la masa, esta se volvió a amasar para poder distribuir el polvo de chapulines en toda la masa. Una vez realizada la homogenización del polvo de chapulines se procedió a realizar una tortilla con una máquina tortillera manual, formando bolas fueran del mismo tamaño, para obtener tortillas del mismo grosor (aproximadamente de 2 milímetros), una vez hecha la tortilla se colocó en una charola con papel encerado y se comenzó a cortar en pequeños triángulos y acomodándolos con una separación entre cada uno de aproximadamente 3cm.

Una vez cortada toda la masa se procedió a hornear, a una temperatura de 180°C por 15 minutos, una vez pasado el tiempo se sacó del horno y se dejó enfriar

durante 1 minuto, posteriormente se le espolvoreó el polvo de chapulines restante, esto para intensificar el sabor a chapulín; se dejó enfriar completamente el totopo para proceder a empaquetarlos.

Se necesitó determinar el contenido de proteínas, para esto se utilizó el método biuret, el cual se basa en la formación de un complejo coloreado entre el Cu^{2+} y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. 1Cu^{2+} se acompleja con 4 NH. La intensidad de coloración fue directamente proporcional a la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos) y la reacción bastante específica, de manera que pocas sustancias interfieren. La sensibilidad del método es muy baja y sólo se recomienda para la cuantificación de proteínas en preparados muy concentrados (por ejemplo en suero).

Se realizó un método de aceptabilidad sensorial utilizando un cuestionario para tener en cuenta el porcentaje de aceptabilidad que hay hacia el producto y de esta manera saber si es viable o no su producción y venta, además de obtener la caracterización descriptiva del producto obtenido.

Resultados y discusión

Se realizó un análisis organoléptico con las muestras y se comprobó que el producto cumple con los requerimientos necesarios como lo son: el nivel de salinidad, crujiente y ligero, así como el color y textura, esto en comparación con un totopo comercial tradicional, siendo la diferencia más característica, el color verde y los puntos que se aprecian en el producto, así mismo se obtuvo un producto ligeramente mayor en grosor al comercial.

Además de observar que, la adhesividad de las formulaciones de las masas no se vio influenciada por el porcentaje de espinaca final que se agregó ya que se trabajó en proporción el agua.

Las formulaciones que no contaron con la calidad que se requería se descartó y se realizó una revaloración para detectar en lo que se tiene que reformular y evitar irregularidades

Una vez que los resultados fueron los que se pretendían se validó el producto y se dio por finalizado el análisis, obteniendo que es un producto aceptable al consumidor.

Conclusión

Los resultados sugieren que los totopos de maíz horneados y adicionados con chapulines en un 9% y de espinaca en un 4.1%, puede ser una alternativa para procesar este producto tradicional en una forma industrial y a gran escala, y producir botanas más saludables que las tradicionales, además de incrementar el valor funcional de algunos compuestos bioactivos.

Así mismo, al elaborar este producto innovador, se puede percibir que los productos nuevos y en la

rama de la entomofagia puede ser muy complicados de entrar en las dieta de los consumidores, pero una vez que se da la oportunidad de probarlos y conocerlos más a fondo, este tipo de alimentos se vuelve una oportunidad para todos aquellos que buscan en sus platillos algo con que diversificar sus comidas, con aporte de proteínas sin ser específicamente de carne roja o blanca como se acostumbra.

Referencias

1. Calleja M., Valenzuela M. et al. La tortilla como identidad culinaria y producto de consumo global. *Región y sociedad*, 28(66), 161-194. Recuperado en 18 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-39252016000200161&lng=es&tlng=es.

Evaluación microbiológica de la vermicomposta obtenida de desechos de calabaza

Flores Magallon R.^{1*} • Núñez Sánchez M.¹ • Flores Magallon A.²

Palabras clave: lombricultura, sustentable, vermicomposteo

Key words: vermiculture, sustainable, vermicomposting

Introducción

La evaluación de la carga microbiana representa una característica importante en la determinación de la madurez de la vermicomposta. Así mismo, la participación de la lombriz y otros microorganismos forman parte de la biota natural y son responsables de la catálisis de los compuestos químicos que también participan en el proceso de biodegradación. *Eisenia fetida* es un anélido terrestre que ha sido domesticada para su uso en la elaboración de abonos orgánicos por ser altamente productiva y rustica, esta lombriz es segura para el ser humano por su característica de ser inocua al no transmitir enfermedades [1]. La presencia de *Eisenia foétida* en el proceso de vermicompostaje afecta significativamente las comunidades de mi-

croorganismos en el suelo, la biota de este no se mantiene constante y es variable durante todo el proceso además de mejorar las características fisicoquímicas y microbiológicas contribuyendo directamente en la eliminación de microorganismos patógenos como por ejemplo *Salmonella* spp y *Escherichia coli*.

En este sentido la presencia de estos microorganismos durante el proceso de biodegradación está relacionada por ser reservorios de animales de sangre caliente y por ende las infecciones por *E. coli* y *Salmonella* spp se asocian a la ingesta de alimentos entre los que predominan los de origen animal. Sin embargo, los desechos orgánicos de origen vegetal no están exentos de ser reservorio y la probabilidad de encon-

1 Instituto Politécnico Nacional – Centro interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR IPN Unidad Michoacán. Justo Sierra N0 28, C.P.59510, Jiquilpan, Michoacán.

2 CECYTEJ 09, Avenida cecitej, C.P. 407300. Valle de Juárez, Jalisco

* rbk_fm@hotmail.com



trar dichos microorganismos en un sustrato de origen vegetal aumenta cuando existe una zona agropecuaria donde el ganado está en cercanías con cultivos.

La lombricultura representa una alternativa fiable para el reciclaje de desechos de calabaza, cultivo que predomina en la zona de Cumuatillo, en el municipio de Venustiano Carranza en el estado de Michoacán, México. El objetivo del presente trabajo es evaluar microbiológicamente el proceso de vermicompostaje para la reproducción de *Eisenia fetida* y analizar la ausencia de patógenos de humanos en la cavidad celómica y tracto digestivo de *Eisenia fetida* mediante microbiología de cultivo

Metodología

Para el proceso de biodegradación de los desechos de Calabaza se construyó una cama de concreto de 8 m de largo y 2 m de ancho donde fue depositado el sustrato y se llevó a cabo el pecompostaje para la posterior inoculación de 5000 lombrices (*E. fetida*). Se realizaron 7 tomas de muestras (T0, T1, T2, T3, T4, T5, T6) durante el proceso de biodegradación para el procesamiento de las mismas, tomando como T0 el día de la inoculación de la lombriz en el sustrato.

Para determinar la presencia o ausencia de Orga-

nismos Coliformes Totales, Fecales y *E. coli* se realizó de acuerdo a la metodología propuesta [2] para *Salmonella* spp [3] y para Mohos y Levaduras [4].

Resultados y discusión

El proceso de biodegradación de los desechos de calabaza por la técnica de la lombricultura contribuyó a la disminución de la carga de OCT iniciando con 2.04×10^7 NMP/ 100 g de muestra, cantidad elevada para un sustrato de origen vegetal. Sin embargo, finalizó con 7.8×10^2 NMP/ 100 g de muestra lográndose una reducción de 5 logaritmos al cabo de 3 meses. La disminución también se apreció en la variable de OCF y para mohos y levaduras durante el proceso se redujo 2 logaritmos al final del proceso en diferencia del conteo inicial (Figura 1).

Con respecto a los patógenos como *Escherichia coli* inicialmente fue de 4.66×10^6 NMP/ 100 g de muestra y al final del proceso se tuvo un conteo de 2.2×10^2 NMP/ 100 g de muestra. *Salmonella* spp desapareció del proceso 15 días antes de la culminación del mismo (Tabla 1).

El proceso de vermicompostaje reduce la cantidad de Enterobacterias y con ello, contribuye a la desaparición de microorganismos patógenos [5].

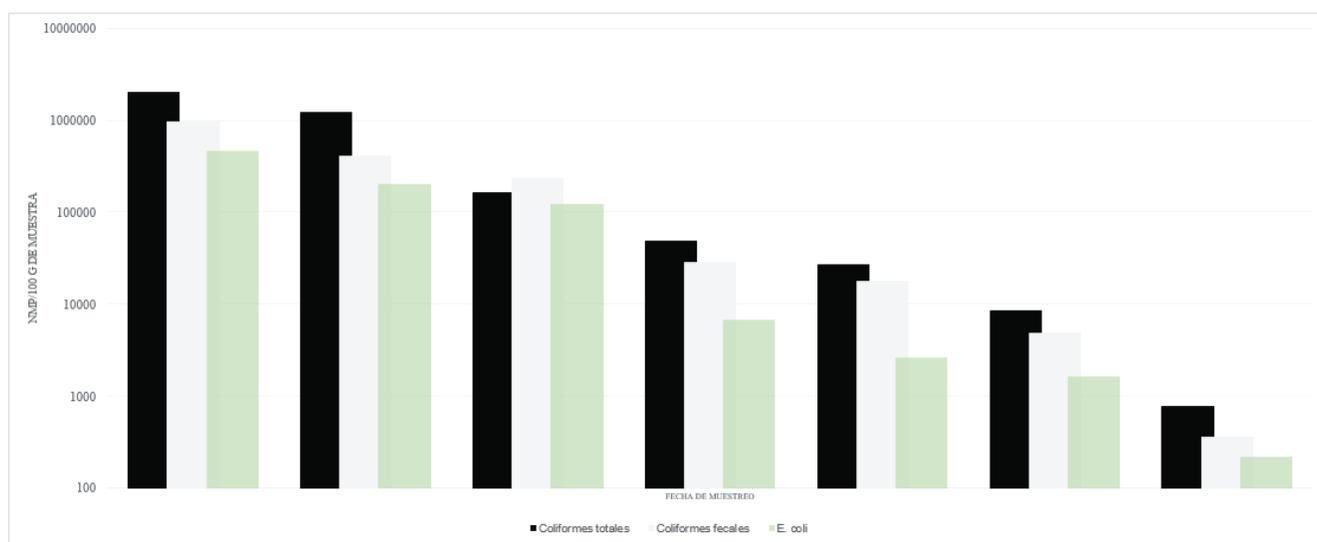


Figura 1. Evaluación microbiológica del proceso de biodegradación de los desechos de calabaza.

Tabla 1. NMP coliformes totales, fecales y *E. coli*/g muestra, procedente de lechugas de mercado municipal (expresados en logaritmos).

T	<i>E. coli</i>	<i>Sal</i>	OCT NMP/g	OCT NMP/g	M UFC/g	L UFC/g
0	+	+	2.04 x10 ⁶	9.8x10 ⁵	8.09 x10 ⁴	2.3 x10 ⁶
1	+	+	1.22 x10 ⁶	4.16x10 ⁵	3.72 x10 ⁴	1.63 x10 ⁵
2	+	+	2.98 x10 ⁵	1.79 x10 ⁵	2.44 x10 ⁴	5.76 x10 ⁴
3	+	+	4.98 x10 ⁴	2.92 x10 ⁴	1.36 x10 ⁴	6.38 x10 ⁴
4	+	+	2.74x10 ⁴	1.78 x10 ⁴	7.89 x10 ³	3.98 x10 ⁴
5	-	-	8720	4980	4.14 x10 ³	7.68 x10 ³
6	-	-	780	360	3.44 x10 ³	7.42 x10 ³

T= Tiempo de biodegradación, *E. coli* = *Escherichia coli*, *Sal*= *Salmonella* spp., OCT= Organismos Coliformes Totales, OCF= Organismos Coliformes Fecales, M= Mohos, L= Levaduras.

