



CPS 2014 Solicitud de Propuestas (RFP)

INFORME FINAL DEL PROYECTO

Título del Proyecto

El Impacto de los desinfectantes de agua de lavado en la transferencia y supervivencia de *Salmonella enterica* en operaciones de estanque de agua en plantas de empaque de mango

Período del Proyecto

1ro de enero de 2015 al 31 de diciembre de 2016 (extendido hasta el 15 de febrero de 2017)

Investigador Principal

Mary Anne Amalaradjou
Departamento de Zootecnia
Universidad de Connecticut
U4040, 3636 Horsebarn Road Extn.
Storrs, CT 06269
860-486-6620, mary_anne.amalaradjou@uconn.edu

Investigador Co-Principal

Objetivos

1. *Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la eliminación de contaminación cruzada con salmonella del agua al mango en la presencia y ausencia de materia orgánica. El Objetivo 1 se logrará a través de los experimentos enumerados a continuación:*
 - *Investigando la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de la salmonella en el agua del lavado*
 - *Investigando la eficacia de los desinfectantes en la prevención y eliminación de la transferencia de salmonella del agua de lavado contaminada al mango*
2. *Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la desactivación de la salmonella en la superficie del mango inoculado artificialmente en la presencia y la ausencia de materia orgánica. El Objetivo 2 se logrará a través de los experimentos enumerados a continuación:*
 - *Investigando la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de la salmonella en el mango*
 - *Investigando la eficacia de los desinfectantes en la prevención y eliminación de la transferencia de salmonella del mango al agua de lavado*

AMALARADJOU, University of Connecticut

Impact de agua de lavado desinfectants on Salmonella enterica transfer and survival in mango packing facility water tank operations

El financiamiento para este proyecto fue proporcionado por el *Center for Produce Safety* por medio de:

CPS Campaign for Research (La campaña para la investigación del CPS)

INFORME FINAL

Abstracto

El mango ha estado asociado con brotes de origen alimentario involucrando diferentes serovares de la salmonella incluyendo la *S. Oranienburg* (1998), *S. Newport* (1999) y *S. Saintpaul* (2001 y 2003). Un tema común en estos brotes fue la fuente de contaminación que se rastreó hasta el agua de lavado utilizada en el tratamiento de hidrogenfriado (hydrocooling). Para poder reducir la temperatura de la pulpa del mango después de la aplicación del tratamiento hidrotérmico, los productores de mango aplican el proceso de hidrogenfriado. Sin embargo, se ha demostrado que el enfriamiento de la fruta después de la aplicación del tratamiento hidrotérmico puede dar lugar a la posible interiorización de patógenos en el mango. Debido a que no existen tecnologías disponibles para desactivar patógenos interiorizados, la desinfección del agua de lavado se ha convertido en una medida indispensable dentro del contexto de la producción del mango, hecho que afecta su calidad, inocuidad, y vida de anaquel. Aunque diversos desinfectantes químicos que están comercialmente disponibles están aprobados para el uso en el agua de lavado, el cloro es el desinfectante más comúnmente utilizado en la industria de productos agroalimentarios frescos. Además del cloro, otras soluciones de lavado que se utilizan en el ámbito comercial incluyen el ácido peracético y el dióxido de cloro. Pese a que algunas investigaciones sobre la eficacia de los desinfectantes en la reducción de patógenos han sido realizadas en otras frutas como el melón cantaloupe, arándano, y la manzana, estos estudios aún no se han realizado en el mango. Por lo tanto, en este estudio determinamos la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes del agua en la desactivación de patógenos tanto en la presencia como en la ausencia de materia orgánica. Para poder simular las operaciones de estanque de agua de una instalación de empaque de mango, el efecto de los desinfectantes en la transferencia de salmonella del agua al mango y su control en la superficie del mango se realizó en tres etapas distintas simulando el proceso de lavado en el estanque de depósito, el tratamiento hidrotérmico, y el tratamiento de hidrogenfriado. Los resultados más relevantes de este estudio se compartieron con todos los actores interesados por conducto de la National Mango Board. Las conclusiones de esta investigación servirán para beneficiar a los actores interesados, particularmente a los operadores de plantas de empaque de mango, ya que brindan datos basados en la ciencia que se necesitan para el desarrollo de mejores prácticas de manejo para el lavado de mango en postcosecha lo cual servirán para promover su inocuidad microbiológica.

Antecedentes

Las frutas y hortalizas frescas son ricas en nutrientes y son recomendadas por la Asociación Americana de Dietética como parte de una dieta saludable (Luo et al., 2012). Aunque el consumo de productos agroalimentarios frescos y crudos se considera una actividad segura, algunos brotes recientes de enfermedades relacionadas con los productos agroalimentarios han destacado su potencial para la transmisión de patógenos de origen alimentario (Luo et al., 2012). El consumo de mango crudo ha dado lugar a múltiples brotes de salmonella en EE.UU. En todos estos brotes, la contaminación se pudo trazar al uso de agua de procesamiento contaminada (Hanning et al., 2009). Estos brotes han demostrado que la calidad del agua utilizada para el

lavado de post cosecha de productos agroalimentarios es de suma importancia (Gil et al., 2009). Como condición para entrar a los EE.UU., el mango debe someterse a un tratamiento de inmersión en agua caliente, como lo especifica el manual de tratamiento de APHIS PPQ (USDA, 2010). Sin embargo, se ha postulado que este tratamiento ha sido la causa de la interiorización de la salmonella en el mango, lo cual ha resultado en brotes de enfermedades de origen alimentario (Sivapalasingam et al., 2003; Penteado et al., 2004). Se ha demostrado que el proceso de hidrogenfriado que se aplica posteriormente al tratamiento hidrotérmico puede dar lugar a la posible interiorización de patógenos en el mango (Penteado et al., 2004). Actualmente, no existe un tratamiento efectivo para la eliminación de patógenos interiorizados en el mango. Esto destaca aún más la necesidad crítica de desarrollar un tratamiento eficaz para el agua de lavado que pueda eliminar cualquier cantidad de salmonella que esté contaminando la parte externa de la fruta, así como desactivar salmonella que pueda introducirse en el agua de lavado (Allende et al., 2009; Nieto-Montenegro, 2013).

