



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**Desarrollo de un antibacteriano orgánico de aceite tomillo  
para su aplicación en el hidrogenfriamiento después del  
tratamiento térmico para mango ataulfo de exportación.**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

**PRESENTAN :**

**ANABID ARROYO MARIN**

**MENDOZA ESCOBAR NANCY**

**ASESORAS :**

**DRA. MARIA ANDREA TREJO MARQUEZ**

**DRA. ALMA ADELA LIRA VARGAS**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Desarrollo de un antibacteriano orgánico de aceite de tomillo para su aplicación en el hidrogenamiento después del tratamiento térmico para mango ataulfo de exportación

Que presenta la pasante: Anabid Arroyo Marin

Con número de cuenta: 309112976 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Septiembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Carolina Moreno Ramos	
VOCAL	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
2do. SUPLENTE	M. en C. Selene Pascual Bustamante	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORBAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Desarrollo de un antibacteriano orgánico de aceite de tomillo para su aplicación en el hidrogenamiento después del tratamiento térmico para mango ataulfo de exportación.

Que presenta la pasante: Nancy Mendoza Escobar

Con número de cuenta: 309095596 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Septiembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Carolina Moreno Ramos	
VOCAL	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
2do. SUPLENTE	M. en C. Selene Pascual Bustamante	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*

*Dedico con todo mi corazón esta tesis a Dios,  
a mis padres y a mis hermanos,  
por el invaluable apoyo y amor  
que siempre me han ofrecido.  
Los amo*

***Anabid Arroyo Marín***

*Dedico esta tesis a mis padres  
quienes forjaron una disciplina inquebrantable  
y es ahora cuando todos vemos reflejados  
todos los sacrificios familiares.*

***Nancy Mendoza Escobar***



## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

### **UNAM**

*Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento, reconocimiento y cariño a nuestra máxima casa de estudios UNAM como nuestra alma máter de México por habernos dado, tantos conocimientos, vivencias, experiencias, tantas alegrías y por darnos la oportunidad de formar parte de ella.*

*Del mismo modo agradecemos de forma especial a nuestras asesoras de tesis Doctoras: Andrea Trejo y Adela Lira, quienes con su tiempo y conocimientos supieron guiar el desarrollo de nuestro proyecto.*

*Agradecemos al **proyecto PIAPI 1805**. Aplicación de tecnologías emergentes para la conservación, aprovechamiento y control de la inocuidad de productos vegetales.*

*El presente trabajo fue financiado por el **proyecto IT202419** Aplicación de tratamientos de ultrasonido, campos eléctricos y cocción solar en el procesamiento de productos hortofrutícolas típicos de México.*



## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

### **A mis padres:**

*Joel y Victorina por haberme brindado la oportunidad de estudiar una carrera, por su esfuerzo, dedicación y confianza. Mamá, tú eres la persona que siempre me ha levantado los ánimos en todo momento, gracias por tu paciencia, por esas palabras sabias que siempre tienes para mí, por ser mi amiga y ayudarme a cumplir mi sueño, te amo mamá.*

*Papá gracias por tu apoyo, orientación, por ayudarme a llegar a donde estoy y sobre todo gracias por el amor que me tienes.*

### **A mis hermanos:**

*Sergio, Oralia y Joel gracias por siempre creer en mí, por su amor, apoyo y por motivarme a concluir esta etapa tan importante en mi vida, son unos hermanos grandiosos y me siento afortunada de tenerlos, este éxito es gracias a ustedes.*

### **A mis sobrinas:**

*Adri y Kar ustedes son el reflejo de una de las mujeres que más amo, les agradezco el amor, apoyo y risas que me han dado, ojalá me vean como un ejemplo a seguir y espero que Dios las bendiga siempre.*

### **A mis cuñados:**

*Araceli y Edel por la entrega y ayuda incondicional que recibí de ustedes. Por siempre estar dispuestos a dar lo mejor para mí y nuestra familia.*

### **A mi novio:**

*Pedro tu ayuda ha sido fundamental, me has acompañado aún en los momentos más difíciles. Este proyecto no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome, y te lo agradezco mucho y para siempre.*



***A mi compañera de tesis:***

*Nancy, gracias por ser mi mano derecha todo este tiempo, por la ayuda y buenos momentos que pasamos juntas, eres una gran persona y me siento afortunada de tenerte como amiga.*

***A mis asesoras:***

*Por el profesionalismo, experiencia y por los conocimientos que me transmitieron, Dra. Andrea muchas gracias por la oportunidad y por todo su apoyo, la quiero y admiro mucho.*

*Dra. Adela por toda tu contribución en este proyecto eres una gran maestra y amiga, me llevo muchos conocimientos tuyos, te quiero mucho.*

***Con gratitud y amor Anabid Arroyo***





## **Agradezco a**

*Mi madre María de Lourdes Escobar que es mi raíz, mi fundamento. Ella planto la semilla en la que me base mi vida, y esa es la creencia de que la capacidad de lograr lo que quieras comienza en tu mente.*

*Querida madre, hoy escribo estas líneas deseando que lleguen al cielo, donde ahora es tu nuevo hogar. Te dedico todo lo que soy, todo lo que tengo y todo lo que he logrado. Has sido y serás mi gran amor y sé que ambas deseáramos estar juntas, desgraciadamente Dios tiene otros planes para las dos. Nunca terminare de regresarte todo el amor y el cariño incondicional que diste desde que estaba en tu vientre dulce mujer (Aun recuerdo tu carita de anhelo cuando contabas la historia de mi llegada a tu vida y decir que sería tu mejor amiga). Mi morenita hermosa, creo que jamás terminaré de decirte cuanto “TE AMO” y aunque este ha sido mi logro más grande; es más tuyo que mío. Por cada espera en la parada del autobús, por cada despedida por la ventana, por todos los desayunos antes de ir al colegio, por todas las carreras que dabas tras cada olvido de “tu niña” como solías llamarme, por cada centavo guardado que pudo haber sido para ti, pero que compartías conmigo con mucho amor, por cada palabra de aliento cada vez que regresaba a casa destrozada, desanimada y frustrada por no entender cosas de la escuela, por cada examen o asignatura reprobada, por todas y cada una de las veces que ya no podía o no sabía qué hacer. Gracias por siempre escucharme y darme todo tu tiempo, por estar conmigo siempre e incondicionalmente sin juzgarme por quien o como soy. Gracias por apoyarme para llegar aquí con todo y altibajos, gracia por siempre exigirme más y demostrarme que podía hacer más. Gracias por siempre animarme en cada inicio de ciclo escolar, gracias por siempre curar mis heridas y alegrar mis días más tristes y oscuros. Hoy te extraño más que nunca y extraño que me digas “Tú puedes”. Hoy doy por hecho que estas muy orgullosa de mí, porque hiciste de mí una mujer trabajadora, responsable, llena de muchas virtudes, mismas virtudes que se me quedaron sembradas por ti; mi bella mujer.*

*Cada día trato de seguir tu ejemplo y hacer las cosas como tú me enseñaste. Recordando ser más humana y empática con la gente como lo fuiste tú. No cabe duda de que soy todo tu reflejo y trabajo en ello todos los días. Dedico todo mi trabajo, mi empeño a tu memoria mi amada madre. Tus abrazos durarán mucho más tiempo después de que te hayas ido, y donde*



*quiera que haya estado un alma hermosa como la tuya, siempre habrá un rastro de hermosos recuerdos, un besito al cielo. Hoy solo queda decirte “LO LOGRAMOS LULÚ”, cumplimos.*

*A ti, Juan Mendoza. Gracias por ser un padre ejemplar por siempre guiarme en mi camino y evitarme tantos obstáculos y caídas innecesarias. Gracias por cuidar mis pasos desde siempre y hacer de mí una mujer independiente, trabajadora y responsable. Te agradezco por tu admirable esfuerzo, tenacidad; por tu constancia y las ganas de siempre vernos bien. Gracias por todo lo que me brindaste para llegar hasta aquí, nada hubiera sido igual sin tu apoyo. Gracias por motivarme y llenarme de aspiraciones. Gracias por todos y cada uno de tus consejos los atesoro siempre en mi mente y en mi corazón. Te amo papá, y te dedico todo mi trabajo y esfuerzo.*

*A ti mi hermano Fernando Mendoza, gracias, hermano por siempre consentirme y cuidar de mí. Desde siempre has estado presente y quiero que lo sigas estando. Prometo cuidar de ti siempre y apoyarte con todo lo que este en mis manos. Te amo hermano.*

*Durante mi andar he tenido la dicha de estar rodeada de personas que han sido valientes y tolerantes en soportarme y es que ciertamente me describo como una persona difícil en toda la extensión y más allá de la palabra. No sabía cómo escribir los siguientes agradecimientos y pasaron por mi mente un sin fin de ideas para hacerlo; asignar un número, un orden alfabético, o simplemente ordenarlos por antigüedad. Así que solo lo hice al azar porque todas y cada una de ustedes me han enseñado el significado de la “amistad” a lo largo de todas las etapas de mi corta vida y son ustedes a las que asigno un dedo de mi mano para contabilizarlas como mis “amigo (a)”*

*A ti mi querida Paola Mestiza, mi amiga desde hace 9 años en aquel Colegio de Ciencias y Humanidades donde nos “topamos” y aunque deseabas hacer desatinar al destino terminaste cediendo y ahora han pasado muchos años. Tengo la dicha de tenerte en mi vida y me enorgullece mucho verte crecer y ver la persona en la que te has convertido. Gracias por siempre correr, por ser constante y siempre guardar la calma en cada berrinche mío. Recuerdo todas y cada una de nuestras aventuras y las atesoro en mi memoria, dejándote en claro que tengo evidencias fotográficas de todas. Te convertiste en un ser que ha aportado tanto en mi vida que no sé qué haría sin ti en mis días malos y en los buenos. Quiero compartir los días futuros contigo siempre... que yo estaré ahí aguardando por ti querida*



*amiga. Gracias por complementarme y ser mi contraparte, siempre seremos como el ying y el yang.*

*Mi querida amiga Karla Rodriguez hemos afinado tanto nuestra amistad que te agradezco mucho tu tiempo y todo tu espacio. Gracias por siempre ser tan prudente y precavida. Todo el tiempo cuidando de mí, procurándome en todo momento. Gracias por siempre estar a mi lado, sin importar las circunstancias. Yo prometo de corazón que siempre haré de las mías, siempre tendré momentos infantiles y prometo llevarte al extremo de tu paciencia y exponerte al ridículo social.*

*De verdad que hubiera querido fusionar en un mismo párrafo mi sentir hacia ustedes dos; porque ambas han sido un motor constate en mi vida. Ambas tan iguales y desiguales a la vez. Ambas han sabido cómo sacarme de baches emocionales, personales y profesionales. Creo que ambas me conocen más que yo a mí misma y es con ambas he encontrado el significado de “amistad incondicional”. De la misma manera me siento afortunada y agradecida de tenerlas en mi vida.*

*Han pasado 7 años desde que te conocí mi mueganito favorito todo lo que tengo ahora es gracias a ti, Martha Santana (es inevitable no mencionar Santana y no recordar a Chasco mencionarlo). ¡Dios cuantas cosas no hemos pasado!, todas han sido maravillosas (y de verdad es una pena que no puedo redactar groserías), pero es que de verdad has llegado a conocerme hasta la raíz, y te has convertido en mi mejor amiga, mi confidente, mi compañera de viaje, mi consejera, de verdad me has exprimido y mi has llevado al límite para dar lo mejor de mi profesional y personalmente. Gracias de corazón por siempre darme un abrazo llegando al trabajo, no sabes cuan reconfortante es verte y poderte contar lo que pasa por mi cabeza, mis proyectos y mis sueños guajiros. Tenemos muchos planes juntas y de verdad quiero verlos realizarse. Te mereces la luna y las cosas más maravillosas, tengo tantas cosas que aprender de ti. Ojalá algún día logre conservar la calma, la buena actitud y la bonita sonrisa que te caracteriza. De verdad has hecho de este monstruo una mejor persona. Aprecio mucho que confíes en mí y que siempre trates de alentarme para cumplir mis objetivos, gracias por siempre darme tu consejo y darme todo un repertorio de opciones.*

*A mis amigos Alfredo Hernández, Estela Hernández, Guadalupe Ramirez, Evelyn Reyes. Cuantas tardes pasamos en las bancas frustrados por algún parcial tratando de matar al*



*hambre con chatarra, riéndonos por las ocurrencias de Alfredo y los despejes de ecuaciones que no llevaban a ningún lado. Muchas gracias por hacer más amena la vida en la Universidad. Gracias Guadalupe (alias la puppis) por tratar de enseñarme siempre con paciencia todo lo que no entendía. Estela y Alfredo por ser mis primeros amigos en la carrera. A ti mi querida Estela te aprecio mucho y siempre es un gusto platicar y convivir contigo. Aunque todos hemos tomados caminos diferentes siempre les desearé mucho éxito de corazón.*

*Mis machos alfa Karen Díaz y Berenice Zavala, es una pena que no pueda redactar todas las cosas maravillosas que hemos pasado a lo largo de todos estos años, ahora ya son todas unas señoras exitosas y profesionistas. Gracias por siempre agarrar la onda, gracias por siempre estar ahí presentes y por incluirme en sus vidas y en sus momentos más importantes como dar vida a esos dos seres hermosos (Alexa y Bruno). Gracias por siempre hacer los exámenes Karen y anotarnos en tu equipo, te amamos por eso y más. Gracias Beck por siempre hacer reír, por quedarte dormida en procesos, por prepárame las quesadillas más ricas del mundo y dejarme dormir en la base de tu cama. Siempre escuchare charlas educativas y sustanciosas de ustedes acompañadas de una copa de vino. Gracias por siempre guiarme y alentarme a hacer las cosas. Por demostrarme que las amistades de verdad existen. Mientras redacto esto se me vienen muchas anécdotas y muchos sentimientos. Las amo mucho y siempre estaré presente en sus vidas eso ténganlo por seguro. Aún nos queda mucho por hacer y contar.*

*Agradezco a Javier Cruz Maranto por ser mi profesor favorito, desarrollo mi capacidad de investigación, inculco la curiosidad y, sobre todo, hizo que diera lo mejor de mí. No solo para acreditar su materia sino para entender mi papel como Ingeniero y encontrar la pasión en lo que hago. Se volvió para mí un profesor ejemplar que siempre tuvo como vocación explotar el potencial de uno de sus alumnos. Gracias Chasco, disfrute todas y cada una de tus clases incluyendo las clases sabatinas, creo que desde entonces nada más me motivaba a levantarme en un sábado.*

*La vida se encuentra plagada de retos, uno de ellos es la universidad. Tras verme inmerso en ella me he dado cuenta de que más allá de ser un reto, es una base no solo para mi*



*entendimiento del campo en el que me he visto inmersa, sino para lo que concierne a la vida y mi futuro.*

*A ti Anabid Arroyo, gracias amiga por adoptarme y permitirme trabajar este último trámite de camino contigo, fue un enorme placer y es una dicha poder encontrar una amistad como la tuya que suma recuerdos y bonitas anécdotas a mi vida. Gracias por no soltar mi mano nunca y siempre mostrarte con buena actitud después de nuestras dificultades. Gracias por ser mi gran apoyo todo este tiempo, y por nunca perder la constancia y la fe en este proyecto, del cual estoy muy orgullosa. Siempre estaré agradecida contigo. Te deseo el mayor de los éxitos tanto en tu vida profesional como personal. Recuerda que siempre estaré contigo incondicionalmente. Te quiero mucho Ann*

*A todos mis profesores, especialmente Dra. Andrea Trejo Márquez y Dra. Alma Adela Lira por su esfuerzo y colaboración para que finalmente pudiera graduarme y concluir con este ciclo tan importante en mi vida. Por impulsarnos a hacer de este proyecto una opción de titulación. Por siempre ser un apoyo incondicional en el TALLER DE FRUTOS, y hacernos sentir como en casa; por siempre brindándonos su apoyo y sus consejos académicos.*

*A ti mi quería Dra. Alma Adela Lira, estoy totalmente agradecida por ser nuestra guía y nuestra motivación para concluir como debe de ser. Muchas gracias por tus consejos fuera del área, siempre los llevo conmigo. Quiero que sepas que eres que se merece mi respeto y admiración. Todo este trabajo está dedicado a tu trabajo y esfuerzo, mismo siempre fue hecho con amor y coraje. Gracias por ser nuestra guía y nuestro soporte todo este tiempo.*

***Nancy Mendoza Escobar***





**ÍNDICE**

**ÍNDICE DE FIGURAS..... 15**

**INDICE DE TABLAS..... 16**

**1. INTRODUCCIÓN..... 18**

**2. ANTECEDENTES..... 21**

2.1. MANGO..... 21

    2.1.1. *Historia y Origen*..... 21

    2.1.2. *Clasificación botánica y morfología*..... 22

    2.1.3. *Variedades*..... 24

    2.1.4. *Composición química*..... 26

    2.1.5. *Producción y exportación de mango en México.*..... 27

    2.1.6. *Pérdidas poscosecha del mango.*..... 28

    2.1.6.1. *Enfermedades y plagas de mango.*..... 29

    2.1.7. *Manejo Postcosecha*..... 30

    2.1.7.1. *Técnicas de manejo postcosecha*..... 32

2.2. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA EN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO..... 33

    2.2.1. *Calidad del agua (parámetros microbiológicos)*..... 34

    2.2.2. *Limpieza y selección de cajas*..... 34

    2.2.3. *Lavado y seleccionado del mango*..... 34

    2.2.4. *Selección para tratamiento hidrotérmico*..... 35

    2.2.5. *Tratamiento hidrotérmico*..... 35

    2.2.5.1. *Monitoreo del cloro*..... 36

2.3. CONTAMINACIÓN CRUZADA..... 36

2.4. ENFERMEDADES DE TRANSMICIÓN ALIMENTARIA..... 37

    2.4.1. *Salmonella spp.*..... 39

    2.4.2. *Escherichia coli*..... 40

    2.4.3. *Control de enfermedades de transmisión alimentaria.*..... 41

2.5. DESINFECTANTES..... 41

    2.5.1. *Definición y tipos*..... 41

    2.5.2. *Desinfectante orgánico*..... 43

2.6. *Aceites esenciales como compuestos de elaboración de desinfectantes orgánicos*..... 43

    2.6.1. *Tomillo (Thymus vulgaris)*..... 46

    2.6.2. *Características, composición y usos*..... 46



<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>49</b>
3.1. OBJETIVO GENERAL .....	49
3.2. OBJETIVOS PARTICULARES .....	49
<b>4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>51</b>
4.1. EXTRACCIÓN DE ACEITE DE ESENCIAL DE TOMILLO. ....	51
4.2. EFECTO ANTIBACTERIANO DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO POR MEDIO DE PRUEBAS <i>IN VITRO</i> . ....	51
4.2.1. <i>Activación de bacterias: Salmonella y E. coli</i> .....	51
4.2.3. <i>Desarrollo de pruebas in vitro de aceite esencial de tomillo en Salmonella y E. coli</i> .....	52
4.3. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL DESINFECTANTE A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO POR MEDIOS DE PRUEBAS <i>IN VITRO</i> . .....	53
4.3.1. <i>Desarrollo del desinfectante</i> . ....	53
4.3.2. <i>Evaluación del efecto antibacteriano del desinfectante orgánico por medio de pruebas in vitro</i> . 54	
4.4. EVALUACIÓN DEL DESINFECTANTE EN PRUEBAS <i>IN VIVO</i> . ....	55
4.4.1 <i>Material Biológico</i> .....	55
4.4.2. <i>Tratamiento de las muestras</i> . ....	55
4.5. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO.....	56
4.5.1. <i>Tratamiento de controles</i> . ....	56
4.5.2. <i>Simulación del proceso hidrotérmico</i> .....	56
4.5.3. <i>Tratamiento hidrotérmico</i> .....	57
4.6. PREPARACIÓN DEL INOCULO, INOCULACIÓN E INCUBACIÓN.....	58
4.7. MONITOREO DE AGUAS DE HIDROENFRIMIENTO. ....	60
4.7.1. <i>Agua de hidrogenfrimiento</i> . ....	60
4.7.2. <i>Sobrevivencia de bacterias patógenas en el mango Ataúlfo</i> . ....	61
4.8. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO. ....	61
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>64</b>
5.1. CAPACIDAD INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO EN CEPAS DE <i>SALMONELLA SPP</i> Y <i>E. COLI</i> . ....	64
5.2. CAPACIDAD INHIBITORIA DEL DESINFECTANTE ADICIONADO CON ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO. ....	71
5.3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ANTIBACTERIAL A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO Y UNO QUÍMICO (SOLUCIÓN DE CLORO) EN EL PROCESO DE HIDROENFRIMIENTO DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO TÉRMICO. ....	80
5.5. TIEMPO DE EFICACIA DEL DESINFECTANTE ORGÁNICO. ....	91
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>102</b>
<b>7. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>104</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>106</b>



**ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA 1: ESTADOS PRODUCTORES DE MANGO EN MÉXICO..... 27

FIGURA 2: EXPORTACIONES MEXICANAS DE MANGO EN 2015 ..... 28

FIGURA 3: ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO ..... 46

FIGURA 4: ESTRUCTURAS QUÍMICAS, DE COMPUESTOS DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO..... 46

FIGURA 5: ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES ..... 47

FIGURA 6: EXTRACCIÓN POR HIDRODESTILACIÓN ..... 51

FIGURA 7: SEDIMENTACIÓN DE *E. COLI* (IZQUIERDA) Y *SALMONELLA* (DERECHA) TRANSCURRIDAS LAS 24 H. .... 52

FIGURA 8: REACTIVACIÓN DE *SALMONELLA* Y *E. COLI*. .... 52

FIGURA 9: COLOCACIÓN DE BIODISCOS EN LAS PRUEBAS *IN VITRO* DE ACEITE DE TOMILLO. .... 53

FIGURA 10: DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DEL DESINFECTANTE ORGÁNICO EN BASE DE 100 ML. .... 54

FIGURA 11: MANGO ATAÚLFO..... 55

FIGURA 12: SELECCIÓN Y LIMPIEZA DEL MANGO ..... 56

FIGURA 13: DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DEL DESINFECTANTE ORGÁNICO ..... 57

FIGURA 14: PROCESO HIDROTÉRMICO DEL MANGO ATAÚLFO ..... 58

FIGURA 15: ELABORACIÓN DEL INOCULO DE BACTERIAS PATÓGENAS. .... 58

FIGURA 16: INOCULACIÓN DEL MANGO ATAÚLFO CON AYUDA DE MICROPIPETA..... 59

FIGURA 17: TRATAMIENTO DE HIDROENFRIAMIENTO CON MANGO ATAÚLFO CONTROL - (A), TRATAMIENTO DE  
HIDROENFRIAMIENTO CON MANGO ATAÚLFO Y CLORO (B), TRATAMIENTO DE HIDROENFRIAMIENTO CON MANGO ATAÚLFO Y  
DESINFECTANTE CON ACEITE DE TOMILLO (C) ..... 60

FIGURA 18: MONITOREO DEL AGUA DE LAVADO DEL MANGO ATAÚLFO CONTROL (-). .... 61

FIGURA 19: MONITOREO DEL MANGO ATAÚLFO EN BOLSA HERMÉTICA CON AGUA ESTÉRIL. .... 61

FIGURA 20: INHIBICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO EN *SALMONELLA SPP.* ..... 64

FIGURA 21: INHIBICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO EN *E. COLI*. .... 65

FIGURA 22: INHIBICIÓN DE DESINFECTANTE CONCENTRADO EN *SALMONELLA*..... 72

FIGURA 23: INHIBICIÓN DE DESINFECTANTE DILUIDO AL 50 % EN *SALMONELLA*. .... 73

FIGURA 24: INHIBICIÓN DE DESINFECTANTE CONCENTRADO SOBRE *E. COLI*. .... 74

FIGURA 25: INHIBICIÓN DE DESINFECTANTE DILUIDO AL 50% SOBRE *E. COLI*. .... 74

FIGURA 26: CRECIMIENTO DE *SALMONELLAS SPP.* DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE HIDROENFRIAMIENTO DE MANGO ATAÚLFO  
DURANTE 72 HORAS. .... 81

FIGURA 27: CRECIMIENTO DE *ESCHERICHIA COLI*. EN UFC CONTRA TIEMPO. DURANTE EL TRATAMIENTO DE HIDROENFRIAMIENTO DE  
MANGO ATAÚLFO. .... 84

FIGURA 28: COLONIAS DE *SALMONELLA SPP* PRESENTES EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE HIDROENFRIMIENTO, A LAS 0 H... 89

FIGURA 29: COLONIAS DE *ESCHERICHIA COLI*. PRESENTE EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE HIDROENFRIMIENTO, A LAS 0 H. . 91





FIGURA 30: MONITOREO DEL CRECIMIENTO MICROBIOLÓGICO DE <i>SALMONELLA SPP</i> CON TRATAMIENTOS DE HIDROENFRIMIENTO (1 Y 2) ADICIONADOS CON SOLUCIÓN ANTIBACTERIAL A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO.....	92
FIGURA 31: MONITOREO DEL CRECIMIENTO MICROBIOLÓGICO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> CON TRATAMIENTOS DE HIDROENFRIAMIENTO (1 Y 2) ADICIONADOS CON SOLUCIÓN ANTIBACTERIAL A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO.....	94

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1: TAXONOMÍA DEL MANGO.....	22
TABLA 2: MORFOLOGÍA DEL ÁRBOL DE MANGO.....	23
TABLA 3: VARIEDADES Y ESTADOS PRODUCTORES DE MANGO EN MÉXICO.....	25
TABLA 4: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MANGO.....	26
TABLA 5: PLAGAS Y ENFERMEDADES MÁS COMUNES DEL MANGO. ....	29
TABLA 6: TRATAMIENTOS POS COSECHA.....	31
TABLA 7: TÉCNICAS POSCOSECHA PARA MANGO.....	32
TABLA 8: PRINCIPALES BACTERIAS CAUSANTES DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS. ....	38
TABLA 9: TIPOS DE DESINFECTANTES MÁS COMUNES.....	42
TABLA 10: PRINCIPALES PROCESOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES.....	45
TABLA 11: PRINCIPALES PLANTAS PARA OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIALES.....	45
TABLA 12: SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO DE PRUEBAS <i>IN VITRO</i> DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES CONTRA <i>SALMONELLA SPP</i> . ....	66
TABLA 13: SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO DE PRUEBA <i>IN VITRO</i> DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES CONTRA <i>E. COLI</i> . ....	67
TABLA 14: SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO DE PRUEBAS <i>IN-VITRO</i> CON BACTERIA <i>SALMONELLA SPP</i> . Y FORMULACIÓN DE DESINFECTANTE PURO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES.....	77
TABLA 15: PRUEBA <i>IN-VITRO</i> CON BACTERIA <i>SALMONELLA SPP</i> . Y FORMULACIÓN DE DESINFECTANTE DILUIDO A BASE DE ACEITE DE TOMILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES. ....	77
TABLA 16: PRUEBA <i>IN-VITRO</i> CON BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> . Y FORMULACIÓN DE DESINFECTANTE CONCENTRADO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO DIFERENTES CONCENTRACIONES. ....	79
TABLA 17: SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO DE PRUEBAS <i>IN-VITRO</i> CON BACTERIA <i>E COLI</i> . Y FORMULACIÓN DE DESINFECTANTE DILUIDO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO A DIFERENTES CONCENTRACIONES. ....	80



---

### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un antibacteriano orgánico a base de aceite esencial de tomillo que se aplicará en tratamiento de hidrogenfriado, después del tratamiento térmico para mango ataulfo de exportación

El tomillo, fue adquirido en el mercado del Carmen, de Cuautitlán Izcalli. Se seleccionó, secó, deshojó, y molió, para someterse a una hidrodestilación, y así obtener aceite esencial, mismo que se evaluó en pruebas *in vitro* en concentraciones de valores 5, 10 y 15  $\mu\text{L}$ , frente a las cepas de *Salmonella spp* y *Escherichia Coli*, para determinar la concentración que generará un mayor halo de inhibición, y así determinar la concentración, necesaria de aceite esencial de tomillo, presente para preparar el antibacteriano propuesto

En la formulación del antibacteriano, se utilizó: propilenglicol, agua, aceite esencial de tomillo y tween 80, se analizó el poder antibacterial, con pruebas *in vitro*, frente a *Salmonella spp* y *Escherichia Coli*, donde 15  $\mu\text{L}$ , generaron el mayor halo de inhibición.

