Artículo Original

Cinética de inactivación térmica de *Salmonella* sp. en jugo de fresa, *Fragaria* sp.

Kinetics of thermal inactivation of *Salmonella* sp. in juice of *Fragaria* sp.

Luis A. Llenque-Díaz, Aníbal Quintana-Díaz, Eva E. Villanueva de Cueva, Nelver A. Moreno-Ruiz y Rosa M. Segura-Vega

Departamento Académico de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú.

RESUMEN

Se determinó la cinética de termodestrucción de *Salmonella* sp. a temperaturas de 50, 55 y 60°C en jugo de fresa, *Fragaria* sp. Se reactivó el cultivo bacteriano y ajustó a una turbidez equivalente al 9 x 10⁸ células/mL. Luego, se licuó 300 g de frutos maduros de fresa con 800 mL de agua destilada; previa filtración, se depositó el jugo en recipiente estéril y fue pasteurizado a 80°C por 5 minutos. Cada sistema de ensayo fue acondicionó en un matraz de vidrio de 250 mL con 90 mL de jugo pasteurizado y 10 mL de inóculo bacteriano estandarizado y sometido luego a temperatura de 50°C en baño maría. Desde el tiempo 0 y cada 2 minutos, hasta los 6 minutos, se extrajo una alícuota de 1 mL de muestra, se hizo diluciones con solución salina estéril y sembró 1 mL de la dilución por incorporación en Agar Nutritivo, e incubó a 35°C por 18 horas, y los recuentos bacterianos se expresaron en UFC/ml. Este procedimiento se repitió tres veces consecutivas; asímismo, para las temperaturas de 55 y 60°C. Con los datos obtenidos se representó las curvas de supervivencia de la bacteria (UFC/ml) en relación al tiempo de exposición, se determinó la velocidad de muerte térmica de la bacteria y los valores D para cada temperatura de evaluación. La población de *Salmonella* sp. en jugo de *Frugaria* sp. fue reducida y destruida en mayor proporción a medida que se incrementó la temperatura con un valor D promedio de 2 minutos.

Palabras clave: Cinética, Termodestrucción, Valor D, Salmonella sp, Fragaria spp.

ABSTRACT

Kinetics of termodestruction of *Salmonella* sp. at temperatures of 50, 55 and 60°C in strawberry juice, *Fragaria* sp., was dtermined. Bacterial culture was reactivated and adjusted to a turbidity equivalent to 9 x 10⁸ cells/mL. Then, 300 g of ripe fruits of strawberry was blended with 800 ml of distilled water. After filtration, was deposited juice in sterile container and it was pasteurized at 80°C for 5 minutes. Every test system developed in a flask of 250 mL glass with 90 mL of pasteurized juice and 10 mL of bacterial inoculum standardized, and subjected to a temperature of 50°C in a water bath. From the time 0 and every 2 minutes, up to 6 minutes, extracted an aliquot one-mL of sample, became dilutions with saline solution sterile and planted one mL of dilution by incorporation into Nutrient Agar and incubated at 35°C for 18 hours, and bacterial counts were expressed in CFU/mL. This procedure was repeated three times in a row; Likewise, for temperatures of 55 to 60°C. With the data obtained represented the survival curves of bacteria (CFU/mL) regarding exposure time, determined the speed of thermal death of the bacterium and D values for each temperature evaluation. The population of *Salmonella* sp. juice of *Frugaria* sp. it was reduced and destroyed in greater proportion to increased temperature with an average value of 2 minutes.

Keywords: Kinetics, Termodestruction, value D, *Salmonella* sp., *Fragaria* spp.