Al llegar a la planta de empaque, el mango se transfiere al estanque de depósito para cursar un proceso inicial de lavado, y posteriormente se transfiere a la línea de clasificación. Se utiliza agua potable para lavar el mango en el estanque de depósito durante 30 segundos pero no más de dos minutos (NMB, 2010). Luego de cursar el lavado inicial, el mango se clasifica para el tratamiento hidrotérmico. El tratamiento hidrotérmico se realiza a una temperatura de 46.1°C, y la duración del tratamiento varía entre 65 y 110 min dependiendo del calibre y la forma de la fruta. Posteriormente al tratamiento hidrotérmico, la fruta se mueve a la operación de hidrogenfriado. Este tratamiento ayuda a reducir la temperatura de la pulpa de mango y, asimismo, a reducir el índice de lesión por agua caliente. Esto se realiza utilizando agua clorada que se mantiene a una temperatura de 21.1°C durante por lo menos 30 minutos a fin de reducir la temperatura de la pulpa de 27 a 29° C. Durante el transcurso de estas etapas de lavado es esencial mantener la calidad del agua. La calidad del agua contenida en el estanque de depósito puede deteriorarse rápidamente a raíz de la acumulación de patógenos, tierra, látex de la fruta, y productos agroquímicos del campo. Es indispensable incluir un desinfectante eficaz dentro del estanque de depósito para prevenir el acarreo de patógenos a los tratamientos hidrotérmico e hidrogenfriado. Por otra parte, el agua del tratamiento de hidrogenfriado necesita monitorearse con regularidad para medir los niveles de cloro libre, y la alcalinidad (pH) del agua necesita ajustarse a 7. Asimismo, las mejores prácticas de manejo requieren el reemplazo del agua de lavado de manera regular a fin de poder mantener la calidad y sanidad del agua (adaptado del manual de mejores prácticas para el manejo del mango de la NMB, 2010). Ya que el mango cursa un proceso de lavado en tres etapas distintas dentro de la planta de empaque, esta propuesta pretende evaluar la eficacia de diferentes desinfectantes en la desactivación de patógenos tanto en el agua como en el mango bajo condiciones simuladas de lavado dentro del laboratorio.

El agua no sólo es un medio idóneo para el lavado de productos agroalimentarios y la reducción de posible contaminación, sino que también pueden ser conducto para la transferencia de patógenos (Gil et al., 2009). Por lo tanto, la falta de tecnologías prácticas que brinden una medida fulminante para patógenos obligan a los productores de mango a depender únicamente de los desinfectantes del agua del lavado para mejorar la inocuidad alimentaria. La calidad del agua de lavado ha sido una preocupación importante para la industria del mango, particularmente en lo referente a los brotes de *Salmonella* asociados con el consumo de mango

fresco crudo (Allende et al., 2009; Hanning et al., 2009). Además, la administración de alimentos y drogas (*Food and Drug Administration FDA*) también recalcó la importancia de mantener la calidad del agua de lavado por medio del uso de productos químicos antimicrobianos en el agua de procesamiento para minimizar la posible contaminación microbiana del agua de lavado, y posterior contaminación cruzada del producto (FDA, 2008). Aunque varios desinfectantes comercialmente disponibles están aprobados para utilizarse en agua de lavado, los desinfectantes con base de cloro, incluyendo el cloro y el dióxido de cloro, son los que se utilizan con mayor frecuencia en la industria de productos agroalimentarios frescos (Shen et al., 2013; Li et al., 2001; Beuchat, 1999). El uso prevalente del cloro se debe a sus propiedades antimicrobianas, su efecto mínimo en la calidad del producto, y su bajo costo (Lopez-Galvez et al., 2009). No obstante que es un agente antimicrobiano efectivo, la eficacia del cloro se deteriora rápidamente en la presencia de materia orgánica, o con el lavado rutinario de productos agroalimentarios, como comúnmente es el caso (Shen et al., 2013; Keskinen et al., 2009; NMB, 2010). De hecho, el agua de lavado clorada en forma inadecuada se considera un factor contribuyente a los brotes de *Salmonella* en mango (Beatty et al., 2004). Por lo tanto, para ser un desinfectante eficaz, el cloro debe reponerse frecuentemente en el sistema de lavado, lo cual presenta un desafío técnico para toda la industria.

El ácido peroxiacético (PAA por sus siglas en inglés) es un oxidante potente que ha demostrado ser eficaz contra patógenos de origen alimentario en superficies de distintos productos agroalimentarios (Vandekinderen et al., 2009, Hilgren et al., 2007). Los desinfectantes comercialmente disponibles con base de ácido peracético contienen una cantidad considerable de peróxido de hidrógeno que también presenta actividad antimicrobiana. Los PAA no son susceptibles a las peroxidasas y retienen su nivel de actividad en la presencia de cargas orgánicas o residuos alimentarios, a diferencia del cloro (Fatemi and Frank, 1999; Small et al., 2007; Hilgren et al., 2007). Por lo tanto, representan una alternativa al uso del cloro, y a la necesidad de realizar los procesos de medición y reposición con tanta frecuencia. Además, el uso de los PAA no produce derivados nocivos de descomposición que resultan del clorado, a diferencia de los PAA que sólo producen ácido acético y oxígeno (Monarca et al., 2002).

Se han realizado estudios sobre la eficacia de estos desinfectantes en la reducción de patógenos en otras frutas como el melón cantaloupe, arándanos, y manzana (Fan et al., 2009; Magnone et al., 2013; Liao and Sapers, 2000; Mattson et al., 2011), sin embargo, estos estudios no se han realizado en el mango. Además, los productos básicos agroalimentarios difieren mucho entre sí en términos de su habilidad de poder sustentar el crecimiento de patógenos, y existen pruebas del efecto ejercido por estas diferencias entre productos en el impacto al procesamiento de postcosecha y a la desactivación de patógenos (Hoelzer et al., 2012). Por añadidura, existen varias diferencias únicas en las prácticas de postcosecha que se utilizan en el manejo del mango comparado con las que se utilizan en otras frutas (NMB, 2010). Por lo tanto, este estudio se emprendió con la finalidad de determinar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes más comunes que incluyen el cloro, dióxido de cloro, y los PAA en la desactivación de patógenos en mango y en el agua de lavado del mango bajo condiciones simuladas de planta de empaque. Un entendimiento de la eficacia de diversos desinfectantes y la interacción de materia orgánica en su efectividad en el entorno de procesamiento de mango de postcosecha

ayudará a desarrollar mejores prácticas de manejo que promoverán la salud pública y beneficiarán a la industria del mango.