Posteriormente, se replicó a nivel laboratorio, el tratamiento hidrotérmico; se sumergió el mango ataulfo en agua a 60 °C, durante 45 minutos, se inoculó con *Salmonella spp* y *Escherichia Coli*, después se sometió a un choque térmico, donde el mango se sumergió por 15 minutos en agua a temperatura ambiente, en esta agua se colocaron por separado, dos antibacterianos, uno, la solución orgánica con aceite esencial de tomillo y el otro con solución de cloro, para determinar mediante una prueba *In vivo*, la eficacia antibacterial.

De los resultados, se observó que el cloro es mejor antibacterial, ya que destruye permanentemente las células bacterianas, mientras que la solución antibacterial a base de tomillo, en la concentración evaluada, solo las inactivó temporalmente.

Finalmente, se estableció el efecto antibacterial de la solución orgánica, con pruebas *in vitro*, donde se evaluó, durante cuantos procesos consecutivos de hidrogenfriado, era efectivo el antibacteriano, y el resultado, fueron dos procesos, pues la concentración de bacterias aumentó en el agua y la capacidad antibacteriana, disminuyó debido a que las cepas generaron cierta resistencia contra los compuestos activos del antimicrobiano.



## 1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del mango tiene una gran importancia económica y social en la fruticultura mexicana, tomando extraordinario auge en los últimos años. Entre los principales productos agrícolas que México ha comenzado a exportar con fuerza hace varios años, se encuentran los mangos frescos, posicionando al país como principal exportador a nivel mundial, siendo Estados Unidos el principal comprador. La producción del mango está concentrada en más de 10 estados, de los cuales Guerrero en el año 2016 se posicionó como principal productor con un 34% de la producción nacional (Infoagro, 2016).

Dado el impacto económico que tiene la exportación de mango, organismos como SAGARPA y la FDA, han desarrollado planes de inocuidad, para asegurar la salud de los consumidores.

Dentro del plan de inocuidad, se describen tratamientos poscosecha, para garantizar la calidad e inocuidad del mango, uno de los tratamientos, es el hidrotérmico, que consiste en sumergir el mango en agua a elevada temperatura, durante un tiempo determinado, para evitar que el mango se contamine con la mosca de la fruta, una de las principales plagas de este fruto (Pérez, 2006).

La finalidad de usar temperatura es matar al huevecillo de la mosca, que pudiera estar presente dentro del mango; para frenar el tratamiento, se traslada el mango a una tina con agua a temperatura ambiente, suele ser clorada, y misma que debe cambiarse en cada enjuague (SAGARPA, 2016). Sin embargo, en regiones productoras de mango, del estado de Guerrero, el acceso a agua potable es muy difícil, situación que evita el cambio de agua en las tinajas, después de varios enjuagues, el agua se ensucia por materiales físicos, entre ellos la tierra. Este es el punto de control, pues el agua de enjuague es el medio de contaminación del mango, por *Salmonella* y *E. coli* (Sergent, 1999).

En los años 2012 y 2013, hubo brotes de salmonelosis, en personas que consumieron mangos mexicanos contaminados con dicha bacteria (Opportimes, 2016).

Existen en el mercado diferentes tipos de desinfectantes, químicos y orgánicos, que evitan la contaminación de bacterias patógenas, en productos agrícolas, los desinfectantes suelen aplicarse directamente a los productos, o diluidos en agua (PROFECO, 2001).



Dentro de los compuestos activos de los desinfectantes orgánicos, se encuentran los aceites esenciales, provenientes de distintas plantas, mismas que tienen la capacidad para sintetizar sustancias aromáticas, siendo la mayoría de sus componentes, fenoles o sus derivados oxigenados. Dentro de los extractos vegetales que se han logrado extraer se pueden resaltar al Timol y el Carvacrol presentes en el tomillo, del cual se han reportado efectos inhibitorios sobre bacterias y hongos (Morales, 2015).

Debido a su naturaleza hidrófoba, los compuestos del aceite tienen la capacidad de incrementar la fluidez de la membrana y salida de iones de potasio, conduciendo a una disminución en el gradiente de pH a través de la membrana citoplasmática y un colapso en el potencial de membrana, además de la inhibición en la síntesis de ATP, finalmente estos eventos son seguidos de la muerte celular (Helander, 1998).

Debido a la necesidad de obtener productos agrícolas inocuos y de calidad, se ha obligado a la industria de alimentos crear alternativas en la innovación y uso de productos orgánicos para reemplazar sustancias químicas que han sido catalogadas desde hace varios años como los grandes actores en la causa de las enfermedades modernas, como lo es el cloro.

Por lo tanto, la finalidad de este proyecto es elaborar un desinfectante que sea estable y soluble en agua, usando como compuesto activo, aceite esencial de tomillo, para ser aplicado en las tinas de enjuague después del tratamiento hidrotérmico del mango y así evitar una contaminación de bacterias patógenas, como *Salmonella* y *E. coli* y asegurar las buenas prácticas de manufactura.



# ANTECEDENTES



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. MANGO

#### 2.1.1. Historia y Origen

Las Sagradas Escrituras en Sánscrito, las leyendas y el folklore hindú 2.000 años a.C. se refieren a él como de origen antiguo, aun desde entonces. El árbol de mango ha sido objeto de gran veneración desde la antigüedad en la India y sus frutos constituyen un artículo estimado como comestibles a través de los tiempos. Aparentemente es originario del Sur de Asia específicamente la India oriental, Birmania y las islas de Andaman, el mango ha sido cultivado (Infoagro, 2016).

El mundo occidental se relacionó con el mango e inició su actual distribución mundial con la apertura, por los portugueses, de las rutas marítimas hacia el Lejano Oriente, al principio del siglo XVI. También se le llevó de Indochina a la isla de Mindanao y a Sulus por el siglo XIII, no siendo sino hasta fines del siglo XIV y principio del siglo XV que los viajeros españoles llevaron la fruta desde la India hasta Manila, en Luzón. Mientras tanto, los portugueses en Goa, cerca de Bombay, transportaron fruta de mango al sur de África, de ahí hacia Brasil, alrededor del siglo XVI y unos 40 años después a la Isla de Barbados (Pérez, 2006).

Se cree que los monjes llevaron el mango en viajes a Malaya y Asia oriental en el 4º y 5º siglo a. C. Se dice que los persas han llevado mangos a África Oriental Siglo X d.C (Pérez, 2006).

La fruta fue cultivada en las Indias Orientales antes de las primeras visitas de los portugueses que al parecer lo introdujo en África Occidental a principios del siglo XVI y también en Brasil. Después de establecerse en Brasil, el mango fue llevado a las Indias Occidentales, siendo primero plantado en Barbados hacia 1742 y más tarde en la República Dominicana. Lo alcanzó Jamaica alrededor de 1782 y, a principios del siglo XIX, llegó a México desde Filipinas y las Indias Occidentales (Pérez, 2006).

La llegada de esta fruta a América se debió a los portugueses, quienes en el siglo XVIII la introdujeron en Brasil. También fueron ellos quienes la introdujeron en África occidental. Los españoles, por su parte, contribuyeron en la expansión del mango por América, pues transportaron pequeños árboles productores de Filipinas a México. Su introducción en el sur



de España no parece haberse producido hasta el siglo XX. Por otro lado, hay que destacar que la obtención en 1910 en Florida del excelente cultivar "Haden" marcó el comienzo del desarrollo moderno de este cultivo (Pérez, 2006).

El mango se introdujo en México a finales del siglo XVIII, cuando la variedad manila (carabao de Filipinas) fue traída por los españoles en la Nao de China, desde Manila al Puerto de Acapulco. Posteriormente a principios del siglo XIX se introdujeron mango mono-embriónicos desde las Antillas a la costa del Golfo de México, diseminándose por la región tropical del país (Pérez, 2006).

### 2.1.2. Clasificación botánica y morfología

El género *Mangifera indica* L, es el miembro más importante de los *Anacardiaceae* o familia del marañón que es una familia de especies principalmente tropicales en la tabla 1 se describe la clasificación botánica del mango y en la tabla 2, se describe la morfología del árbol del mango.

Tabla 1: Taxonomía del Mango

	<b>División: Magnoliophyta</b>
	Clase: <i>Magnoliopsida</i>
	Subclase: <i>Rosidae</i>
	Orden: <i>Sapindales</i>
	Familia: <i>Anacardiaceae</i>
	Género: <i>Mangifera</i>
	Especie: <i>indica</i>

Fuente: Cruz, (2002).



Tabla 2: Morfología del árbol de mango

Parte	Descripción
	<p>Los árboles de plántulas viven más de 100 años. El árbol es mediano a grande (de 10 a 40 m de altura). Hoja perenne con un dosel simétrico y redondeado, que van desde baja y densa hasta vertical y abierta. Tronco grueso con corteza es generalmente de color gris oscuro a negro con látex resinoso. El árbol tiene una copa redondeada que va desde denso a vertical y abierto puede alcanzar los 20m de altura.</p>
	<p>El árbol forma una raíz larga sin ramificar (hasta 6 a 8m), pueden producir raíces de anclaje y a veces una colección de raíces de alimentación que se desarrollan por encima. Se alcanzan la profundidad de 1,2 m con extensión lateral hasta 7,5 m.</p>
	<p>Las hojas se disponen alternativamente, de forma lanceolada, de 15 a 40.6 cm de largo y textura coriácea. Color rosado, ámbar, rojo tostado, verde pálido, amarillo-marrón a medida que crece la hoja, su color cambia de rojo-moreno a verde, pasando por muchos tonos diferentes y se vuelve verde oscuro en la madurez.</p>
	<p>La inflorescencia es una panícula soportada en terminales de brotes, suelen ser cónicas y alcanzan los 6.4 a 40.6 cm de largo. Pueden ser verde amarillento, verde claro.</p>
	<p>Poseen de 550 a más de 4 000 flores. Las flores son pequeñas, rosáceas o verde amarillento, con 4 – 5 sépalos y pétalos, varía de 6 a 8 mm en diámetro. Tienen un olor dulce. Flores masculinas con 4 – 5 estambres, de los cuales sólo 1 o 2 son fértiles y de mayor tamaño. Flores femeninas con ovarios globosos.</p>

Fuente: Cruz, (2002).





Tabla 2: Morfología de la planta del Mango (continuación)

	<p>El fruto se clasifica como drupas. Los cuales varían en forma (redondo, oval, ovoide-oblongo), tamaño y color dependiendo de la variedad.</p> <p>Los mangos maduros pueden ser de color verde verdoso, amarillo verdoso, amarillo, rojo, naranja o morado y pesar desde unas pocas onzas hasta más de 5 libras (2,3 kg). La piel es lisa y coriácea; rodeando la porción comestible carnosa, de color amarillo pálido a naranja profundo, es jugosa y con fibrosidades. En forma de riñón que está encerrada en una cáscara. Aunque el fruto madurar en el árbol, comercialmente se recoge generalmente cuando es firme y verde para el envío al mercado.</p>
	<p>Los granos de polen son de formas variables, con un tamaño que varía de 20 a 35 micras. La polinización es hecha por varios insectos tales como moscas y en menor medida las abejas</p>

Fuente: Cruz, (2002).

El género *Mangifera indica L.* comprende más o menos cientos de cultivares de mango distribuidos en todo el mundo, de los cuales Asia e India tienen entre 500 y 1000 variedades nativas del sureste de Asia o las islas circundantes clasificadas (Cruz, 2002), excepto una, *Mangifera africana* que se encuentra en África. Sólo 3 ó 4 especies del grupo producen frutas comestibles; sin embargo, muchas de las otras especies pueden ser de un valor potencial para fines de mejoramiento, puesto que ellas poseen flores con 5 estambres fértiles (Sergent, 1999). Sin embargo, en México solo se producen 6 variedades.





### 2.1.3. Variedades

Las principales variedades de mango producidas y de mayor exportación en México son: Ataulfo, Manila y Tommy Atkins, las cuales representan el 58% del total del volumen producido en el país, seguidas de las variedades Haden, Kent y Keitt (CONASPROMANGO 2016). En la tabla 3, se describen las principales características de cada variedad mexicana. En los últimos años la variedad Ataulfo ha incrementado sustancialmente su volumen de



exportación, debido principalmente a sus características sensoriales, mayor vida de anaquel y preferencia de asiáticos y latinos residentes en Estados Unidos que demandan cada vez más esta variedad (Montes de Oca y Vidal Martínez, 2002).

Tabla 3: Variedades y estados productores de mango en México.

VARIEDAD	ESTACIONALIDAD	ESTADO PRODUCTOR	DESCRIPCIÓN
<b>Ataulfo</b> 	Enero a agosto	Chiapas Guerrero Oaxaca Colima Nayarit	Sabor: dulce y cremoso
			Textura: suave y firme sin fibras
			Color: amarillo vibrante
			Tamaño: pequeño a mediano
<b>Haden</b> 	Febrero a Julio	Colima Jalisco Michoacán Guerrero Nayarit Sinaloa	Forma: ovalada pequeña
			Sabor: mantecoso, con matices aromáticos suaves y agradables
			Textura: La pulpa firme se debe a fibras finas
			Color: Rojo vivo con matices verdes y amarillos y puntitos blancos
			14 cm de largo
			Peso: 300 - 700 g de peso.
<b>Keitt</b> 	Junio a Octubre	Colima Jalisco Nayarit Sinaloa	Poca fibra
			Sabor: dulce y afrutado.
			Peso: 550 g a 750 g
			Forma: ovado ligeramente oblicuo.
			Textura: pulpa firme y jugosa
			Color: verde oscuro a mediano, a veces con un rubor rosado sobre un área pequeña del mango.
Fibra sólo alrededor de la semilla.			
<b>Kent</b> 	Mayo a Agosto	Jalisco Michoacán Colima Nayarit Sinaloa	Sabor: Dulce y mantecoso, agradable.
			Peso: 550 g a 800 g
			Textura: Tierna y jugosa pulpa, bajo en fibra.

Fuente: Cruz, (2002); CONASPROMANGO, (2016); Mango.org, (2007).



### 2.1.4. Composición química

La parte comestible del fruto total corresponde entre el 60 y 75%. El componente mayoritario es el agua en un 84%. El contenido de azúcar varía de 10-20% y de las proteínas en un 0.5%. El ácido predominante es el ácido cítrico, aunque también se encuentran el ácido málico, succínico, urónico, tartárico y oxálico en cantidades menores, (Sergent, 1999). Como se observa en la tabla 4 donde muestra el contenido de nutrientes en promedio por 100 g.

Tabla 4: Composición Química del Mango

Componente	Cantidad
<b>Agua</b>	81.7 %
<b>Proteína</b>	66 cal
<b>Grasa</b>	0.7 g
<b>Carbohidratos</b>	0.4 g
<b>Fibra</b>	16.8 g
<b>Ceniza</b>	0.9 g
<b>Calcio</b>	0.4 g
<b>Fósforo</b>	10 mg
<b>Hierro</b>	13 mg
<b>Sodio</b>	0.4 mg
<b>Potasio</b>	7 mg
<b>Vitamina A</b>	189 mg
<b>Riboflavina</b>	4,800 UI
<b>Tiamina</b>	0.05 mg
<b>Niacina</b>	1.1 mg
<b>Ácido Ascórbico</b>	35 mg

Fuente: Stafford,(1983).

El mango es una fruta popular y en su mayoría es consumido en estado fresco; ya que es considerado como una de las frutas tropicales más deliciosas. Representa una importante fuente nutritiva por su contenido de vitaminas y minerales (Sergent, 1999).



El mango se caracteriza por ser una fuente importante de vitamina A, B y contiene cantidades variantes de Vitamina C. Su composición depende de la variedad, así como en el estado de madurez que se tenga. El contenido de ácido ascórbico y la acidez total disminuyen durante el desarrollo del fruto, mientras que los carotenoides y azúcares totales aumentan (Stafford, 1983).

La composición química y el valor nutritivo dependen de la procedencia de la variedad de mango.

### 2.1.5. Producción y exportación de mango en México.

El mango por su capacidad de adaptación a diferentes condiciones adversas es uno de los frutos más ampliamente distribuidos en el país, además tiene un aumento en la demanda en los mercados nacionales e internacionales (CONASPROMANGO, 2016).

El mango se produce en 23 estados, de los cuales, 10 contribuyen con el 98 por ciento del total de la producción nacional. La figura 1, muestra los principales estados productores de mango en México en el 2016 (SAGARPA, 2016).

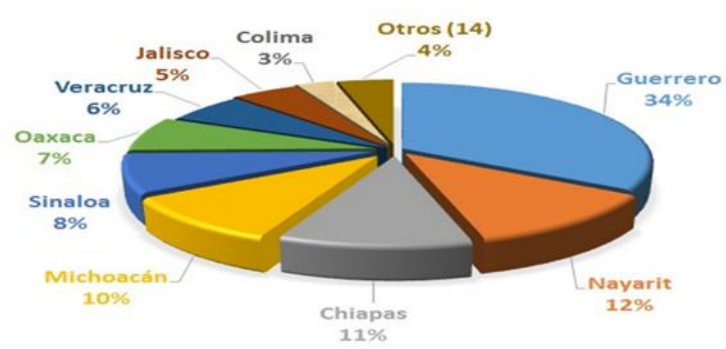


Figura 1: Estados productores de mango en México

Fuente: SAGARPA, (2016).

México, a nivel internacional, exporto 320, 264 toneladas de mango al mundo por 315 millones de dólares en 2015 (figura 2), lo que represento un record, tanto en valor como en volumen, y lo mantuvo como el líder en ventas externas a nivel mundial (Opportimes, 2016).

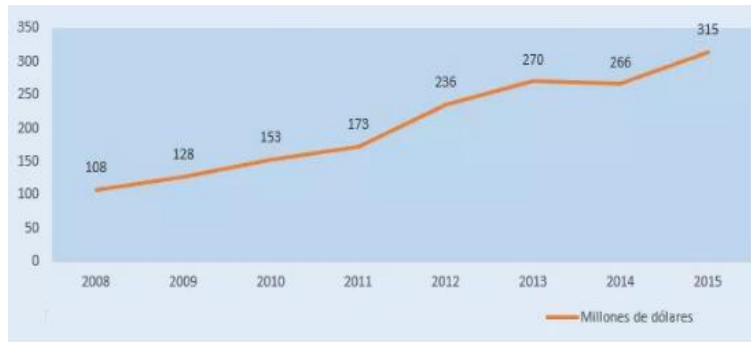


Figura 2: Exportaciones mexicanas de mango en 2015

Fuente: Oportimes (2016)

Medidas en valor, las exportaciones de mango en México se triplicaron en los últimos siete años. El país ha mantenido su liderato al ofrecer un fruto rico en sabor y por cumplir altos estándares de calidad y requisitos fitosanitarios, al ser reconocido como libre de la mosca de la fruta en los estados de Sinaloa, Michoacán, y Nayarit (SAGARPA, 2016).

Pese a las grandes cantidades de producción del mango, no todo el fruto llega a ser exportado, debido a las pérdidas causadas por enfermedades, plagas o daños mecánicos.

#### 2.1.6. Pérdidas poscosecha del mango.

Las pérdidas poscosecha en México se pueden calcular en un rango de 25 al 45%, y principalmente es atribuido a desórdenes fisiológicos (daños por frío), daños mecánicos (por un mal manejo del fruto), problemas fitosanitarios como enfermedades (Antracnosis, Cenicilla, pudrición del pedúnculo, pudrición por *Alternaria*, entre otros) y el ataque de plagas (mosca de la fruta principalmente el género *Anastrepha*) (Becerra, 1995).

Debido a las causas mencionadas anteriormente no toda la producción de mango *Mangifera indica, L* se exporta o se industrializa, debido a las pérdidas post cosechas este fruto es un climatérico típico, cuyo pico respiratorio se produce entre los 6 y 10 días posteriores al momento de la cosecha, el cual es identificado por el incremento de la actividad respiratoria y una alta tasa de respiración, que coincide en mayor o menor medida con los cambios de color, olor y textura típicos del fruto durante el proceso de maduración (Heard, 1985).

Muchas de las infecciones se inician en la huerta, pero se manifiestan durante el almacenamiento; las heridas ocasionadas en el proceso del corte son vía de inoculación para





los microorganismos que, después de un periodo de incubación, originan la presencia de enfermedades que en los frutos generan pudriciones, ablandamientos, cambios de color o fermentaciones que modifican su sabor normal (Becerra, 1995).

**2.1.6.1. Enfermedades y plagas de mango.**

Para mantener y elevar los niveles de producción y calidad del mango, es necesario prevenir las enfermedades causadas por patógenos, las cuales cuando se presentan en forma endémica dejan a los árboles prácticamente sin producción. Se han detectado enfermedades que afectan follaje, flores, ramas, tronco y raíces en mayor o menor grado (CONASPROMANGO, 2016).

En la tabla 5, se muestran y describen las plagas y enfermedades más frecuentes en las diferentes variedades de mangos mexicanos.



Tabla 5: Plagas y enfermedades más comunes del mango.

NOMBRE	DESCRIPCIÓN
<p><b>Coccidios (Plaga)</b></p> 	<p>Los insectos de esta familia que atacan al mango son numerosos, como la cochinilla blanca, la cochinilla de la tizne, el piojo rojo, etc. Sus daños se producen tanto en el tronco como en hojas y frutos; además originan una melaza sobre las partes afectadas que favorece el ataque de diversos hongos. Los frutos pueden sufrir decoloraciones que impiden su exportación.</p>
<p><b>Mosca de la Fruta (Plaga)</b></p> 	<p>Son grandes enemigos del mango, como la mosca del Mediterráneo (<i>Ceratitis capitata</i>), casi todos los países productores de mango son atacados por una o más especies de moscas de la fruta.</p> <p>Las hembras depositan los huevos en la pulpa del fruto dando lugar la maduración prematura del fruto originando su pudrición.</p>

Fuente: Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Colima, (2016).



Tabla 5: Plagas y enfermedades más comunes del mango (continuación)

<p><b>Antracnosis</b></p> 	<p>Es causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> y aparece, cuando la fruta comienza a suavizarse, como manchas negras circulares, que se cubren de masas de esporas rosáceas en estados más avanzados. La pudrición puede penetrar la pulpa e inducir pardeamiento y rancidez.</p>
<p><b>Seca del Mango</b></p> 	<p>Enfermedad destructiva que puede causar la muerte del árbol, siendo el agente causal un hongo (<i>Ceratocystis fimbriata</i>), que normalmente se asocia a su vector que es un insecto (<i>Hypocryphalus mangiferae</i>)</p>

Fuente: Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Colima, (2016).

Algunas plagas y enfermedades, mencionadas con anterioridad, se pueden evitar, teniendo un correcto manejo poscosecha.

### 2.1.7. Manejo Postcosecha

Los métodos poscosecha tienen una corta historia de desarrollo. Durante la historia, las plagas de insectos en productos frescos almacenados han sido toleradas. Sin embargo, dos eventos fueron las principales razones para el desarrollo de métodos poscosecha. La primera relacionada con la creciente distribución de plagas de insectos al mismo tiempo que el crecimiento de la población, lo cual disminuía las cosechas. La segunda razón se refiere a una necesidad que surge para preservar los alimentos por más tiempo, debido a la susceptibilidad durante el transporte.

Hoy en día es muy común encontrarse con una serie de tratamientos poscosecha, como los cuarentenarios y fitosanitarios, entre los que se tienen: métodos químicos, métodos biológicos, irradiación y métodos físicos, incluyendo entre estos últimos los tratamientos térmicos que hoy en día son los más comunes (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).