Con respecto a *Salmonella* spp, hubo presencia de esta en todo el proceso de vermicompostaje. Sin embargo, al final del proceso esta desapareció. Cabe destacar como se aprecia en la figura 1, que la ausencia de *Salmonella* spp. Estuvo acompañada con la desaparición de *E. coli* en el proceso. La presencia de estas se debe principalmente a que es una bacteria intestinal de los animales. Tal es su hábitat natural que se libera en el medio ambiente cuando se le expulsa por

las heces. Por lo cual representa cierta sobrevivencia en los materiales que contacta y bajo condiciones que favorece su proliferación [6].

Conclusiones

La presencia de *Eisenia fetida* en el proceso de vermicompostaje asegura la obtención de un producto inocuo y sustentable

Referencias

- Márquez Peña, J. J., & Cova Ordaz, L. J.. Efecto Del Fertilizante Humus De Lombriz Californiana (*EiseniaFetida*) Sobre La Producción De Plátano Hartón (*Musa Aab*) Mediante Un Modelo De Análisis De Varianza Multivariante. *Revista Academia*, 2009. 18(41), 101–115.
- NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos mohos y levaduras en placa.
- NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes por la técnica del Numero Más Probable.
- NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la detección de *Samonella* ssp en alimentos.
- Domínguez, R.W. Parmelee. and Edwards, C. A. (2003). “Interactions between *Eiseniaandrei* (*Oligochaeta*) and nematode populations during vermicomposting”. *Pedobiologia*, 47: 53-60.
- Fernández, E. E. (2000). Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, México. Cap. 1: 13-54, Cap. 12: 217-232 y Cap. 29: 555-57

Determinación por métodos tradicionales y rápidos de Coliformes y *Pseudomonas* spp. en agua potable de uso intradomiciliario en el Área Metropolitana de Guadalajara

Velasco Garcia, O.A.^{1*} • Solano Soria, M.¹ • Ramírez Torres, A.¹
Orozco Hernández, L.O.¹ • Torres Vitela, Ma. R.¹ • Olea Rodríguez, M.A.¹

Palabras clave: Calidad Sanitaria, Número Más Probable, Filtración por membrana
Key words: Sanitary quality, NMP test, Membrane filtration

Introducción

El agua ha sido vista solo como un recurso de uso, ya sea agrícola, doméstico o industrial, y en ese contexto, su gestión parece haber dejado de lado la protección de dicho recurso, dando como resultado la sobreexplotación y contaminación de ésta [1].

A su vez en el agua pueden encontrarse una gran variedad de microorganismos, los cuales afectan en mayor o menor medida la calidad sanitaria del agua. Además de la flora normal presente en cualquier sistema acuático (por ejemplo: *Bacillus*, *Pseudomonas*, entre otros), pueden existir otros microorganismos contaminantes, algunos de ellos patógenos para el ser humano. En la evaluación microbiológica de la cali-

dad del agua, sistémicamente se realizan pruebas de laboratorio que permiten determinar la magnitud de la contaminación. Estas pruebas sistemáticas consisten en la determinación de los indicadores bacteriológicos de contaminación o de calidad del agua [2].

Los indicadores bacteriológicos, son organismos de un grupo específico, dicha presencia es señal de contaminación y en ocasiones, sugiere el posible origen de ésta. Tradicionalmente los coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli*, son los grupos de bacterias indicadoras que se consideran en los estudios y trabajos de evaluación de calidad del agua [2].

1 Laboratorio de Microbiología Sanitaria Investigación. Edificio H, Planta Alta. Departamento de Farmacobiología. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán #1421, Col. Olímpica, C.P. 44430 Guadalajara, Jalisco, México.

* oadrian.velasco@alumnos.udg.mx



La vigilancia de la calidad del agua es fundamental para reducir los riesgos de transmisión de enfermedades a la población por su consumo, como las de tipo gastrointestinal; esta vigilancia se ejerce a través del cumplimiento de los límites permisibles de calidad del agua [3].

La importancia del monitoreo microbiológico del agua ha motivado el desarrollo de un número importante de técnicas de análisis basadas en principios variados. Uno de los métodos comúnmente empleados en varios países es el basado en la técnica de los tubos múltiples de fermentación o número más probable (NMP). No obstante, se pueden emplear nuevas y distintas metodologías de ensayo, siempre y cuando éstas demuestren un comportamiento igual o superior al método definido como referencia [6].

Uno de los grupos de microorganismos de observancia obligatoria en normas oficiales como indicadores del agua potable en términos sanitarios es el grupo de coliformes (totales, fecales, *Escherichia coli*) y *Pseudomonas* spp. A través de los años se han desarrollado métodos rápidos para la detección de organismos indicadores, entre ellos los coliformes y *Pseudomonas* spp.; con estos métodos se obtienen resultados similares que con los métodos tradicionales debido a la facilidad del método con el requerimiento mínimo de insumos y sobre todo por el tiempo invertido en el proceso del análisis de las muestras y obtención de resultados.

En la actualidad la escasez de agua, la calidad físico-química y microbiológica de la misma es un tema que preocupa a los habitantes de todo el mundo y en particular a los habitantes del Área Metropolitana de Guadalajara. Con las lluvias y la escasez en el suministro de agua potable, han surgido dudas sobre la calidad sanitaria de la misma, por opiniones de los usuarios, ya que han detectado colores, olores poco usuales y hasta desagradables. Por lo que se realizará este trabajo de investigación microbiológico para conocer la calidad sanitaria a través de la determinación por métodos tradicionales y rápidos de coliformes y *Pseudomonas* spp. en el agua de tipo intradomiciliario.

Determinar la presencia por métodos tradicionales y rápidos de coliformes y *Pseudomonas* spp. en agua potable de uso intradomiciliario en el área metropolitana de Guadalajara.

Metodología

Se recolectaron y analizaron n=60 muestras de agua potable de uso intradomiciliario provenientes de los 6 municipios (Guadalajara n=10, Zapopan n=10, Tlaquepaque n=10, Tonalá n=10, El Salto n=10 y Tlajomulco n=10) pertenecientes al Área Metropolitana de Guadalajara (AMG) en un periodo de estudio invierno-primavera 2021-2022.

La toma de muestra y transporte se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo [4].

Antes de iniciar el análisis bacteriológico se determinó la presencia de cloro residual, mezclando perfectamente la muestra y tomando un volumen de 2 mL de cada muestra, se colocaron 5 gotas de Ortotolidina y se compararon con la escala colorimétrica OT CHLORINE 0.2 a 12 ppm y este se inactivó con Tiosulfato de sodio al 10%.

La detección y enumeración de coliformes totales, fecales y *E. coli* se realizó por la técnica tradicional del número más probable 555 o tubos múltiples de fermentación (NMP 555) según la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos [3]. Añadiendo también la siguiente prueba para *E. coli*: De cada tubo de caldo lactosado bilis verde brillante que mostraron formación de gas, se tomó una azada y se sembró en un número igual de tubos con medio de confirmación, caldo EC-MUG e indol. Se llevaron a un termobañó a 44.5°C por 24-48 horas. Se observó la producción de gas en los tubos de caldo EC-MUG y para los tubos con caldo indol se utilizaron 5 gotas del reactivo de Ehrlich que puso en evidencia la producción de indol (positiva: halo rojo; negativo: color amarillo).

La detección y enumeración de coliformes totales, fecales y *E. coli* se realizó por la técnica tradicional de Filtración por membrana según la NMX-AA-102-SCFI-2006 Detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes, *E. coli* [5] (modificándose con el uso del medio Mac-

Conkey, auxiliar en la determinación de coliformes) y *Pseudomonas* spp con el medio Cetrimida; a su vez se empleó esta misma técnica con el uso de métodos rápidos NPS Kit Microbiológico Sartorius® medio Endo #14053 para detección de Coliformes y *Escherichia coli* y medio Cetrimida #14075 para detección de *Pseudomonas* spp.

E*Colite® (antes llamado ColiGel de Charm Sciences Inc®): Se agregaron 100 mL de muestra hasta la línea marcada en el empaque. Se cerró el empaque y se aplicó presión sobre el volumen de agua para que exista el rompimiento del Divisor 1 y se mezcló con el medio de cultivo provisto en el empaque. Se incubó a 35°-37°C por 28 horas. Las muestras negativas se visualizaron de color amarillo. La presencia de coliformes se visualizó a través de una coloración azul en el medio de cultivo. Al paso de 28-48 horas se revisó la presencia de fluorescencia con una lámpara UV a 366 nm, lo cual en caso de una coloración azul intensa nos indicó la presencia del organismo *E. coli*.

Resultados y discusión

Los datos recuperados en la determinación de la calidad sanitaria del agua de uso intradomiciliario (Figuras 1, 3 y 5) demostraron que la calidad del agua no es de cumplimiento de la norma vigente que respalda su calidad microbiológica, “NOM-127-SAA1-1994”, contrastando las metodologías tradicionales y rápidas, esto mediante su presencia/ausencia (Figuras 2 y 4) en el total de las muestras analizadas con E*Colite® y NMP.

La implementación de los métodos rápidos y equivalentes de los métodos normalizados, como lo fue el uso de Medio Base Cetrimida y Sartorius® Medio Cetrimida NPS, se observó que su diferencia entre respuestas es bastante similar para la técnica de filtración por membrana para la detección de *Pseudomonas* spp. en el agua muestra, recuperándose una cantidad significativa de 11 muestras positivas de 32 analizadas (Figuras 6, 7 y 8).

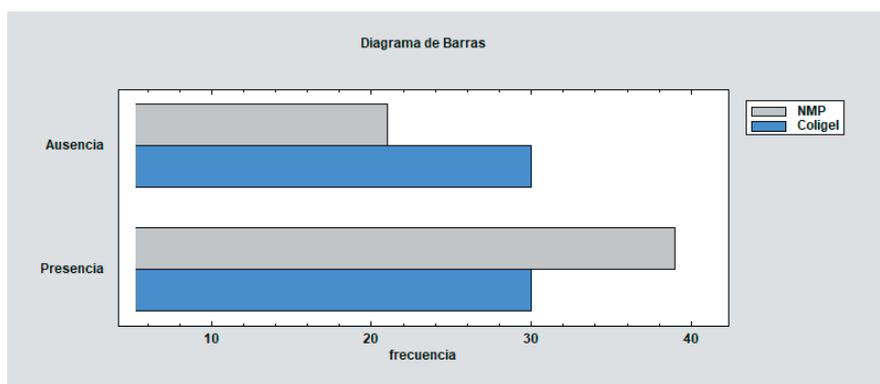


Figura 1. Ausencia y presencia de coliformes en NMP y ColiGel

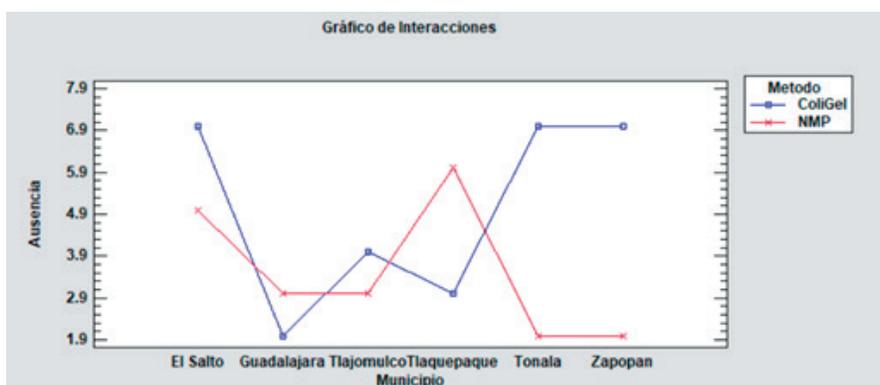


Figura 2. Interacción de ausencia en NMP y ColiGel

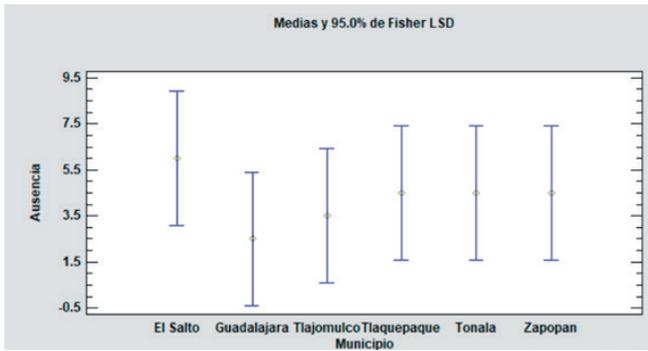


Figura 3. Negatividad de coliformes por Municipio.