El objetivo general de esta propuesta fue investigar la eficacia del cloro, (200 ppm), dióxido de cloro (5 ppm) y los PAA (80 ppm) en la mitigación de las poblaciones de *Salmonella* del agua de lavado y el mango durante las operaciones de la unidad de estanque de agua de las instalaciones de empaque. Los objetivos específicos son

1. Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la eliminación de la contaminación cruzada con *Salmonella* del agua al mango en la presencia y ausencia de materia orgánica. El Objetivo 1 se logró por medio de los experimentos enumerados a continuación:

- Investigación de la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de *Salmonella* en el agua de lavado
- Investigación de la eficacia de los desinfectantes en la prevención y eliminación de la transferencia de *Salmonella* del agua de lavado contaminada al mango

2. Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la desactivación de *Salmonella* en la superficie mango inoculado en la presencia y ausencia de materia orgánica

El Objetivo 2 se logró por medio de los experimentos enumerados a continuación:

- Investigación de la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de la *Salmonella* en mango
- Investigación de la eficacia de los desinfectantes en la prevención y eliminación de la transferencia de *Salmonella* del mango contaminado al agua de lavado

Para poder simular las operaciones de estanque de agua de una planta de empaque de mango, la eficacia de los desinfectantes en el control de la *Salmonella* en el mango y en el agua de lavado se sometió a prueba en tres etapas distintas duplicando el proceso de lavado del mango en el estanque de depósito, tratamiento hidrotérmico, y proceso de hidrogenfriado.

En base a nuestros resultados, además de discusiones adicionales con la cámara del mango, se incluyeron tres objetivos adicionales

3. Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la reducción de la interiorización de salmonella durante el proceso de hidrogenfriado del mango
4. Determinar el efecto de la carga orgánica en la concentración de desinfectante en el agua de lavado del mango
5. Determinar el efecto del tratamiento de desinfectante en el color del mango

Métodos y Resultados de la Investigación

Objetivo 1: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la desactivación de la *Salmonella* en el agua de lavado y en la prevención de la contaminación cruzada del agua al mango en la presencia y ausencia de materia orgánica

Cultivos bacterianos: Una cepa de cada uno de cinco serovares diferentes de *Salmonella*

enterica (*S. Montevideo*, *S. Poona*, *S. Newport*, *S. Baildon* and *S. Braenderup* – cepas del brote del tomate) se utilizó para el estudio. Las cinco cepas se indujeron para la resistencia al ácido nalidíxico (NA; 50 µg/ml) a fin de facilitar la enumeración selectiva de los patógenos inoculados. Cada cepa se cultivó por separado en 10 ml de solución de soja triptica estéril (TSB) que contenía NA (50 µg/ml) a 37°C durante 24 h con agitación (100 rpm). Los cultivos posteriormente fueron transferidos durante dos períodos sucesivos de 24 h a placas de agar de soja triptica que contenían NA (TSAN, 50 µg/ml) para producir una capa bacteriana. Para preparar el inóculo, el crecimiento de la capa bacteriana se transfirió a una solución de agua de peptona tamponada (BPW) de 0.1%. La cuenta bacteriana aproximada en cada cultivo se determinó por medio del uso de la espectrometría. Se combinaron porciones equitativas de cada una de las cinco cepas para preparar una mezcla de cinco cepas del patógeno. Posteriormente se realizó la sedimentación de las células por centrifugación (3600 X g durante 15 min), se lavaron dos veces con BPW, y se suspendieron nuevamente en una solución de 10 ml de BPW. La población bacteriana en la mezcla de cinco cepas se determinó mediante la incorporación de porciones de 0.1-ml de diluciones apropiadas en medios de agar de desoxicolato de lisina xilosa (XLD) suplementado con NA (50 µg/ml; XLDN), seguido por un período de incubación a 37°C durante 24 h. Las diluciones apropiadas de la mezcla de cinco cepas en el BPW se obtuvieron para lograr el nivel deseado para el inóculo (7 log CFU/ml de agua de lavado).

Mango: El mango (variedades Tommy Atkins y Ataulfo) se obtuvo por medio de la National Mango Board de distintas plantas de empaque y proveedores. En el punto de recepción, la fruta fue inspeccionada visualmente para detectar defectos (magulladuras, presencia de hongos, perforaciones en la piel), y todo mango defectuoso fue descartado. Todas las frutas se mantuvieron a una temperatura de 10°C con 90% de humedad hasta el momento de su uso. Un día antes del experimento, el número requerido de fruta se transfirió a temperatura ambiente (21°C) para templarla antes de utilizarla.

Soluciones del lavado: se preparó una solución de lavado con cloro (200 ppm) mediante la dilución de 6% NaOCl (Clorox, Oakland, CA) en agua destilada (22°C) y el ajuste del pH a 6.5 ± 0.1 con ácido cítrico. Se preparó una solución de lavado con ácido peroxiacético (80 ppm) mediante la dilución de una solución de 35% (Acros Organics) en agua desinfectada. La solución de lavado con dióxido de cloro (5 ppm) se preparó mediante la dilución de tabletas de purificación de dióxido de cloro Potable Aqua® (Wisconsin Pharmacal Company) en agua estéril. El agua estéril (DW) fue utilizada en el control negativo.

Simuladores de carga orgánica: se utilizaron cuchillos esterilizados para crear muescas en mango entero. El mango posteriormente fue colocado en bolsas filtradas estériles, masajeado a mano durante dos minutos, y sometido a agitación vorticial durante 2 minutos para obtener exudados de mango que se pueden utilizar como contaminantes orgánicos en agua de lavado. Además, para poder lograr el nivel requerido de contaminación orgánica, también se utilizó suelo arcilloso/limoso en el agua de lavado. Se midió y confirmó la carga orgánica de las muestras de agua utilizando un medidor COD (Demanda de Oxígeno Químico, Hach).

Lavado de productos agroalimentarios: las soluciones de lavado preparadas como se describe arriba fueron inoculadas con la mezcla de cinco cepas de *S. enterica* para rendir 7 log CFU/ml.