Muchos autores hacen una serie de recomendaciones para disminuir las pérdidas postcosecha, por medio de tratamientos que sean favorables para los productos hortofrutícolas, como se observa en la tabla 6.

Tabla 6: Tratamientos Postcosecha

TRATAMIENTO	PRODUCTOS TRATADOS	PUNTOS DE APLICACIÓN	FUNCIÓN
<b>1. Fungicida</b>	Plátano, cítricos, piña, otros	Después del lavado	Control de enfermedades
<b>2. Inmersión en agua caliente*</b>	Mango, papaya	Después del lavado a 49°C por un tiempo de 10 minutos	Control de enfermedades. Estimulación de la maduración
<b>3. Recubrimiento de la superficie</b>	Cítricos, piña	Después del lavado	Reduce la deshidratación, mejora la apariencia, prolonga el almacenamiento.
<b>4. Vapor caliente</b>	Cítricos, mango, papaya, piña	Antes o después del embarque	Requisitos de cuarentena
<b>5. Exposición a baja temperatura</b>	Frutas de árboles caducos	Antes y durante el viaje en barco	Requisitos de cuarentena
<b>6. Maduración</b>	Plátanos, paltas, mango	Bodegas de maduración en mercados mayoristas.	Hace comestible la fruta
<b>7. Irradiación</b>	Productos frescos con rayos gama.	Antes o después del embarque	Prolonga la vida de almacenamiento, destruye insectos y patógenos y conserva la calidad de cosecha en una amplia variedad de frutas y hortalizas
<b>8. Atmosferas Modificadas</b>	Frutas y Hortalizas	Es un método de empaquetado que elimina el aire del interior del envase y se sustituye por un gas o mezcla de gases	Disminuye el grado de respiración, reduce el crecimiento microbiano y retrasa el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016).

Entre los agricultores de bajos recursos las pérdidas globales en postcosecha se reportan entre 10 y 40% (Markham *et al.*, 1994). Se ha demostrado que las pérdidas más importantes (>50%) ocurren bajo condiciones de manejo deficiente y nula asistencia técnica. (García,





2007). Con base en lo mencionado anteriormente es necesario crear y ejecutar medidas que se sean preventivas y no correctivas, para obtener mayores beneficios y menores pérdidas por el manejo inadecuado.

**2.1.7.1. Técnicas de manejo postcosecha**

Frente a la alta perecibilidad del mango, se han implementado diferentes técnicas para contrarrestar esta situación y prolongar la vida postcosecha (Estrada, 2015), mismas que se describen en la tabla 7.

Tabla 7: Técnicas poscosecha para mango.

MÉTODO	FUNDAMENTO	EFEECTO	CONDICIONES
Refrigeración	Usado para extender la vida útil de frutas frescas y vegetales ya que retarda los procesos metabólicos controlando los cambios postcosecha en la respiración y maduración. El producto puede ser enfriado dentro de las cajas cosecheras o después de ser seleccionado y empacado.	Retrasa maduración y alarga vida de anaquel al retardar el desarrollo del color de cáscara, mantener firmeza, disminuir el desarrollo de la intensidad del color de pulpa y contenido de sólidos solubles totales	La refrigeración se utiliza a 12°C, 14°C, 16°C y 22°C, dependiendo de las características del producto a refrigerar.
Irradiación	La irradiación de alimentos (la aplicación de radiación ionizante a los alimentos) es una tecnología que mejora la seguridad y la vida útil de los alimentos en el anaquel, mediante la disminución o la eliminación de los microorganismos e insectos.	La irradiación de alimentos, es un tratamiento no térmico que puede darse a ciertos alimentos mediante radiaciones ionizantes, generalmente electrones de alta energía u ondas electromagnéticas (radiación X o gamma).	El proceso involucra exponer los alimentos a cantidades controladas de radiación gamma (normalmente utilizados para el procesamiento de alimentos) utilizando como fuentes emisoras cobalto 60 y cesio 137, los cuales son aceptados por organismos internacionales como la FAO, la OMS y el OIEA.

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016); Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, (2013); Cruz, (2002); Becerra, (1995).



Tabla 7: Técnicas poscosecha para mango (continuación).

<p>Atmósferas modificadas (AM) y Atmósferas controladas (AC)</p>	<p>La atmósfera controlada (AC) o modificada (AM) se refiere a la tecnología de almacenamiento que se basa en la eliminación o adición de gases del ambiente que da como resultado una atmósfera de conservación del producto con una composición distinta a la del aire.</p>	<p>Los 3 factores abióticos de la conservación más importantes son: las bajas temperaturas, los bajos contenidos de <math>O_2</math> y los altos contenidos en <math>CO_2</math>, si estos ocurren en un ambiente cerrado el oxígeno se irá reduciendo y el anhídrido carbónico aumentan; creando una atmósfera favorable para una larga conservación.</p>	<p>Las AC como tratamiento postcosecha para frutas y hortalizas, tiene un potencial para controlar insectos; bajo las condiciones de tiempos cortos de exposición a bajos niveles de <math>O_2</math> (&lt;1%) y/o altos (&gt;20%). Estas atmósferas insecticidas deben cubrir las condiciones de tiempo requerido para obtener el 100% de mortalidad, ese tiempo varía con la especie de insecto, su estado de desarrollo, la temperatura.</p>
<p>Tratamientos hidrotérmicos</p>	<p>Se hace este proceso, es para eliminar de la fruta cualquier tipo de plaga o microbio, que esta pueda traer, especialmente se busca exterminar cualquier larva de la mosca de la fruta.</p>	<p>Por medio de temperaturas, se busca matar el huevecillo de la mosca de la fruta, que pudiera estar dentro del fruto.</p>	<p>Los mangos se sumergen durante 90 min en agua a 46.1 °C según lo estipulado por la normatividad de USDA (343 USDAAPHIS-PPQ,2002).</p>

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016); Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, (2016); Cruz, (2002); Becerra, (1995).

## 2.2. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA EN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

Para enfrentar la problemática de Inocuidad Alimentaria, que a nivel mundial está siendo señalada por el incremento de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y que un gran número de estas enfermedades gastrointestinales, se derivan de un manejo inadecuado de las frutas y hortalizas frescas, tanto en la producción primaria como en el



empaque, ocupando México el segundo lugar en Latinoamérica en casos reportados. Para dar cumplimiento a las exigencias de Inocuidad Alimentaria es necesario la aplicación y certificación de Buenas Prácticas de Manejo en el empaque, las cuales han sido publicadas por la SAGARPA a través del SENASICA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2016).

### **2.2.1. Calidad del agua (parámetros microbiológicos)**

Prevenir la contaminación microbiológica del agua que se usa para tratamiento del mango en el empaque. El agua puede ser el medio de transporte de microbios patógenos para humanos (*E. coli*, *V. cholera*, *Salmonella* y *Shigella*, entre otros).

La toma de muestras debe ser llevada a cabo antes y después de cada temporada de trabajo, al menos dos veces por año (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2016).

Puntos de muestreo mensual en temporada de producción:

- Aljibes
- Tina de prelavado
- Tina de hidrotérmico
- Tina de enfriado
- Tinacos de agua para consumo humano
- Lavamanos de entrada al empaque

El análisis de las muestras debe de ser analizadas para verificar el cloro residual y la presencia de coliformes totales expresado en unidades formadoras de colonias.

### **2.2.2. Limpieza y selección de cajas.**

El mango puede contaminarse al entrar en contacto con las cajas si éstas a su vez se encuentran en condiciones deficientes de limpieza.

### **2.2.3. Lavado y seleccionado del mango.**

Para el lavado de producto se deberá utilizar agua que haya demostrado ser apta para uso postcosecha, aplicar un desinfectante al agua, el cual puede ser cloro, yodo u ozono o cualquier otro producto que demuestre ser efectivo, los cuales deben monitorearse de manera



frecuente y registrarlo en una bitácora. En esta etapa del proceso, si se utiliza cloro como desinfectante, este deberá mantenerse en una concentración de 100 a 200 ppm de cloro libre en un rango de pH de 6.5 a 7.5, los productos que se utilicen para ajustar el pH deben de ser de grado alimenticio. Si se utilizan tinajas para el lavado, se debe cambiar el agua por lo menos dos veces al día, o cuantas veces sea necesario. Se recomienda que los tanques de lavado tengan una fácil remoción del agua para evitar la acumulación excesiva de materia extraña y sólidos sedimentables (Ontiveros, 2004):

### **2.2.4. Selección para tratamiento hidrotérmico.**

Por medio de una seleccionadora mecánica se clasifica el mango por calibres o tamaño, esto determina el tiempo de tratamiento que tendrá en el caso de ser exportado a los Estados Unidos de Norteamérica. La selección y clasificación tiene como objetivo presentar productos uniformes con características de calidad que satisfagan al consumidor, seleccionando los frutos de acuerdo con su destino final de exportación. En este paso se separan los mangos según lo indicado en el protocolo del país de destino y a las exigencias propias del comprador (Ontiveros, 2004).

Si no se tienen las medidas de preventivas de una correcta y oportuna aplicación de un desinfectante, el mango puede contaminarse al entrar en contacto con el agua.

### **2.2.5. Tratamiento hidrotérmico.**

El mango que se exporta a Estados Unidos de Norteamérica debe de permanecer en área cuarentenada debido a la infestación de larva de mosca de la fruta (*Anastrepha ludens* y *A. obliqua*). El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y el Servicio de Inspección para las Enfermedades de los Animales y las Plantas (APHIS) 31 aprobaron a partir de 1988 la aplicación del tratamiento con agua caliente a 46.1 °C (115 °F) para controlar la posible infestación de larva de mosca de la fruta (Sharp, 1989). El tiempo de tratamiento depende del peso y forma de los mangos (90 min para mangos redondos de 500 a 700 g; 75 min. para mangos redondos y menores de 499 g, así como para mangos alargados planos de 375 a 570 g y 65 min. para mangos alargados planos menores de 375 g) [Avena, 1997], según sea el caso tal como se estipula en el plan de trabajo que tiene suscrito el Gobierno de Estados Unidos con el Gobierno de México. En este proceso se manejan temperaturas del agua de 115° F a 118° F. Estas condiciones de calor favorecen la



evaporación o pérdida del cloro activo reduciendo los tiempos de efectividad de éste como desinfectante. Por lo anterior se recomienda que bajo estas condiciones las mediciones o monitoreo de concentración de cloro se validen con mayor frecuencia que cuando se usa agua fresca o a temperatura ambiente. Asimismo, para asegurar la efectividad del sanitizante es necesario conservar los valores del pH entre 6 y 7 (Ontiveros, 2004).

### 2.2.5.1. Monitoreo del cloro.

- Límite crítico de control

Lcc: = 100 ppm cloro residual

- Límite operacional 1

50 < Concentración de cloro residual > 300 ppm.

Si bien concentraciones de 0,2 a 5 ppm de cloro activo controlan la mayor parte de las bacterias y hongos presentes en el agua, en las operaciones de lavado e hidrociclado de productos vegetales se utilizan concentraciones mucho mayores (100-200 ppm). Un litro de blanqueador y desinfectante doméstico (80 g cloro activo/dm<sup>3</sup>) disuelto en 400 litros de agua equivale a 200 ppm, mientras que disuelto en 800 y 1600 litros equivale a 100 y 50 ppm, respectivamente. Conviene comenzar las operaciones diarias con concentraciones bajas (100-150 ppm) para aumentar la cantidad de cloro en solución, a medida que el agua se va ensuciando con restos vegetales y por el incremento de la cantidad de esporas suspendidas en el agua.

Una exposición de unos pocos minutos (3-5) es necesaria para lograr una adecuada desinfección, pero además del pH y cantidad de impurezas, también es importante la temperatura de la solución ya que el frío disminuye la eficacia (López et al., 2003)

Si una de las prácticas mencionadas no se cumple, existe el riesgo de que las bacterias invadan cada etapa del proceso y así contaminar el fruto.

## 2.3. CONTAMINACIÓN CRUZADA

Las distintas etapas que un producto debe pasar desde la cosecha hasta el consumo tanto en fresco como procesado proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae del campo. La presencia de materiales extraños dentro



del envase o sobre el producto, tales como suciedades (tierra, deposiciones animales, grasas o aceites de maquinarias, cabellos humanos, etc.), insectos vivos o muertos, restos vegetales, de materiales de empaque, etc. es profundamente rechazada por los consumidores. Sin embargo, como normalmente se debe a descuidos o irresponsabilidades en la preparación o manipuleo, son fáciles de detectar y eliminar. Mucho más preocupante es la presencia de microorganismos perjudiciales para la salud, no visibles a simple vista ni detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa. Se ha demostrado que determinados patógenos tienen la capacidad de persistir sobre el producto lo suficiente como para constituir un peligro para el ser humano y de hecho se han reportado numerosos casos de enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas (López et al., 2003).

Esencialmente existen tres tipos de organismos que pueden ser transportados por las frutas y hortalizas y que representan un peligro para la salud humana: bacterias (*Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp. y otras) Para que esto ocurra, sin embargo, tiene que haber transcurrido el tiempo necesario para que se desarrolle. En un sistema bien manejado esto es poco probable que ocurra, pues normalmente es detectado y eliminado antes que llegue al consumidor. De todos estos organismos, las bacterias han sido responsables en la mayoría de los casos (López et al., 2003).

### **2.4. ENFERMEDADES DE TRANSMICIÓN ALIMENTARIA**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), según la Organización Mundial de la Salud (OMS) constituyen uno de los problemas más extendidos en el mundo actual y una causa importante de disminución de la productividad para países, empresas (López et al., 2003).

Entre los patógenos bacterianos más frecuentes en Estados Unidos en 2013 se encontraron, en su orden, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli*, productora de toxina shiga, STEC O157, STEC O157, *Vibrio*, *Yersinia* y *Listeria* (Estrada, 2015).

La enfermedad transmitida por alimentos (ETA) es el síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua que contienen agentes etiológicos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor. Estas enfermedades se caracterizan por una variedad de síntomas gastrointestinales, como náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre; en algunos casos



se pueden presentar complicaciones severas, como sepsis, meningitis, abortos, síndrome de Reiter, síndrome de Guillan Barré o la muerte (Estrada, 2015).

Entre las ETA más frecuentes están aquellas causadas por una contaminación de tipo biológico, evidenciado por los reportes entre 1993-2010 realizados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS); en los que se indica que, de 9180 brotes reportados, el 69-% por bacterias, el 9,7-% por virus y el 1,8-% por parásitos; el porcentaje restante correspondió a otras causas de origen químico (Estrada, 2015).

En Estados Unidos, el Centro para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) reportó en 2013 un total de 19 056 infecciones alimentarias, 4200 hospitalizaciones y 80 muertes (8). Por su parte, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (ECDC) reportaron para 2012 un total de 55 453 casos, 5118 hospitalizaciones y 41 muertes (Estrada, 2015). En México cada año mueren 16 000 personas por ETA. Además del impacto negativo en la salud, esta enfermedad también provoca cuantiosas pérdidas por concepto de productividad estimadas alrededor de 1,1 billón de dólares (Sedrés, 2010). Las principales bacterias responsables de las ETA'S, se describen en la tabla 8.

Tabla 8: Principales bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Bacteria	Encontrada en	Transmisión	Síntomas
<i>Campylobacter jejuni</i>	Tracto intestinal de los animales y aves, leche cruda, aguas sin tratar, aguas residuales y lodo	Agua, leche cruda, carnes crudas o sin cocinar, aves y mariscos contaminados	Fiebre, dolor de cabeza y dolor muscular seguida con diarreas dolor abdominal y nauseas pueden aparecer de 2 a 5 días después de haber ingerido el alimento.
<i>Clostridium Botulinum</i>	Ampliamente distribuido en la naturaleza, suelo, agua y en las plantas, y en el tracto intestinal de los animales y pescados y mariscos. Crece solamente en presencia de poco o de ningún oxígeno.	Bacteria produce una toxina que causa la enfermedad. Alimentos mal enlatados, ajo en aceite, alimentos empacados al vacío y herméticamente.	Toxina afecta el sistema nervioso. Los síntomas usualmente aparecen de 18 a 36 horas, pero puede aparecer algunas veces en sólo 4 horas o hasta 8 días después de ingerir el alimento, visión doble, parpados caídos, problemas al hablar y al tragar, y dificultad al respirar.

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016).



Tabla 8: Principales bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (continuación)

<i>Listeria monocytogenes</i>	Tracto intestinal de humanos y de animales, leche, suelo, vegetales en hojas; puede crecer lentamente a temperaturas de refrigerador.	Alimentos listos para comer como salchichas hot dogs, carnes de fiambrería, cortes fríos, salchichas o embutidos fermentados o secos, y otros estilos de carne de deli y aves, quesos suaves y leche sin pasteurizar.	Fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolor de espalda, algunas veces malestar estomacal, dolor abdominal y diarreas, puede tomar hasta 3 semanas.
<i>Shigella</i> (sobre más de 30 tipos)	Tracto intestinal humano; raramente encontrado en otros animales.	De persona a persona vía ruta fecal-oral; contaminación fecal de los alimentos y agua. Muchos de los brotes de enfermedades han resultado de alimentos, especialmente ensaladas, preparadas por personas con higiene personal pobre.	Enfermedades referidas como “shigellosis” o disentería bacilar. Diarreas con sangre, y mucosidad, fiebre, calambres estomacales, escalofríos y vómitos; de 12 a 50 horas después de la ingestión de la bacteria; puede durar por unos pocos días hasta 2 semanas.
<i>Staphylococcus aureus</i>	En humanos (piel, cortaduras infectadas, granos, nariz, y en la garganta).	De persona a persona a través de los alimentos mal manejados. Se multiplica rápidamente a temperatura ambiental produciendo una toxina que causa la enfermedad.	Nausea severa, calambres abdominales, vómitos y diarreas, ocurren de 1 a 6 horas después de haber ingerido el alimento, recuperación dentro de 2 a 3 días.
<i>Salmonella</i> (sobre más de 2300 tipos)	Tracto intestinal y las heces fecales de animales; <i>Salmonella Enteritidis</i> en huevos	Huevos crudos y sin cocinar, aves y carnes; leche cruda y productos lácteos; pescados y mariscos y personas que manejan alimentos.	Dolor de estómago, diarreas, nausea, escalofríos, fiebre, y dolor de cabeza que usualmente aparece de 8 a 72 horas después de haber ingerido el alimento; puede durar de 1 a 2 días.
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Tracto intestinal de algunos mamíferos, leche cruda, aguas sin tratar; una de las cepas de <i>E. coli</i> que puede causar enfermedades en los humanos.	Aguas contaminadas, leche cruda, carne de res cruda sin cocinar, jugo de manzanas o cidra de manzanas sin pasteurizar, frutas y vegetales sin cocinar; y de persona a persona.	Diarreas o diarreas con sangre, calambres abdominales, náuseas, y malestar; pueden comenzar de 2 a 5 días después de haber ingerido el alimento, durando como 8 días,

Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016).

#### 2.4.1. *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. es una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Algunos miembros de este género tienen movilidad por medio de flagelos peritrícos, las variedades no flageladas como *Salmonella pullorum* y *S. gallinarum*, y las razas sin movilidad son el resultado de flagelos disfuncionales. *Salmonella* es un microorganismo quimiorganotrofo, con la habilidad de metabolizar nutrientes por las vías respiratorias y la vía fermentativa. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y





catabóliza la O-glucosa y otros carbohidratos, con la producción de ácido y gas. *Salmonella* es oxidasa positiva y catalasa negativa, crece en citrato como única fuente de carbono, generalmente con producción de sulfuro de hidrógeno, descarboxila la lisina y la ornitina, y no hidroliza la urea (Stanier y Roger, 1992).

La identificación bioquímica de *Salmonella spp*, es generalmente acoplado a confirmaciones serológicas, éstas involucran la aglutinación de antígenos bacteriales de superficie con anticuerpos especiales de Salmonella. Entre éstos se incluyen lipopolisacáridos O (LPS) en la membrana externa de la pared bacteriana, antígenos H asociados con los flagelos peritricos, y el antígeno capsular (Vi), que se encuentra solo en *S. typhi*, *S. paratyphi C*, y *S. dublín*. La estabilidad térmica de los antígenos O se clasifica en antígenos mayores o menores. La primera categoría consiste en antígenos que son factores somáticos del grupo 0:4 y 0:3, que son determinantes específicos para el grupo somático B y E, respectivamente. En contraste, los antígenos somáticos menores como el 0:12 son no discriminatorios, que es evidenciado por la presencia en diferentes grupos somáticos (Doyle, 2001).

### **2.4.2. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* es la especie bacteriana más común del microbiota intestinal; se presenta como un comensal del intestino humano pocas horas después del nacimiento. Es raro encontrar cepas comensales asociadas a enfermedad. Empero, existen varios patotipos de *E. coli* implicados en un amplio espectro de enfermedades agrupados en tres síndromes clínicos (Iguchi *et.al.*, 2009).

Se encuentra ampliamente distribuida tanto en el ambiente terrestre (suelo, plantas, ensilaje, materia fecal, aguas residuales), en el ambiente acuícola y también en lugares donde se procesan alimentos. En plantas de producción de alimentos puede encontrarse en el suelo, aguas estancadas, equipos de procesamiento, cintas transportadoras, cámaras de frío y túneles de congelación, entre otros. Su crecimiento en este entorno se ve favorecido por la alta humedad y la presencia de nutrientes (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).



### **2.4.3. Control de enfermedades de transmisión alimentaria.**

El mayor intercambio de bienes y servicios entre las naciones lleva a una tendencia a la propagación y armonización de conceptos, a conocimientos y medidas básicas que permiten producir, preparar y consumir los alimentos libres de riesgos potenciales de contaminaciones como infecciones e intoxicaciones diversas. Estas medidas comprenden todas aquellas dirigidas a cuidar la calidad total de los alimentos durante la producción agrícola. Estas prácticas, a medida que se difunden, crean conciencia entre los agricultores sobre la necesidad de adoptarlas debido a los beneficios que obtienen en los rendimientos, en el control de plagas y en la calidad nutricional y sanitaria de los productos finalmente cosechados (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

Para mantener los alimentos libres de bacterias dañinas y, por tanto, prevenir la aparición de enfermedades alimentarias deben aplicarse, dos medidas fundamentales: limpiar y desinfectar (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

En todo servicio de alimentos debe establecerse un sistema de limpieza y desinfección programado y periódico, que incluya todas las instalaciones, maquinaria y demás equipos, determinando aquellos equipos y materiales considerados como más críticos, con el objeto de prestarles una mayor atención. Es recomendable establecer por escrito un programa de limpieza del material e instalaciones de los locales, en el que se especifique la frecuencia, procedimientos, productos utilizados y personal responsable. Los productos empleados en la limpieza y desinfección dependerán de la clase de suciedad a tratar, así como el tipo de material (Secretaría de Salud, 2017).

## **2.5. DESINFECTANTES**

### **2.5.1. Definición y tipos**

Son sustancias químicas u orgánicas que influyen negativamente sobre las bacterias, pudiendo ejercer dos tipos de efectos diferentes:





- Bacteriostáticos: cuando impiden el crecimiento bacteriano;
- Bactericidas: cuando destruyen (matan) las bacterias.



La muerte de una población bacteriana se puede representar como una curva exponencial, expresión de la cinética de primer orden. Este tipo de cinética también es aplicable a la muerte microbiana cuando se aplica un agente desinfectante a una concentración suficientemente alta (Russell y Hugo, 2008).

Algunos desinfectantes incluyen en sus formulaciones comerciales plata coloidal, compuestos clorados, compuestos limpiadores y extractos cítricos (Russell y Hugo, 2008) sus usos se describen en la tabla 9.

Tabla 9: Tipos de desinfectantes más comunes.

COMPUESTO ACTIVO	USO
<p><b>Plata Coloidal</b></p> 	<p>La plata en su forma coloidal es eficaz para eliminar diversas bacterias. El término coloide se refiere a una sustancia que consta de partículas ultra finas que no se disuelven, sino que permanecen suspendidas, y tiene como efecto la desintegración de la membrana citoplasmática de las bacterias.</p>
<p><b>Compuestos Clorados</b></p> 	<p>Contienen compuestos como hipoclorito de sodio, clorato de sodio y/o dióxido de cloro; atacan la pared celular de los microorganismos, la efectividad del producto dura hasta que el cloro residual se agota.</p>
<p><b>Productos Limpiadores</b></p> 	<p>En su fórmula incluyen un agente que actúa sobre la superficie del vegetal, así como otros ingredientes que acidifican el agua. La combinación de la acidez del agua con el agente limpiador (surfactante) mata los gérmenes de los vegetales y frutas.</p>
<p><b>Aceites Esenciales</b></p> 	<p>Desinfectantes que incluyen extractos de plantas o semillas de cítricos y ácidos orgánicos; tienen poder germicida sobre una gran variedad de microorganismos, debido a la inactivación de la membrana citoplasmática y por ende la falta de ATP, en las bacterias.</p>

Fuente: PROFECO, (2001).



### **2.5.2. Desinfectante orgánico**

Son compuestos de amplio espectro antimicrobiano, obtenidos de la cáscara, pulpa, hojas, piel de frutos, y plantas. Son solubles en agua, alcohol y algunos solventes orgánicos, (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008).

Su uso es muy extenso, pertenecen a una generación de desinfectantes y preservantes de alimentos de origen orgánico natural, biodegradable lo que elimina cualquier riesgo de contaminación ambiental y acumulación en el organismo, es por eso que pueden ser usados sin restricción o efectos colaterales por las personas, animales, alimentos, equipos y locales (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008).

Los estudios indican que la actividad antimicrobiana es de la membrana citoplasmática, provocando la alteración de la membrana e inhibiendo la respiración celular, lo cual causa la muerte celular (Ariza, 2016)

En la agricultura se utilizan como preservadores de granos y frutas, fungicidas y bactericidas en general. Puede aplicarse solos o con soluciones de cobre y soluciones fermentadas en una gran variedad de cultivos. (Ariza, 2016)

Dentro de los compuestos activos usados en los desinfectantes orgánicos, se encuentran los aceites esenciales.