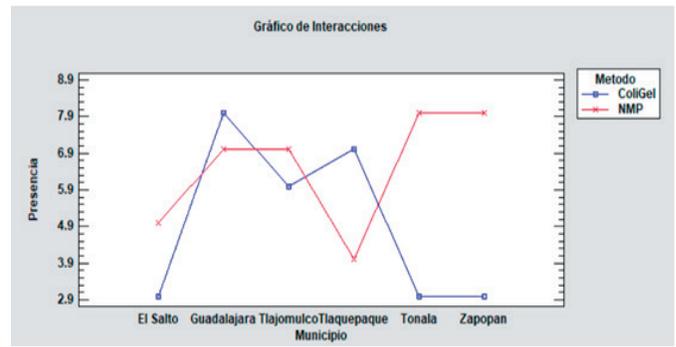


Figura 4. Interacción de presencia en NMP y ColiGel.

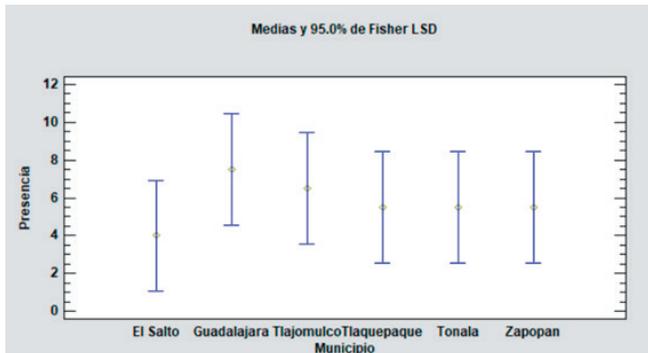


Figura 5. Positividad de coliformes por Municipio.

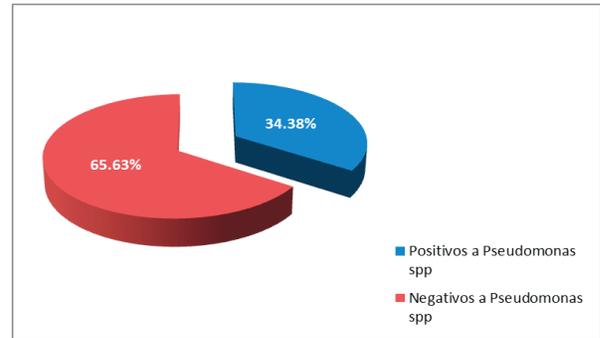


Figura 6. Presencia de *Pseudomonas* spp en 11 de 32 muestras de agua

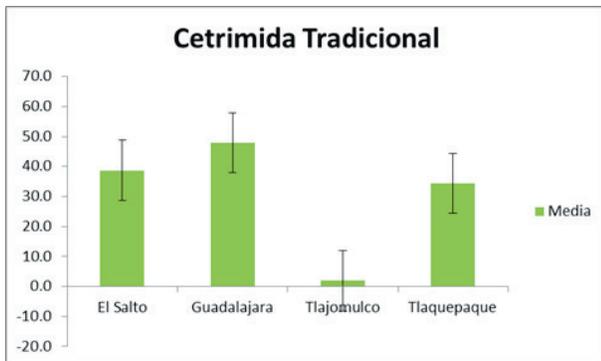


Figura 7. Medias *Pseudomonas* por Municipio Tradicional.

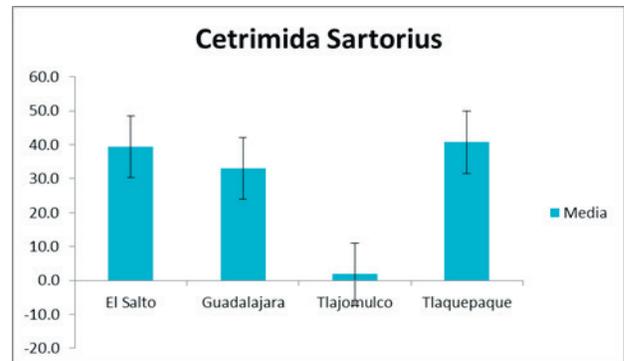


Figura 8. Medias *Pseudomonas* por Municipio Rápido.

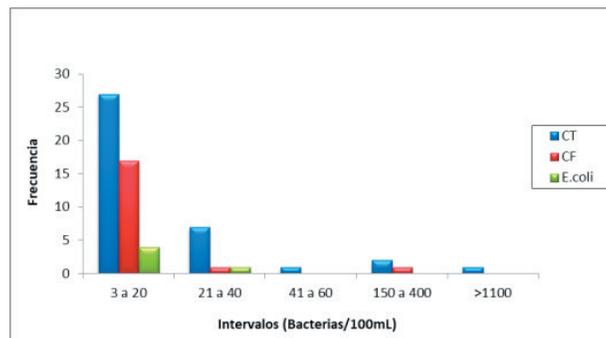


Figura 9. Frecuencias de Coliformes totales, fecales y *E.coli*. en muestras de agua por el método NMP

Para el comparativo de interacción entre E*Coli-te® y NMP se realizó un análisis de varianza de suma de cuadrados tipo III, con el paquete estadístico Statgraphics® vers.19, en el cual se observó una nula interacción en la respuesta de los métodos (Tablas 1 y 2). De las 60 muestras analizadas 22 cumplieron los

límites permisibles señalados en la normatividad vigente, 38 fueron positivas a coliformes totales, de estas 19 fueron positivas para coliformes fecales y de estas mismas en 5 se detectó la presencia de *E. coli* (Figura 9).

Tabla 1. Análisis de Varianza para Ausencia.

Fuente	Media	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES			
A:Municipio	4.25	0.53	0.7461
B:Metodo	4.25	1.31	0.3041
INTERACCIONES			
AB	4.25	1.00	0.5000
RESIDUOS	0		
TOTAL (CORREGIDO)	12.75		

Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores o interacciones tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Ausencia con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 2. Análisis de Varianza para Presencia.

Fuente	Media	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES			
A:Municipio	5.75	0.53	0.7461
B:Metodo	5.75	1.31	0.3041
INTERACCIONES			
AB	5.75	1.00	0.5000
RESIDUOS	0		
TOTAL (CORREGIDO)	17.25		

Puesto que ningún valor-P es menor que 0.05, ninguno de los factores o interacciones tiene un efecto estadísticamente significativo sobre Presencia con un 95.0% de nivel de confianza.

Conclusión

Se demostró que la calidad del agua de uso intradomiciliario de los 6 municipios pertenecientes al Área Metropolitana de Guadalajara con los métodos tradicionales y rápidos, muestran parámetros fuera de la normatividad vigente, esto se puede atribuir en su mayoría a que no existe un sistema eficiente intradomiciliario que asegure la calidad sanitaria, ya que

el organismo encargado del suministro de agua a los domicilios, cuenta con un sistema de tratamiento de agua el cual asegura su potabilización, sin embargo esto se puede ver afectado por la falta de limpieza en tinacos y cisternas con lo cual otorga las condiciones para la proliferación de organismos coliformes y *Pseudomonas* spp.

Referencias

1. Arellano Aguilar, O., Ortega Elorza, L., & Gesundheit Montero, P. (2016). Estudio de la contaminación en la Cuenca del Río Santiago y la Salud Pública en la región. Agrupación un Salto de Vida A.C. <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2016/04/Estudio-de-la-contaminacion-en-la-cuenca-del-rio-santiago-y-la-salud-publica-en-el-region.pdf>
2. Nava Tovar, G. (2011). Manual de Instrucciones para la Toma, Preservación y Transporte de Muestras de Agua de Consumo Humano para Análisis de Laboratorio. Grupo Salud Ambiental «Jaime Eduardo Ortiz Varón». <https://www.ins.gov.co/sivicap/Documentacin%20SIVICAP/2011%20Manual%20toma%20de%20muestras%20agua.pdf>
3. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. (2015, 26 junio). *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015#gsc.tab=0
4. Norma Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo. (2005, 12 julio). *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2081772&fecha=12/07/2005#gsc.tab=0
5. NMX-AA-102-SCFI-2006 Calidad del agua. Detección y enumeración de organismos coliformes, organismos termotolerantes y *Escherichia coli* Presuntiva-Filtración en membrana. (2006). (2006). Secretaría de economía. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166804/NMX-AA-102-SCFI-2006.pdf>
6. Redondo-Solano, M., & Arias Ehandi, M. L. (2012). Comparación de métodos para el análisis de coliformes totales y fecales en muestras de agua mediante la técnica de Número Más Probable (NMP). *UNED Research Journal / Cuadernos de Investigación UNED*, 3(2), 219–225. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=515651980006>

Recuperación de *Salmonella* spp. a partir de *berries* frescas con el uso de BPW como caldo de preenriquecimiento

Villalpando Delgadillo C.D.¹ • Rodríguez Ruíz Esparza A.¹ • Pérez Montaña J.A.¹
Martínez Chávez L.^{1*} • Martínez Gonzáles N.E.¹

Palabras clave: *Salmonella*, *berries*, BPW, preenriquecimiento
Key words: *Salmonella*, *berries*, BPW, pre-enrichment

Introducción

Las *berries* (fresa, frambuesa, zarzamora y arándano) son frutas caracterizadas por sus colores intensos y diversidad de tamaños, sin semilla, con sabores ácidos y dulces de acuerdo al tipo de *berry*, además que tienen alto contenido de humedad (>0.91%), fibra, antioxidantes, vitaminas C y E, micronutrientes como ácido fólico, calcio y selenio [1]. También son apreciadas debido al aporte de antioxidantes y sustancias fitoquímicas como los polifenoles y flavonoides, incluyendo antocianinas y elagitaninos. El consumo de *berries* ha sido asociado con mejoras en la salud cardiovascular y una reducción significativa en la mortalidad por enfermedades cerebrovasculares [2].

Las *berries* pueden contaminarse a partir de diver-

sas fuentes como el agua de riego, animales, humanos y equipos, que pueden afectar su inocuidad [3]. En 2011, la FDA detectó *Salmonella* spp. en 143 muestras de fresas importadas a los Estados Unidos [4]. El Sistema Nacional de Informes de Brotes (NORS, por sus siglas en inglés) en Estados Unidos reportó 27 brotes, 102 hospitalizaciones y dos muertes por consumo de *berries*, en el periodo de 2009 a 2020 [6]. Los principales agentes de enfermedades transmitidas por *berries* fueron Norovirus, *Salmonella* spp. *Cyclospora cayetanensis*, *Escherichia coli* O157:H7, Hepatitis A y *Bacillus cereus*.