Lavado de estanque de depósito: El primer lavado simuló el lavado original con agua clorada en el estanque de depósito. Se sumergió mango de la variedad Tommy Atkins (n=4/ Tiempo de tratamiento/ muestreo) en contenedores estériles (22.2 x 21.1 x 22.2 cm) que contenían las soluciones de lavado inoculadas (5 L), y se mantuvo a una temperatura de 24°C Durante dos minutos. Se utilizó agua destilada como el control para la solución de agua de lavado. Para investigar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes, se extrajo mango de las soluciones de lavado a los 30 s, 1 y 2 min de exposición. El mango se transfirió individualmente a las bolsas

estériles que contenían 200 ml de solución neutralizadora Dey-Engley (solución DE, Difco). Se frotó cada mango a mano durante 1 minuto, y la solución DE se analizó para determinar la presencia (por enriquecimiento) y/o población de *Salmonella*. Se recogieron muestras de agua de lavado (10 ml, n=4) inmediatamente antes de la adición de mango (punto del tiempo de muestreo del minuto cero), para enumerar la concentración bacteriana inicial en el agua de lavado a fin de determinar cualquier reducción inmediata en la población de patógenos a raíz de la exposición a los desinfectantes. Asimismo, en cada punto de muestreo, se transfirieron 10 ml de agua de lavado (n=4/tratamiento/punto de tiempo) a bolsas estériles que contenían 90 ml de solución DE para realizar más análisis microbiológico. Los experimentos se repitieron con soluciones de lavado que contenían contaminación orgánica a fin de evaluar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes en la presencia de materia orgánica. Todo el experimento se repitió dos veces para obtener un total de 12 mangos/tratamiento/punto de tiempo. Un protocolo experimental semejante se hizo para probar mango Ataulfo. Todas las muestras fueron procesadas para la realización de análisis microbiológico como se describe a continuación:

Tratamiento Hidrotérmico. Para simular el tratamiento hidrotérmico que normalmente se aplica en plantas de empaque, se sumergió mango de la variedad *Tommy Atkins* (n=4/tratamiento/período de muestreo) en contenedores (22.2 x 21.1 x 22.2cm) que contenían soluciones de lavado inoculadas (5 L) y se mantuvo a una temperatura de 46°C. El mango se sumergió en las soluciones de lavado que contenían los distintos desinfectantes o agua destilada (DW), y se mantuvo a una temperatura de 46°C por 110 minutos. Después de la inmersión en las soluciones de lavado caliente, se realizó un muestreo de mango a los 65, 75, 90 y 110 minutos. Además del mango, se recogieron muestras de agua de lavado (n=4/tratamiento/punto de tiempo) en cada punto de muestreo (0, 65, 75 y 90 min). Los experimentos se repitieron con las soluciones de lavado que contenían contaminación orgánica a fin de evaluar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes en la presencia de materia orgánica. Los experimentos se repitieron con soluciones de lavado que contenían contaminación orgánica a fin de evaluar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes en la presencia de materia orgánica. Todo el experimento se repitió dos veces para obtener un total de 12 mangos/tratamiento/punto de tiempo. En el caso del mango de la variedad Ataulfo, se realizó un muestreo de mango a los 65 y 75 minutos, y el agua de lavado se muestreó de a los 0, 65 y 75 minutos para determinar la eficacia de los desinfectantes.

Hidrogenfriado Para simular el hidrogenfriado, las soluciones de lavado inoculadas que contenían los distintos desinfectantes o agua destilada (DW) se mantuvieron a una temperatura de 21°C. Antes de la inmersión en las soluciones de lavado (5 L), tomamos mango de la variedad *Tommy Atkins* (n=4/tratamiento/período de muestreo) y lo expusimos al tratamiento hidrotérmico (agua destilada estéril) durante 110 min, y posteriormente lo sometimos al hidrogenfriado. Después del tratamiento hidrotérmico, el mango se mantuvo a temperatura ambiente antes de transferirse a los contenedores del hidrogenfriado (22.2 x 21.1 x 22.2cm) por un período de 30 minutos. Al terminar el hidrogenfriado, se realizó un muestreo del mango a los 30 minutos. Además del mango, se recogieron muestras del agua de lavado (n=4/tratamiento/punto de tiempo) en cada punto de muestreo (0, 30 min). El mango y las soluciones de agua de lavado fueron procesados como se indica a continuación. Los experimentos se repitieron con soluciones de lavado que contenían contaminación orgánica a fin de evaluar la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes en la presencia de materia orgánica. Todo el experimento se repitió dos veces para obtener un total de 12 mangos/tratamiento/punto de tiempo. En el caso del mango Ataulfo, la fruta se sometió al tratamiento hidrotérmico durante 75 minutos antes de aplicarle el hidrogenfriado durante 30 minutos.

Análisis Microbiológico: Se realizó la dilución seriada de solución DE de muestras de mango y de agua de lavado en BPW y se adhirieron duplicados de 0.1 ml de las suspensiones a la

superficie de XLDN. Además del recubrimiento, se enriquecieron soluciones DE de las distintas muestras en solución Rappaport-Vassiliadis R10 (RVB, Difco) y se incubaron a una temperatura de 43°C durante 16-24 horas. Cuando las cuentas de las respectivas muestras resultaron negativas con la adhesión directa, las soluciones de enriquecimiento produjeron tiras en el XLDN y se incubaron a una temperatura de 37°C durante 48 horas antes de examinarse con la finalidad de observar para la presencia presuntiva de colonias de *S. enterica*. Las colonias presuntivas aisladas de las soluciones de enriquecimiento fueron verificadas por ensayos de aglutinación (prueba de aglutinación de látex de *Salmonella*, Oxoide).

Medición de desinfectantes y pH: Se monitoreó la concentración del cloro utilizando tiras de prueba *Chlor – Test* (MQuant™; EMD Millipore) y un kit visual (Chemetrics, Inc.). Se monitoreó la concentración de dióxido de cloro utilizando un kit visual (Chemetrics, Inc.). La concentración de ácido peracético se monitoreó utilizando tiras de prueba (Hydrion®; Microessential Laboratory) y un kit visual (Chemworld). Asimismo, se monitoreó el pH de las soluciones de lavado en cada punto de muestreo de todos los experimentos utilizando un medidor de pH portátil (Thermo Fisher Scientific). Además, las temperaturas del agua de lavado se monitorearon durante el transcurso de los experimentos.

Objetivo 2: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua de lavado en la desactivación de la *Salmonella* en la superficie de mango contaminado y en la prevención de contaminación cruzada del mango al agua.