### **2.6. Aceites esenciales como compuestos de elaboración de desinfectantes orgánicos**

Son formas altamente concentradas de la parte de la planta de la cual se extraen. Consisten en una mezcla de sustancias aromáticas que sólo la naturaleza puede producir. En general, los Aceites Esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales. Las principales plantas que contienen aceites esenciales se encuentran en familias como: compuestas, labiadas, lauráceas, mirtáceas, rosáceas, rutáceas, umbelíferas, pináceas (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008).

Los aceites esenciales son de aspecto oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua, aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma de las plantas,



colores y sabores, a veces dulces o amargos, con densidad generalmente inferior a la del agua. Están compuestos en su mayor parte por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que se encuentran con otros compuestos, casi siempre oxigenados (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008).

La calidad y la intensidad de los aceites esenciales varían debido a: Variedad de la planta, condiciones de cultivo, época de recolección, parte cosechada de la planta, manejo del material vegetal, métodos de extracción, otros. La cantidad de principios activos (productividad) de las plantas medicinales y aromáticas están determinadas por los siguientes factores (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008):

- Genético. Se le considera el factor principal (metabolismo secundario).
- Ontogenético. Varía de acuerdo con la edad y el estado de desarrollo de la planta.
- Ambiental. Los genes responsables de la producción de principios activos pueden ser activados o desactivados de acuerdo con las condiciones climáticas, nutricionales, y de ataque de plagas a que haya sido sometido el material vegetal.

Cuando el almacenamiento de los aceites esenciales es el ideal, la mayoría se pueden preservar de 2 a 5 años. Los aceites de las frutas cítricas son muy susceptibles a la oxidación (Servicio Nacional de Aprendizaje, 2008):

Para obtener el aceite esencial, de estas plantas existen diferentes métodos industriales de extracción.

Los aceites esenciales se pueden extraer mediante diferentes métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, con fluidos supercríticos (tabla 10). Y son obtenidos de diferentes partes de las plantas: en las hojas (albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (jengibre, sándalo, safrán, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.), en las semillas (anís, comino, etc.), en el tallo (canela, etc.), en las flores (lavanda, manzanilla, tomillo, rosa, etc.) o en los frutos (perejil, pimienta, etc.) (Cerpa, 2007).



Tabla 10: Principales Procesos de Extracción de Aceites Esenciales

Proceso	Descripción
<b>Prensado</b>	El material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado.
<b>Enflorado</b>	El material vegetal se pone en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo extractor.
<b>Fluidos Supercrítico.</b>	El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo, CO <sub>2</sub> ). Las esencias son así solubilizadas y arrastradas mientras que el fluido supercrítico, que actúa como solvente extractor, se elimina por descompresión.
<b>Hidrodestilación</b>	Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es “arrastrado”, corriente arriba, hacia el tope del hidrodestilador.

Fuente: Servicio Nacional de Aprendizaje, (2008).

Las principales plantas de las que se extraen comúnmente los aceites se muestran en la tabla 11, donde se presenta el principal compuesto antimicrobiano de cada planta.

Tabla 11: Principales plantas para obtención de aceite esenciales

Nombre Común	Nombre Científico	Parte	Componente
<b>Canela</b>	Cinnamon	Hoja	Cinamaldehido
<b>Orégano</b>	Oriaganum	Hojas	Carvacrol
<b>Clavo</b>	Syzygium aromaticum	Corteza y hoja	Eugenol
<b>Eucalipto</b>	Eucalyptus globulus	Hoja	Cineol
<b>Tomillo</b>	Thymus vulgaris	Flor y hoja	Timol

Fuente: Zakarya *et al.*, (1993).

De los componentes presentes en mayor cantidad se encuentra el timol, que se extrae de las hojas y flores del tomillo.



### 2.6.1. Tomillo (*Thymus vulgaris*)

Es una herbácea que se utiliza en pequeñas porciones en los purés, sopas y también en algunas salsas boloñesas; está considerada como una planta con grandes propiedades medicinales. Es un buen estomacal. En las casas se acostumbra a utilizarla en pequeños ramilletes como repelente de insectos (figura 3).



Figura 3: Aceite esencial de tomillo

Fuente: <http://beauty.biotrendies.com/>

### 2.6.2. Características, composición y usos

El aceite esencial se extrae por destilación de las hojas y flores y contiene alrededor del 1.0-2.5%, contiene timol, carvacrol, p-cimeno, alcanfor, cimol, borneol, y otros constituyentes volátiles (figura 4).

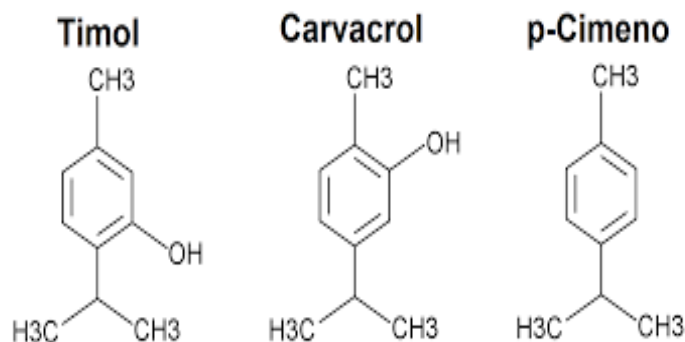


Figura 4: Estructuras químicas, de compuestos del aceite esencial de tomillo

Fuente: Zakarya et al., (1993)

La propiedad antimicrobiana del aceite esencial de tomillo está asociada por su carácter lipofílico a la acumulación en membranas y los subsecuentes eventos de la membrana como la pérdida de energía. El mecanismo por el cual los microorganismos son inhibidos por compuestos fenólicos incluye la sensibilización de la bicapa fosfolipídica de la membrana celular, causando un incremento en la permeabilidad y pérdida de los constituyentes celulares vitales o daño de las enzimas bacterianas. También se presume que la inhibición bacteriana del aceite de tomillo se debe a su hidrofobicidad y a los puentes de hidrogeno de sus constituyentes fenólicos a proteínas de membrana, cambiando la permeabilidad de la membrana (Rosas, 2013).



En la figura 5, se describe el mecanismo de acción antimicrobiana de los aceites esenciales.

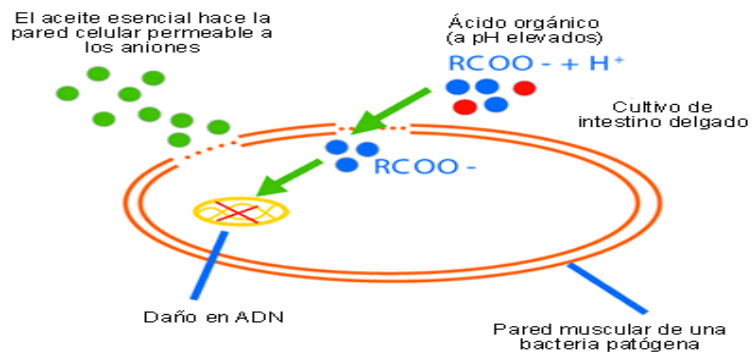


Figura 5: Acción antimicrobiana de los aceites esenciales

Fuente: Zakarya *et al.*, (1993)





# OBJETIVOS

## OBJETIVOS

---



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Desarrollo de un antibacteriano orgánico a base de aceite esencial de tomillo, que evite la contaminación por *Salmonella spp.* y *E. coli* durante el proceso de hidrogenfriamiento después del tratamiento térmico en mango ataúlfo y así evitar problemas de inocuidad durante su exportación.

#### 3.2. Objetivos Particulares

##### Objetivo Particular 1

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de tomillo, mediante pruebas *in vitro* para establecer la concentración que inhiba el crecimiento de *Salmonella spp* y *E. coli*

##### Objetivo Particular 2

Evaluar la actividad antibacteriano de diferentes concentraciones del desinfectante orgánico a base de aceite esencial de tomillo, por medio de pruebas *in vitro*, que permita seleccionar la concentración que inhiba el crecimiento de *Salmonella spp* y *E. coli*.

##### Objetivo Particular 3

Comparar el efecto de la aplicación de un desinfectante orgánico y uno químico (solución de cloro) en el hidrogenfriamiento después del tratamiento térmico, para evitar contaminación por *Salmonella spp.* y *E. coli*, cuidando de aplicar buenas prácticas de manufactura en mangos ataúlfo de exportación.

##### Objetivo Particular 4

Establecer el tiempo de eficacia del desinfectante orgánico, mediante pruebas *in vivo*, usando la misma agua adicionada con desinfectante, en dos procesos de hidrogenfriamiento que permita, inhibir el crecimiento de *Salmonella* y *E. coli*.



# METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



### 4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 4.1. Extracción de aceite de esencial de tomillo.

##### Material biológico.

El tomillo se obtuvo del mercado del Carmen, ubicado en Cuautitlán Izcalli; para la extracción de aceite esencial, se inició con una limpieza para retirar cualquier materia extraña que pudiera contener, después se colocó en charolas de aluminio; las cuales se dejaron en la estufa a 45°C por 24 h, transcurrido este tiempo se llevó a cabo el deshoje y reducción de tamaño del tomillo con ayuda de una licuadora (marca Oster). La extracción del aceite esencial se realizó por medio de hidrodestilación como se muestra en la figura 1. El tiempo de extracción fue de 3 horas, se utilizaron 100 g de tomillo por 600 mL de agua. Posteriormente se recolectó el aceite contenido en la trampa, y se vertió en un recipiente ámbar, el cual fue almacenado a -20°C hasta su uso.



Figura 6: Extracción por hidrodestilación

#### 4.2. Efecto antibacteriano de aceite esencial de tomillo por medio de pruebas *in vitro*.

##### 4.2.1. Activación de bacterias: *Salmonella* y *E. coli*

Para la preparación del inóculo de *Salmonella* y *E. coli* se contó con cepas donadas por el cepario de Facultad de Química de la UNAM. Con el fin de reactivar las bacterias se realizó una siembra masiva de ambas cepas en tubos de ensaye con caldo nutritivo, se tomó muestra con un asa de siembra previamente estéril, esta muestra se dispersó en 10 mL de agua estéril, se incubó durante 24 h a 35°C.



Transcurridas las 24 h de incubación se observó a contraluz que el tubo presentó un enturbiamiento y se tuvo presencia de sedimento, características del crecimiento microbiano como se observa en las figuras 7 y 8. La carga microbiana se homogeneizó con ayuda del vortex (Science Med, MX-S), se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de cultivo y se dispersó en otra nueva caja con el agar nutritivo previamente solidificado.

A fin de mantener activas las bacterias se realizaron resiembras, que se hicieron de caja a caja, es decir con un asa estéril se tomó bacteria de un cultivo previo, ésta era dispersada por el medio mediante un estriado en cajas petri con agar nutritivo, nuevamente se incubaban a las condiciones ya mencionadas (Figuras 7 y 8).

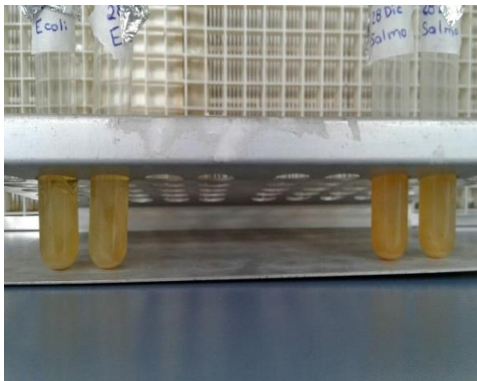


Figura 7: Sedimentación de *E. coli* (izquierda) y *Salmonella* (derecha)

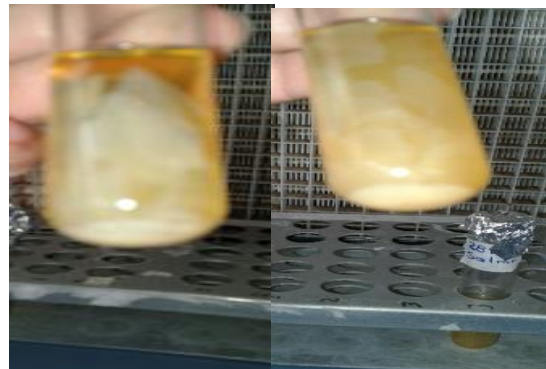


Figura 8: Reactivación de *Salmonella* y *E. coli*.

### 4.2.3. Desarrollo de pruebas *in vitro* de aceite esencial de tomillo en *Salmonella* y *E. coli*

Para realizar las pruebas *in vitro* de ambas bacterias se activaron las bacterias 24 h antes de su uso en las condiciones ya mencionadas anteriormente; posteriormente se realizó la cuenta en placa como se indica en la NOM-092-SSA-1-1994 (Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa), donde se determinó usar una dilución de  $10^{-4}$  cuya concentración de bacterias aerobias fueron de 1.0503 Log UFC de *E. coli* y 1.1213 Log UFC de *Salmonella*. El efecto inhibitorio del aceite esencial de tomillo se determinó por el método de difusión en agar de acuerdo a (Bauer *et. al*, 1966), donde se inoculó con 0.1 mL de la suspensión bacteriana en agua estéril; se dispersó por estriado en agar nutritivo.

Los biodiscos previamente esterilizados fueron colocados en el centro de la caja petri previamente inoculada con bacteria, dichos biodiscos se humedecieron con 5, 10 y 15  $\mu\text{L}$  de aceite esencial de tomillo, de igual manera se tuvieron cajas de control; las cuales se



adicionaron con un biodisco con 15  $\mu$ L de agua. Todas las cajas se incubaron durante 24h a 35°C. Como se muestra en la figura 9.

El halo de inhibición se evaluó en milímetros a las 24, 48 y 72 h después de ser inoculadas las cajas de cultivo.



Figura 9: Colocación de biodiscos en las pruebas *in vitro* de aceite de tomillo.

### **4.3. Efecto antibacteriano del desinfectante a base de aceite esencial de tomillo por medios de pruebas *in vitro*.**

#### **4.3.1. Desarrollo del desinfectante.**

Para el desarrollo del desinfectante orgánico se evaluó la estabilidad de éste en el agua, tomando en cuenta las diferentes concentraciones de los constituyentes de la matriz (polisorbatos y polímeros). El desarrollo y formulación del desinfectante fue basado en investigaciones realizadas en trabajos de Contreras *et. al*, (2016).

La concentración de aceite esencial se seleccionó de acuerdo con las pruebas *in vitro* realizadas previamente; estableciéndose la concentración mínima inhibitoria de *Salmonella* y *E. coli*. La formulación se seleccionó con base a la estabilidad en el agua (separación de fases), óptima homogenización de los componentes y mejor apariencia visual.

La figura 10 muestra el diagrama de proceso para la elaboración del desinfectante a base de tomillo.

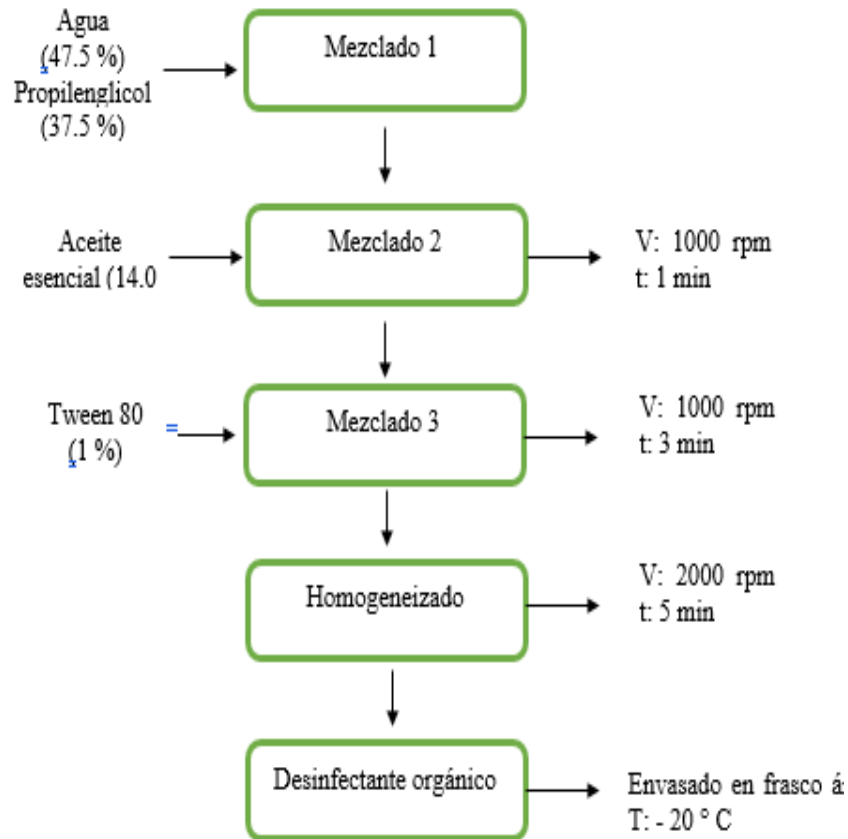


Figura 10: Diagrama de elaboración del desinfectante orgánico en base de 100 mL.

#### 4.3.2. Evaluación del efecto antibacteriano del desinfectante orgánico por medio de pruebas *in vitro*.

La evaluación del efecto antimicrobiano del desinfectante se realizó en dos partes (en forma diluido y concentrado) con el fin de fijar las concentraciones de aceite esencial [**5  $\mu\text{L}$** ], [**10  $\mu\text{L}$** ], [**15  $\mu\text{L}$** ], que se habían fijado anteriormente en las pruebas *in vitro*, y determinar si los componentes de la matriz influían en la aplicación del desinfectante, de igual manera ver el comportamiento y la eficiencia de éste frente a una carga microbiológica mayor, con respecto al tiempo.

El efecto inhibitorio del desinfectante concentrado y diluido se evaluaron por medio del método de difusión de agar, como se menciona en el apartado 4.2.1, donde se inoculó con 0.1 mL de la suspensión bacteriana de 1.1452 Log UFC de *E. coli* y 1.1354 Log UFC de *Salmonella* en agua estéril; se dispersó por estriado en agar nutritivo.



De igual manera se colocaron biodiscos estériles en el centro de la caja de cultivo, y se humedecieron con los volúmenes mencionados en el inciso A y B de este apartado.

El crecimiento microbiano se evaluó por medio de la medición de las zonas de inhibición el cual se expresó en milímetros, usando calibradores Vernier.

#### **4.4. Evaluación del desinfectante en pruebas *in vivo*.**

##### **4.4.1 Material Biológico.**

Una vez formulado y evaluado el desinfectante con la concentración seleccionada con base a las pruebas *in vitro*, se realizó la evaluación del desinfectante en el proceso hidrotérmico en mango “ataúlfo”.

Para ello el mango “ataúlfo” en estado maduro fue adquirido en la Central de Abastos de la Ciudad de México (figura 11). Los mangos fueron transportados en huacales de madera envueltos en papel de estraza hasta el Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campus 3.



Figura 11: Mango Ataulfo

Las bacterias patógenas que se utilizaron en esta etapa experimental se reactivaron previamente de un cultivo en agar nutritivo 24 h antes del montaje de las pruebas *in vivo*, como se describe en el apartado 4.2.1.

##### **4.4.2. Tratamiento de las muestras.**

Los mangos variedad “Ataulfo” se seleccionaron de acuerdo con su color, peso y tamaño. Se descartaron aquellos frutos que pudiesen haber presentado enfermedad, lesiones por insectos o daños mecánicos. Los frutos se lavaron con agua y jabón para remover cualquier partícula





extraña como tierra, y suciedad, posteriormente fueron secados, marcados e identificados (Figura 12).



Figura 12: Selección y limpieza del mango

### **4.5. Descripción del tratamiento hidrotérmico.**

#### **4.5.1. Tratamiento de controles.**

Un lote de 60 mangos se utilizó para las pruebas *in vivo*; de los cuales 12 fueron destinados para los controles (+), es decir no se les aplicó ningún tratamiento después de la inoculación, 12 más se utilizaron como controles (-) estos fueron inoculados y sometidos a tratamiento hidrotérmico únicamente. Los otros 36 mangos restantes fueron utilizados para el proceso hidrotérmico donde se evaluó el desinfectante adicionado con aceite de tomillo y el cloro por medio de la inmersión del fruto.

Una vez inoculados los mangos fueron almacenados y aislados a temperatura ambiente.

#### **4.5.2. Simulación del proceso hidrotérmico**

Para la simulación de un proceso hidrotérmico a escala industrial fue necesario controlar y verificar las condiciones (temperatura y tiempo) como lo marca el manual de exportación de (SENASICA, 2016; Estrada, 2015). Debido al incremento de las incidencias en los mangos de exportación, durante esta etapa experimental se realizó la simulación del proceso hidrotérmico, donde se hace la suposición de que el mango ataúlfo pudiera ser contaminado; una vez finalizado esté tratamiento por la falta de BPM'S o que ambas bacterias patógenas sobrevivan y sean oportunistas para alojarse en el mango ataúlfo. Por lo que como medida



preventiva a estos sucesos se propone agregar el desinfectante en las tinas de hidrogenfriamiento.

Para poder realizar el proceso fue necesario tinas, termómetros y resistencias. La figura 13 muestra el diagrama del proceso hidrotérmico.

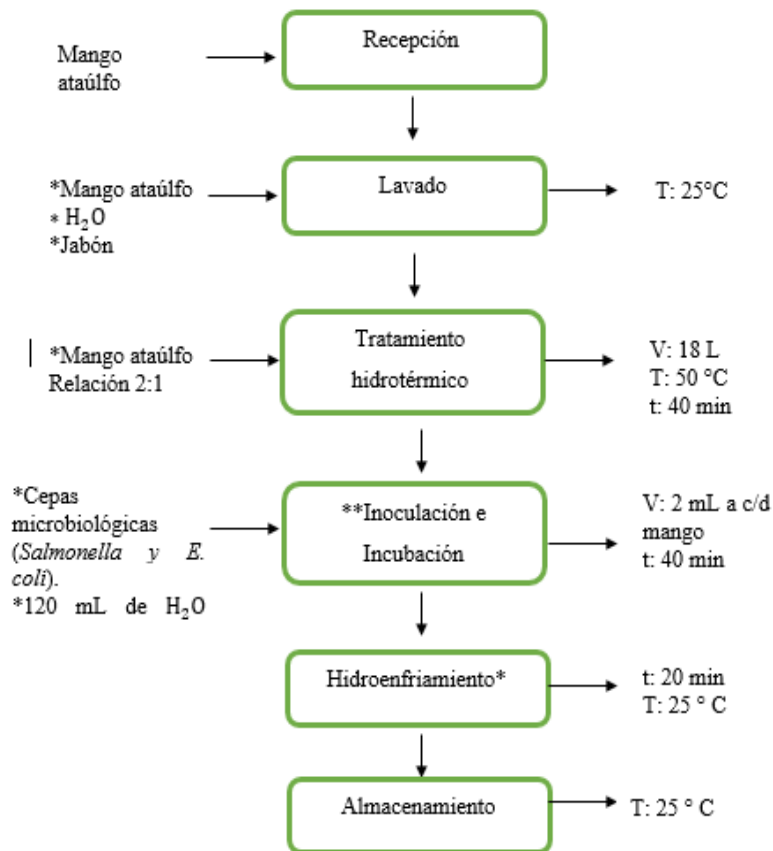


Figura 13: Diagrama de elaboración del desinfectante orgánico

#### 4.5.3. Tratamiento hidrotérmico

Para llevar a cabo el tratamiento hidrotérmico se acondicionó un recipiente de plástico, se utilizó una resistencia eléctrica para controlar las condiciones del proceso. En la figura 14 se observa la aplicación del tratamiento hidrotérmico a los mangos ataúlfo.



Figura 14: Proceso hidrotérmico del mango ataúlfo

### 4.6. Preparación del inóculo, inoculación e incubación.

Finalizando el tratamiento térmico se prosiguió a la inoculación de los mangos dicho inóculo se realizó a partir de un cultivo previo de *Salmonella* y *E. coli* de 10 cajas de agar nutritivo, las bacterias se diluyeron en 120 mL H<sub>2</sub>O estéril como se muestra en la figura 15. Teniendo una concentración de  $1.4 \times 10^{10}$  UFC/mL de *E. coli* y  $7.6 \times 10^7$  UFC/ml de *Salmonella spp.*



Figura 15: Elaboración del inóculo de bacterias patógenas.

Para realizar la inoculación de los mangos ataúlfo se tomaron 2 mL del inóculo de la bacteria. Para evitar derrames se dejó caer gota por gota del inóculo y por medio de frotis se dispersó la bacteria con una gasa estéril alrededor de todo el fruto. Como se muestra en la figura 16. Después de que todos los mangos fueron inoculados se dejaron reposando 30 min para que la bacteria se adhiriera a la cutícula del fruto a temperatura ambiente.



Figura 16: Inoculación del mango Ataúlfo con ayuda de micropipeta.

• **Uso del cloro y desinfectante orgánico en el Tratamiento de hidrogenfriamiento.** El tratamiento hidrotérmico se llevó a cabo en diferentes condiciones, los cuales serán descritos a continuación. En la figura 17 se puede observar las diferentes condiciones del tratamiento de hidrogenfriamiento.

- Tratamiento de hidrogenfriamiento con mangos **control (-)**: Se vertieron 6L de  $H_2O$  a temperatura ambiente en tinas de plástico, donde se sumergieron 12 mangos durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente se sacaron y se dejaron reposando hasta eliminar el agua de la superficie.
- Tratamiento de hidrogenfriamiento con cloro: Se vertieron 6L de  $H_2O$  a temperatura ambiente en tinas de plástico, se añadieron 60 mL de cloro “marca cloralex” donde se sumergieron 12 mangos durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente se sacaron y se dejaron reposando hasta eliminar el agua de la superficie.
- Tratamiento de hidrogenfriamiento número 1 con desinfectante a base de tomillo: Se vertieron 6L de  $H_2O$  a temperatura ambiente en tinas de plástico, se añadieron 15 mL de desinfectante orgánico donde se sumergieron 12 mangos durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente se sacaron y se dejaron reposando hasta eliminar el agua de la superficie.
- Tratamiento de hidrogenfriamiento número 2 con desinfectante a base de tomillo: El agua de lavado 1 se reutilizó y se sumergieron otros 12 mangos durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente se sacaron y se dejaron reposando hasta eliminar el agua de la superficie.