La metodología para la recuperación de *Salmonella* del Manual de Análisis Bacteriológico (BAM, por sus siglas en inglés) no incluye un procedimiento para la

1 Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán 1421, Colonia Olímpica, 44430 Guadalajara, Jalisco, México

* liliana.mchavez@academicos.udg.mx



etapa de preenriquecimiento de muestras de *berries* frescas [7]. Un estudio llevado a cabo con *berries* señala como los flavonoides y ácidos fenólicos muestran una actividad inhibitoria y antimicrobiana contra bacterias Gram negativas como *Salmonella* spp.; estos compuestos son liberados al modificar la estructura original del fruto cuando se emplean métodos destructivos de procesamiento [8]. El ultrasonido ha sido empleado como un método no destructivo para desprender *Salmonella* spp. de fresas frescas [9]. Por otra parte, se ha comparado la efectividad del agua peptonada amortiguada (BPW, por sus siglas en inglés) como medio de preenriquecimiento para la recuperación de *Salmonella* en melones, mangos y tomates enteros o triturados. Los resultados del estudio evidenciaron que el BPW y el caldo de preenriquecimiento universal fueron significativamente más efectivos que el caldo lactosado para recuperar al patógeno. Ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$) fue encontrada entre el UP y el BPW [10].

Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar un método de recuperación de *Salmonella* spp. a partir de *berries* frescas, con el uso de BPW como caldo de preenriquecimiento.

Metodología

En un mercado local se adquirieron fresas, zarzamoras, frambuesas y arándanos a granel en bolsas o recipientes de polietileno de 1 L. Se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente en un periodo no mayor a 2 h después de su compra. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente previo al análisis.

Preparación del inóculo.

Los frutos fueron inoculados con una mezcla de tres cepas de *Salmonella* aisladas del epicarpio de aguacate recuperado de un mercado (Sm-R-559), del epicarpio de jitomate (Sm-R-035) y de heces (Sm-R-037). Las cepas se conservaron en tubos de agar soya triptica inclinado a 5°C.

Para la preparación del inóculo se realizaron tres resiembras consecutivas a 35°C en caldo soya triptica adicionado con 0.6 % de extracto de levadura (CSTEL). Los cultivos fueron lavados mediante centrifugación a 6000 rpm por 10 minutos a 5°C; se des-

echó el sobrenadante y la biomasa se resuspendió con solución salina fisiológica al 0.85% (SSF). Se preparó una mezcla de células lavadas de las tres cepas, la cual contenía 9.0 ± 0.1 Log UFC/mL. A partir de esta mezcla se prepararon diluciones decimales con diluyente de peptona al 0.1% (DP) para obtener los niveles de inóculo bajo (4.3 Log UFC/mL) y alto (6.1 Log UFC/mL).

Uso del BPW como medio de preenriquecimiento.

El proceso se dividió en etapas. Las muestras de 50 g de *berries* fueron inoculadas con 100 µL de la suspensión del inóculo bajo/alto de la mezcla de cepas, las cuales fueron divididas en dos grupos, el primero fue analizado inmediatamente para recuento de *Salmonella* y en el segundo, las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 h previo al recuento del patógeno. Posteriormente, se obtuvieron muestras que fueron suspendidas en 450 mL de BPW y homogeneizadas en un baño de ultrasonido a 300 W a 40 kHz por 1 min. Se prepararon diluciones decimales para su siembra por extensión en superficie en agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD). Las muestras de *berries* de esta segunda etapa fueron conservadas en reposo durante 1 h a temperatura ambiente. Después, se incubaron a 35 °C por 24 h. Después de la incubación, se realizaron recuentos del patógeno en agar XLD a 35 °C por 24 h.

De acuerdo al método del BAM para la determinación de *Salmonella*, después del pre-enriquecimiento se inocularon tubos de ensayo con 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis (CRV) y Caldo Tetrionato (CTT) con 0.1 mL y 1 mL de la muestra respectivamente. Se incubaron a 42.5 °C (CRV) y a 43 °C (CTT) por 24 h. Posteriormente, se realizó la siembra por estría en agar XLD, Entérico de Hektoen (HE) y Sulfito de Bismuto (SB). Las cajas de agar XLD y HE se incubaron por 24 h a 35 °C, mientras que las de SB por 48 h a 35 °C. Se seleccionaron colonias presuntivas de *Salmonella* para la confirmación bioquímica en agar lisina hierro, agar de hierro y tripe azúcar, y caldo urea. La evaluación fue realizada con tres repeticiones y dos replicas para cada nivel de inóculo.

Por otra parte, se determinó el valor de pH en 50 g de *berries* no inoculadas suspendidas en 450 mL de

BPW, para registrar el comportamiento del pH en las muestras durante 0, 1, 4, 8 y 24 h de almacenamiento a 35 °C. Previo a la medición del pH, la muestra fue homogenizada en un baño de ultrasonido, bajo las condiciones descritas previamente. El estudio fue realizado con seis repeticiones y dos réplicas.

Análisis de datos.

Los recuentos de *Salmonella* fueron expresados en log UFC/450 mL del BPW. Se realizó un ANOVA multifactorial para comparar el efecto del tipo de *berry* y las etapas de procesamiento de la muestra, para los dos niveles de inóculo.

Resultados y discusión

El uso de BPW para preenriquecer muestras de *berries* inoculadas con dos niveles de células de *Salmonella* condujo a la recuperación de la misma.

Los recuentos promedio de *Salmonella* en las muestras de *berries*, después de conservarlas a temperatura ambiente durante 1 h, contenían entre 3.7 y 5.0 Log UFC/450 mL para el inóculo bajo y de 6.4 a 6.6 Log UFC/450 mL para el inóculo alto (Tabla 1). Al adicionar el BPW y conservar los frutos a 25°C por 1h, los recuentos fueron de 4.8, 3.6, 4.4 y 5.3 para fresa,

zarzamora, frambuesa y arándano, respectivamente, cuando se contaminaron con un inóculo bajo. Se observaron niveles menores ($P < 0.05$) de recuperación de *Salmonella* en la zarzamora respecto a los demás frutos (Tabla 1, Figura 1a). En tanto, no se detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la recuperación del patógeno entre el tipo de *berries* contaminadas con un inóculo alto (Figura 1b).

Cuando se utilizó el inóculo bajo, los recuentos de *Salmonella* fueron similares ($P > 0.05$) en las *berries* inoculadas y en las *berries* suspendidas en BPW y almacenadas por 1 h (Figura 1c). Lo anterior evidenció que la conservación de las muestras durante 1 h no afectó las poblaciones del patógeno. Sin embargo, se detectaron diferencias ($P < 0.05$) cuando se analizaron las muestras contaminadas con un inóculo alto, en las condiciones referidas anteriormente (Figura 1d). Las cuentas del patógeno se duplicaron en las *berries* inoculadas con niveles bajo y alto de células ($P < 0.05$) después del preenriquecimiento por 24 h; el aumento de la población fue de aproximadamente 5 log UFC. Cabe señalar que independiente de las condiciones estudiadas *Salmonella* se recupera en las etapas de enriquecimiento y aislamiento en medios selectivos diferenciales.

Tabla 1. Recuperación de *Salmonella* a partir de *berries* frescas inoculadas.

Inóculo	Etapa	Log UFC/450 mL de BPW (n=6)			
		Fresa	Zarzamora	Frambuesa	Arándano
Bajo	Fruto inoculado después de conservar a temperatura ambiente durante 1 h	4.5 ± 0.5	3.7 ± 0.1	4.2 ± 0.9	5.0 ± 0.3
	Fruto + BPW conservado a 25°C por 1 h	4.8 ± 0.3	3.6 ± 1.1	4.4 ± 1.1	5.3 ± 0.2
	Fruto + BPW después del preenriquecimiento a 35°C durante 24 h	9.1 ± 1.1	8.3 ± 0.7	9.5 ± 1.0	9.5 ± 1.3
Alto	Fruto inoculado después de conservar a temperatura ambiente durante 1 h	6.4 ± 0.4	6.5 ± 0.5	6.6 ± 0.2	6.6 ± 0.4
	Fruto + BPW conservado a 25°C por 1 h	6.9 ± 0.4	6.9 ± 0.5	7.1 ± 0.3	7.3 ± 0.3
	Fruto + BPW después del preenriquecimiento a 35°C durante 24 h	11.7 ± 0.3	11.5 ± 0.2	11.4 ± 0.2	11.7 ± 0.3

Los valores del pH de los frutos (Figura 2) sin inocular suspendidos en BPW durante 1 h no muestran ningún cambio ($P>0.05$), mientras que a las 24 h de almacenamiento a 35°C fueron de 6.1, 5.8, 4.4 y 6.8, para fresa, zarzamora, frambuesa y arándano, respectivamente ($P<0.05$).

Lo anterior permite observar como el BPW muestra un efecto amortiguador con fresa y arándano, menor con zarzamora y frambuesa. No obstante, fue po-

sible recuperar al patógeno bajo las condiciones del estudio.

Conclusión

El BPW muestra capacidad para amortiguar las variaciones de pH durante el preenriquecimiento y permite la recuperación de *Salmonella* a partir de muestras de *berries* frescas cuando se combina con la metodología del BAM.

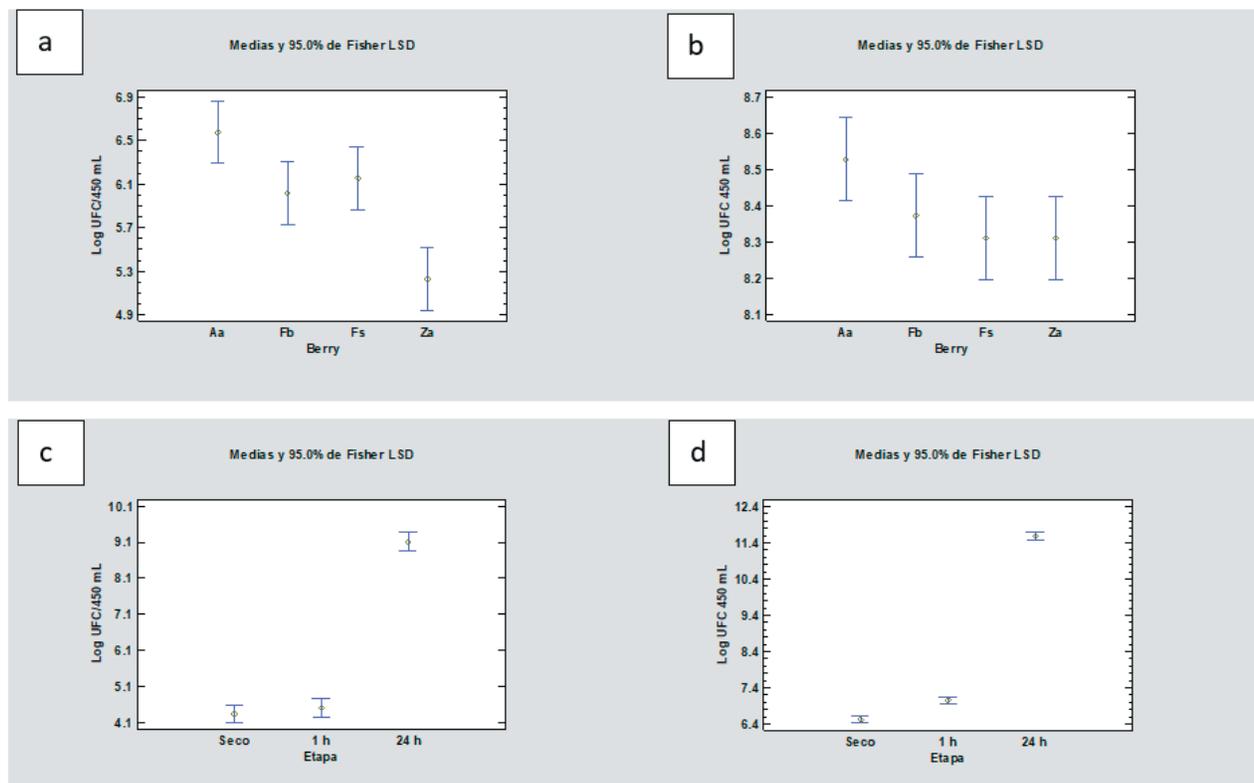


Figura 1. Recuento promedio de *Salmonella* en berries con niveles de inóculo bajo (a) y alto (b), e influencia del tiempo de incubación en las muestras inoculadas con niveles bajo (c) y alto (d).