Inoculación del mango: Se preparó una mezcla de cinco cepas de *S. enterica* tal y como se describe en el objetivo 1. El mango se templó a temperatura ambiente antes de la inoculación. Para contaminar los frutos artificialmente, el mango se inoculó con 7 log CFU/mango mediante la colocación de 50 µl de la mezcla de cinco cepas alrededor del extremo del tallo. Después de la inoculación, el mango se mantuvo a temperatura ambiente en una campana de bioseguridad para permitir que el inóculo se secase. Las poblaciones de *S. enterica* en mango de cada experimento que no se sometió al lavado fueron transferidas a bolsas filtradas estériles que contenían 200 ml de solución DE, frotadas por 1 min, diluidas en forma seriada y recubiertas en placa para determinar las poblaciones bacterianas de referencia. El mango restante (n=4/tratamiento/punto de tiempo) se sumergió en soluciones de lavado que contenían los distintos desinfectantes o agua destilada (DW) como en el objetivo 1. Los experimentos se realizaron en tres etapas diferentes cada una simulando el lavado del mango en el estanque de depósito, tratamiento hidrotérmico, e hidrogenfriado como se describe en el objetivo 1. Después de la exposición a las diversas soluciones de lavado, la población de *Salmonella* sobreviviente se enumeró en agua de lavado y en la superficie del mango como se describió anteriormente. Además, se midió la enumeración bacteriana, pH, temperatura, y concentraciones de los desinfectantes como se describe arriba.

Resultados (Objetivo 1 y 2):

La estimación de materia orgánica en muestras del agua de lavado del mango recolectadas de la planta de empaque:

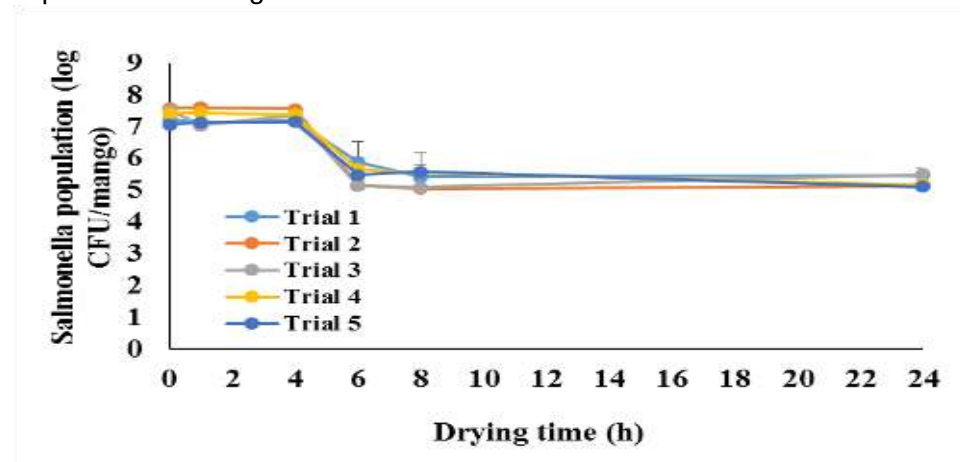
Muestras de agua de los estanques de depósito, tratamiento hidrotérmico, e hidrogenfriado se tomaron durante una visita a una finca de mango comercial. Las muestras fueron procesadas, y se estimó la demanda de oxígeno químico (COD) para evaluar la contaminación orgánica. En base a los ensayos COD, el agua del estanque de depósito presentó el contenido orgánico más alto con un valor COD de 317. Las muestras del tratamiento hidrotérmico e hidrogenfriado presentaron un valor COD de 30 y 17, respectivamente. Utilizando estos valores como guía, se realizaron experimentos para evaluar el efecto de la contaminación orgánica en la eficacia de los desinfectantes. La carga orgánica para los experimentos se preparó mediante la

mezcla de suelo arcilloso-limoso estéril en el agua de lavado del mango (para simular el látex) en los estanques de lavado.

Normalización del protocolo de inoculación del mango (inoculación por puntos) para el objetivo 2:

El mango (n=15, 3/ensayo) se sometió a inoculación por puntos con 7 log CFU/mango mediante la colocación de 50 µl de una mezcla de cinco cepas alrededor del extremo del tallo. Después de la inoculación, el mango se mantuvo a temperatura ambiente en una campana de bioseguridad durante 1-24 horas para permitir que el inóculo se secase. Después del secado, las poblaciones de *Salmonella* se enumeraron en distintos momentos para determinar la carga inicial de patógenos, así como los períodos óptimos de secado. Como se puede observar a continuación, el secado del inóculo en la superficie del mango por un período más extenso que el de 4 horas resultó en una recuperación sustancialmente menor de patógenos (de 7 log a 5 log). Por lo tanto, para el objetivo 2, el mango se secará durante 4 horas después de la inoculación de la superficie (Fig. 1).

Fig. 1: El efecto del período de secado del inóculo en la recuperación de la *Salmonella* de la superficie del mango



La eficacia de los desinfectantes en la desactivación de la *Salmonella* y en la prevención de la contaminación cruzada:

Los resultados de nuestro estudio demuestran que la variedad de la fruta no tuvo ningún efecto significativo en la eficacia de los desinfectantes. Las dos variedades utilizadas en el estudio, Ataulfo y Tommy, fueron seleccionadas en base a su popularidad, diferencia de tamaño, características de superficie, y duración de tratamiento hidrotérmico. Como lo avalan nuestros resultados, 200 ppm cloro, 80 ppm PAA, y 5 ppm dióxido de cloro fueron igualmente efectivos en el Ataulfo y Tommy tanto en la presencia como la ausencia de contaminantes orgánicos.