A

B

C

Figura 17: Tratamiento de hidrogenfriamiento con mango Ataúlfo control - (A), Tratamiento de hidrogenfriamiento con mango Ataúlfo y cloro (B), Tratamiento de hidrogenfriamiento con mango Ataúlfo y desinfectante con aceite de tomillo (C).

- **Almacenamiento.**

Una vez concluidos los tratamientos de hidrogenfriamiento de los mangos ataúlfo, se sacaron de las tinas de lavado se dejaron reposar en recipientes de plástico con orificios para evitar que se diera una maduración acelerada del fruto, posteriormente se aislaron y se dejaron en una zona restringida a temperatura ambiente.

#### 4.7. Monitoreo de aguas de hidrogenfriamiento.

##### 4.7.1. Agua de hidrogenfriamiento.

Un monitoreo se realizó en el agua de las 3 tinas de los tratamientos de hidrogenfriamiento para verificar la carga microbiológica que se pudo desprender o alojar durante los dichos tratamientos. Este monitoreo solamente se realizó el día 0.

Al finalizar el tiempo de inmersión del fruto durante los tratamientos de hidrogenfriamiento con cloro, desinfectante adicionado con aceite de tomillo y el agua de lavado sin tratamiento. Se tomaron 5 mL de agua de cada una de las tinas de los tratamientos de hidrogenfriamiento y se hicieron diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ) las cuales fueron sembradas en cajas de cultivo de agar nutritivo, se incubaron durante 24 h a  $\pm 1$ ,  $35^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se realizó el conteo microbiológico, ver figura 18.



Figura 18: Monitoreo del agua de lavado del mango ataúlfo control (-).

### 4.7.2. Sobrevivencia de bacterias patógenas en el mango Ataúlfo.

El monitoreo de los mangos Ataúlfo se realizaron durante 0, 24, 48 y 72 h posteriores al tratamiento hidrotérmico e hidroenfriamiento. Para realizar el monitoreo, cada mango se colocó individualmente dentro de bolsas marca “zyploc” con cierre hermético a cada bolsa se vertieron los 100 mL de agua previamente estéril, se cerraba y se sellaba la bolsa, seguidamente se agitaba durante 1 minuto (Ramírez, 2013)

Después se tomó 1 mL del agua de cada una de las bolsas, se realizaron diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ) las cuales se sembraron en cajas de cultivo de agar nutritivo, se incubaron durante 24 h a  $\pm 1$ ,  $35^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se realizó el conteo microbiológico, en la figura 19 se muestra el monitoreo de los mangos ataúlfo.



Figura 19: Monitoreo del mango ataúlfo en bolsa hermética con agua estéril.

### 4.8. Tratamiento estadístico.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los datos experimentales mostrados son el promedio de estos con su respectiva desviación estándar. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de rango múltiple de Duncan con un nivel de significancia del 95%. Para ello se utilizó el programa estadístico IBM SPSS (versión 22).



El análisis de ANOVA se realizó para evaluar el efecto antibacteriano del desinfectante a base aceite esencial de tomillo y para evaluar el efecto del tratamiento en los niveles de las concentraciones a aplicar para la disminución de la carga microbiológica del *Salmonella spp* y *E. coli*.



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN





5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Capacidad inhibitoria del aceite esencial de tomillo en cepas de *Salmonella spp* y *E. coli*.

La medición de la inhibición del crecimiento microbiano se realizó mediante el método de (Bauer *et. al*, 1966) la técnica de difusión de agar es cualitativa y sus resultados se pueden interpretar como sensible, intermedio o resistente, y está diseñada específicamente para bacterias de crecimiento rápido. Siendo una prueba de sensibilidad; determinar una predicción a través de una prueba *in vitro*, para observar el comportamiento, respuesta y resistencia que se tiene del microorganismo frente a un antibiótico o en este caso un aceite esencial de tomillo (Herrera y Gracia, 2006).

La evaluación de esta prueba representa un factor determinante para establecer las concentraciones **mínimas** inhibitorias (CMI), dicha concentración es capaz de inhibir el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella spp*. frente al aceite esencial de tomillo. La sensibilidad de ambas bacterias fue medida mediante la generación de halos de inhibición y los resultados se expresaron en (mm).

Como se puede apreciar en las figuras 20 y 21 el efecto antimicrobiano, del aceite esencial de tomillo, varía dependiendo la bacteria ensayada, donde a ambas bacterias se le aplicaron las mismas concentraciones de aceite, y la inhibición es notable.

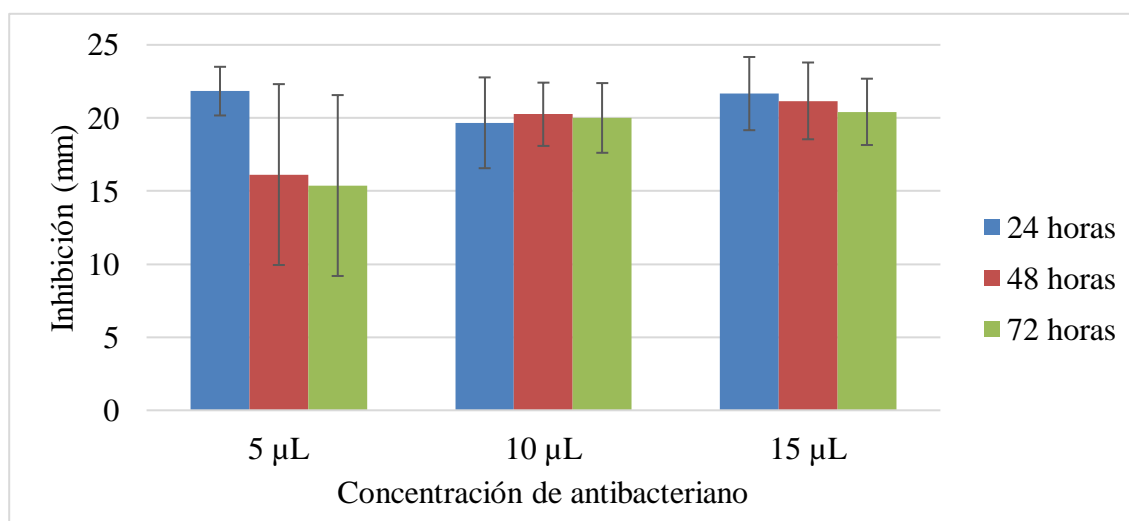


Figura 20: Inhibición de aceite esencial de tomillo en *Salmonella spp*.

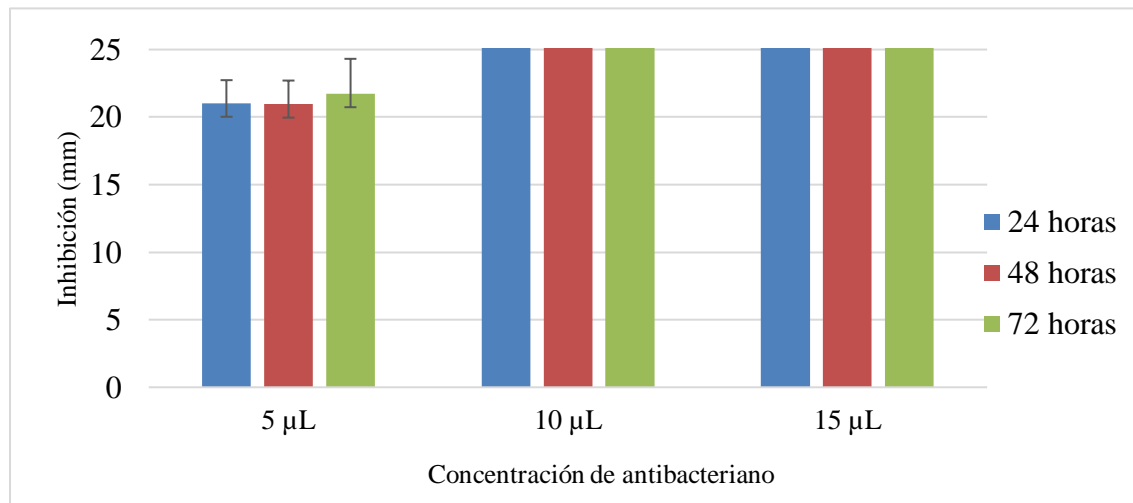


Figura 21: Inhibición de aceite esencial de tomillo en *E. coli*.

El análisis estadístico (ANOVA) de la figura 20 indicó que no hubo diferencia significativa entre las tres concentraciones aplicadas (5, 10, y 15 µL) y los tres diferentes tiempos (24, 48 y 72 h), donde se evaluó el efecto inhibitorio del aceite esencial de tomillo contra una cepa de *Salmonella spp.* ( $1 \times 10^4$  UFC/mL).

En la figura 20 se observa que las concentraciones de 10 y 15 µL mantienen su poder inhibitorio las 24, 48 y 72 h presentando halos de inhibición de ( $\pm 1, 32$  mm). Mientras que la concentración de 5 µL, disminuyó entre un 28 - 31% a las 48 y 72 aunque el halo de inhibición se mantiene entre ( $\pm 1, 15$  mm).

Por lo tanto, podemos asumir que las concentraciones de 10 y 15 µL son más estables y eficientes a las 24, 48 y 72 h representando un mayor poder inhibitorio entre 27 y 31% en comparación a la concentración de 5 µL. Por cuestiones de costos de producción se recomienda usar la CMI (5 µL) para *Salmonella spp.*; sin embargo, se eligió la concentración de 15 µL con base en la eficiencia, estabilidad del aceite esencial de tomillo y a la sensibilidad que presenta la bacteria durante los tiempos de evaluación.

En el caso de *E. coli*; el análisis estadístico (ANOVA) indicó que hubo diferencia significativa entre las tres concentraciones evaluadas (5, 10, y 15 µL) y los tres diferentes tiempos de incubación (24, 48 y 72 h).



Donde las concentraciones de 10 y 15  $\mu\text{L}$  demuestran un mayor poder inhibitorio, es decir un 34% más eficiente debido que los halos generados con estas concentraciones representaban (33mm) de inhibición, en comparación a la concentración de 5  $\mu\text{L}$ , dicha concentración generó halos de 21 mm de inhibición.

Como se pudo observar en las figuras 20 y 21, la evaluación del poder antibacteriano del aceite esencial de tomillo frente a las dos bacterias patógenas demuestra que el aceite es 33% mayor en *E. coli* en comparación a *Salmonella spp.*

En la tabla 12, se presenta el seguimiento fotográfico de los halos de inhibición, donde se observa como al transcurrir las horas de incubación de la bacteria contra el aceite esencial de tomillo va perdiendo la eficiencia las concentraciones de 5  $\mu\text{L}$  contra *Salmonella spp.* en comparación con las concentraciones de 10 y 15  $\mu\text{L}$ , de igual manera es visible y notoria la alta eficiencia de 10 y 15  $\mu\text{L}$  durante 24, 48 y 72 h. Mientras que la tabla 13, se muestra el seguimiento fotográfico de los halos de inhibición del aceite de tomillo para inhibir el crecimiento de *E. coli*. cómo podemos observar los halos de inhibición de las concentraciones de 10 y 15  $\mu\text{L}$  reflejan halos similares; y más estables en comparación con la concentración de 5  $\mu\text{L}$  a diferentes tiempos.

Tabla 12: Seguimiento fotográfico de pruebas *in vitro* de aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones contra *Salmonella spp.*

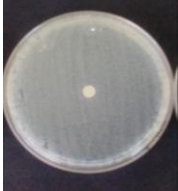
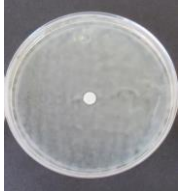
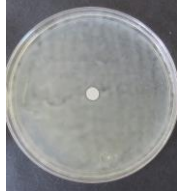
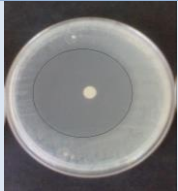
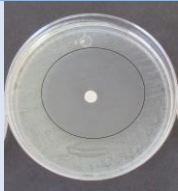

Aceite Esencial de Tomillo	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
Control			
5 $\mu\text{L}$			



Tabla 12. Seguimiento fotográfico de pruebas *in vitro* de aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones contra *Salmonella spp.* (Continuación).

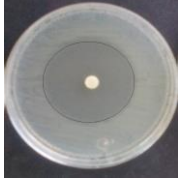
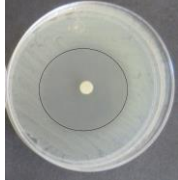
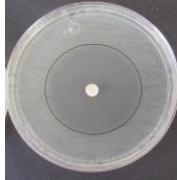
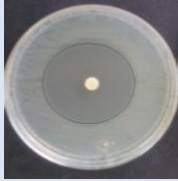
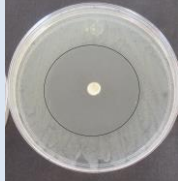
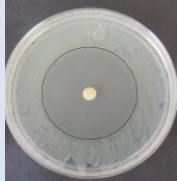



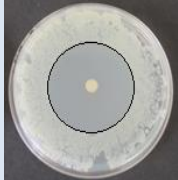
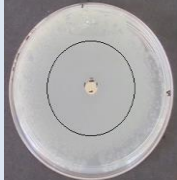
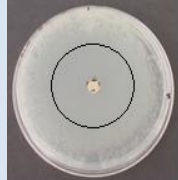
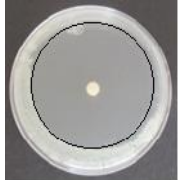





Aceite Esencial de Tomillo	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
10 $\mu$ L			
15 $\mu$ L			

Tabla 13: Seguimiento fotográfico de prueba *in vitro* de aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones contra *E. coli*.

Aceite Esencial de Tomillo	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
Control			
5 $\mu$ L			
10 $\mu$ L			
15 $\mu$ L			



El aceite esencial de tomillo presentó mayor poder inhibitorio en *E. coli*. (Tabla 13), que en *Salmonella* (Tabla 12) donde el comportamiento es más irregular, al paso del tiempo, como lo demuestra (Herrera y García, 2006), en el estudio de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario.

Los mecanismos por los cuales el aceite esencial produce su efecto antibacteriano son porque la membrana externa tanto de *E. coli* como de *Salmonella spp*, se desintegra después de la exposición a timol y carvacrol, lo que ocasiona una disminución en el grosor de la pared celular, seguido de su ruptura, junto con el aumento de la rugosidad y la falta de citoplasma (Fisher, 2006) dentro de las primeras 24 h.

El aceite esencial de tomillo en concentración de 15  $\mu\text{L}$ , presentó un notorio efecto inhibitorio frente a *Salmonella spp*. en la concentración de  $1 \times 10^4$  ufc/mL evidenciando halos de inhibición de 21.08 mm (tabla 12). Estos resultados son similares con los hallados por Herrera y García, (2006).

(García, 2008) menciona que, entre las sustancias activas presentes en aceites esenciales de hierbas y especies, se encuentran diversos compuestos fenólicos como es el caso del timol y el carvacrol, que poseen actividad antifúngica y antibacteriana. Estos compuestos han sido probados contra diferentes microorganismos de importancia en los alimentos como, por ejemplo: *Aspergillus spp*, *Rhizobiumleguminosarum*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thiphymurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio vulnificus*, y *Bacillus cereus*.

El carvacrol y el timol desintegraron la membrana externa y liberaron el material asociado con la membrana externa de las células al medio externo; tal liberación por carvona o transcinamaldehído era despreciable. De los componentes probados, el carvacrol y el timol disminuyeron el grupo de ATP intracelular de *E. coli* y también aumentaron el ATP extracelular, indicando una acción disruptiva en la membrana citoplásmica. (Helander, 1998)

En específico los estudios demuestran que el timol y el carvacrol tienen varios sitios de acción dentro de las células dependiendo de las concentraciones utilizadas pueden causar inhibición o inactivación de los microorganismos (García, 2008).



El timol es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de los lipopolisácaridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática. Además de que el aceite esencial de tomillo es considerado GRAS (término asignado por la FDA para alimentos o aditivos reconocidos como seguros), por lo que el timol no es considerado como tóxico para la salud (Helander, 1998).

El tratamiento con eugenol en su MIC (0,0125%) redujo la viabilidad y dio lugar a la inhibición completa del organismo. Eugenol inactivó *Salmonella typhi* dentro de 60 minutos de exposición. La propiedad quimio-atrayente de eugenol combinada con la alta actividad antibacteriana observada a pH alcalino favorece el hecho de que el compuesto puede trabajar más eficientemente cuando se administra *in vivo*. Eugenol aumentó la permeabilidad de la membrana, como se evidencio por el ensayo de cristal violeta. La medición de la liberación de materiales intracelulares absorbentes de 260 nm, SDS-PAGE, SEM y AFM confirmaron la acción disruptiva del eugenol sobre la membrana citoplasmática. La deformación de macromoléculas en la membrana, tras el tratamiento con eugenol se verificó mediante espectroscopía (Devi, 2010).

Por ejemplo, Enomoto et al., (1991) citado por García, (2008) en sus estudios con *E. coli* observó una disminución en el potencial de la membrana al exponer las células microbianas a algunos compuestos aromáticos como carvacrol y eugenol.

Juven *et al.*, (1994) citado por García, (2008) menciona que el efecto inhibitorio de timol es mayor a un pH de 5.5 que a 6.5.

Lambert *et al.*, (2000) citado por García, (2008) señalaron que el timol cambia la permeabilidad de la membrana celular de las células microbianas, dejando que se filtren los constituyentes químicos que son esenciales para el metabolismo, tales como los iones de ATP, ácidos nucleicos y aminoácidos. Estos efectos causan un incremento de la fase Log, provocando una disminución en la carga celular total.

En la investigación realizada por Albado, (2001), se evaluó el aceite esencial de orégano para inhibir cepas patógenas, Gram negativas y positivas, la formación de zonas de inhibición procediendo a registrar los diámetros en milímetros (mm). La lectura se efectuó mediante la medición de halos. Los cuales son descritos a continuación, *Escherichia coli* (16 mm),



*Pseudomona aeruginosa* (Resistente), *Salmonella typhimurium* (16mm), *Salmonellacholerae suis* (18 mm), *Vibrio cholerae* (15 mm), *Staphylococcus aureus* (29 mm), *Bacillus cereus* (16 mm). El resultado de la investigación demuestra que el aceite esencial de orégano tiene actividad antibacteriana contra todas las bacterias evaluadas, la excepción de *P. aeruginosa*.

Barbieri, (2016) determinó la actividad antibacteriana del timol en comparación con carvacrol, ácido trans-cinámico, eugenol y diacetilo, contra *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* y *Typhimurium*. Se encontró que el timol para ser los más eficaces con los valores más bajos de MIC 1,0 mmol / L (*S. typhimurium*) y 1,2 mmol / L (*E. coli*). El mínimo inhibitorio Concentración (MIC) osciló entre 0,03 y 0,06% v / v.

Sobre la base de los resultados de permeabilidad, el autor especula que el efecto antimicrobiano del timol se debe a una perturbación de la fracción lipídica de la membrana plasmática bacteriana, dando como resultado la fuga de células intracelulares.

Barbieri, (2016), estudió los efectos del timol en *E. coli*. Los resultados de la curva de tiempo-muerte muestran que el timol al 200 mg / ml podría inhibir el crecimiento de *E. coli*. Este estudio confirmó que el efecto antibacteriano está relacionado con la capacidad del timol induce la permeabilización y despolarización de la membrana citoplasmática y mostró el uso potencial del monoterpenos.

Barbieri, (2016) determinó el efecto antibacteriano actividad del timol contra cuatro bacterias Gram positivas, los resultados mostraron que el microorganismo más susceptible es *S. aureus* [con una zona de inhibición (IZ) de 25 mm y un valor MIC de 62,5 lg / ml] seguido por *S. mutans* (con una zona de inhibición de 17 mm y un valor de CIM de 125 lg / ml). El timol mostró una menor actividad contra *E. coli* (IZ: 13 mm y MIC: 250 lg / ml).

Barbieri, (2016) evaluó las propiedades antimicrobianas y el mecanismo de acción del timol contra *S. typhimurium*. El valor MIC del timol frente a *S. typhimurium* y *E. coli: O157* fue de 750 mg / l y MIC Y MBC de 1 a 1.5 mg/L respectivamente, el recuento de unidades formadoras de colonias (CFU) disminuyó de una manera dependiente del tiempo. Los resultados de la investigación mostraron que el timol exhibe actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas



(rango de valores de MIC 30-250  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) y Gram – Negativas (rango de valores de 60 - 4000  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ). Esta investigación confirma que el principal mecanismo de acción del timol es la alteración de la integridad de la membrana.

Burt, (2004) hace referencia de las diferentes evaluaciones realizadas a distintos aceites esenciales mediante pruebas *in vitro*: Aceite de Rosemary en *Escherichia coli* con 4.5 – >10  $\mu\text{L mL}^{-1}$  de inhibición y *Salmonella typhimurium* >20  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , aceite de Óregano en *E. coli* 0.5 – 1.2  $\mu\text{L mL}^{-1}$  y *S. typhimurium* 1.2  $\mu\text{L mL}^{-1}$  aceite de limón en *E. coli* 0.6  $\mu\text{L mL}^{-1}$  y *S. typhimurium* 2.5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , clavo en *E. coli* 0.4 – 2.5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  *S. typhimurium* >20, aceite esencial de tomillo en *E. coli* 0.45 – 1.25  $\mu\text{L mL}^{-1}$  y *S. typhimurium* 0.450 – >20  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , Cúrcuma (*E. coli* >0.2  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ).

Boskovic, (2015) Estudió la actividad antibacteriana del aceite esencial de Tomillo (*Tymus vulgaris*) y Orégano (*Origanum vulgare*) estableciendo la concentración mínima de inhibición (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de aceites esenciales ( $\mu\text{g} / \text{mL}$ ). Observando que para *Salmonella Enteritidis* y *E. coli* las concentraciones de CMI: 320  $\mu\text{g} / \text{mL}$  y CMB: 320  $\mu\text{g} / \text{mL}$  referente a aceite de tomillo y orégano.

### **5.2. Capacidad Inhibitoria del desinfectante adicionado con aceite esencial de tomillo.**

El lavado con desinfectantes se utiliza a menudo para mejorar la prolongar la vida útil de los productos frescos. Reducir el consumo de agua y las tasas de descarga de aguas residuales con cloro (Critzler, 2014).

El hipoclorito de sodio es el compuesto químico más utilizado en la desinfección de hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas (RMP) la demanda de las hortalizas y el uso de este compuesto ha incrementado dramáticamente en las últimas décadas Rubinstein *et.al.*, (2013).

Una alternativa para disminuir el uso del cloro en la Industria Alimentaria es el uso de compuestos antimicrobianos que a menudo son difíciles de incorporarlos y dispersar en un medio acuoso, por ello es necesario vehículos que faciliten su incorporación. A menudo estos ingredientes antimicrobianos.





Cuando estas composiciones antimicrobianas son dispersados o solubilizados, pueden ser utilizadas como sanitizante, desinfectantes y / o limpiador de superficies. Estas deben de ser estables, claras y con actividad antimicrobiana eficaz. Los aceites esenciales contemplados para su uso en la formulación acuosa son aquellos aceites esenciales que exhiben actividad antimicrobiana y que pueden formar una solución o dispersión cuando se combinan con agua y un agente dispersante (Markham., 1994).

Por ello fue necesario evaluar el comportamiento y la actividad antimicrobiana del desinfectante desarrollado con base en la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de tomillo, por medio de pruebas *in- vitro*. Con esta prueba de sensibilidad se determinó la funcionalidad que tenían los compuestos utilizados en la formulación del desinfectante.

Con evaluar la capacidad inhibiente del desinfectante a base de tomillo se realizaron dos tipos de pruebas *in vitro*:

- Aplicando el desinfectante concentrado.
- Aplicando el desinfectante diluido.

En las figuras 22 y 23, se observa que aplicar el desinfectante concentrado en la prueba o diluido, generan un halo de inhibición con valores cercanos entre sí, lo que demuestra que el desinfectante es efectivo aun diluido al 50 %.

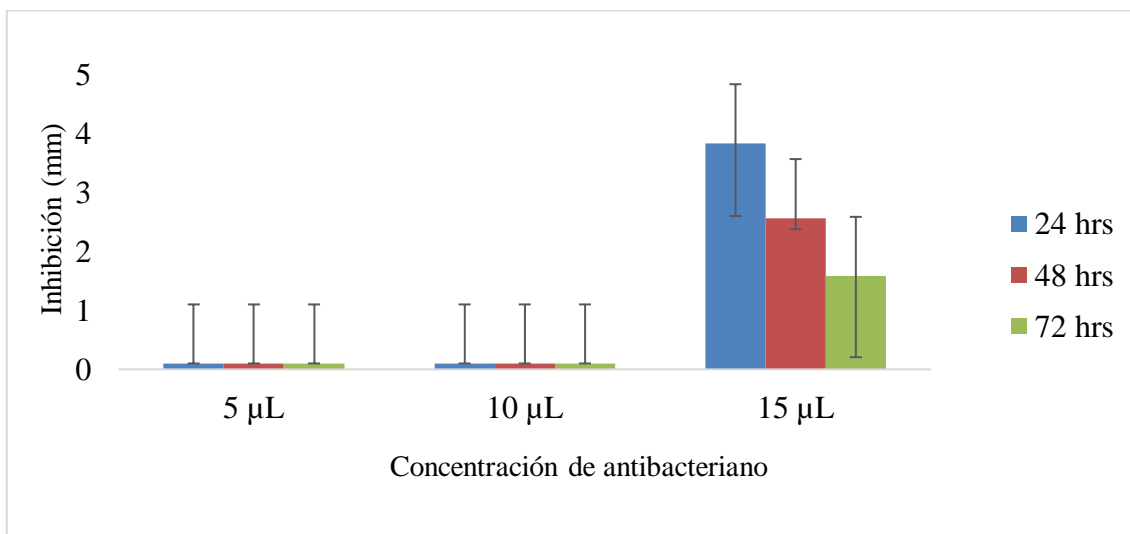


Figura 22: Inhibición de desinfectante concentrado en Salmonella.