INTRODUCCIÓN

Las fresas, *Fragaria* spp. (Rosaceae), de fragante perfume y color llamativo, son una de las mejores fuentes naturales de antioxidantes y vitaminas C y E; sin embargo, se ha encontrado que los compuestos fenólicos presentes tienen una acción antioxidante más potente y que trabajan sinérgicamente con las vitaminas en la eliminación de los radicales libres. Su composición química en porcentaje, es: Sólidos totales, 7.0-12.7; Sólidos solubles totales, 4.6-11.9; Azúcares totales, 4.1-6.6; Azúcares reductores, 3.7-5.2; Sacarosa, 0.2-2.5; Fructosa, 1.7- 3.5; Glucosa, 1.4-3.1; Pectinas solubles, 0.2-0.9; pH, 3.18-4.10; Acidez titulable, 0.50-1.87; Ácido cítrico, 0.42-1.24; Acido málico, 0.09-0.68. Ácido ascórbico total, 26-120 mg/100 g; Fenoles totales, 58-210 mg/100 g y Antocianinas totales, 55-145mg/100 g¹⁻³.

Los alimentos, dentro de ellos los jugos frescos, son perecederos, por lo que necesitan ciertas condiciones de tratamiento, manipulación y conservación: si no son tratados adecuadamente se producen cambios en la textura, color, olor y sabor, debido, entre otros factores, a la proliferación de microorganismos. Entonces, los distintos métodos de conservación de alimentos pretenden incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que logren la inhibición o inactivación del crecimiento microbiano, pero manteniendo la calidad⁴.

Los tratamientos térmicos han sido las técnicas de inactivación de microorganismos más usados en la industria para producir alimentos seguros y durables y, dentro de ellos, la pasteurización⁵. Además, existen regulaciones que especifican que se requieren procedimientos para inhibir microorganismos patógenos en los jugos, los cuales exigen una reducción de cinco ciclos logarítmicos del número de microorganismos⁶. Sin embargo, los microorganismos tienen diferentes resistencias al calor y algunas de estas diferencias son debidas a factores que se pueden controlar, aunque otras son propias de los microorganismos y no siempre se pueden controlar⁷. En efecto, las poco patógenas son destruidas con facilidad, pero las termófilas requieren el empleo de temperaturas de 80 a 90°C durante varios minutos. También es máxima en la etapa final de la fase lag y casi tan elevada en la fase estacionaria máxima. *Salmonella typhi* muere a 60°C en 4.3 minutos, pero la composición del sustrato en el cual se encuentras las células vegetativas o esporas influye en la velocidad de inactivación de los microorganismos al someterse al tratamiento térmico. Así, por ejemplo, rangos de humedad entre 60 y 90% fue suficiente para obtener una reducción mayor o igual a 6.5 log de *Salmonella*⁸.

El criterio de muerte de un microorganismo se determina mediante métodos cuantitativos de siembra en placa donde los sobrevivientes se detectan porque forman colonias. Entonces, cuando una población microbiana se expone a un agente letal, la cinética de la muerte es casi siempre exponencial ya que el número de supervivientes disminuye de forma geométrica con el tiempo. Si se representa gráficamente el logaritmo del número de supervivientes frente al tiempo se obtiene una línea recta cuya pendiente negativa define la tasa de mortalidad. Esta tasa de mortalidad nos dice solamente que fracción de la población inicial sobrevive a un determinado período de tratamiento. Para cuantificar el número real de sobrevivientes es necesario conocer además el tamaño inicial de la población 9,10.

Varios procesos térmicos aplicados en la industria durante la fabricación de alimentos suelen ser efectivos para la destrucción de *Salmonella*; sin embargo, el tratamiento con calor ha dejado de ser altamente efectivo y debe combinarse con otro factor: la variación en los valores de pH^{11,12}. La resistencia térmica de *Salmonella* ha sido ampliamente estudiada sobre diversos sustratos y ambientes, tanto a nivel ambiental como de alimentos, a fin de establecer la temperatura necesaria para la destrucción de este patógeno¹³. Se ha registrado la sobrevivencia de *Salmonella* sp. en compost industrial durante 59 días a 60°C, lo cual podría a la generación de factores de termorresistencia como proteínas de membrana alternas que le confieren una mayor protección al calor^{14,15}.