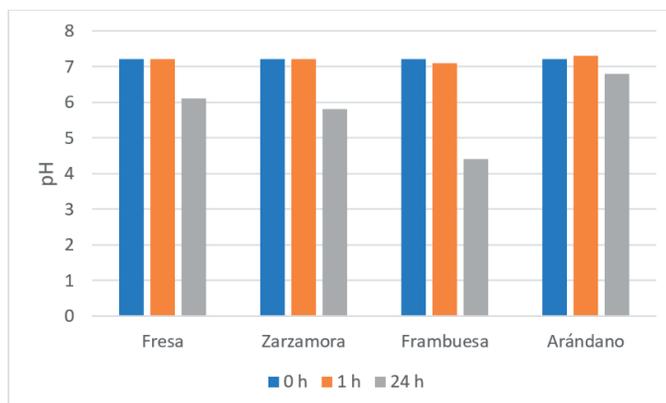


Figura 2. Valores de pH en berries en distintas etapas del análisis de muestras.

Referencias

1. SPE. Cultivo, poscosecha, procesado y comercio de *berries*. [En línea] Especialización de Servicios por la Producción Editorial. 2021. Disponible en: https://issuu.com/horticulturaposcosecha/docs/cultivo_poscosecha_procesado_y_comercio_de_berries.
2. Basu, A., Rhone, M. y Lyons, T.J. Bayas: impacto emergente en la salud cardiovascular. *Revisiones de Nutrición*. 2010; 68 (3), 168-177.
3. EFSA. *Salmonella* and Norovirus un berries. *European Food Safety Authority Journal*. 2014; 12(6), 1-12. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3706>
4. Food and Drug Administration [FDA]. Survey of imported fresh produce FY 1999 field assignment. 2001. Disponible en: <https://wayback.archive-it.org/7993/20170404223238/https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ProducePlantProducts/ucm118891.Htm>.
5. CDC. National Outbreak Reporting System (NORS) Dashboard | CDC. 2020. [En línea] Disponible en: <https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/> (Consultado: 18 octubre 2022).
6. FDA. BAM Chapter 1: Food Sampling/Preparation of Sample Homogenate. [En línea] U.S. Food and Drug Administration. 2022. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-1-food-samplingpreparation-sample-homogenate> (Consultado: 20 de agosto del 2022).
7. Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K. M. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*. 2001; 90(4), 494–507. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x>.
8. Sanglay, G., Eifert, J. & Sumner, S. Recovery of *Salmonella* spp. from raw produce surfaces using ultrasonication. 2004. *Winter*; 1(4):295-9. doi: 10.1089/fpd.2004.1.295.
9. Hammack, T. S., Johnson, M. L., Jacobson, A. P., & Andrews, W. H. Effect of sample preparation and preenrichment media on the recovery of berries from cantaloupes, mangoes, and tomatoes. *Journal of AOAC International*. 2006. 89(1), 180–184. <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.1.180>.

Elaboración de un plan de inocuidad para el campo agrícola de la UABCS

Avilés Colmenero, A.G.^{1*} • Beltrán Morales, F. A.¹ • Aguilar García, M.G. de J.²

Palabras clave: Buenas Practicas Agrícolas, Peligros de contaminación, Medida de control
Key words: Good Agricultural Practices, Pollution Hazards, Control Measure

Introducción

Una estimación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), ocasionan un impacto económico de grandes proporciones. En la actualidad, los consumidores demandan inocuidad y calidad en los alimentos que adquieren para su consumo. Por esta razón, la producción de alimentos requiere altos estándares de higiene.

Uno de los programas para eliminar los peligros del consumo de alimentos y reducir el número de brotes de ETA, es el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP por sus siglas en inglés) [1]. Es un sistema preventivo que busca la identificación de los principales peligros de contaminación para es-

tablecer la forma de eliminarlos [2]. Las medidas de control para reducir estos peligros de contaminación identificados en el análisis de peligros se describen en el plan técnico de ejecución, que consiste en un documento específico para las actividades que se desarrollan durante el proceso productivo. Para cumplir con las acciones establecidas se debe especificar que se realizará, como se llevará a cabo, en donde, quien y la frecuencia en que se realizaran las acciones, mediante la elaboración de los procedimientos operativos estandarizados (POES).

El campo agrícola de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS) tiene como propósito, en-

1 Departamento académico de agronomía. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al Sur Km 5.5. Apartado postal 19-B, 23080. La Paz, Baja California Sur. México.

2 Programa de Agricultura en Zonas Áridas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Km 1 Carretera a San Juan de La Costa el comitan, 23205. La Paz, Baja California Sur. México.

* colmenero1096@gmail.com



tre otros, apoyar las prácticas docentes de las carreras de Ingeniero Agrónomo e Ingeniero en producción animal, así como proyectos de investigación, trabajos de tesis para la titulación de alumnos y actividades de difusión y extensión. Los principales cultivos que se establecen son: maíz, frijol, calabacita, tomate, pepino, tomatillo, rábano, cilantro, entre otros. Una parte del producto obtenido se comercializa al interior de la propia universidad, mientras que otra parte considerable del producto se comercializa en negocios locales.

El presente estudio pretende generar información útil para la implementación de las medidas de control que deberán aplicarse para reducir los peligros de contaminación identificados en el análisis de peligros en el campo agrícola de la UABCS, mediante la elaboración de un plan técnico de ejecución.

Metodología

El estudio se desarrolla en el campo agrícola de la UABCS, el cual se localiza en el municipio de La Paz, en el estado de Baja California Sur; en las coordenadas geográficas 24°06'05.39" Latitud Norte y 110°18'53.73" Longitud Oeste.

Para la elaboración del plan técnico de ejecución, se tomó como referencia los peligros de contaminación identificados en el Análisis de Peligros, utilizando la metodología descrita en la Guía de apoyo para el diseño, elaboración e implementación de un análisis de peligros y plan técnico durante la producción primaria de vegetales, publicada por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) en julio de 2019 [3]

Las medidas de control a implementarse estarán descritas en los POES correspondientes. Estos documentos describen las instrucciones específicas para reducir los riesgos de contaminación. Precisan el cómo hacerlo, con qué, cuándo y quién. El manual se compone del conjunto de estos procedimientos. Según SADER-SENASICA (2021) [4], se podrán incluir dos tipos de procedimientos, los de carácter general y los de ejecución específica.

El número de registros a elaborarse dependerá del número de POES generados. La información mínima que debe contener un registro es: fecha, actividad, acciones correctivas, firma de los responsables, del supervisor y fecha de revisión. El mantener los registros permitirá comprobar el funcionamiento el programa de inocuidad.

Resultados y discusión

Los resultados preliminares del presente estudio se muestran en el siguiente listado (tabla 1) de POES que describen las medidas de control de los peligros identificados.

Conclusión

De acuerdo a los objetivos planteados y a los resultados preliminares obtenidos se concluye que, además de los POES de carácter general ya elaborados, se deberán generar los POES de aplicación específica que son aquellos que están diseñados en función de las condiciones específicas de producción del campo agrícola de la UABCS. Además de elaborar los registros correspondientes y el manual de procedimientos operativos que permita reducir o eliminar los peligros de contaminación identificados

Tabla 1. Resultados preliminares del estudio.

POES N°	NOMBRE
1	Higiene de instalaciones
2	Lavado de manos
3	Almacenamiento de agroquímicos
4	Higiene de trabajadores

Referencias

1. Forsythe, S. J. y Hayes, P. R. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. 2012. 2ª ed. Editorial Adcristia, S. A. Zaragoza, España.
2. González-Aguilar, G., Ayala-Zavala, J.F., Ruíz-Cruz, S., Álvarez-Parrilla, E. y Tejedor- Espinosa, W. Frutos y hortalizas cortados, Pág. 381-416. En: García- Béjar, A., Gonzalez, A.G., Higuera-Ciápara, I., Cuamea- Navarro, F. (Eds). Buenas prácticas en la producción de alimentos. 2007. Edit. CIAD, A.C., Trillas. México.
3. SADER-SENASICA. Guía de apoyo para el diseño, elaboración e implementación de un análisis de peligros y plan técnico durante la producción primaria de vegetales. 2019.
4. SADER-SENASICA. ANEXO TÉCNICO 1. Requisitos generales para la certificación y reconocimiento de Sistemas de Reducción de Riesgos de Contaminación (SRRC), Buen Uso y Manejo de Plaguicidas (BUMP) o Buenas Prácticas Agrícolas en la Actividad de Cosecha (BPCo) durante la producción primaria de vegetales, México. 2021.

Sobrevivencia de *Brucella abortus* durante la elaboración de queso fresco enriquecido con la cepa de *Lactobacillus paracasei* JLM

Benítez Serrano J.C.^{1*} • Martínez Pérez L.² • Fidencio Escalante D.L.² • Hernández Castro R.³
Palomares Resendiz G.⁴ • Díaz Aparicio E.⁴ • Suárez Güemes F.¹ • Arellano Reynoso B.¹

Palabras clave: Probiótico, Inhibición, Brucelosis

Key words: Probiotic, Inhibition, Brucellosis

Introducción

El género *Brucella* agrupa a cocobacilos patógenos Gramnegativos, causante de la brucelosis, la cual es una zoonosis, que afecta tanto a la salud pública como a la salud animal a nivel mundial. Se ha descrito que la mayor incidencia de los casos de brucelosis en humanos está asociada con el consumo de leche y derivados lácteos, contaminados con bacterias pertenecientes a este género, en donde puede sobrevivir por largos periodos de tiempo [1]. Para el control de la brucelosis en el ganado bovino, se emplea la cepa lisa atenuada de *B. abortus* S19 y en algunos países la cepa rugosa

de *B. abortus* RB51; ambas pueden causar infecciones persistentes en humanos.

Por su parte, las bacterias del género *Lactobacillus* son microorganismos Grampositivos que pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL), el cual está ampliamente distribuido en la naturaleza, estando presente en diferentes alimentos, suelo, tracto digestivo, boca y vagina de mamíferos, incluyendo al ser humano [2]. El género *Lactobacillus* es el más abundante dentro de las BAL y algunas de sus especies están consideradas dentro de la categoría de GRAS (*Generally*

1 Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior de Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México, 04510, México.

2 Laboratorio de Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

3 Departamento de Ecología de Agentes Patógenos, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", Tlalpan, Ciudad de México, 14080, México.

4 CENID Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Carretera Federal México-Toluca Km. 15.5, Cuajimalpa, Ciudad de México, 05110, México.

* bsjcarlos@hotmail.com



Recognized as Safety) [3], por lo que pueden ser utilizadas como probióticos [4]. Su uso como probióticos se reconoce por su influencia en el tracto intestinal y el efecto antagonico frente a bacterias patógenas, ya que además de poseer la capacidad de competir por nutrientes, también son capaces de producir metabolitos con actividad antimicrobiana, tales como ácidos orgánicos, péptidos del tipo bacteriocinas, biosurfactantes y otras moléculas aun sin caracterizar.

Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la sobrevivencia de cepas de *B. abortus* durante la elaboración de queso fresco enriquecido con la cepa *Lactobacillus paracasei* JLM aislada de aguamiel.

Metodología

Para este experimento se elaboró un total de 18 quesos frescos. Estos se dividieron en tres grupos de seis quesos (uno por cada cepa de *B. abortus* utilizada), que luego se dividieron en dos subgrupos de 3 quesos cada uno. El primer subgrupo se conservó a 4°C y el segundo a 25°C. Todos los quesos se suplementaron con *L. paracasei* JLM aislada de aguamiel [5].

Para la elaboración de cada queso se utilizó leche fresca pasteurizada, inoculada con *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 o *B. abortus* 2308, a una concentración final de 6×10^8 UFC/mL y el proceso consistió en 5 etapas: templado, cuajada, corte, desuerado y conservación. La elaboración de los quesos se realizó bajo condiciones asépticas a temperatura ambiente y la conservación se llevó a cabo a 4°C y 25°C, durante 7 días (Figura 1). En las diferentes etapas del proceso se determinó la sobrevivencia de las cepas de *B. abortus* mediante su recuento de UFC/mL en placas de agar Farrel [6].

Los resultados fueron analizados por ANOVA de dos vías, prueba de comparaciones múltiples Tukey y prueba de correlación de Pearson, mediante el programa GraphPad Prism 9.0®.

Resultados y discusión

El efecto antagonico de *L. paracasei* JLM durante la elaboración de queso fresco, mostró conteos bacterianos similares para las tres cepas de *B. abortus* durante las primeras cuatro etapas del proceso, obteniéndose

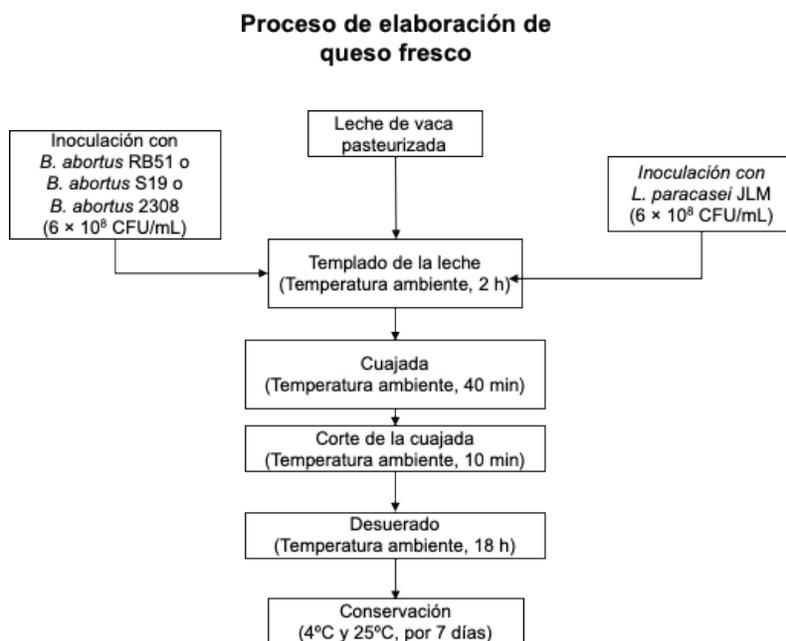


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de quesos frescos. Se indican los tiempos y temperaturas de cada etapa.

concentraciones para *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308 de 1.28×10^7 , 1.56×10^7 y 1.44×10^7 UFC/mL respectivamente, durante el día 0 de conservación.

En los quesos conservados a 4°C, las tres cepas presentaron una tendencia similar de sobrevivencia hasta el día 6 de conservación, donde se obtuvo un conteo 10 veces menor de la cepa de *B. abortus* RB51 con respecto a las cepas *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308, presentándose concentraciones de 4.16×10^4 , 3.05×10^5 y 3.49×10^5 UFC/mL, respectivamente. Para el día 7 se tuvieron conteos finales de 3.61×10^4 , 2.77×10^5 y 3.05×10^5 UFC/mL para las mismas cepas (Figura 2), encontrándose diferencias estadísticas significativas entre *B. abortus* RB51 y las cepas de *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308 ($P < 0.0001$).

Para los quesos conservados a 25 °C, las concentraciones obtenidas en el día 6 fueron de 4.05×10^3 , 3.44×10^3 y 2.61×10^4 UFC/mL para *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308, respectivamente, presentándose una concentración 10 veces menor por parte de las cepas *B. abortus* RB51 y *B. abortus* S19

con respecto a la cepa parental *B. abortus* 2308. Para el día 7 los conteos finales obtenidos fueron de 0, 0 y 2.72×10^3 UFC/mL para las mismas cepas (Figura 2), encontrándose diferencias estadísticas significativas entre las cepas de *B. abortus* RB51 y *B. abortus* S19, con respecto a *B. abortus* 2308 ($P < 0.0001$).

Por otra parte, los valores de pH en los quesos frescos conservados a 4°C presentaron un valor de 7 durante las primeras cuatro etapas de elaboración, teniendo un descenso en su valor durante el día 1 de la etapa de conservación a pH de 6, manteniéndose así hasta el día 7. Para los quesos frescos conservados a 25°C, se obtuvieron valores de pH de 7 durante las primeras 4 etapas, presentando un descenso a pH de 6 durante el día 1 de conservación y otro a pH de 5 durante el segundo día, manteniendo este valor hasta el día 7 (Figura 2). Los resultados demostraron que a valores cercanos al pH neutro (pH de 7), se presenta una mayor sobrevivencia por parte de las cepas de *B. abortus*, mostrando una correlación positiva entre la sobrevivencia y este valor ($P < 0.01$).

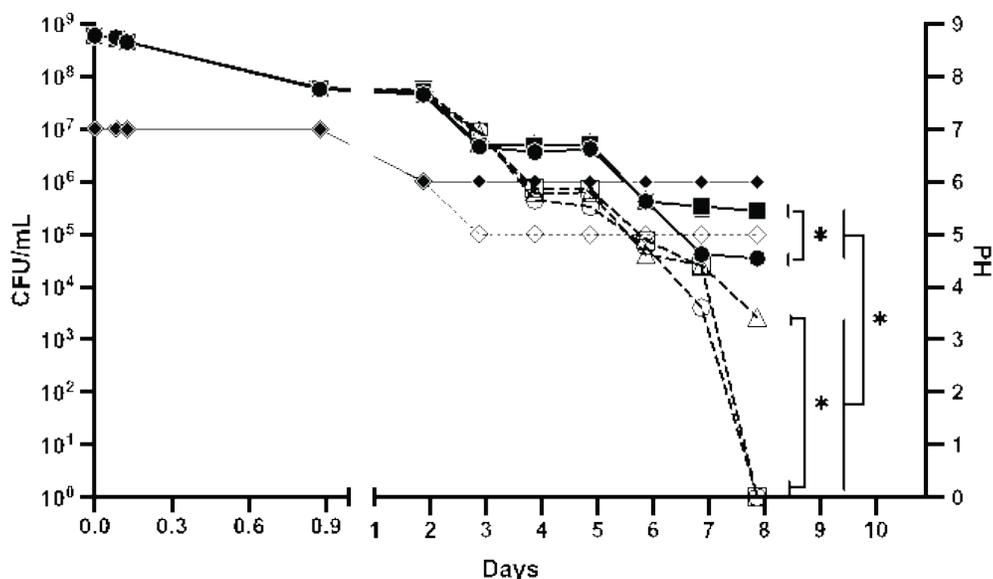


Figura 2. Determinación del efecto antagónico de *L. paracasei* JLM frente *B. abortus* durante la elaboración del queso fresco; Sobrevivencia de las cepas *B. abortus* RB51 a 4°C (●), *B. abortus* S19 a 4°C (■), *B. abortus* 2308 a 4°C (▲), *B. abortus* RB51 a 25°C (○), *B. abortus* S19 a 25°C (□) y *B. abortus* 2308 a 25°C (△) durante la elaboración de queso fresco; valores de pH a 4°C (◆) y pH a 25°C (◇).

Cada punto representa una etapa del proceso de elaboración: 0, 2, 3 h: inoculación, templado y corte; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días de conservación, posteriores a su elaboración. Los datos representan el promedio (\pm) desviación estándar (DS) de tres experimentos independientes. Los * muestran los grupos con diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$).

La sobrevivencia de *Brucella* en diferentes ambientes, incluidos alimentos como el queso, está en función de diversos factores ambientales como: temperatura, tiempo, exposición a luz solar, pH, a_w , presencia de bacterias competidoras, etc. En 2022 Benítez et al. demostraron que las cepas vacunales de *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y la cepa parental *B. abortus* 2308, eran capaces de sobrevivir hasta por 7 días en queso fresco conservado tanto a 4°C como a 25°C. Sin embargo, en el presente trabajo se demostró que la cepa de *L. paracasei* JLM es capaz de generar sustancias antimicrobianas, frente a las cepas de *B. abortus* utilizadas. Aunque actualmente ya se ha descrito que la capacidad de las BAL para generar sustancias antimicrobianas depende de forma importante del medio de cultivo empleado, siendo el medio MRS uno de los más utilizados [7], en este trabajo se pudo demostrar que la cepa de *L. paracasei* JLM utilizada fue capaz de inhibir el crecimiento de *B. abortus* RB51 y *B. abortus*

S19 en la elaboración de queso fresco a partir del día 7 de conservación a 25°C.

Conclusión

La cepa de *Lactobacillus paracasei* JLM es capaz de generar un efecto antagónico frente a *Brucella abortus* durante la elaboración de un producto lácteo como el queso fresco, lo que ofrece una alternativa potencial para futuras aplicaciones como probiótico.

Agradecimientos y fuente financiera

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Posgrado en Ciencias de la producción y de la salud animal de la FMVZ.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) UNAM, por la beca posdoctoral de Juan Carlos Benítez Serrano, para la realización de este proyecto.

Referencias

1. Khurana SK, Sehrawat A, Tiwari R, et al. Bovine brucellosis—a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*. 2021. doi: 10.1080/01652176.2020.1868616.
2. Tannock, GW. A Special Fondness for *Lactobacilli*. *Applied and Environmental Microbiology*. doi: 10.1128/AEM.70.6.3189-3194.2004.
3. Nishie M, Nagao J, Sonomoto K. Antibacterial peptides “Bacteriocins”: An overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Science*. 2012. doi:10.4265/bio.17.1.
4. Ried K. Gastrointestinal health. The role of pre- and probiotics in standard foods. *Australian Family Physician*. 2004.
5. Benítez-Serrano JC, Martínez-Pérez L, Rosas-Murrieta NH, et al. Isolation of a *Lactobacillus* strain from aguamiel and preliminary characterization of its antimicrobial components. *African Journal of Microbiology Research*. 2018. doi:10.5897/ajmr2018.8883
6. Benítez-Serrano JC, Palomares-Resendiz G, Díaz-Aparicio E, et al. Survival of *Brucella abortus* RB51 and S19 Vaccine Strains in Fresh and Ripened Cheeses. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2022. doi: 10.1089/fpd.2022.0001.
7. Yang E, Fan L, Yan J, et al. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*. 2018. doi:10.1186/s13568-018-0536-0.