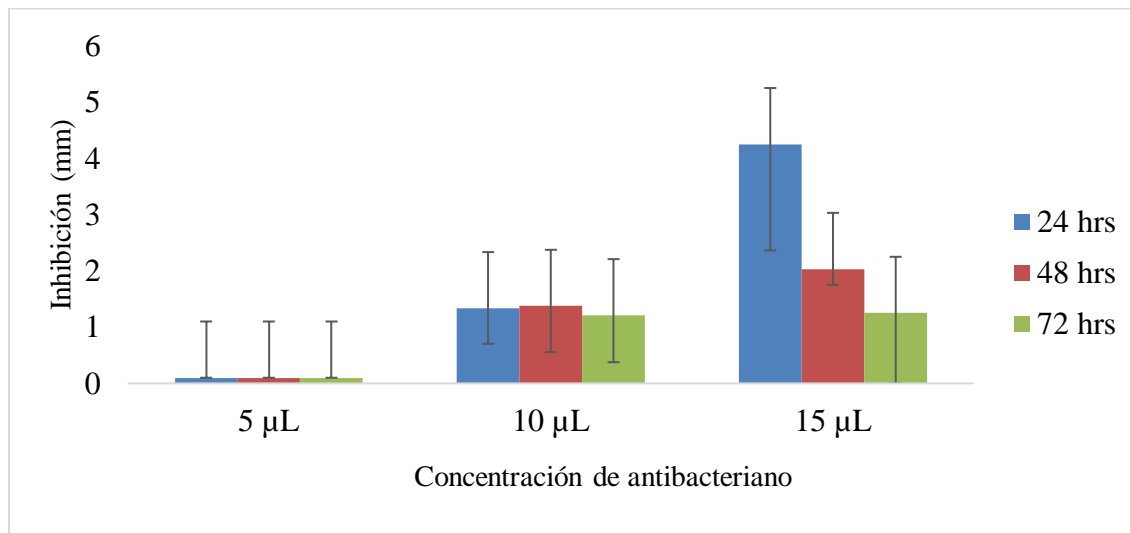


Figura 23: Inhibición de desinfectante diluido al 50 % en Salmonella.

En la figura 22 y 23 se puede apreciar que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones y el tiempo de evaluación tanto del desinfectante concentrado y diluido. Debido a que las concentraciones de 5 y 10 µL de desinfectante concentrado representa un halo de (0.1 mm) que representa una nula inhibición de la *Salmonella spp.* en comparación con la concentración de 15 µL que tiene un halo de inhibición de (3.8 mm) representando una mayor inhibición del 97.36% a las 24 h. Sin embargo, esta concentración de 15 µL pierde poder inhibitorio mientras transcurren las 48 h el cual representa una pérdida del poder inhibitorio del 31.58% y a las 72 h también se pierde poder inhibitorio el cual representa el 55.27% en comparación al poder inhibitorio que se tuvo a las 24 h de evaluación.

Analizando la figura 23, donde se evalúa el desinfectante diluido contra *Salmonella spp.* Existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones y los tiempos de evaluación. Como se puede apreciar la concentración de 5 µL de desinfectante diluido a las 24, 48 y 72 h presentó un halo de inhibición de (0.2 mm) el cual representa una nula inhibición del crecimiento bacteriano de *Salmonella spp.* Mientras que la concentración de 10 µL tiene un 84.62 % más poder inhibitorio en comparación a la concentración de 5 µL a las 24, 48 y 72 h. En tanto a la concentración de 15 µL representa 69.77 % mayor poder inhibitorio a las 24 h en comparación a la concentración de 10 µL y 95.35 % mayor a la concentración de 5 µL a las 24 h.



Pese a que esta concentración de 15  $\mu\text{L}$  pierde poder inhibitorio al transcurrir las 48 h se pierde 53.49 % de poder inhibitorio y a las 72 h se pierde un 69.77 % de este poder inhibitorio; ambas en comparación al reflejado a las 24 h.

Podemos concluir que el desinfectante diluido presentó un 11.63 % más poder inhibitorio en comparación al desinfectante concentrado. Por otro lado, las pruebas sobre *E. coli*, tienen una gran diferencia entre el desinfectante puro y el diluido, pues el poder inhibitorio del antibacteriano diluido sobre *E. coli* es casi 5 veces mayor, en comparación al desinfectante concentrado.

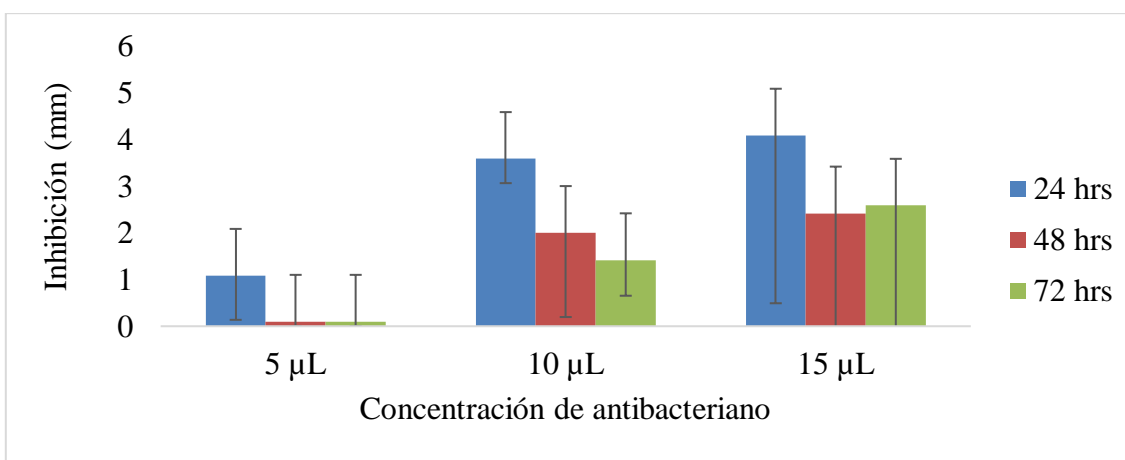


Figura 24: Inhibición de desinfectante concentrado sobre *E. coli*.

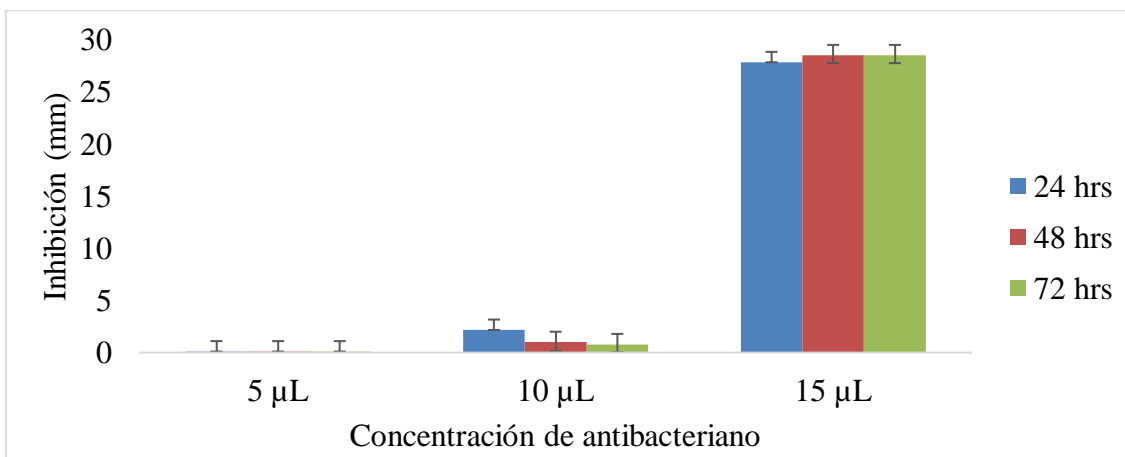


Figura 25: Inhibición de desinfectante diluido al 50% sobre *E. coli* en comparación con figura 24.

Las figuras 24 y 25 se observa que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones y los tiempos de evaluación.



La concentración de 5  $\mu\text{L}$  tuvo halos de inhibición de (1 mm) y (0.1 mm) por lo que esta concentración no inhibe el crecimiento bacteriano de *E. coli* en ningún tiempo de evaluación.

Entre tanto que la concentración de 10  $\mu\text{L}$  representa el 69.45 % más de poder inhibitorio a las 24 h en comparación a la concentración de 5  $\mu\text{L}$ , como se puede apreciar en la figura 5 la concentración de 10  $\mu\text{L}$  pierde poder inhibitorio a las 48 h representando una disminución del 44.45 % y a las 72 h se observa una disminución del 61.12 % en comparación al poder inhibitorio de desinfectante concentrado a las 24 h de exposición.

No obstante, la concentración de 15  $\mu\text{L}$  es 12 % más eficiente a las 24 h en comparación a la concentración de 10  $\mu\text{L}$  y 73.18 % en comparación a la concentración de 5  $\mu\text{L}$ . Sin embargo, la concentración de 15  $\mu\text{L}$  pierde poder inhibitorio a las 48 h (43.91 %) y 72 h (39.03 %).

En la figura 25 se observa que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones y los tiempos de evaluación; la concentración de 5  $\mu\text{L}$  fue ineficiente e insuficiente para inhibir *E. coli*.

Mientras que la concentración de 10  $\mu\text{L}$  a las 24 h demuestran halos de inhibición (2 mm); aunque fue evidente que el desinfectante diluido a esta concentración pierde eficiencia a las 48 y 72 h disminuyeron 66.66 %.

Sin embargo, la concentración 15  $\mu\text{L}$  tuvieron halos de inhibición de (28 mm) y se mantiene el poder inhibitorio a las 24 y 48 y 72 h representando un 96.43 % más eficiente que la concentración de 10  $\mu\text{L}$  y 5  $\mu\text{L}$ .

Podemos concluir, el desinfectante diluido fue 84.64 % más eficiente en *E. coli* que la *Salmonella spp.* Mientras que el desinfectante concentrado fue 7.32 % más eficiente que en *E. coli* que la *Salmonella spp.*

También se observó que, a las 24 horas, se presentó el halo de inhibición más alto, pues a las 48 y 72 horas, éste disminuye progresivamente. Esto se debe a factores como: la adaptabilidad y crecimiento de la bacteria, el desinfectante pierde efectividad al transcurrir 48 y 72 horas. También es necesario señalar que las bacterias Gram negativas son generalmente más resistentes a los desinfectantes y antisépticos que las Gram positivas. Las membranas de las bacterias Gram negativas actúan como una barrera que limita la entrada de algunos agentes antimicrobianos, se ha considerado que el peptidoglicano presente en las



Gram negativas sea una barrera potencial a la entrada de sustancias inhibitorias (Alba, 2008) por lo tanto es evidente que *Salmonella spp.* es menos sensible al desinfectante en comparación a *E. coli*.

Como podemos observar en las figuras 22 a 25 el comportamiento del desinfectante concentrado y diluido es diferente, el halo de inhibición fue mayor cuando el desinfectante ha sido diluido en agua, esto se debe a la influencia que tiene los componentes de la matriz de desinfectante concentrado, el uso y una de las principales funciones del propilenglicol es que es un “carrier”; es decir, que es un portador de ingredientes activos, proporcionando disponibilidad y estabilidad de los componentes del aceite esencial de tomillo los cuales tienen una liberación controlada cuando están en presencia de agua. Dicho polímero proporciona un producto de larga duración debido a que los componentes activos son volátiles y susceptibles a la degradación, se encuentran resguardados y protegidos por Tween 80 y el propilenglicol.

También se observa que el poder inhibitorio del aceite esencial, pierde efecto al ser combinado pues la concentración de  $15 \mu\text{l}$ , aun siendo la más alta tiene un halo de inhibición menor, comparando a los halos presentados por el aceite esencial de tomillo puro.



Tabla 14: Seguimiento fotográfico de pruebas *in vitro* con bacteria *Salmonella spp.* y formulación de desinfectante puro a base de aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones.

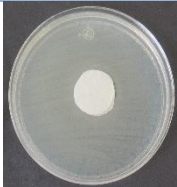


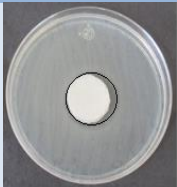




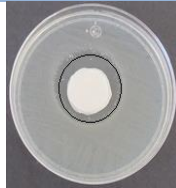
Desinfectante a base de aceite esencial de tomillo (Puro)	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
Control			
5 µL			
10 µL			
15 µL			

Tabla 15: Prueba *in vitro* con bacteria *Salmonella spp.* y formulación de desinfectante diluido a base de aceite de tomillo a diferentes concentraciones.

Desinfectante a base de aceite esencial de tomillo (Diluido)	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
Control			



Tabla 15. Prueba in vitro con bacteria *Salmonella spp.* y formulación de desinfectante diluido a base de aceite de tomillo a diferentes concentraciones (Continuación).

<b>5 <math>\mu</math>L</b>			
<b>10 <math>\mu</math>L</b>			
<b>15 <math>\mu</math>L</b>			

De la misma manera que en las pruebas anteriores, la resistencia de *E. coli* ante los compuestos antibacterianos del desinfectante es menor que en *Salmonella spp.* Dichos resultados se observan en las tablas 14 y 15, donde el halo de inhibición es mayor en la concentración de 15  $\mu$ L, pues los compuestos del desinfectante tienen la capacidad de incrementar la fluidez de la membrana y salida de los iones de potasio, conduciendo a una disminución del gradiente de pH a través de la membrana citoplasmática y un colapso en el potencial de membrana, además de la inhibición en la síntesis de ATP, lo que ocasiona la muerte de la bacteria (Herrera y García, 1999).



Tabla 16: Prueba *in vitro* con bacteria *Escherichia coli*. y formulación de desinfectante concentrado a base de aceite esencial de tomillo diferentes concentraciones.


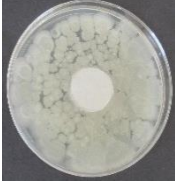

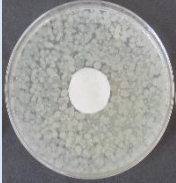
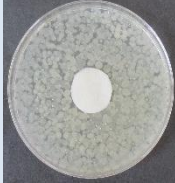
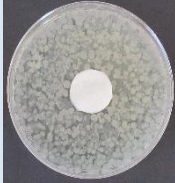


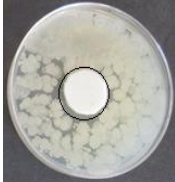


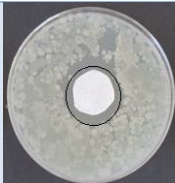

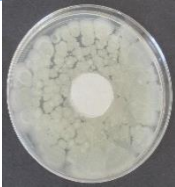
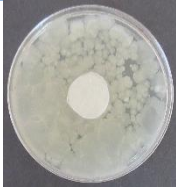
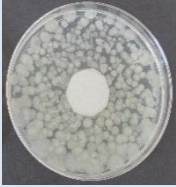


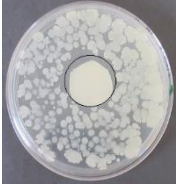
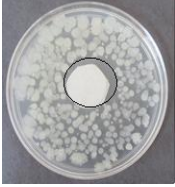
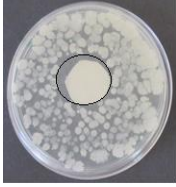



Desinfectante a base de aceite esencial de tomillo (Concentrado)	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
<b>Control</b>			
<b>5 µL</b>			
<b>10 µL</b>			
<b>15 µL</b>			





Tabla 17: Seguimiento fotográfico de pruebas *in vitro* con bacteria *E coli*. y formulación de desinfectante diluido a base de aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones.

Desinfectante a base de aceite esencial de tomillo (Diluido)	HORAS TRANSCURRIDAS		
	24	48	72
Control			
5 $\mu$ L			
10 $\mu$ L			
15 $\mu$ L			

**5.3. Efecto de la aplicación de una solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo y uno químico (solución de cloro) en el proceso de hidrogenfriamiento después de la aplicación del tratamiento térmico.**

Las pruebas *in vitro* permitieron evaluar y deducir el efecto inhibitorio del aceite esencial de tomillo, mediante su mecanismo de acción contra *Salmonella spp* y *Escherichia coli*. Dichos resultados dieron pauta para el desarrollo de la solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo la cual fue evaluada en la simulación del tratamiento de hidrogenfriamiento de mango ataúlfo.



Las pruebas *in vitro* permitieron evaluar y deducir el efecto inhibitorio del aceite esencial de tomillo, mediante su mecanismo de acción contra *Salmonella spp* y *Escherichia coli*. Dichos resultados dieron pauta para el desarrollo de la solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo la cual fue evaluada en la simulación del tratamiento de hidrogenfriamiento de mango ataúlfo.

El principal objetivo de las pruebas *in vivo* fue determinar la eficacia de la solución antibacterial frente a las cepas bacterianas, a fin de evaluar el efecto inhibitorio que se tuvo en el primer tratamiento hidrotérmico de los mangos ataúlfo, por medio de la disminución de la carga microbiológica en (UFC) a 0 , 24 , 48, y 72 h, dichos datos se compararon con un tratamiento hidrotérmico; al cual se le adicionó al compuestos químico (cloro; marca “Cloralex”) más comúnmente utilizado en la desinfección de frutas y vegetales frescos, como se observa en la figura 26.

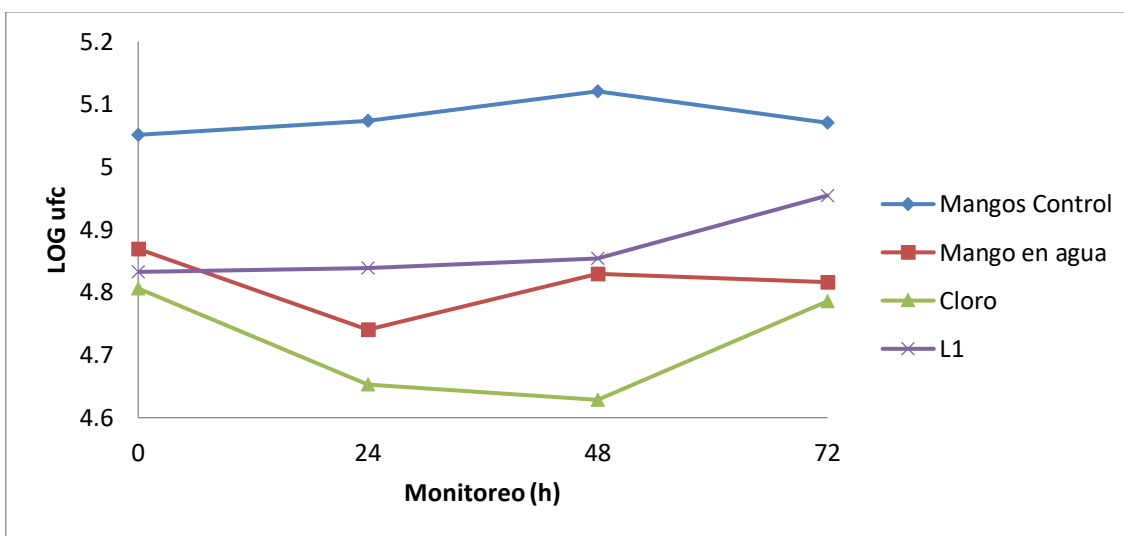


Figura 26: Crecimiento de *Salmonellas spp.* después del tratamiento de hidrogenfriamiento de mango ataúlfo durante 72 horas.

- **0 horas de Monitoreo.**

El mango control (-) a las 0 h, presentó mayor (39.6%) carga microbiológica de *Salmonella spp*, en comparación con los mangos del primer tratamiento de hidrogenfriamiento con aceite esencial de tomillo. De igual manera la presencia de *Salmonella spp*, fue mayor (34.3 %) en el mango control (+) que en el mango control (-).



Mientras que los mangos tratados con H<sub>2</sub>O clorada tuvieron menor (43.2 %) carga microbiológica a las 0 h en comparación con los mangos control (+) y (13.51 %) menos; en comparación con los mangos (-).

Por consiguiente, el H<sub>2</sub>O clorada solamente fue 5.88 % más eficaz que el primer tratamiento de hidrogenfrimiento de mango ataúlfo.

Es necesario recalcar que al tiempo 0; la eficiencia del cloro y el H<sub>2</sub>O del segundo tratamiento de hidrogenfrimiento tuvieron casi el mismo porcentaje de reducción en UFC de *Salmonella spp.* dicho de otra manera, disminuyó el 13.51 % de *Salmonella spp.* Es importante destacar, el segundo tratamiento de hidrogenfrimiento y el tratamiento de hidrogenfrimiento con cloro redujeron (43.2 %) de bacterias en comparación con los mangos controles.

- **24 horas de Monitoreo.**

El mango control (+) alojaron mayor (62.03 %) células de *Salmonella spp.* que los mangos tratados con H<sub>2</sub>O clorada. Esta situación se debe a que los mangos control (+) no fueron sometidos a ningún tratamiento de hidrogenfrimiento. En comparación con los mangos control (-) se tuvo 53.29 % más presencia de *Salmonella spp.* Mientras que en el primer tratamiento de hidrogenfrimiento con solución antibacterial mostró una inhibición del 39.7 % a las 24 h.

La inhibición que se tuvo a las 24 h con el H<sub>2</sub>O clorada fue 37.06% mayor reducción de colonias de *Salmonella spp.*, en comparación con el primer tratamiento de hidrogenfrimiento con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo. La diferencia de log UFC entre el primer tratamiento de hidrogenfrimiento (4.80 log UFC) y cloro (4.65 log UFC), es decir que el cloro redujo (3.92 %) más colonias de *Salmonella spp.*

- **48 horas de Monitoreo.**

El mango control (-) presentó una inhibición del 48.87 % menor a los mangos control (+) esto se debe al poco tiempo de inoculación, por este motivo se tuvo una baja adherencia de la bacteria a la cutícula del mango. Mientras que el cloro mostro la más alta inhibición de *Salmonella spp.* a las 24 h; es decir redujo el 67.81 % en comparación con los mangos control (+) redujo el 37.03 % UFC de *Salmonella spp.*



El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución a base de aceite esencial de tomillo redujo (45.84 %) más UFC de *Salmonella spp* en comparación con los mangos control (+).

La evaluación de la eficacia entre el primer tratamiento de hidrogenfriamiento y el H<sub>2</sub>O clorada, mostró que la diferencia entre ambos tratamientos fue de 22.37 %, destacando al cloro por su alto poder inhibitorio, como lo indica la figura 26.

El cloro a las 48 h tuvo el mayor efecto inhibitorio 4.33 % y 10.13 % en comparación con los mangos control (-) y mangos control (+) respectivamente. En otras palabras, se tuvo una disminución de 0.21 y 0.5 log UFC.

- **72 horas de Monitoreo.**

El mango control (-) tiene menor (44.26 %) carga microbiana en comparación con el mango control (+). Así mismo el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial tuvo (23.41 %) menos colonias de *Salmonella spp* en comparación con los mangos control (+); mientras el H<sub>2</sub>O clorada disminuyó 48.09 % más en comparación con los mangos control (+). Los mangos que fueron tratados con H<sub>2</sub>O clorada presentaron una disminución (6.88 %) más en comparación con los mangos control (-) a las 72 h, siendo éste el menor (%) de inhibición del cloro en los diferentes tiempos de evaluación. Esto se debe a que la bacteria recuperó su estabilidad aun estando presente en un medio hostil.

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial tuvo (23.41 %) menos colonias de *Salmonella spp*. alojadas en el mango, en comparación con los mangos control (+).

Sin embargo, tuvo (23.77 %) más carga microbiológica de *Salmonella spp*. que los mangos control (-). Comparando la carga microbiológica presente en el mango tratado con H<sub>2</sub>O clorada y el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial, podemos concluir que el cloro redujo (32.1 %) más *Salmonella spp*. a las 72 h en comparación con los mangos del primer tratamiento de hidrogenfriamiento.

Podemos concluir que el cloro es más eficiente, más estable y su poder inhibitorio se mantiene presente hasta las 72 h de exposición. Es decir que el comportamiento del cloro en relación tiempo – disminución de células de *Salmonella pp*. fue el siguiente; a las 0 h (5.8



%), 24 h (34.78 %), 48 h (40.55 %), 72 h (32.22 %) en comparación con el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial. Como se observa en la Figura 27.

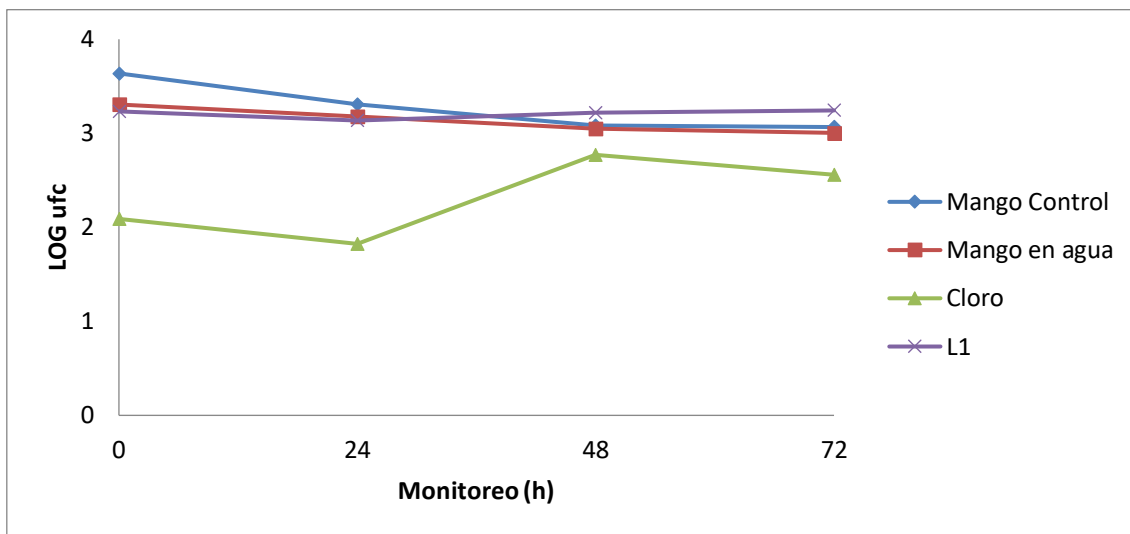


Figura 27: Crecimiento de *Escherichia coli*. en UFC contra tiempo. Durante el tratamiento de hidrogenfriamiento de mango ataúlfo.