Uno de los parámetros cinéticos para la inactivación de microorganismos es el tiempo de reducción decimal o valor D, donde la muerte de microbios a una temperatura elevada es aceptada como una cinética de primer orden, la cual basa en que a una temperatura constante el rango de muerte de los microorganismos es directamente proporcional con la concentración presente en un tiempo en particular. El resultado de la cinética de primer orden es definido por el tiempo durante el cual el número de microorganismos mueren de uno a diez del número inicial en un intervalo de tiempo, independiente del número actual¹¹. Entonces, el valor D corresponde al tiempo de calentamiento necesario para reducir la población del medio a la décima parte de su valor inicial.

Sánchez⁹ afirma que a pesar de que un tratamiento térmico sea severo, siempre habrá la oportunidad de sobrevivencia o que la probabilidad de sobrevivencia puede ser extremadamente pequeña, o que la

probabilidad de sobrevivencia en cualquier proceso es directamente proporcional a la población original. También afirma que es ideal realizar calentamientos cortos a altas temperaturas logrando respetar las condiciones iníciales del medio. En ese sentido, se observó que el procedimiento UHT en la leche y otros alimentos se ha convertido en un éxito en cuanto a conservación de los alimentos si llegar a cambiar ostensiblemente las condiciones sensoriales y nutritivas del medio.

La inactivación microbiana y la seguridad del alimento se incrementa entre más severo sea el tratamiento térmico, pero la calidad sensorial u organoléptica del producto generalmente disminuye; sin embargo, se deben tomar en cuenta ambos aspectos y considerar el factor que está afectando más la calidad final del producto, y basándose en ese factor se deben de plantear los procesos. Se debe de considerar para el cálculo de los procesos las variables cinéticas (D y Z) para llevar a cabo un tratamiento térmico adecuado y no sobreestimar o subestimar el proceso al cual el alimento debe ser sometido. De igual importancia, es tener conocimiento de la flora bacteriana que está asociada con los materiales para aplicársele el tratamiento térmico apropiado¹⁷.

La presencia del patógeno *Salmonella* sp. en frutas y también en aguas de riego por contaminación es evidente. Además, existe un riesgo latente al preparar y comercializar jugos de fruta contaminado con este patógeno que son utilizados como materia prima en la elaboración de otros productos derivados de interés alimentario y comercial. En este sentido, el conocimiento de la cinética de inactivación térmica de *Salmonella* a temperaturas de pasteurización en jugos de frutas, permitirá proponer metodologías para optimizar el proceso de pasteurización de los jugos de fruta y deducir nuevos mecanismos de adaptación y resistencia de esta bacteria. Entonces, el objetivo de la presente investigación es determinar la cinética de inactivación térmica de *Salmonella* sp. en jugo de fresa a las temperaturas de 50, 55 y 60°C y determinar la velocidad de muerte y los valores D promedio a las condiciones de ensayo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

Se utilizaron frutos maduros de fresa adquiridos en el Mercado La Hermelinda (Trujillo-Perú) y un cultivo puro de *Salmonella* sp. proporcionado por el Laboratorio de Fisiología y Genética Microbiana de la Universidad Nacional de Trujillo (Trujillo, Perú).

Preparación de jugo de fresa y medición del pH

Se pesó 300 g de fresa, lavados con agua destilada estéril y desinfectados con solución de hipoclorito de sodio 2.5 % y enjuagados con agua destilada estéril tres veces consecutivas. Se colocó en una licuadora eléctrica; se adicionó 800 ml de agua destilada estéril, y licuó por 10 minutos. Posteriormente se filtró con un tamiz de plástico de 0.01 mm y el filtrado se colocó en frascos estériles. Se midió el pH haciendo uso de cintas comerciales y se pasteurizó a 80 °C por 5 minutos.

Reactivación del cultivo y preparación del inóculo

El cultivo de *Salmonella* sp fue sembrado por estría en Agar Mac Conkey e incubado a 35 °C por 18 h. A partir de las colonias amarillas, se sembró en Agar Nutritivo, por estría y agotamiento, e incubó en las mismas condiciones. Se hizo una coloración Gram para verificar la pureza del cultivo. Se sacaron varias colonias del cultivo reactivado y se preparó una suspensión bacteriana en agua peptonada 0.1% estéril, ajustándose a una turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mac Farland equivalente a 9.0 x 108 UFC/mL.