Lavado en el Estanque de Depósito: Con el lavado inicial del mango, las muestras de agua tratadas con cloro y PAA resultaron negativas para la presencia de *Salmonella* (<1 CFU/25 ml de agua) casi inmediatamente después de someterse a prueba. Además, el mango muestreado 30 segundos después del lavado también resultó negativo para la presencia de *Salmonella*. Formulamos la hipótesis de que el efecto mortal instantáneo observado en las muestras de agua, en efecto, previnieron la transferencia de *Salmonella* del agua a la superficie del mango. Por otra parte, no se observó efecto significativo de la carga orgánica en la eficacia antimicrobiana del cloro y el PAA. Sin embargo, en el caso del dióxido de cloro, luego del enriquecimiento de la muestra, el agua y el mango resultaron positivos para la presencia de *Salmonella* en la presencia

de contaminantes orgánicos. Esta eficacia reducida del dióxido de cloro se puede atribuir a la reducción significativa en su concentración residual. Aunque no hubo reducción en las concentraciones de cloro y PAA, los niveles del dióxido de cloro bajaron drásticamente de 5 ppm a 2.0 ppm para el final del experimento (2 min)

Tratamiento hidrotérmico: En el caso del tratamiento hidrotérmico, se lavó mango Ataulfo durante más de 75 min y mango Tommy Atkins durante 110 min de conformidad con los requisitos de USDA APHIS. Pese a las diferencias en la duración de la exposición a los desinfectantes, no se observó ninguna diferencia significativa en la eficacia antimicrobiana en base a la variedad de la fruta. Los tres desinfectantes presentaron el mismo nivel de eficacia en el caso de las variedades Ataulfo y Tommy Atkins. Al igual que el lavado en el estanque de depósito, el cloro y el PAA probaron ser más eficaces contra la *Salmonella* comparado con el dióxido de cloro. Asimismo, en la presencia de una carga orgánica, las muestras de agua y de mango tratadas con dióxido de cloro resultaron positivas para la presencia de *Salmonella* durante el transcurso del experimento, 75 min (Ataulfo) y 100 min (Tommy). Esta reducción en la eficacia antimicrobiana del dióxido de cloro se debe al desplome vertiginoso de su concentración efectiva de 5 ppm a 0.8 ppm para el minuto 75 y el minuto 110 del tratamiento hidrotérmico. Por otra parte, aunque las concentraciones de cloro permanecieron estables, las concentraciones del PAA sufrieron una baja de 80 a 60 ppm en la presencia y contaminación orgánica.

Hidrogenfriado: Para poder simular el hidrogenfriado en la industria del mango, y evaluar eficazmente la función que la diferencia de temperatura [mango que se transfiere del hidrotérmico (46°C) al hidrogenfriado (21°C)] ejerce en la presencia de *Salmonella* en el mango, la fruta utilizada en los experimentos del hidrogenfriado se sometió primero al tratamiento hidrotérmico lavándose en agua caliente estéril durante 75 min (Ataulfo) o 110 min (Tommy Atkins). Al igual que el lavado en el estanque de depósito y el tratamiento hidrotérmico, la variedad de la fruta resultó no tener un efecto significativo en la eficacia de los desinfectantes. El cloro (200 ppm) y el PAA (80 ppm) resultaron ser más eficaces en la desactivación de la *Salmonella* en el agua de lavado y en la prevención de contaminación cruzada del agua al mango durante el hidrogenfriado. En el caso del dióxido de cloro, las muestras (agua y mango) resultaron positivas para la presencia de *Salmonella* hasta el final del experimento tanto en la presencia como la ausencia de materia orgánica. Además, aunque el cloro y el PAA permanecieron estables, las concentraciones del dióxido de cloro sufrieron una baja de 5 ppm a 2 ppm para el minuto 30 del hidrogenfriado.

Objetivo 3: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la reducción de la interiorización de *Salmonella* durante el proceso de hidrogenfriado del mango

Debido a que la interiorización de la *Salmonella* en el mango es el resultado de la aplicación del tratamiento hidrotérmico seguido en forma inmediata por el proceso de hidrogenfriado, para evaluar en forma exhaustiva la eficacia de los desinfectantes, realizamos experimentos de la interiorización. En resumen, el mango (n=12) se sometió al tratamiento hidrotérmico utilizando agua estéril durante 75 min, y posteriormente se sometió al hidrogenfriado en agua contaminada (que contenía una mezcla de cinco cepas de *Salmonella*, 7 log CFU/ml) con distintos desinfectantes en la presencia y ausencia de materia orgánica. Posteriormente al hidrogenfriado, el mango se secó con aire en una campana de flujo laminar durante 1 hora. Todo el mango se saneó por medio de inmersión en 1 litro de 2 g/l solución de hipoclorito de sodio durante 1 minuto y disecado por aire. Cada mango se limpió superficialmente utilizando etanol al 70%. Se hicieron cortes en la superficie del mango con cuchillo estéril, se transfirió a las bolsas filtradas estériles que contenían solución DE, y se mezclaron en la bolsa estéril. Se efectuaron análisis microbiológicos tal como se describen arriba.

Resultados:

Los experimentos de interiorización revelaron que la transferencia inmediata de la fruta de los estanques del tratamiento hidrotérmico a los contenedores del hidrogenfriado dio lugar a índices sustancialmente altos de interiorización de SE en la pulpa de mango. Con respecto al tratamiento de control en el que el mango sometido al tratamiento hidrotérmico se lavó con agua contaminada, aproximadamente 2 log CFU de *Salmonella*/mango se recuperó de la pulpa. Esto corrobora otros estudios que han demostrado niveles similares de interiorización de *Salmonella* durante el hidrogenfriado. En referencia a los tratamientos con desinfectantes, el uso de cloro y PAA inhibió la interiorización, a diferencia del dióxido de cloro, particularmente en la presencia de contaminación orgánica. Con el dióxido de cloro, el nivel de interiorización de *Salmonella* fue semejante a la de las muestras de control que se lavaron en agua estéril. Esto indica que el dióxido de cloro fue el menos eficaz en la prevención del ingreso de *Salmonella* a la fruta.

Objetivo 4: Determinar el efecto de la carga orgánica en la concentración de los desinfectantes utilizados en agua de lavado del mango

Durante el transcurso de la realización de los objetivos 1 y 2, las concentraciones de los desinfectantes se monitorearon únicamente durante la duración de cada experimento. Sin embargo, las discusiones con representantes de la Mango Board revelaron que el agua de lavado utilizada en la planta de empaque a menudo se utiliza durante períodos de hasta 72 horas sin reciclarse. Debido a que la eficacia de los desinfectantes depende en gran medida de su concentración efectiva, monitoreamos la concentración de desinfectantes a lo largo de un período de 3 días. En resumen, agua estéril almacenada en contenedores (22.2 x 21.1 x 22.2cm) y mantenida a una temperatura de 21-24°C (estanque de depósito/estanque de hidrogenfriado) o 46°C (estanque del tratamiento hidrotérmico) fue tratada con desinfectantes (200 ppm cloro/80 ppm PAA/5 ppm dióxido de cloro) en la presencia y ausencia de materia orgánica. Luego de añadir los desinfectantes, se midieron las concentraciones de los desinfectantes a intervalos regulares utilizando las tiras de prueba y kits visuales para cloro, dióxido de cloro y PAA. Se montaron duplicados de los contenedores de agua para cada tratamiento y todo el experimento se repitió tres veces. Además, se realizaron ensayos de las muestras duplicadas en cada punto de muestreo para determinar las concentraciones de los desinfectantes.