- **0 horas de Monitoreo.**

El mango control (+) a las 0 h, es el que contiene mayor (53.51 %) carga microbológica de *Escherichia coli*, esto se debe a que este control no tiene ningún tratamiento, en contrate con los mangos control (-). De manera análoga los mangos del primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo; contiene (60.85 %) menos células de *Escherichia coli*. en comparación con los mangos control (+).

El cloro es más eficaz, debido a que disminuye más (92.7 %) carga microbológica a las 0 h en comparación con el primer tratamiento. Del mismo modo que el cloro disminuyó (93.40%) de carga microbológica en comparación con los mangos control (-), Mientras que reflejo una disminución del (97.15 %) en comparación con los mangos control (+).

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial disminuyó (16.14 %) más carga microbológica en relación con el mango control (-).

- **24 horas de Monitoreo.**

El mango control (-) que fueron tratados solamente con agua potable redujeron (26.88 %) células de *Escherichia coli*, mientras que los mangos tratados con H<sub>2</sub>O clorada disminuyeron



las UFC un (96.75 %), este fue su mayor porcentaje de inhibición en comparación con los otros tiempos de exposición, al igual presento mayor inhibición (95.54 %) en comparación con el mango control (-).

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial redujo solamente el (8.68 %) de células de *Escherichia coli*. en comparación con el mango control (-).

La comparación del efecto inhibitorio del primer tratamiento de hidrogenfriamiento y el H<sub>2</sub>O clorada demostró que el cloro es mar eficaz, al reducir (95.12 %) de las UFC de *Escherichia coli*, es decir 1.3 log UFC.

Aunque no se muestras los datos, se hizo un comparativo con el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial y el tratamiento con H<sub>2</sub>O clorada, demostrando nuevamente la alta eficacia del cloro, debido a que este representó mayor (94.04 %) poder inhibitorio.

- **48 horas de Monitoreo**

En la Figura 27 a las 48 h la carga microbiológica del primer tratamiento de hidrogenfriamiento tiene mayor carga microbiológica en contraste con los mangos tratados con H<sub>2</sub>O clorada se tuvo mayor presencia de *Escherichia coli* (64.17 %); de igual manera se tiene mayor presencia de esta bacteria (31.59 %) en comparación con los mangos control (-), en los mangos control (+) se tuvo (26.12 %).

Comparando los resultados obtenidos a las 48 h, el cloro resultó más eficaz (64.16 %) en la inhibición de *Escherichia coli* en comparación con el primer tratamiento de hidrogenfriamiento, del mismo modo disminuyó (53.17 %) más UFC que el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial (no se muestran los resultados).

- **72 horas de Monitoreo.**

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial muestra mayor carga microbiológica (79.24 %) en comparación con los mangos tratados con H<sub>2</sub>O clorada; mango control (-) (42.29 %) y lo mangos control (-). En la Figura 28. Se aprecia que no hay diferencia significativa entre los mangos control. Y al igual que a las 48 h a las 72 h tampoco



se tuvo una reducción de UFC de *Escherichia coli*, en el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial. No obstante, la eficacia del cloro se mantiene.

Podemos concluir que el cloro es eficaz en la inhibición de *Escherichia coli*. Aunque se tuvo mayor inhibición a las 0 h y 24 h de exposición no perdió poder inhibitorio, al término de este tiempo. El primer tratamiento de hidrogenfriamiento presenta un débil poder inhibitorio a las 0 h y 24 h, en comparación al cloro, sin embargo, la solución antibacterial perdió poder inhibitorio a las 48 h y 72 h.

El H<sub>2</sub>O clorada tuvo mayor efecto inhibitorio contra *Escherichia coli*. presentando mayor estabilidad frente a la bacteria, pues redujo 92.73 % (0 h), 95.12 % (24 h), 64.15 % (48 h); 79.24 % (72 h) más en comparación con el primer tratamiento de hidrogenfriamiento, con solución antibacterial.

En las figuras 26 y 27, se observó que los mangos control (-), los cuales solamente eran tratados con agua potable, disminuyen la carga microbiológica. Esto concuerda con los estudios realizados por (López et al., 2003) quienes mencionan que, durante el lavado, el hipoclorito de sodio también fue el tratamiento más eficiente para reducir los niveles de *E. coli* en lechugas no inoculadas ( $1.3 \pm 0.3$  log UFC/g), seguido de lavado con dióxido de cloro ( $0.8 \pm 0.0$  log UFC/g). Sin embargo, el lavado con agua del grifo sólo se reduce *E. Coli* ( $0.5 \pm 0.1$  log UFC/g (Fig. 2).

Dentro de las observaciones hechas en esta etapa experimental fue que el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial no fue eficaz en la desinfección del mango ataúlfo. Autores como (Meireles *et al.* 2016), mencionan que; los biofilms son comunidades sésiles de microorganismos que inicialmente se adhieren a una superficie sólida húmeda, y posteriormente producen sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que mantienen a las células fuertemente juntas y también las protege de condiciones de estresantes.

La contaminación microbiana también puede conducir a la penetración de patógenos en el producto. Por ejemplo, tanto *E. coli* como *Salmonella Typhimurium* son capaces de penetrar las hojas de la lechuga iceberg (Golberg *et al.*, 2011), mientras que (Seo y Frank, 1999) demostraron que *E. coli* O157: H7 puede penetrar 20-100  $\mu$ m debajo de la superficie de las hojas de lechuga.



Adams y Duncan, (2001) Mencionan que las características de la superficie serán hidrofóbicas, porque de la cutícula de la superficie cerosa y sirve como bolsillos protectores en soluciones acuosas que pueden penetrar las bacterias, provocando que estos microorganismos permanezcan intactos.

El efecto derivado con el aumento de la concentración de hipoclorito puede reflejar la muerte de algunos organismos que estén presentes en estos bolsillos, derivado del aumento de la concentración de cloro presente, pero la extracción eficaz sólo es posible con la inclusión de un tenso activo. Sin embargo, afecta negativamente a la calidad del producto esto puede provocar una mejora a corto plazo en el producto, sin embargo, existe la posibilidad de un deterioro acelerado, posterior a la remoción del biofilm.

La razón principal del desarrollo y evaluación de una solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo, es generar un producto orgánico cuyo objetivo sea disminuir o reemplazar los usos del cloro en el lavado y en los procesos de hidrogenofriamiento aplicados a frutos y vegetales, con el fin de evitar la contaminación cruzada. Muchos autores han mencionado los riesgos y consecuencias del uso del cloro.

El interés en alternativas de cloro se ha debido en gran parte a informes recientes posible producción de subproductos cancerígenos durante cloración (Ajlouni. *et al.*, 2010).

La aplicación de aceite esencial es un método muy atractivo para el control de enfermedades postcosecha. La producción de aceites esenciales de plantas se considera fundamentalmente un mecanismo de defensa contra los patógenos y plagas (Zhou y Donglu, 2008), de hecho, los aceites esenciales han demostrado poseer propiedades antimicrobianas y antifúngicas.

En general, estos componentes activos se utilizan para el desarrollo de desinfectantes orgánicos, los cuales se caracterizan por su bajo impacto sobre el medio ambiente, sin dejar residuos tóxicos o sobre la matriz alimentaria, siendo algunos de ellos reconocidos como sustancias GRAS o admitidos en agricultura orgánica (Feliziani *et al.*, 2016).

La eficacia de desinfección de desinfectantes químicos oxidantes como el cloro; es reducida por la materia orgánica (Critzler, 2014), la eficacia y actividad antimicrobiana de las emulsiones aceite de tomillo en presencia de materia orgánica es una importante ventaja para el uso como solución de lavado postcosecha para productos frescos (Critzler, 2014).





Dado que las verduras de hoja verde se consumen crudas, los lavados con desinfectantes constituyen los medios más prácticos de descontaminación de estos productos. En el procesamiento comercial de productos de valor agregado, el cloro se utiliza frecuentemente en enjuagues con concentraciones que varían de 50 a 200 ppm y con tiempos de contacto raramente superiores a 2 min (Parish *et al.*, 2003). Aunque el cloro es el desinfectante más utilizado, es inactivado por material orgánico y también puede conducir a la formación de Trihalometanos potencialmente cancerígenos y teratogénicos y haloacéticos (Stevens, 1982). Sin embargo, los beneficios de su uso en la industria de productos agrícolas superan las preocupaciones de los posibles subproductos nocivos. Los estudios han demostrado que los enjuagues con cloro pueden disminuir la carga bacteriana por valores que van desde  $< 1 \log$  CFU / g hasta  $3.15 \log$  CFU / g (Burt, 2004). Dependiendo del método de inoculación, concentración de cloro, tiempo de contacto, y las bacterias a inhibir.

En los diferentes tiempos de evaluación, se aprecia la disminución que se tiene con lo mangos control (-) este fenómeno se compara con los estudios de Adam y Duncan, (2001), donde menciona lo siguiente: Aumentar el tiempo de lavado de las lechugas en hipoclorito de 5 a 30 min no disminuyó el número de microbios mientras que el lavado prolongado en agua del grifo produjo una reducción comparable al hipoclorito.

La adición de un tenso activo, Tween 80, al hipoclorito redujo los números microbianos 99,6%, pero dio lugar a diferencias organolépticas. El fracaso del agua convencional e hipoclorito para eliminar más de la microflora se atribuye a la supervivencia de las bacterias en bolsillos o pliegues hidrófobos protectores en la superficie de las lechugas, en el desarrollo de la solución antibacterial la elección del tenso activo favoreció en las condiciones del tratamiento de hidrogenfriamiento.

#### **5.4. Residencia de bacterias patógenas en el agua de dos tratamientos de hidrogenfriamiento continuos de mangos ataúlfo.**

Se realizó el muestreo del agua de todos los tratamientos de hidrogenfriamiento, es decir, que se muestreo el H<sub>2</sub>O clorada, los dos procesos de hidrogenfriamiento con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo, y el agua que se utilizó para el tratamiento de hidrogenfriamiento de los mangos control (-).



A fin de determinar la carga microbiológica alojada en el agua, después del tratamiento, para evaluar la presencia o ausencia de dichas bacterias. De igual manera se realizó esta prueba para determinar que tratamiento provocó mayor desprendimiento de la bacteria alojada en la cutícula del fruto hacia el agua. El muestreo solo se llevó a cabo a las 0 h, los resultados se muestran en la figura 28.

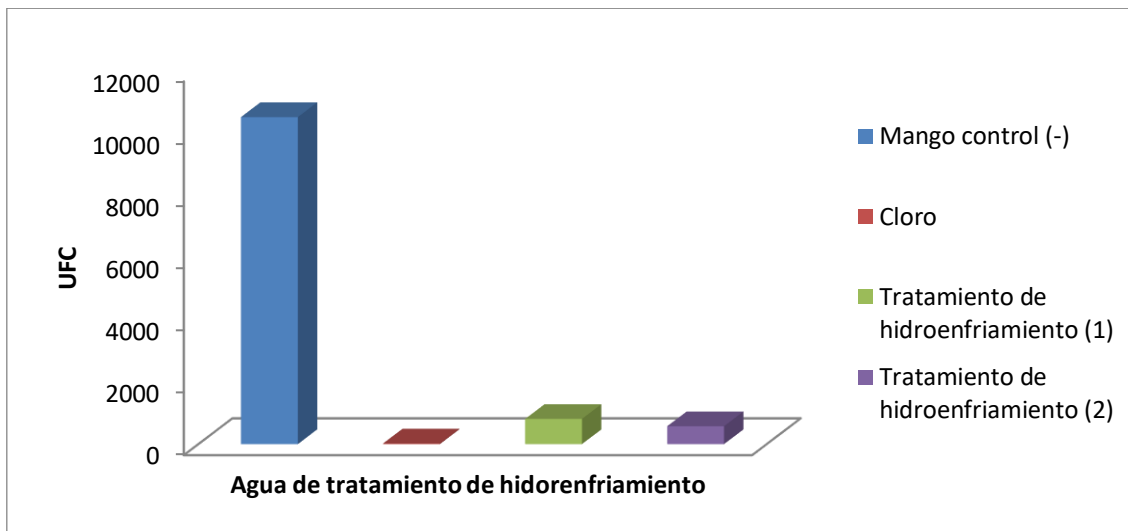


Figura 28: Colonias de *Salmonella spp* presentes en los diferentes tratamientos de hidrogenfriamiento, a las 0 h.

Como podemos observar en la figura 28 el H<sub>2</sub>O del tratamiento hidrotérmico del mango control (-) alojó mayor carga microbiológica de *Salmonella spp.* (99.81 %) en comparación con el H<sub>2</sub>O clorada, presentó una mayor inhibición (94.53 %) que el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo, y (94.53 %) mayor que el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial.

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento se tuvo mayor (97.84 %) presencia de *Salmonella spp.*, que el H<sub>2</sub>O clorada. (Zhou y Donglu, 2008) mencionan que las condiciones del agua de lavado y la sobrevivencia del patógeno están relacionadas, y se observó durante el agotamiento de cloro.

Al mismo tiempo que el H<sub>2</sub>O del primer tratamiento de hidrogenfriamiento tuvo mayor (29.01%) carga microbiológica; en comparación con el H<sub>2</sub>O del segundo tratamiento de hidrogenfriamiento de los mangos.



Esto se debe a que el cloro es un químico de alto espectro y tiene un poder inhibitorio mayor en comparación al aceite esencial de tomillo. Los patógenos provenientes de productos contaminados pueden desprenderse de las superficies de las plantas y ser transferidos a productos limpios, dando lugar a la contaminación cruzada, una de las fuentes de contaminación directa es el agua utilizada en los tratamientos de hidrogenfrimiento y en los procesos de lavado de frutas y hortalizas.

Las tecnologías tradicionales de lavado se realizan con agua clorada ( $50 \text{ } ^\wedge \text{ } 200$  ppm de cloro activo) para reducir poblaciones microbianas de menos de  $2 \text{ log UFC g}^{-1}$  en frutas y verduras (Singh *et al.*, 2004). Con base en lo mencionado anteriormente el desprendimiento que tuvo la bacteria del fruto, provocó que alojara en el agua de lavado, pero la eficacia del cloro libre aún estaba activa para inhibir la mayor parte de la carga microbiológica.

Factores tales como interacciones hidrófobas, carga de superficie bacteriana, presencia o ausencia de fimbrias y polisacáridos exocelulares, así como la duración de la exposición y el nivel de inóculo en bacterias. La superficie vegetal ha sido investigada con resultados contradictorios (Singh *et al.*, 2004). Las fibras con curvatura, y algún tipo de proteína extracelular son producidos por algunas células de *E. coli* y no se sabe si su expresión influye en la capacidad de las células para fijarse en superficies (Singh *et al.*, 2004).

Una multicapa, considerada como cutícula hidrofóbica; compuesta de cutina y cera amorfa cubren la epidermis de las frutas y verduras y se considera responsable de la alta resistencia al agua. Se ha sugerido que las interacciones hidrofóbicas entre esta capa epidérmica y las bacterias juegan un papel en la fijación bacteriana al tejido vegetal (Burnett y Beuchat, 2001).

Como se mencionó anteriormente el agua del tratamiento de hidrogenfrimiento de los mangos control (-) alojó mayor carga microbiológica esto se puede adjudicar a la morfología y a las características del mango como lo menciona Burnett y Beuchat, (2001).

Los detergentes pueden ofrecer una forma de interrumpir tales interacciones para enjuagar fácilmente los patógenos presentes en las superficies vegetales (Raiden *et al.*, 2003).

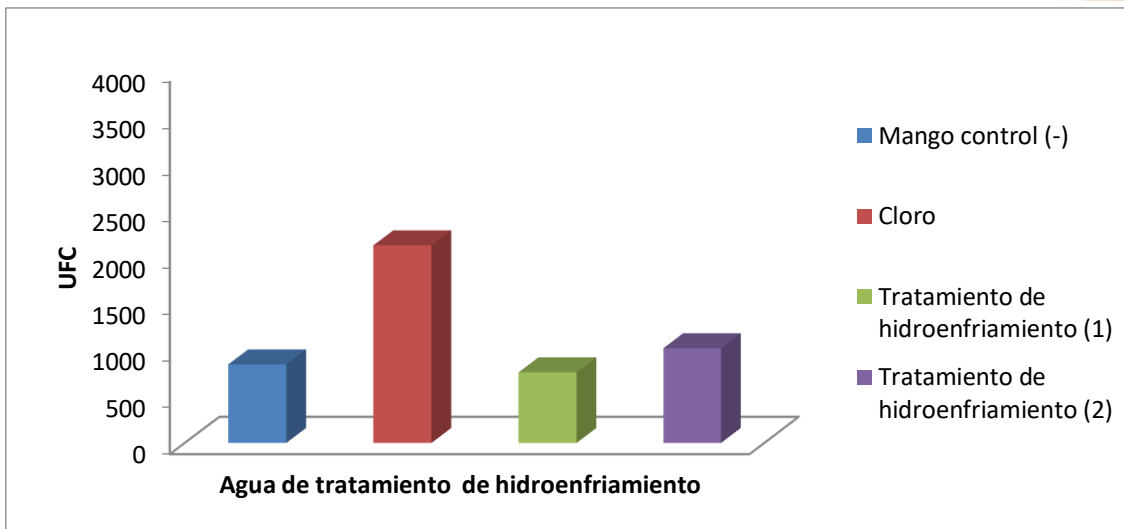


Figura 29: Colonias de *Escherichia coli*. presente en los diferentes tratamientos de hidrogenfriamiento, a las 0 h.

En la figura 29, el primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacteriana disminuyó (16.14 %) más UFC de *Escherichia coli*. en comparación con el mango control (-), del mismo modo se tuvo (60.84 %) menos colonias de *Escherichia coli*. presentes en el agua a las 0 h. Dicho de otra manera hubo una inhibición del 9.73 log UFC.

Después de que la bacteria *Salmonella spp.* fue expuesta al primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacteriana a base de aceite esencial de tomillo. No existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el agua de tratamiento de hidrogenfriamiento del proceso 1 y 2 de los mangos control (-).

El segundo tratamiento de hidrogenfriamiento; donde se reutilizó el agua del primer tratamiento, adquirió más carga microbiana de *Escherichia coli*. esto se debe al proceso previo que se tuvo en esa agua de hidrogenfriamiento. Se redujo (50.61 %) la carga microbiana de *Escherichia coli*. en comparación con el mango control (+).

La comparación entre los dos procesos consecutivos, reflejó que el primer tratamiento es (20.71 %) más efectivo a las 0 h.

### 5.5. Tiempo de eficacia del desinfectante orgánico.

Para determinar el tiempo y la eficacia de la solución antibacteriana a base de aceite esencial de tomillo en dos procesos consecutivos, se reutilizó la misma agua adicionada del primer



proceso. Con el fin de evaluar el efecto inhibitorio de dichos tratamientos. Esto se realizó por medio de pruebas *in vivo* con mangos ataúlfo.

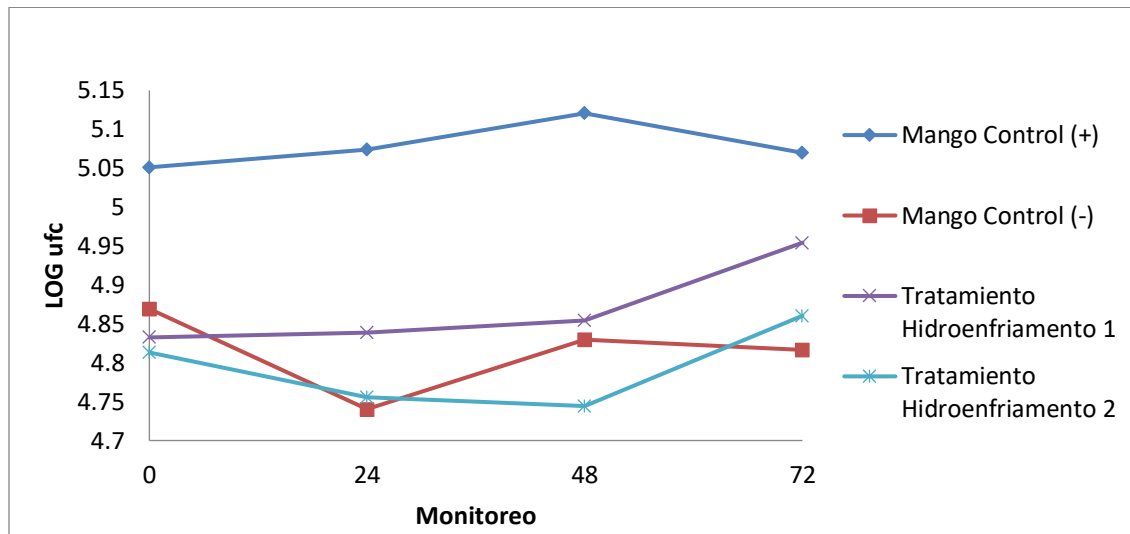


Figura 30: Monitoreo del crecimiento microbiológico de *Salmonella spp* con tratamientos de hidroenfriamiento (1 y 2) adicionados con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo.

- **0 horas de Monitoreo.**

El segundo tratamiento de hidroenfriamiento mostro una reducción mayor (42.22 %) mientras que el primer tratamiento mostro (39.55 %) menos UFC de *Salmonella spp*, en comparación con los mangos control (+).

Sin embargo, el segundo tratamiento de hidroenfriamiento redujo (12.16 %) más carga microbiológica mientras que el primer tratamiento de hidroenfriamiento mostro una reducción de (8.10 %) en comparación con los mangos control (-). Razón por la cual no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los mangos control (-), primer y segundo tratamiento de hidroenfriamiento. Al tiempo 0, el segundo tratamiento disminuyo (4.96 %) más log UFC en comparación con el primer tratamiento de hidroenfriamiento (4.36 %) log UFC.

- **24 horas de Monitoreo.**

El primer tratamiento de hidroenfriamiento disminuyó (41.77 %) mientras que el segundo tratamiento de hidroenfriamiento disminuyo más carga microbiológica, es decir, (51.9 %) en comparación con el mango control (+). Sin embargo, el primer tratamiento de hidroenfriamiento tiene un incremento del (79.71 %); mientras que el segundo tratamiento



de hidrofriamiento solo incremento el (3.50 %) más en comparación con el mango control (-).

La eficacia entre el primer tratamiento de hidrofriamiento y el segundo tratamiento es de (17.39 %), teniendo mayor poder inhibitorio el segundo tratamiento de hidrofriamiento a las 24 h, dicho en otras palabras, el primer tratamiento de hidrofriamiento disminuyó (6.93 % log UFC) y el segundo tratamiento de hidrofriamiento redujo (8.47 % log UFC).

- **48 horas de Monitoreo.**

El primer proceso de hidrofriamiento disminuyó (45.83 %) de la carga microbiológica en comparación con el mango control (+); sin embargo, en comparación con el segundo tratamiento de hidrofriamiento disminuyó las células de *Salmonella spp.* (57.95 %) más en comparación con el mango control (-).

Por el contrario, el segundo tratamiento de hidrofriamiento disminuyó el (17.77 %) la carga microbiológica en comparación con el mango control (-).

La diferencia entre ambos tratamientos de hidrofriamiento fue de (22.37 %) es decir que el lavado disminuyó más log UFC que el primer tratamiento de hidrofriamiento. Es decir que, el primer tratamiento de hidrofriamiento disminuyó (5.46 % log UFC), mientras que el segundo tratamiento de hidrofriamiento redujo (7.40 % log UFC).

- **72 horas de Monitoreo.**

El primer tratamiento de hidrofriamiento redujo el 23.40% de células de *Salmonella spp.* Mientras que el segundo tratamiento de hidrofriamiento disminuyó el 38.29 % en comparación con el mango control (+).

El segundo tratamiento de hidrofriamiento con solución antibacterial disminuyó el 9.65 % más de carga microbiológica presente en el mango control (-).

La diferencia entre el primer y segundo tratamiento de hidrofriamiento es de 19.44%, donde el segundo tratamiento de hidrofriamiento con solución antibacterial disminuyó 19.44 %, véase figura 31.

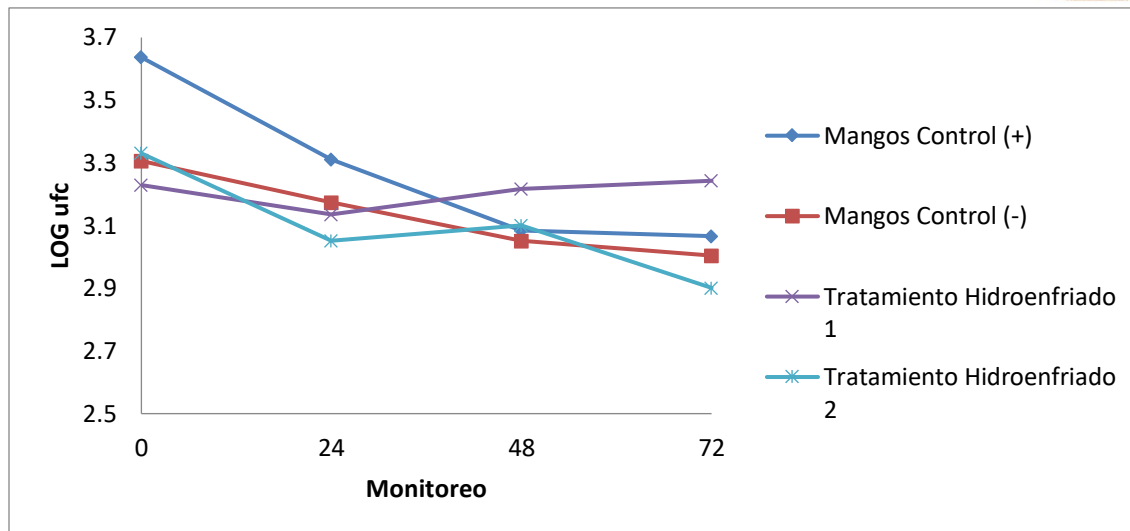


Figura 31: Monitoreo del crecimiento microbiológico de *Escherichia coli* con tratamientos de hidroenfriamiento (1 y 2) adicionados con solución antibacterial a base de aceite esencial de tomillo.