Preparación del sistema de ensayo e inoculación

Se preparó el sistema de ensayo constituido por un matraz de 250 ml, conteniendo 90 ml de jugo de fresa, al mismo tiempo que se agregó 10 ml de inóculo bacteriano y se homogeneizó manualmente por 3 minutos.

Monitoreo, siembra y recuento

El sistema de ensayo fue calentado a 50°C en baño maría y a los 0, 2, 4, y 6 minutos, se extrajo una alícuota de 1.0 mL de muestra y agregado en 9 ml de agua peptonada 0.1%. Se realizó las diluciones 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, y 10⁻⁵. Finalmente, se sembró en Agar Nutritivo, por incorporación 1 ml de muestra diluida, e incubado a 35°C por 18 h. Se hizo el recuento de las unidades formadoras de colonias/ml de las bacterias sobrevivientes en cada una de las placas sometidas a la temperatura de ensayo.

Todo este procedimiento se repitió tres veces consecutivas y este mismo procedimiento se realizó con las temperaturas de 55 y 60°C.

RESULTADOS

Se encontró que la curva de muerte de *Salmonella* sp., a pH 4.0, presenta las mismas tendencias a las temperaturas probadas (Fig. 1) y que a 60°C, la velocidad de muerte en minutos fue mayor que las otras temperaturas probadas y, en cambio, el valor D fue menor (p<0,05) que a 55 y 50°C (Tabla 1)

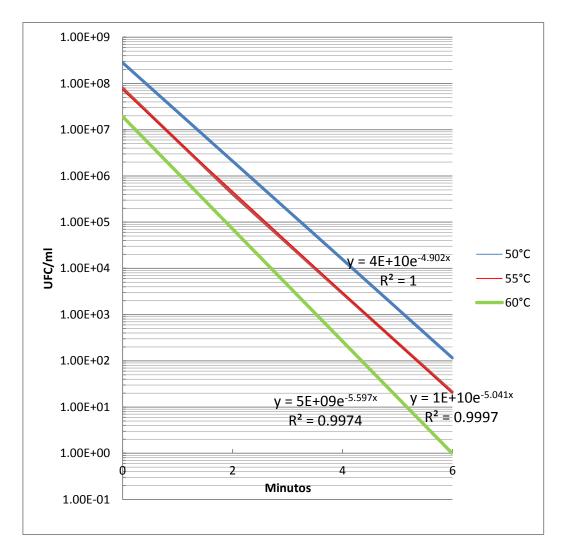


Fig. 1. Curva de muerte térmica de *Salmonella* sp. a 50°C (—) y 60°C (—) en jugo de fresa, pH 4.0.

Tabla 1. Velocidad de muerte y valor D promedio para *Salmonella* sp. en jugo de fresa a diferentes temperaturas de evaluación.

Temperatura (°C)	Velocidad de muerte (minutos -1)	Valor D (minutos)				
		Repeticiones			Promedio	D. E.
		1	2	3		
50	4.902	2.162	2.164	2.163	2.163a	0.001
55	5.041	2.011	2.077	2.099	2.062a	0.046
60	5.597	1.889	1.925	1.657	1.824 ^b	0.145

D. E. : Desviación Estándar

DISCUSIÓN

Los comensales discrepan en relación al consumo de frutas y hortalizas frescas por ser un alimento saludable, accesible a las grandes mayorías y de bajo costo; y por otro lado, por qué su consumo representa un riesgo latente de infección por microbios patógenos¹8. Aquí se evidenció la permanencia de esta bacteria después de haber sido expuestas a temperaturas de 50, 55 y 60 °C hasta por 6 minutos (Fig. 1). Al respecto, se han reportado brotes infecciosos asociados al consumo de jugos de naranja y manzana¹9,20 que pueden ser incorporados en los alimentos y causar gastroenteritis y sepsis; estas infecciones son casi siempre el resultado de la ingestión de alimentos contaminados con bacterias como *Salmonella* spp.²¹. Además de la patogenicidad, estudios han advertido su propagación a través de la cadena alimentaria²² y contaminar otros lotes de manera silenciosa²³ cuando no existe ningún procedimiento de inspección destinado específicamente para el control²⁴.