Resultados:

Al igual que otros proyectos de investigación publicados que se han realizado con otras frutas y hortalizas, nuestro estudio demostró una reducción significativa en la concentración efectiva de los desinfectantes con el paso de tiempo. Asimismo, la baja en la concentración de los desinfectantes se vio sustancialmente influida por la carga orgánica y la temperatura del agua de lavado. De los tres desinfectantes que se sometieron a prueba, el cloro y el PAA probaron ser más estables que el dióxido de cloro. Con el dióxido de cloro, en la presencia de carga orgánica, la concentración bajó rápidamente a niveles por debajo de los límites de detección (0.8 ppm) para la 3er hora a temperatura ambiente, y para el 2do minuto a una temperatura de 46°C en el estanque del tratamiento hidrotérmico. Esto recalca aún más la aplicabilidad relativamente reducida del dióxido de cloro para la planta de empaque de mango.

Objetivo 5: Determinar el efecto del tratamiento de los desinfectantes en el color del mango

La estética y el aspecto de la fruta, particularmente su color, son parámetros importantes que inciden en la aceptabilidad del consumidor. Por lo tanto, el mantenimiento de un color atractivo es indispensable para promover la venta de la fruta. En esta medida, el uso de desinfectantes fuertes como el cloro, PAA, y dióxido de cloro puede provocar un efecto indeseado

en el color de la fruta e impactar su aceptación por parte del consumidor. Al haber demostrado que el cloro y el PAA son eficaces en la desactivación de la *Salmonella* en el mango y en el agua de lavado, luego de algunas conversaciones con representantes de la Mango Board, decidimos evaluar su impacto en el color del mango. Para este estudio, tomamos mango de distintas variedades (Tommy y Ataulfo), y lo sometimos a un lavado en el estanque de depósito (2 min), tratamiento hidrotérmico (75/110 min) e hidroenfriado (30 min) en agua estéril que contenía los desinfectantes. El color del mango se midió tanto antes como después del lavado utilizando un espectrofotómetro *HunterLab MiniScan XE Plus*, (*HunterLab Associates*). Se realizó un muestreo un total de 12 frutos/variedad bajo cada condición de lavado. Se realizó un muestreo de un total de 12 frutas/variedad bajo cada condición de lavado. En cada momento de determinación del color, se midió el espectro de reflectancia (de 400 a 700 nm, en incrementos de 10 nm) y los valores a^* b^* en tres ubicaciones aleatorias en cada mango. Los valores a^* son representativos del aspecto rojizo de la superficie, y los valores b^* indican el aspecto amarillizo de la piel del mango.

Resultados

Debido a que el lavado de mango en agua que contiene desinfectantes puede provocar impactos en el color de la fruta, determinamos el color de la fruta de mango tanto antes como después del lavado. Independientemente de la temperatura del agua y la duración del lavado de mango (Ataulfo y Tommy), los tres desinfectantes, es decir, cloro, PAA, y dióxido de cloro no afectaron en forma negativa el color y el aspecto de la fruta. Esto es de suma importancia ya que el aspecto representa un índice crítico que afecta la aceptabilidad por parte del consumidor. A raíz de ello, estos desinfectantes se pueden utilizar para reducir eficazmente la contaminación de *Salmonella* en el mango sin afectar el aspecto de la fruta.

Resultados y Logros

Durante la última década, el mango ha sido implicado en tres brotes de *Salmonella* de origen alimentario en los EE.UU. En todos estos brotes, la *Salmonella* se rastreó al agua de lavado que se utiliza en la planta de empaque. Esto destaca claramente la necesidad de identificar desinfectantes eficaces para el agua de lavado que se pueden aplicar durante el lavado del mango para ayudar a reducir y a fin de cuentas eliminar patógenos del entorno de procesamiento de mango. Para poder darle frente a este requisito, es importante estudiar el efecto de los desinfectantes bajo condiciones que normalmente se presentan en la empacadora de mango. Debido a que cada producto es único, y se procesa y maneja de acuerdo con sus distintas características, la literatura que se ha generado sobre la eficacia de los desinfectantes en otros productos agroalimentarios tal vez no sea aplicable al mango. Por lo tanto, para darle frente a esta necesidad crítica, debemos investigar la eficacia de los desinfectantes comunes del agua de lavado al intentar promover la inocuidad microbiológica del mango bajo condiciones simuladas de planta de empaque. Uno de los principales factores que influyen en la eficacia de los desinfectantes es la contaminación o carga orgánica contenida en el agua de lavado. Sin embargo, los niveles de contaminación orgánica mencionados en la literatura pueden no ser una representación fidedigna de las cargas reales que existen en las plantas de empaque de mango. Por lo tanto, para poder simular mejor las condiciones del procesamiento del mango, por primera vez analizamos muestras de agua de la planta de empaque y establecimos niveles realistas de contaminación orgánica que puede encontrarse en estas instalaciones. Asimismo, determinamos la eficacia del cloro (200 ppm), PAA (80 ppm) y dióxido de cloro (5 ppm) en la desactivación de la *Salmonella* en los estanques de agua y en la prevención de la contaminación cruzada del mango. Nuestros resultados claramente demuestran que el cloro y el PAA probaron ser eficaces en la eliminación de la *Salmonella* del agua de lavado, y también redujeron la transferencia de

Salmonella del agua al mango y viceversa. Además, nuestros estudios revelaron que son eficaces en la reducción de interiorización de patógenos después del proceso del hidrofriado. Esta información es vital ya que los tres brotes asociados con el mango se atribuyeron a *Salmonella* que se había interiorizado en fruta entera intacta durante el proceso del hidrofriado. Se espera que los resultados del estudio servirán como apoyo para los actores interesados, es decir, productores de mango e instalaciones de procesamiento, a desarrollar mejores prácticas de manejo para la reducción de los riesgos de contaminación de patógenos de origen alimentario durante el lavado de la fruta, y promover la inocuidad microbiana del mango.