- **0 horas de Monitoreo.**

En primer tratamiento de hidroenfriamiento disminuyó (16.14 %) más UFC de *Escherichia coli* en comparación con el mango control (-); del mismo modo se tuvo un (60.84 %) menos células bacterianas de *Escherichia coli*. presentes en el mango a las 0 h. Después de ser expuesto al primer tratamiento de hidroenfriamiento en comparación con los mangos control (+). No existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el mango control (-), primer y segundo tratamiento de hidroenfriamiento.

La diferencia entre el primer y segundo tratamiento de hidroenfriamiento fue de (20.71 %), cabe señalar que el segundo tratamiento de hidroenfriamiento es mayor que el primer tratamiento de hidroenfriamiento, esto fue porque la carga microbiológica que se desprendió del primer lote de mangos se alojó en el agua del primer tratamiento, y finalizado el primer proceso la bacteria se quedó suspendida en el agua, al momento de adicionar el segundo lote de mangos al segundo proceso, se tiene un incremento de bacterias, por tal motivo el segundo tratamiento tiene mayor carga.

El segundo tratamiento de hidroenfriamiento adquirió la carga microbiológica de *Escherichia coli* por el primer tratamiento previo, y redujo 50.61 % la carga microbiológica en comparación con el mango control (+).



- **24 horas de Monitoreo.**

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento redujo (33.26 %) de la carga total comparado con el mango control (+), mientras que el segundo tratamiento redujo (49.26 %) más carga microbiológica.

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento disminuyó 8.68 % más células *Escherichia coli*. en comparación con el mango control (-). Mientras que el segundo tratamiento disminuyó 24.72 %.

La diferencia entre ambos tratamientos de hidrogenfriamiento fue de (17.56 %), es decir que el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento disminuyó más células microbiológicas de *Escherichia coli*.

- **48 horas de Monitoreo.**

A las 48 h se observó que el primer tratamiento de hidrogenfriamiento tuvo un incremento del 26.11% y 31.58% referente a los mangos control (+) y mangos control (-), respectivamente.

Evidenciando que el primer tratamiento de hidrogenfriamiento no es eficaz contra la inhibición de carga microbiológica en comparación con los mangos control (+) y mangos control (-), respectivamente.

Comparando la eficacia de los tratamientos de hidrogenfriamiento, se tuvo mayor reducción de células *Escherichia coli* (23.47 %) en el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento que en el primer tratamiento a las 48 h.

No existe diferencia significativa (23.47 %) entre los tratamientos del primer y segundo proceso de hidrogenfriamiento, y el mango control (-).

- **72 horas de Monitoreo.**

El primer tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial, no es eficaz a las 72 h de evaluación, debido a que se presentó un incremento entre 33.42 y 42.28 % referente a los mangos control (-) y mango control (+).





El segundo tratamiento de hidrogenfriamiento con solución antibacterial disminuyó la carga microbiológica (31.26 %) en comparación con los mangos control (+) de igual manera mostró una inhibición del (21.12 %) más en comparación con los mangos control (-).

Razón por la cual el segundo tratamiento de hidrogenfriamiento fue (54.48 %) más eficaz que el primer tratamiento a las 72 h de exposición.

Debido al tiempo de liberación del aceite esencial, fue mejor en segundo tratamiento en todos los tiempos de evaluación.

El lavado con desinfectantes se utiliza a menudo para mejorar y prolongar la vida útil de los productos frescos. Reducir el consumo de agua y las tasas de descarga de aguas residuales, el agua utilizada en el prelavado y las operaciones de lavado de los productos se reciclan y se reutilizan (Critzler, 2014). Esta agua reciclada ha disminuido el uso de desinfectantes y, por lo tanto, pueden tener patógenos viables que se han desprendido de los productos frescos y se han transferido a productos no contaminados (Critzler, 2014). Las industrias de productos orgánicos se benefician de desinfectantes que tienen mayor capacidad antimicrobiana y el aumento de la actividad en el tiempo en el lavado postcosecha aplicaciones.

Las tecnologías tradicionales utilizan el agua de lavado con (50 a 200 ppm cloro activado) para reducir microorganismos, pero estos tratamientos resultan en una reducción de la población bacteriana de  $2 \log_{10} UFC g^{-1}$  en frutas y vegetales (Critzler, 2014), reportando que la reducción logarítmica máxima de *L. monocytogenes* en lechuga recién cortada y repollo tratado con 200 ppm de cloro era de 1.7 y 1.2  $\log_{10} UFC g^{-1}$  respectivamente. Además de una eficacia limitada, los sistemas de lavado con cloro pueden producir subproductos nocivos (cloraminas y trihalometanos) (Critzler, 2014).

(Critzler, 2014) observó que la calidad microbiana de las hortalizas mínimamente procesada se ha mejorado ligeramente cuando el régimen de lavado se repitió.

Esto puede ser porque las células de *E. coli* O157:H7 se adhieren con mayor tenacidad durante las primeras 24 horas de incubación a  $5 \pm 1$  °C a la superficie de las lechugas sin incubación. Se observó que las poblaciones de *E. coli* O157:H7 sobrevivieron 10 min después del tratamiento de lavado en agua des ionizada sobre lechuga inoculadas por los métodos de



inmersión o aspersión, posteriormente se incubaron durante 24 h a  $5 \pm 1$  °C resultó en 0.73 y 0.90 log UFC  $g^{-1}$ .

Cabe mencionar que hubo reducciones significativas en el número de colonias de *E. coli* O157: H7, en el segundo lavado con  $ClO_2$ , agua estéril desionizada y aceite de tomillo (1.70, 1.62 and 2.16  $log_{10}$  reducción en UFC  $g^{-1}$ , respectivamente). El tercer lavado no mostró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ).

La mayor reducción de colonias microbianas después del segundo lavado se puede atribuir al uso de las soluciones nuevas y frescas. La incapacidad de la solución acuosa para reducir las colonias microbianas después de un tercer lavado puede deberse a la penetración de microorganismos a través de los bordes cortados los cuales son inaccesibles para el desinfectante (Critzler, 2014), reportó que el lavado repetido redujo los recuentos microbianos; presentando observaciones en los múltiples lavados con productos agua estéril des ionizada,  $ClO_2$  acuoso, agua ozonizada y aceite de tomillo en la eliminación de patógenos lechuga concuerdan con este informe.

Sin embargo, se observó que existe mayor reducción de colonias microbianas en comparación con las colonias iniciales del inóculo, independientemente de los tratamientos de lavado, indican que los lavados de lechuga inoculada con bajos niveles de *E. coli* O157: H7 son más efectivos para la inhibición de patógenos. Esto puede ser debido a una mayor disponibilidad de las soluciones acuosas a bajos niveles de poblaciones microbianas (Critzler, 2014), mencionó también que el lavado de los tomates contaminados con bajas dosis de *Salmonella montevideo* con agua del grifo o acuoso de cloro en 100 ppm fue efectivo en la eliminación de las bacterias. Por lo tanto, repetir el lavado puede ser una buena técnica de descontaminación de verduras (Critzler, 2014).

Las bacterias que están presentes en la superficie de la hoja de lechuga intacta en gran medida fueron inhibidas por desinfección con cloro (Critzler, 2014). Los resultados de este estudio indican que los principales factores que son importantes en la limitación de la eficacia de los tratamientos de saneamiento de lechuga son el accesorio de células patógenas en sitios inaccesibles en la superficie de lechuga y/o la incorporación de esas células dentro de los biofilms en tales sitios inaccesibles (Critzler, 2014).



Aunque los tratamientos de saneamiento de lechuga con agua generalmente no fueron significativamente diferentes de lavar con agentes de desinfección, se recomienda que se utilicen agentes de desinfección durante todos los tratamientos de lavado de productos frescos como lechugas. El uso de un agente desinfectante durante el tratamiento de lavado eliminaría la carga microbiana en la solución de lavado y evitar así cualquier posible contaminación cruzada en el tanque de lavado (Critzler, 2014).

Esta podría ser la explicación del porque el tratamiento de hidrogenfriamiento reduce carga microbiológica. Como lo menciona (Raiden *et al.*, 2003). Una multicapa, considerada como cutícula hidrofóbica; compuesta de cutina y cera amorfa cubre la epidermis de las frutas y verduras y se considera responsable de la alta resistencia al agua. Se ha sugerido que las interacciones hidrofóbicas entre esta capa epidérmica y las bacterias juegan un papel en la fijación bacteriana al tejido vegetal.

Los detergentes pueden ofrecer una forma de interrumpir tales interacciones para enjuagar fácilmente los patógenos presentes en las superficies vegetales (Raiden *et al.*, 2003).

En este estudio, los patógenos probablemente estaban desprotegidos por la matriz exopolimérica lo cual los hacia susceptibles a los efectos producidos por este producto químico. *Y. enterocolitica* y *E. coli* O157: H7 reflejando una inhibición de 4.21 – 2.06 log, respectivamente comparado con los controles.

Cabe señalar que la desinfección del agua del proceso de lavado de los productos debe estudiarse con más detalle ya que su uso sin la adecuada calidad microbiológica puede provocar la contaminación cruzada y la acumulación microbiana, lo que perjudica la descontaminación y desinfección de las superficies de contacto con los alimentos y agua. El agua desinfectada adecuadamente puede ser reutilizada en el consumo de agua. Además, la formación de biofilm y patógenos, debería considerarse también seriamente ya que ambos pueden reducir la acción de los desinfectantes.

Las frutas y verduras generalmente tienen un bajo contenido de grasa, lo que puede contribuir al éxito obtenido con los aceites esenciales. Todos los aceites esenciales que se han evaluado, sus componentes que han sido probados en ambos productos alimenticios; los cuales parecen



ser efectivos contra el deterioro natural y los patógenos transmitidos por alimentos, niveles de  $0.1 - 10 \mu\text{lg}^{-1}$  en agua de lavado (Burt, 2004).

El lavado de estos productos puede transferir los contaminantes microbianos en el agua de lavado y de allí a otras materias primas, no contaminado, así como el transporte, embalaje, y el equipo de procesamiento (Sapers, 2014).

La adición de un agente desinfectante al agua de lavado puede reducir en gran número las células bacterianas y por lo tanto reducir el riesgo de contaminación cruzada. Tales reducciones pueden mejorar la seguridad del producto y la vida de anaquel, permitiendo que estos productos sean embarcados para su comercialización a nivel nacional o a mercados extranjeros (Sapers, 2014).

Sin embargo, los agentes limpiadores y desinfectantes son mucho menos eficaces para inactivar patógenos humanos y otros microorganismos que se han unido a las superficies de los productos. Esto es una consecuencia de la fuerte adherencia microbiana a sitios inaccesibles tales como poros, punciones, irregularidades superficiales, superficies cortadas, lo que limita el contacto entre las soluciones desinfectantes y los microorganismos (Sapers, 2014).

Es interesante observar que el agregado de  $\text{NaClO}$  o té verde en el segundo lavado no provoca mayores reducciones que en el caso de realizar el segundo lavado con agua de red sin sanitizante, obteniéndose reducciones de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras son similares entre estos tratamientos. Estos resultados podrían estar sugiriendo que la reducción de carga microbiana nativa lograda por los tratamientos se debe a un arrastre de microorganismos por el lavado en sí, más que a un efecto antimicrobiano de la solución propuesta como desinfectante (Rubinstein et al., 2013). Se encontró que el lavado en dos etapas disminuye la carga microbiana, respecto del lavado en una única etapa (Rubinstein *et al.*, 2013).

El lavado en dos etapas con soluciones sanitizantes demostró que pueden obtenerse mayores reducciones microbianas reemplazando el  $\text{NaClO}$ , producto utilizado tradicionalmente en esta operación, por otros compuestos más naturales y seguros como el ácido cítrico y la natamicina (Rubinstein *et al.*, 2013).



Por lo tanto, mantener la eficacia de higienizador concentraciones en el agua de lavado es fundamental para garantizar la inocuidad de los alimentos frescos y productos agrícolas cortados (Zhou y Donglu, 2008).

La razón por la cual se tuvo mayor éxito en los segundos tratamientos de hidrogenfriamiento es porque la actividad antimicrobiana del aceite de tomillo mejora después de la emulsificación es probable debido a los cambios de su solubilidad, lo que sugiere que la capacidad de las moléculas activas de interactuar con las membranas celulares está asociada con su disolución en la fase acuosa (Critzler, 2014). A pesar de la completa inhibición en el tratamiento de los lavados con las emulsiones de aceite esencial de tomillo mostro una actividad antibacteriana relativamente mejor contra estas dos bacterias patógenas en cantalupos en comparación con el aceite esencial de tomillo. Los resultados sugieren que la emulsión de aceite de tomillo proporciono eficacia a largo plazo en el control de patógenos transmitidos por los alimentos (Critzler, 2014).

Esto quiere decir que la liberación prolongada del aceite esencial de tomillo se da de acuerdo al tiempo de reposo que se le otorga en el tratamiento de hidrogenfriamiento.



# CONCLUSIONES



### 6. CONCLUSIONES

Con base a los resultados del presente trabajo, se concluye:

- El aceite esencial de tomillo (15  $\mu$ L) presentó poder inhibitorio, contra las cepas bacterianas de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*, registrándose un halo de 33 y 34 mm respectivamente, en los tres tiempos de evaluación (24, 48 y 72 horas).
- La efectividad de la solución antibacterial, disminuyó con el paso del tiempo, ya que no ocasionó la destrucción total de la bacteria, esto se debe a que las cepas generaron cierta resistencia contra los compuestos activos.
- El hipoclorito de sodio tuvo una capacidad antimicrobiana superior, porque destruyó permanentemente las células bacterianas, mientras que la solución antibacterial, en la concentración evaluada, solo las inactivó temporalmente.
- El poder inhibitorio de la solución antibacterial con aceite esencial de tomillo, no fue eficaz cuando fue aplicado directamente a las cepas estudiadas, porque los componentes de la matriz polimérica (propilenglicol, tween 80), encapsularon el aceite esencial de tomillo, reduciendo la exposición de sus compuestos activos (timol y carvacrol), con la superficie de crecimiento de las cepas bacterianas.
- El segundo proceso consecutivo de hidrogenfriado, fue más eficiente en comparación con el primero, puesto que la liberación de los compuestos activos requirió de un mayor tiempo de exposición.



# RECOMENDACIONES





### 7. RECOMENDACIONES

Con base a los resultados del presente trabajo, se realiza las siguientes recomendaciones para profundizar en el tema:

- Para obtener mayor efectividad antibacterial, es necesario usar una concentración mayor de aceite esencial de tomillo, en la formulación de la solución orgánica.
- Mejorar el manejo higiénico e implementar buenas prácticas agrícolas, en el manejo pos cosecha de mango ataulfo para evitar presencia de *Salmonella* spp y *Escherichia coli*, en mango ataulfo de exportación.
- Evaluar el efecto antibacterial al duplicar la dosis del antibacteriano orgánico antes del segundo lavado.



# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



### 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Adam G. y Duncan H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol. Biochem.* 33: 943-951.
2. Ajlouni, S.; Sibrani, H.; Premier, R.; Tomkins, B. (2010). Ultrasonication and Fresh Produce (Cos lettuce) Preservation. *Journal of Food Science.* v.71, 62-68.
3. Alba (2008). Determinación de *Salmonella spp.* por PCR en tiempo real y método convencional en canales de bovinos y en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12, 246 - 254.
4. Albedo (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Scientific Electronic Library Online*, 12, 1-12.
5. Ariza-Ortega, T. J. (2016). Evaluación del potencial antimicrobiano de aceites esenciales de especias sobre *Escherichia coli* como cepa indicadora. 20 de octubre de 2016, de Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Disponible en: <https://smbb.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/III/carteles/CII-I-58.pdf>
6. Barberi, R. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol. 22 de Febrero De 2017, de Food Chemistry. Disponible en: [http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/43817/3/TFM\\_MilagrosPerezMagro.pdf](http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/43817/3/TFM_MilagrosPerezMagro.pdf)
7. Bauer A. W.; Kirby W. M.; Sherris J. C.; Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal Clinical Pathology* 36 (5): 493-496.
8. Becerra L. (1995). Enfermedades en el cultivo del mango. En: La producción del mango en México: Uteha/Noriega Editores. bienes y servicios. método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>
9. Boskovic M. (2015). Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms. *Procedia Food Science*, 5, 18 - 21.
10. Burnett, S.L., Beuchat, L.R., (2001). Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 27, 104–110.
11. Burt S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology* 94, 223–253.



12. Cerpa, C. M. (2007). Hidrodestilación de Aceites Esenciales. Valladolid: Universidad de Valladolid.
13. CONASPROMANGO (2016). Consultado en septiembre 2017 Disponible en: <http://www.mangomex.com/index.php/es/consumidores/variedades-de-mango>
14. Contreras-Ortega J. S., Olivares-Torres C. A., Trejo-Márquez M. A.\*, Pascual-Bustamante S., Lira-Vargas A. A. (2016). Conservación de verdolaga mínimamente procesada proveniente del suelo e hidropónica, desinfectada con un agente a base de compuestos bioactivos. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Vol. 1, No.1 (2016) 466-471.
15. Critzer, F.J. (2014). Salmonella survival and differential expression of fatty acid biosynthesis-associated genes in a low-water-activity food. Lett Appl Microbiol. 59:133-138
16. Cruz J.N., (2002). Effect of quarantine treatments on the carbohydrate and organic acid content of mangoes (cv. Tommy Atkins). Radiation Physics and Chemistry Volume 81, Issue 8, Pages 1059–1063.
17. Devi, K. P, (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against Salmonella typhi by disrupting the cellular membrane. Journal of Ethnopharmacology, 107 115.
18. Doyle, E. A. (2001). Food Microbiology Fundamentals and frontiers (2 ed.) Washington, D.C: ASM Press.
19. Estrada E.M (2015). Efecto de recubrimientos protectores sobre la calidad del mango (*Mangifera indica L.*) en poscosecha. Actualidad y Divulgación Científica, 18, 181 - 188.
20. Feliziani E.; Lichter A.; Smilanick J.L (2016). Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. Postharvest Biology and Technology, 122, 53 - 69.
21. Fisher G. (2006). Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana L.*). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2000. p.9-26.
22. García R.M (2008). Agentes Bactericidas/ bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio carvacrol y timol. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla.
23. García S.; Bergvinson D. (2007). Programa integral para reducir pérdidas poscosecha en maíz. Agricultura técnica en México, 33(2), 181-189.
24. Golberg D1, Kroupitski Y, Belausov E, Pinto R, Sela S. (2011). *Salmonella Typhimurium* internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. Int J Food Microbiology. 122, 250-257.



25. Heard, N.F. (1985). Characteristic of edible plant tissues. In: O.R. Fennema. Ed. Food Chemistry. Marcel Dekker. New York.
26. Helander, I. M. (1998). Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. J. Agric. Food Chem., 3590–3595.
27. Herrera F. C, García R. O. (2006). Evaluación In vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo, sobre cinco cepas bacterianas de origen alimentario. BISTUA, 4, 13 - 19.
28. Iguchi A.; Thomson NR, Ogura Y. (2009) Complete genome sequence and comparative genome analysis of enteropathogenic *Escherichia coli* O127:H6 strain E2348/69. J Bacteriol, 191, 347 - 354.
29. Infoagro. (2016). Frutas Tropicales Consultado en septiembre de 2017. Disponible en: [http://www.infoagro.com/frutas/frutas\\_tropicales/mango.htm](http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/mango.htm)
30. López-Gálvez F, Allende A, Truchado P, Martínez-Sánchez P, Tudela J.A, Selma MV, Gil MI. (2003). Suitability of aqueous chlorine dioxide versus sodium hypochlorite as an effective sanitizer for preserving quality of fresh-cut lettuce while avoiding by-product formation. Postharvest Biology and Technology, 55: 53 - 60.
31. Mango.org (2007). mango varieties & availability. Consultado en junio de 2016. Disponible en: <http://www.mango.org/es/mango-varieties-availability/>
32. Markham, R. H.; Bosque-Pérez, N. A.; Borgemeister, C.; Meikle, W. G. (1994). Developing pest management strategies for the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, and the large grain borer, *Prostephanus truncatus*, in the humid and sub-humid tropics. FAO Plant Prot, 42, 125-136.
33. Matthews, K. R. (2006). Microbiology of fresh produce. ASM Press, 1-7.
34. Meireles A.; Borges A.; Giaouris E., Simões M. (2016). The current knowledge on the application of anti-biofilm enzymes in the food industry. Food Research International, 86, 140-146.
35. Mendoza, A M; Báez-Sañudo, R; Pérez, B; Cruz, L; Bringas, E; (2006). Evaluación de cera comestible en mango "Tommy Atkins" destinado a la comercialización para el turismo. Parte III: efecto en las características cuticulares. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 7, 122-130.
36. Montes de Oca M. y Vidal Martínez A. (2002). Calidad del mango ataulfo producido en Nayarit, México. Fitotecnia Mexicana, 25 (4), 367 – 374.
37. Morales, C. A. (2015). Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Tomillo, sobre la contaminación de *Listeria Monocytogenes* en queso Ricotta queso. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.



38. Ontiveros N.S. (2004). Manual de buenas prácticas agrícolas y de manejo para el cultivo y empacado de mango fresco de exportación en la región de Tomatlán, Jalisco. Marzo 2004. 143
39. Opportimes. (2016). México: El mayor exportador de mango. Opportimes, 15. Consultado en mayo 2017. Disponible en: <https://www.opportimes.com/mexico-el-mayor-exportador-de-mango/>
40. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2016). Codex Alimentarius, Directrices Sobre la Aplicación de Principios Generales de Higiene de los Alimentos para el Control de *Listeria monocytogenes* en los Alimentos. Obtenido de Codex Alimentarius, Directrices Sobre la Aplicación de Principios Generales de Higiene de los Alimentos para el Control de *Listeria monocytogenes* en los Alimentos. Consultado en septiembre de 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/search/advanced.do/en/>
41. Parish M.E, Beuchat L.R, Suslow T.V , Harris L.J , Garrett E.H , Farber J.N , Busta F.F (2003). Methods to Reduce/Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 161 - 173.
42. Pérez B. (2006). Evaluación de cera comestible en mango "Tommy Atkins" destinado a la comercialización para el turismo. Parte III: efecto en las características cuticulares. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 7 (2), 122 - 130.
43. PROFECO. (2001). Productos para desinfectar agua y alimentos. Revista del Consumidor, 295, 1-4.
44. Raiden, R.M., Sumner, S.S., Eifert, J.D., Pierson, M.D. (2003). Efficacy of detergents in removing *Salmonella* and *Shigella* spp. from the surface of fresh produce. J. Food Prot., 66, 210 – 221
45. Ramirez A. (2013). Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Agrociencia, 48 (3), 10-17.
46. Rosas, G. A. (2013). Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo. REDALYC, 10.
47. Rubinstein A.; Rosa J.; Agüero M.V. (2013). Lavado y desinfección de espinaca (*spinacia'oleracea'l.*): Evaluación de desinfectantes alternativos al hipoclorito de sodio. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 14, 71 - 79.
48. Russell AD, Hugo WB. (2008) Antimicrobial activity and action of silver. Prog MED Chem 1994,31, 51-70.
49. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2016). Plan de trabajo para el tratamiento y certificación de mangos mexicanos. SAGARPA, 30.



50. Sapers, G.M., 2014. Disinfection of contaminated produce with conventional washing and sanitizing technology pp. 389-431
51. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Colima (2016). Servicios de sanidad Consultado en septiembre de 2017. Disponible en: <http://seder.col.gob.mx/Direcciones/dsanidad/semanasanidad/guiatecnicos.pdf>
52. Secretaría de Salud. (2017). Norma oficial mexicana nom-092-ssa1-1994.
53. Sedrés M. (2010). Aislamiento y serotipaje de Salmonella spp. en productos cárnicos procedentes de cerdos clínicamente sanos. Rev. Prod. Anim; 7(3): 121-124
54. Seo K.S y Frank J.F (1999) Attachment of Escherichia coli O157:H7 to Lettuce Leaf Surface and Bacterial Viability in Response to Chlorine Treatment as Demonstrated by Using Confocal Scanning Laser Microscopy. Journal of Food Protection 62 (1), 3-9.
55. Sergent, E. (1999). El cultivo del mango (*Mangifera indica L.*) (1 ed.). Caracas: Universidad Central de Venezuela.
56. Servicio Nacional de Aprendizaje (2008). Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Consultado en octubre de 2016. Disponible en: [http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introducción\\_industria\\_aceites\\_esenciales\\_plantas\\_medicinales\\_aromáticas/](http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introducción_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromáticas/)
57. Singh, K.P., D. Mohon, S. Sinha and R. Dalwani. (2004). Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharge by sewage treatment plants on health, agricultural and environmental quality in waste water disposal area. Chemosphere, 55: 227-255.
58. Stafford, A. (1983). Mango. New York: Marcel Dekker, Inc.
59. Stanier Y.; Roger, E. (1992). Microbiología. Barcelona: Reverté, 11-15.
60. Stevens, A. (1982). Reaction Products of Chlorine Dioxide. Environmental Health Perspective, 46, 101-110.
61. Zakarya, D.; Fkhih-Tetouani, S.; Hajji, F. (1993). Chemical composition-antimicrobial activity relationship of Eucalyptus essential oils. Plantes Médicinales et Phytothérapie 26, 331-339.
62. Zhou F.; Donglu Q. (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. Letters in Applied Microbiology, 10, 174-175.