Salmonella spp. se encuentra en la naturaleza a través de la eliminación inadecuada de residuos de origen humano y/o animal constituyendo fuente de contaminación de alimentos²⁵. La población de Salmonella sp. contamina los frutos maduros de Frugaria spp. debido a que los agricultores utilizan aguas de regadío contaminados con esta bacteria o durante su comercialización. Por tanto, su presencia en los mercados públicos y grandes centros comerciales a nivel local, regional y nacional, donde se preparan las frutas de manera artesanal o en plantas procesadoras con escaso control de calidad, y que son distribuidos en una actividad comercial ágil constituye un peligro latente; debido a que la recolección, manipulación y procesamiento de las frutas frescas posibilita la incorporación de esta bacteria patógena durante el rebanado, picado o troceado del material vegetal, que sobreviven si no se hace un buena pasteurización y pueden reproducirse activamente^{26,27}.

Esquivel et al²⁸ detectaron la presencia de *Salmonella* spp en el 11.11% de muestras de tomate constituyendo un riesgo potencial para la infección con patógenos en los consumidores. Al mismo tiempo, existen diferentes procesos tecnológicos para eliminar o reducir el número de salmonelas en los alimentos crudos, tales como son: esterilización, pasteurización, congelación, refrigeración²⁹, ajuste de pH¹², irradiación³⁰ y Aw³¹, e incluso la adición de químicos³² y conservantes naturales como los aceites esenciales con poder bactericida, ya que dificultan la actividad y el desarrollo del patógeno. Por tanto, la destrucción térmica constituye una posibilidad de destruir la población bacteriana presente y los resultados obtenidos, ponen en evidencia que la pasteurización de jugos de *Frugaria* spp a 60 °C por más de 6 minutos si podría eliminar la totalidad de la población de *Salmonella* sp. contaminante.

La aseveración anterior como resultado de esta investigación se acopla a los fabricantes de alimentos envasados y en el caso específico de los jugos, donde la pasteurización se realiza a 95°C por 30 segundos³³. De manera general, someten sus productos a una temperatura por encima de 45 °C durante un periodo de tiempo determinado para garantizar la inactivación de bacterias y destruir células viables. De igual modo, se reportó que a 60 °C, *Salmonella typhi* es destruida a los 4.3 minutos¹⁷. En tanto que, Bautista¹³ determinó que la temperatura de 50 °C redujo la población inicial de *Salmonella* spp. en caldo BHI a pH 7.0 en un 36.8%; mientras que, la temperatura de 60 °C disminuyó en un 53.2% y 70 °C en un 62%, e inactivó totalmente a los 180 minutos de tratamiento a pH 7.0 y de 105 minutos a pH 5.5. En tanto que se ha determinado que *Salmonella* se puede prevenir a las temperaturas de 93.3 a 176.8 °C por 45 a 60 segundos³⁴.

El calor afecta directa e indirectamente los microbios desnaturalizando las proteínas intracelulares e impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. De allí que la destrucción microbiana a una temperatura elevada es generalmente aceptada por la cinética de primer orden¹¹. Esta tendencia se observa en la Fig. 1 donde la población de *Salmonella* sp. es destruida directamente proporcional en cada una de las temperatura de ensayo (50, 55 y 60°C) con relación a la concentración presente en un tiempo en particular y la velocidad de muerte es mayor a medida que se incrementa la temperatura, desde 4.902 a 5.597 generaciones muertas/ minuto (Tabla 1) y la reducción de la población bacteriana osciló entre 7 y 8 unidades logarítmicas de la población inicial (Fig. 1) por daños en el ADN, desintegración de la estructura completa de la bacteria y por lisis de proteínas¹². Al respecto, existen regulaciones que especifican que se requieren procedimientos para inhibir microbios patógenos en los jugos, los cuales exigen una reducción de cinco ciclos logarítmicos del número de microorganismos¹⁹.