Evaluación microbiológica de las manos del personal de una institución educativa durante el regreso a clases

Zárate González, N.D.¹ • Caudillo Ortega, N.A.^{1*} • Caudillo Ortega, L.²
León Rodríguez, E.¹ • Martínez Rodríguez, E.D.¹ • Rivera Domínguez, C.¹

Palabras clave: limpieza, propagación y COVID-19
Key words: cleaning, spread and COVID-19

Introducción

A principios del primer trimestre del año 2020, las universidades a nivel mundial cancelaron clases presenciales o eventos masivos, como una medida para prevenir y proteger a los estudiantes y personal docente y administrativo de la enfermedad COVID-19 altamente infecciosa derivada del SARS-CoV-2 [1]. La transmisión del virus de la COVID-19 se relacionó con el contacto físico de las personas en lugares cerrados, como oficinas de trabajo, centros recreativos, entre otros. Una de las recomendaciones mayormente recomendadas para prevenir la propagación de la COVID-19, fue el lavado de manos y uso de gel antibacterial [2]. El SARS-CoV-2 es sensible a los desinfectantes por su morfología al tener una frágil capa exterior de lípidos y sobrevive dentro de valores del

pH y temperaturas ambientales, pero es sensible al calor y los métodos de desinfección ordinarios [3]. Por lo anterior, es importante evaluar la limpieza en las manos de estudiantes, docentes y personal administrativo de la institución educativa con el objetivo de prevenir el contagio de este virus durante el regreso de clases presenciales.

Metodología

Muestreo microbiológico

Los sujetos seleccionados para este estudio contemplaron cuatro áreas diferentes: estudiantes, docentes, coordinadores de carrera y personal administrativo, (n=10 por área). La muestra fue representativa sin daños o cambios durante el transporte y/o almace-

1 Tecnológico Nacional de México / ITS de Guanajuato. Carretera Guanajuato a Puentecillas Km 10.5, Puentecillas, 36262 Guanajuato, Guanajuato, México.

2 Universidad de Guanajuato/ Departamento de Enfermería y Obstetricia sede Guanajuato. Noria Alta, 36050 Guanajuato, Guanajuato, México.

* ncaudillo@itesg.edu.mx



miento. Se tomó de referencia para el muestreo una superficie de 5 x 5 cm de la palma de la mano con un hisopo estéril [4]. El muestreo se realizó de forma semanal durante 10 semanas.

Siembra de muestras por vertido en placa

El análisis microbiológico contempló los microorganismos indicadores a partir de diluciones seriadas. La siembra microbiológica se realizó de acuerdo con lo descrito en la NOM-092-SSA1-1994 para bacterias [5] y NOM-111-SSA1-1994 para hongos y levaduras [6].

Análisis estadístico

Los resultados se presentan en medias y desviación estándar. Se realizó un análisis de medidas repetidas seguido de un post-hoc de Tukey, y se consideró diferencia significativa con una $p < 0.05$.

Resultados y discusión

El muestreo microbiológico se realizó en la palma de la mano de estudiantes, docentes, coordinadores académicos y personal administrativo de una institución educativa durante el regreso a clases en el semestre Enero – Junio 2022. Se tomó como referencia los microorganismos indicadores de limpieza en la industria de los alimentos, lo cuales contemplan; mesófilos aerobios, coliformes totales, hongos y levaduras. La verificación de la limpieza en manos del personal dentro de la institución educativa es importante para conocer si realmente las medidas de sanidad son atendidas por todo el personal.

De acuerdo con la NOM-093-SSA1-1994 [7], una superficie limpia es aquella que se encuentra de forma visible libre de cualquier sustancia o materia diferente al material intrínseco del que está hecha, mientras que una superficie viva que esté en contacto con los alimentos debe tener como límites microbiológicos los siguientes: cuenta total de mesofílicos aerobios $< 3,000$ UFC/cm² de superficie, coliformes totales < 10 UFC/cm² de superficie. La superficie para el muestreo fue de 25 cm² de la palma de la mano.

Las bacterias mesófilas aerobias (BMA) crecen entre las temperaturas de 20-45 °C, requieren de oxígeno e incluyen bacterias patógenas y no patógenas. El recuento puede ser de muestras de agua, alimentos o en este caso de superficies vivas o inertes, utensilios o trapos [8]. En bacterias mesófilas aerobias el ma-

yor conteo microbiológico se obtuvo en las semanas tres y cinco en manos de los estudiantes (alrededor de 1600 UFC/cm²), y en la semana dos en las manos de coordinadores académicos (1400 UFC/cm²), para este último después de estas semanas se mantuvo en niveles más bajos. Para el personal docente, los resultados con un conteo menor se presentaron en la semana cinco y nueve en manos del personal docente (1000 y 1400 UFC/cm², respectivamente), mientras que en las manos del personal administrativo se obtuvo un conteo menor de 800 UFC/cm² durante todas las semanas (Figura 1). Los resultados de coliformes totales indicaron ausencia de este tipo de microorganismos.

Las semanas que presentaron los conteos mayores de BMA, no sobrepasan el límite permitido en superficies vivas establecido por la NOM-093-SSA1-1994 (< 3000 UFC/cm² de superficie), por lo tanto, el personal de la institución educativa cumplió con las medidas de prevención con respecto al lavado de manos y/o uso del gel antibacterial durante el semestre. Caro-Hernández y cols. 2020, reportaron el porcentaje de cumplimiento del conteo de bacterias mesófilas aerobias en superficies vivas en diferentes meses y mostraron que no existe una relación significativa entre las épocas de muestreo, cumpliendo con el límite permitido de este tipo de microorganismos [4]. Asimismo, el conteo de coliformes totales fue ausente, estos resultados son favorables ya que constituyen el 10% de los microorganismos intestinales de los seres humanos y otros animales.

Por otro lado, la determinación de hongos y levaduras presentó un conteo mayor en las manos de los estudiantes en la semana cinco, alrededor de 1200 UFC/cm². Mientras que en manos del personal docente fue en la semana cinco y nueve, alrededor de 1280 UFC/cm². El conteo más bajo se presentó en manos de coordinadores académicos y personal administrativo con < 600 UFC/cm², durante todas las semanas (Figura 2). Hasta el momento la secretaría de salud, de acuerdo con la NOM-093-SSA1-1994, no presenta especificaciones para este tipo de microorganismos.

El análisis estadístico de los resultados para bacterias mesófilas aerobias y para hongos – levaduras, no presentó diferencia significativa del conteo microbiológico, y tampoco durante las 10 semanas del muestreo ($p = 0.164$).

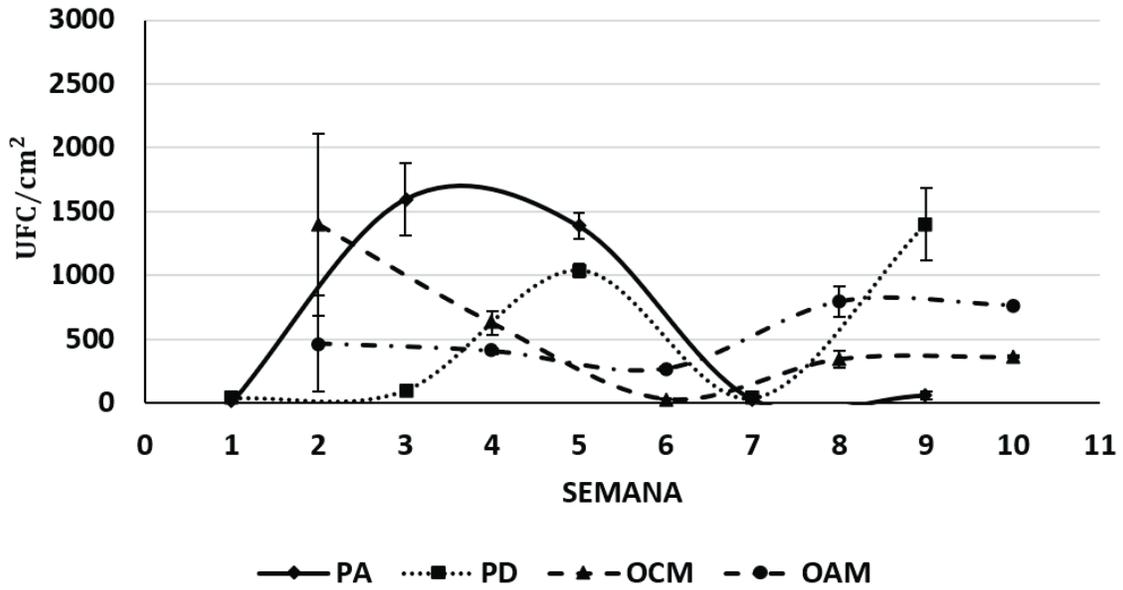


Figura 1. Conteo microbiológico de bacterias mesófilas aerobias en la palma de las manos de; PA - estudiantes, PD -docentes, OCM – coordinador académico y OAM – personal administrativo.

Los resultados muestran la media \pm desviación estándar.

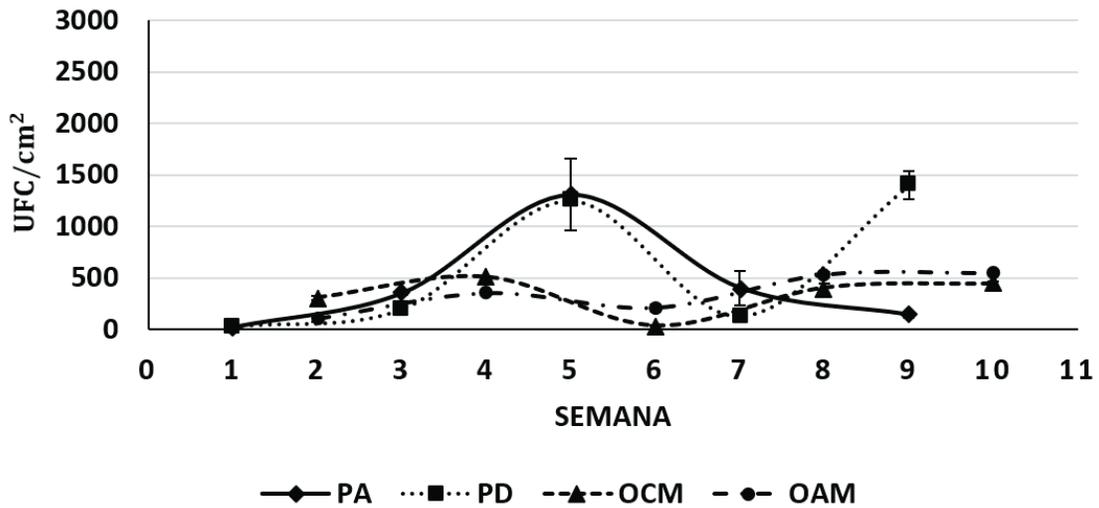


Figura 2. Conteo microbiológico de hongos y levaduras en la palma de las manos de; PA - estudiantes, PD -docentes, OCM – coordinador académico y OAM – personal administrativo.

Los resultados muestran la media \pm desviación estándar.

Conclusión

El personal dentro de la institución educativa cumplió con el lavado de manos y gel antibacterias. Las UFC/cm² en bacterias mesófilas aerobias y hongos –levaduras, no excedieron la especificación establecida por

la NOM-093-SSA1-1994. El comparar el conteo de ambos tipos de microorganismos no presentó diferencia significativa durante el tiempo de muestreo.