La pasteurización es adecuada para alimentos líquidos, ligeramente ácidos o zumos de verduras y fruta. Este tipo de tratamiento térmico se utiliza como método principal para inactivar *Salmonella* en la

preparación y transformación de alimentos crudos. Las temperaturas oscilan a partir de 70 °C aunque los alimentos con poca actividad de agua o alto contenido de grasa exigen un tratamiento térmico más intenso¹³. Algunos protocolos proponen aumentar la temperatura, disminuyendo el tiempo de tratamiento, ultrapasteurización, para no alterar en lo posible las propiedades organolépticas del alimento; por ejemplo, 72 °C por 15 segundos aunque en huevos es de 64-65 °C durante 2-4 minutos³⁵; y en el caso específico de la pasteurización del jugo de fresa se determinó que a 60 °C por 6 minutos se inactivo más del 99.99 % de la población inicial (Fig. 1) sin variación organoléptica aparente. En tanto que se logró destruir *Salmonella* spp. en compost a 55 °C por una hora o 60 °C por 15 a 20 minutos³⁶.

El tratamiento térmico de los alimentos con temperatura altas conduce a la obtención de un producto libre de patógenos, sin embargo es necesario tener en cuenta que están limitados por los cambios en las características organolépticas y nutricionales que originan del producto final. Por otro lado, las células vegetativas y esporas son termorresistentes a pH cercano a 7.0; un alejamiento de este valor acelera su destrucción por el calor, siendo más eficaz un aumento hacia la acidez¹⁷, y según Welti-Chanes⁹, la fresa es un alimento ácido con pH entre 3.7 y 4.5. Además, la composición química del medio en que se encuentran las bacterias ejerce distinta influencia en la velocidad de inactivación de las mismas frente al tratamiento térmico. De allí que, el jugo de fresa, pH 4.0, proporcionó nutrientes a *Salmonella* sp. pero la concentración de solutos evitaron la acción del calor sobre las bacterias a las temperaturas de ensayo (Fig. 1) donde hay mayor cantidad de sobrevivientes, posiblemente debido a que las bacterias que solo fueron lesionadas por el calor aplicado, pudieron recuperarse posteriormente al encontrarse bajo condiciones ambientales y nutricionales apropiadas. Esta resistencia térmica también estaría relacionada con la presencia de factores de virulencia que le permiten soportar ambientes adversos³⁷.

El estudio de la cinética de inactivación microbiana permite optimizar el proceso para asegurar una mayor reducción de la población microbiana contaminante³⁰. Aquí, *Salmonella* sp. fue destruida desde el tiempo cero a las temperaturas de 50, 55 y 60 °C con valores D promedio de 2.163, 2.062, y 1.824 minutos, respectivamente no existiendo diferencia significativa entre los dos primeros, pero si entre cualquiera de los dos primeros y el ultimo valor D. Por su parte, Bautista⁹, reportó que *S. enteritidis* en caldo BHI, pH 7.0 tuvo un Valor D de 10.8 minuto a 70 °C; en tanto que, para *Salmonella* spp a 50 °C fue de 35.7 minutos, a 60 °C fue de 80.7 minutos, a 70 °C fue 73.6 minutos, y a 80 °C fue de 40.2 minutos. Por otro lado, la resistencia térmica ha sido evaluada en carne de pollo y en otros alimentos, siendo importantes estos datos por el grado de patogenicidad de esta bacteria asociada al consumo de frutas² y derivados en forma ambulatoria y artesanal.

En conclusión, la población de *Salmonella* sp. en jugo de *Frugaria* sp. fue reducida y destruida en mayor proporción a medida que se incrementó la temperatura con un valor D promedio de 2 minutos. Será necesario verificar las características organolépticas en que quedó el jugo después del tratamiento térmico para asegurar su consumo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sánchez G. La red de valor fresa. Fundación Produce Michoacán, A.C. El Cluster Agroindustrial de Zamora. 2008.
- 2. Voca S, Duralija B, Druzic J, Skendrovic M, Dobricevic N, Cmelik Z. Inflluence of cultivation systems on physical and chemical composition of strawberry fruits cv Elsanta. Agriculturae Conspectus Scientificus, 2006; 71(4):171-174.
- 3. Kader A. Quality and its maintenance in relation to the postharvest. Physiology of Strawberry. In: Dale, A., Luby, J.J. (Eds.). The Strawberry into the 21st Century. Oregon, USA: Timber Press, Portland, 1991; pp.145-152.
- 4. Argaiz A, López-Malo A, Jiménez T, Ramírez M, Milacatl V. 2004. Thermal teatments optimization of mango nectar and puree products. Proceedings of the international conference of engineering and food 9. Montpellier Francia. En López -Díaz A, Palou E, López-Malo A. Radiación ultravioleta en jugos de frutas: Fundamentos y aplicaciones. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 2012; 6(2):79-93.
- 5. Koutchma T. UV Light for Processing Food, IUVA News 2008; 10(4):24-29
- 6. Food and Drug Administration (FDA). Capítulo 12: Seguridad alimentaria para futuras mamás: Profesionales de la medicina Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos. 2014.
- 7. Lewis M, Heppell N. Continuos termal processing of foods, pasteurization an UHR Sterilization Aspen Publishers Inc. Gaithersburg, Maryland. 2000.

- 8. Mann J, Braschears M. Contribution of humidity to the lethality of surface-attached heat-resistant *Salmonella* during the thermal processing of cooked ready-to-eat roast beef. J Food Protection 2006; 70(3):276-765
- 9. Welti-Chanes J. Tratamiento térmico de alimentos. En Vásquez-Aguilar M. 2007. Fundamentos de la determinación de parámetros cinéticos para microorganismos de interés en tratamiento térmico de alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos 1. Universidad de las Américas Puebla, México. 2007; pp.1-14.
- 10. Von Rückert D, Pinto P, Santos B, Moreira M, Rodrígues A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 2009; 61(2):326-330.
- 11. Rees J, Bettison J. Processing and pachaging of Heat Preserved food. CMB Packaging technology, Wastage, Berks Blackie, Glasgow and London. 1991.
- 12. Leguérinel I, Spegagne I, Couvert O, Coroller L, Mafart P. Quantifying the effects of heating temperature, and combined effects of heating mediun pH on the heat resistance of *S. typhimurium*. Internacional J Food Microbiol, 2007; 116:88-95.
- 13. Bautista G. Evaluación en tres microambientes diferentes de la termorresistencia de una cepa de *Salmonella* spp aislada de compost. Trabajo de grado para optar el título de Microbiólogo Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2009.
- 14. Droffner M, Brinton W. Survival of *E. coli* and *Salmonella* populations in aerobic thermophilic compost as measured with DNA gene probes. Zentralbl Hyg Umweltmed. Inter J Hyg and Environm Med 1995; 197:387-397.
- 15. Humpheson L, Adams M, Anderson W, Cole M. Biphasic thermal inactivation kinetics in *Salmonella enteritidis* PT4. Appl Environm Microbiol, 1998; 64:459-464.
- 16. Sánchez J. Introducción a la microbiología predictiva. Disponible en: http://www.slideshare.net/docenciaeasp/microbiologia-predictiva. Consultado: Octubre 2011.
- 17. Vásquez-Aguilar M. Fundamentos de la determinación de parámetros cinéticos para microorganismos de interés en tratamiento térmico de alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos 1. Universidad de las Américas Puebla, México. 2007; pp.1-14
- 18. Isaacs S, Araminutosi J, Ceibin B, Farrar J, Ahmed R, Middleton D, et al. An international outbreak of salmonellosis associated with raw almonds contaminated with a rare phage type of *Salmonella enteritidis*. J Food Protection, 2005; 68(1):191-198.
- 19. Food and Drug Administration (FDA). Hazard analysis and critical control point (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule. Fed. Register 2001; 66(13):6137.
- 20. Instituto Nacional de Salud de Colombia (INSC). Ministerio de la Protección Social. Perfil de riesgo *Salmonella* spp. (No tifoideas) en pollo entero y en piezas. Bogotá. Colombia. 2011.
- 21. Lai J. La distribución de serotipos y resistencia a los antibióticos de Salmonella en animales productores de alimentos en Shandog provincia de China, 2009 y 2012. Int J Food Microbiol Amsterdam 2014; 180(1): 30-38.
- 22. Hirsh D. Veterinary Microbiology. Massachussets; USA: Blackwell Science Eds. 1999.
- 23. Juneja V, Eblen B, Marks H. Modeling non-linear survival curves to calculate thermal inactivation of *Salmonella* in poultry of different fat levels. Int J Food Microbiol. 2001; 70:37-51.
- 24. Lima E, Pinto P, Santos J, Vanetti M, Bevilacqua P, Almeida L, Pinto M, Dias F. Isolamento de *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus* no processo do abate suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle APPCC. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2004; 24(4):185-190,
- 25. Budiati T. Prevalencia, resistencia a los antibióticos y el plásmido de perfiles de *Salmonella* en bagre (*Clarias gariepinus*) y tilapia (*Tilapia mossambica*) obtenido de mercados húmedos y lagunas en: De Busser E, Zutter L, Dewulf J, Houf K, Maes D. *Salmonella* control in live pigs at slaughter. The Veterinary Journal 2013; 196: 20-27.
- 26. Doyle M, Mazzotta A. Review of Studies on the Thermal Resistance of Salmonellae. J Food Prot. 2000; 63: 779-795.
- 27. Olvera D. Frecuencia y comportamiento de *Salmonella*, y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria. [Tesis título de Químico en Alimentos]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. 2007.
- 28. Esquivel-Valenzuela B, Gallegos-Robles M, Vázquez-Vázquez C, Salazar-Sosa E, García-Hernández J, Orona-Castillo L, et al. Detección de *salmonella* spp. en tomate mediante métodos microbiológicos. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Juárez del Estado de Durango 2016; 1 (1):162-166.
- 29. Tirado J, Paredes D, Velázquez G, Torres J. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Reynosa, México. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2005; 5(1):66-76
- 30. López -Díaz A, Palou E, López-Malo A. Radiación ultravioleta en jugos de frutas: Fundamentos y aplicaciones. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 2012; 6(2):79-93.