Referencias

1. Sahu P. Closure of universities due to Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): impact on education and mental health of students and academic staff. *Cureus*. Published online 2020:vol. 12, no 4.
2. Organization WH. Risk Communication and Community Engagement(RCCE) Action Plan Guidance COVID-19 Preparedness and Response.WHO.
3. Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*. 2020;1(1):e10. doi:10.1016/S2666-5247(20)30003-3
4. Caro-Hernández PA, Tobar JA. Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos. *Entramado*. 2019;16(1 SE-Artículos):240-249. doi:10.18041/1900-3803/entramado.1.6126
5. NOM-092-SSA1-1994,Bienes y servicios.Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. SS.
6. NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Secretaría de Salud. Published 1994. Accessed January 7, 2022. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0
7. NOM-093-SSA1-1994, Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Secretaría de Salud.
8. Escobedo López, A. B., Meneses Sánchez, M. D. L. C., & Castro Lino A. Estudio microbiológico (cualitativo y cuantitativo) de superficies inertes que están en contacto con la preparación de alimentos en cafeterías de una universidad pública. *Revista Electrónica Sobre Cuerpos Académicos Y Grupos De Investigación*, 3(6). Published 2016. <https://www.cagi.org.mx/index.php/CAGI/article/view/112>

Determinación de coliformes totales, fecales y *E. coli* O157:H7 en lechuga iceberg (*Lactuca sativa* L.) comercializada en la Zona Metropolitana de Guadalajara

Álvarez Aguirre, A.¹ • Flores Alcaraz, G. B.^{1*} • Fierros Uribe D.¹
Olea Rodríguez M. A.¹ • Marin Molina A. L.¹

Palabras clave: lechuga, *E. coli*, coliformes
Key words: lettuce, *E. coli*, coliforms

Introducción

Dentro de las primeras causas de consulta médica y de mortalidad se encuentran las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), lo que constituye un gran problema de salud pública [1]. Éstas son un impedimento significativo en el desarrollo socioeconómico de México y el mundo, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se enferman 77 millones de personas debido a una ETA tan sólo en la región de las Américas, y mueren más de 9,000 personas a causa de estas [2]. Lamentablemente, la población más vulnerable son los niños y ancianos de bajos recursos o en situación de desnutrición [1].

Uno de los principales alimentos que están relacionados con ETAs son las hortalizas, debido a que están

altamente expuestas a contaminantes por malas prácticas de producción, como el empleo de agua de riego poluida, el uso de desechos biológicos sólidos sin tratamiento apropiado como fertilizantes, mala higiene en las instalaciones y la presencia de animales en las áreas de cultivo, entre muchos otros factores [3]. De manera que, las hortalizas frescas son portadoras de elevadas cargas microbianas, situación que se ha agravado durante las últimas décadas por la presencia de bacterias patógenas que pueden llegar a producir complicaciones severas [4]. Aunado a esto, el hecho de que estos productos se consumen generalmente sin ningún tipo de cocción, eleva considerablemente la posibilidad de contraer enfermedades, lo cual está

1 Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán 1421, Olímpica, 44430 Guadalajara, Jal.

* guadalupe.flores6463@alumnos.udg.mx



altamente influenciado por prácticas de consumo como el lavado o la desinfección previa.

Uno de los patógenos que tiene mayor incidencia en ser el agente causal de una ETA y está directamente relacionado con las hortalizas es *Escherichia coli*; bacilo Gram negativo, no formador de esporas, móvil por flagelos peritricos y anaerobio facultativo. Este microorganismo es comúnmente encontrado en el intestino de mamíferos de sangre caliente, se suele considerar como comensal ya que la mayoría de sus cepas son inofensivas, sin embargo, ciertos patotipos pueden llegar a causar graves enfermedades al humano a través del consumo de alimentos contaminados [5].

Lamentablemente, México cuenta con muy pocos datos epidemiológicos sobre patógenos en productos frescos y básicamente nula información sobre la magnitud de la participación de éstos como vehículos de transmisión en brotes de ETAs. Así mismo, con la creciente demanda de productos frescos, es necesario implementar medidas de control sobre su calidad microbiológica, con el fin de detectar contaminación y así evitar poner en riesgo la salud de los consumidores. Por lo que, el objetivo del presente trabajo es determinar la presencia de coliformes fecales, totales y *Escherichia coli* O157:H7 en lechugas variedad Iceberg obtenidas de diferentes comercios y si esto a su vez representa un riesgo potencial para la salud de la población consumidora.

Metodología

El tipo de estudio que se realizó fue de carácter prospectivo, descriptivo, y observacional. Se consideró como variable dependiente: presencia de coliformes totales, fecales, *E. coli* genérica y patógena en la lechuga y como variable independiente: métodos de aislamiento y cuantificación.

Para el universo muestral se seleccionaron dos lugares donde se comercializa lechuga variedad Iceberg a granel: mercado municipal y tianguis, ubicados dentro de la zona metropolitana de Guadalajara, Jalisco, México. Se tomaron 15 muestras de forma aleatoria procedentes de cada uno de los lugares seleccionados.

Preparación de la muestra.

Se despojaron a las lechugas de sus dos o tres hojas externas (o las que se encontraban dañadas) y del

tronco de la planta utilizando un cuchillo estéril. Se realizó un corte central, para cortar trozos medianos y extraer muestras representativas tanto del centro, como las partes externas y medias.

Determinación de coliformes totales y fecales.

Se empleó la técnica del NMP (número más probable) mencionada en el apéndice H de la NOM-210-SSA1-2014 [6].

Posteriormente para la determinación de *E. coli*, de cada tubo que mostró formación de gas y turbidez en el caldo EC, se inoculó en agar MacConkey conforme a la técnica de agotamiento del inóculo. Se incubó a 35°C durante 24 horas. Posteriormente se seleccionaron colonias típicas de *E. coli* y se procedió a realizar el IMViC.

Para la búsqueda de *E. coli* O157:H7 se tomaron las colonias cuyo IMViC resultó característico y se sembraron en agar MacConkey con sorbitol (SmaC), esperando encontrar crecimiento típico.

Resultados y discusión

Dentro de la normativa de nuestro país, y conforme a lo establecido en el apéndice B de la NOM-093-SSA1-1994, el límite máximo de coliformes fecales para ensaladas verdes crudas o de frutas es de <3 NMP/g. Cabe mencionar que esta es una de las pocas normas que rigen el control microbiológico de este tipo de alimentos y que no existe un buen control y regulación en cuanto a verificar su calidad dentro de México.

En contraparte, según el reglamento técnico panamericano, el límite máximo permitido de coliformes fecales es 93 NMP/g para frutas y vegetales frescos, con un tipo de riesgo C, el cual se refiere a alimentos que tienen baja probabilidad de causar daño a la salud.

Las tablas 1 y 2 muestran los resultados obtenidos, encontrándose que las muestras de lechuga provenientes del mercado municipal y tianguis no cumplen con el límite establecido por el reglamento panamericano, ya que el NMP de coliformes fecales encontrado en estas van de 2,900 a 11,000 NMP/g. Como se puede observar, el comportamiento de las muestras es relativamente heterogéneo. Los rangos entre 1.477 y 4.72 log de NMP de coliformes totales, son valores que se encuentran fuera de los límites

Tabla 1. NMP coliformes totales, fecales y *E. coli* /g muestra, procedente de lechugas de mercado municipal (expresados en logaritmos).

ID muestra	NMP coliformes totales/g	NMP coliformes fecales/g	NMP <i>E. coli</i> / g	<i>E. coli</i> O157:H7
M1	3.460	3.390	3.390	No detectable
M2	3.60	3.30	3.30	No detectable
M3	3.20	3.1	3.1	No detectable
M4	1.556	1.477	NA	NA
M5	3.320	3.3	3.3	No detectable
M6	3.790	3.60	3.5	No detectable
M7	3.560	3.50	3.50	No detectable
M8	4.0	3.60	3.60	No detectable
M9	3.560	3.0	3.0	No detectable
M10	3.20	3.2	3.2	No detectable
M11	2.176	1.477	NA	NA
M12	3.90	3.0	3.0	No detectable
M13	3.90	3.90	3.90	No detectable
M14	1.477	N/A	N/A	NA
M15	3.90	3.5	3.5	No detectable

Tabla 2. NMP coliformes totales, fecales y *E. coli* /g muestra, procedente de lechugas de tianguis (expresados en logaritmos).

ID muestra	NMP coliformes totales/g	NMP coliformes fecales/g	NMP <i>E. coli</i> / g	<i>E. coli</i> O157:H7
T1	3.70	3.0	3.0	No detectable
T2	1.477	N/A	N/A	N/A
T3	4.6	4.2	4.2	No detectable
T4	4.72	4.5	4.5	No detectable
T5	3.50	3.3	3.3	No detectable
T6	3.70	3.5	3.5	No detectable
T7	3.90	3.5	3.5	No detectable
T8	1.477	N/A	N/A	N/A
T9	3.80	3.0	3.0	No detectable
T10	4.60	4.3	4.3	No detectable
T11	3.90	3.9	3.9	No detectable
T12	3.90	3.5	3.5	No detectable
T13	1.477	N/A	N/A	N/A
T14	3.96	3.1	3.1	No detectable
T15	4.0	4.0	4.0	No detectable

permisibles por la normatividad. Dicho resultado se explica con el hecho de que, generalmente, se comercializan en deficientes condiciones sanitarias, al aire libre, se transportan sin refrigeración con posible exposición al sol o a altas temperaturas, están en contacto cercano con otro tipo de productos crudos y suelen ser manipuladas por varias personas, los cuales son grandes factores de exposición a contaminación cruzada.

Por otra parte, a pesar de que la gran mayoría de las muestras provenientes tanto de mercados como de tianguis resultaron positivas a *E. coli* genérica, en ninguna se confirmó la presencia de *E. coli* O157:H7. Sin embargo, esto no garantiza que el consumo de este producto sea seguro, ya que al haber encontrado *E. coli* indica la mala calidad microbiológica que presentan las lechugas de las distintas zonas de procedencia y su potencial riesgo sanitario.

Para ampliar el panorama de estudio, se realizó un ensayo preliminar de las lechugas comercializadas como “listas para consumo” encontrando una elevada carga de coliformes totales y fecales, con valores de 4.041 log de NMP, lo cual representa un mayor riesgo potencial para la salud ya que, al estar etiquetado de

esta manera, los consumidores no aplican procesos previos de lavado y desinfección. Entre las posibles causas de la presencia de esta contaminación se encuentran las condiciones insalubres en la cosecha, transporte, manipulación, empaque y comercialización o alguna deficiencia en el lavado o desinfección de la lechuga ya que al añadir factores como los utensilios que cortan la lechuga, el agua con la que se lavan, el área de trabajo, los trabajadores y hasta las bolsas de empaque pueden incrementar la contaminación. Los resultados obtenidos sugieren realizar un análisis más profundo sobre estas lechugas para comprobar su inocuidad, detectar el origen del problema y poder establecer alguna solución.

Conclusión

Conforme a los resultados obtenidos en este trabajo se encontró que resulta de vital importancia para el consumidor lavar y desinfectar de una forma eficiente las hortalizas previo a su ingesta, con el fin de reducir la carga microbiana presente y así prevenir una ETA, ya que las condiciones precosecha, cosecha y postcosecha no son las adecuadas para conservar la inocuidad de los productos.

Referencias

1. Hernández, C., Aguilera, M., Castro, G. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2011 31 (4): 137-151
2. OMS. Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria: estimaciones de la OMS. 2015. Disponible en https://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/amro_es.pdf. Consultado el 07 de diciembre de 2021.
3. Puig, Y., Leyva, V., Rodríguez, A., et al. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2013. E-ISSN: 1729-519X.
4. Muñoz, M. *Escherichia coli* O157:H7 en hortalizas de fundos agrícolas en la periferia de la ciudad de Lima - Perú. 2017. Disponible en <https://core.ac.uk/download/pdf/323353344.pdf>. Consultado el 07 de diciembre de 2021.
5. OMS. *E. coli*. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>. Consultado el 07 de diciembre de 2021.
6. SSA. NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. *DOF*. 2014.

**XXIV Congreso
Internacional
Inocuidad de Alimentos**

XXXIX Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos
Edición Online 3,4 y 5 de noviembre 2022



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE TONALÁ