- 31. Kiran R, Syamaladevi R, Villa-Rojas R, Tang J. Design of a novel test cell to study the influence of water activity on the thermal resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. J Food Engineering. 2017; 208:48-56.
- 32. Moretro T, Heir E, Nesse L, Vestby L, Langsrud S. Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. Food Res Internat, 2012; 45 (2):532-544.
- 33. Madrid A, Cenzano I, Madrid J. Nuevo manual de industrias alimentarias. Mundi-Prensa Libros. Madrid. 1994; p.595.
- 34. Yang S, Wu Z, Lin W, Xu L, Cheng L, Zhou L. Investigations into *Salmonella* contamination in feed production chain in Karst rural areas of China. Environ Sci Pollut Res. 2017; 24:1372-1379
- 35. Ministerio de Agricultura y Pesca y Alimentación de España (MAPAE). Seguridad alimentaria en huevos y ovoproductos. 2ª Ed. Instituto de Estudios del Huevo. Madrid, España. 2006.
- 36. Arnedo J, Parrado G, Pedroza M, Poutou R. Aislamiento y caracterización de bacterias termófilas aerobias con actividad amilolítica a partir de pilas de compost en fase mesofilica. [Tesis de Pregrado, Microbiología Industrial]. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia. 2002.
- 37. Meza R, Monroy A, Rodríguez P, Pedroza A, Poutou R, Mercado M. Evaluación de la estabilidad del método de criopreservacion en glicerol para el establecimiento de un banco de cepas. [Tesis de Pregrado]. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá. Colombia. 2002.

Correspondencia: albertoyenque65@gmail.com