Resumen de Conclusiones y Recomendaciones

Resumen:

- El estanque de depósito cuenta con el nivel más alto de carga orgánica que está constituida por látex, hojas, y suelo con un COD of 317 ppm.
- Los estanques del tratamiento hidrotérmico (30 ppm) y del hidrofriado (17 ppm) presentaron niveles más bajos de contaminación orgánica.
- La variedad de la fruta no influyó en la eficacia antimicrobiana de los desinfectantes que se sometieron a prueba.
- Existen dos posibilidades probables para la contaminación del mango, en esencia i) agua de lavado contaminada y ii) fruta contaminada. Por lo tanto, investigamos ambos casos. Bajo estas condiciones, Cloro (200 ppm) y PAA (80 ppm) resultaron ser los más eficaces en la desactivación de *Salmonella* en agua de lavado contaminada y en mango contaminado. Además, el lavado efectuado con cloro y PAA previno la contaminación cruzada del agua al mango, y del mango al agua tanto en la presencia como en la ausencia de materia orgánica.
- Los estudios de interiorización revelaron que el uso del cloro y PAA produjo una reducción sustancial en la ingesta bacteriana de la fruta por más de 7 log. Sin embargo, en la presencia de contaminación orgánica, el tratamiento con dióxido de cloro no inhibió la interiorización de *Salmonella*. Se recuperó aproximadamente 2 log CFU de *Salmonella* por fruta del mango tratado con dióxido de cloro.
- Entre los tres desinfectantes utilizados, el dióxido de cloro resultó ser el menos efectivo por motivo de una pérdida observada en su concentración efectiva con el paso del tiempo. De hecho, específicamente en el estanque del tratamiento hidrotérmico en la presencia de contaminación orgánica, los niveles de dióxido de cloro cayeron por debajo del límite de detección (0.8 ppm) a los 2 minutos de haberse añadido al agua de lavado.
- Con el paso del tiempo (72 h), se observó una reducción significativa en la concentración efectiva de los tres desinfectantes, y este efecto fue más pronunciado en la presencia de contaminación orgánica.
- Aparte de su eficacia en el control de *Salmonella* en agua de lavado y en el mango, ninguno de los desinfectantes provocó un impacto adverso en el color de la fruta.

Recomendaciones:

Los resultados de este estudio sirven para brindarle información a productores e instalaciones de procesamiento de mango que les permitirá desarrollar mejores prácticas de manejo con referencia particular al tema del lavado de mango. Se ha demostrado que el agua de lavado es una fuente importante de *Salmonella* en la planta de empaque. Asimismo, el mango contaminado que origina en la finca o en algún punto de la línea de procesamiento puede

contribuir a la contaminación del agua de lavado u otras frutas contenidas en el lote. Hemos demostrado que en cualquiera de estos casos el uso de 200 ppm de cloro u 80 ppm de dióxido de cloro ayudaría a reducir el riesgo de contaminación de la fruta. Tal y como se observó en los casos del lavado en el estanque de depósito, tratamiento hidrotérmico, e hidrogenfriado, ambos desinfectantes demostraron eficacia inmediata (> 7 log reducción de la población de *Salmonella* tan pronto como 30 segundos o menos). Además, a estos niveles, tanto el cloro como el ácido peroxiacético (PAA) previnieron la contaminación cruzada y la interiorización de patógenos. De modo que, para efectos del tratamiento instantáneo, se recomienda el uso de hipoclorito de sodio (200 ppm) y ácido peroxiacético (PAA). Esto es particularmente relevante para la industria del mango, ya que el cloro y el hipoclorito de sodio son los desinfectantes más comúnmente utilizados en las plantas de empaque. Además, para prevenir el acarreo de patógenos de un estanque de lavado a otro, recomendamos la inclusión de desinfectantes en los estanques del tratamiento hidrotérmico, hidrogenfriado, y de depósito. Aunque estos compuestos son eficaces, es importante señalar que su efecto antimicrobiano depende totalmente de su concentración efectiva en el agua. Por lo tanto, se recomienda instrumentar un esquema de monitoreo constante para asegurar el mantenimiento de las concentraciones efectivas de los desinfectantes, y reponer estos compuestos cuando se juzgue necesario, a fin de lograr una actividad antimicrobiana efectiva y sostenible.

En resumen, al considerar la alta carga de inóculos que utilizamos en el estudio, así como las densidades bajas de población que se pueden encontrar frecuentemente en el campo, concluimos que los tres desinfectantes sometidos a prueba serían eficaces para asegurar la desinfección del agua de lavado. Sin embargo, no obstante que utilizamos condiciones simuladas de planta de empaque, sería necesario realizar estudios adicionales para investigar el efecto de estos desinfectantes en operaciones comerciales de lavado de fruta de gran escala utilizando estanques más grandes y volúmenes más altos de fruta.

Colaboración y apoyo de la NMB: agradecemos el apoyo del Dr. Leonardo Ortega y la Sra. Wanda Ramos por ayudarnos a entender el proceso de producción de mango, y por coordinar las compras de mango a lo largo del estudio. Asimismo, queremos manifestar nuestro agradecimiento al Sr. Veny Martí, de *Martex Farms*, por auspiciar la investigación en su finca y por brindarnos muestras de agua que sirvieron para determinar la carga orgánica.

Referencias

1. Allende A, McEvoy J, Tao Y, Luo Y. 2009. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite and citric acid on *E. coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. *Food Control*. 20:230-234.
2. Beatty ME, LaPorte TN, Phan Q, Van Duyn SV, Braden C. 2004. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. *Clin. Infect. Dis.* 38:1337-1338. doi: 10.1086/383156.
3. Beuchat LR. 1999. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces applied to lettuce and the effectiveness of chlorinated water as a disinfectant. *J. Food Prot.* 62:845-849.
4. Fan X, Annous BA, Keskinen LA, Mattheis JP. 2009. Use of chemical sanitizers to reduce microbial populations and maintain quality of whole and fresh-cut cantaloupe. *J. Food Prot.* 72:2453-2460.
5. Fatemi P, Frank JF. 1999. Inactivation of *Listeria monocytogenes*/*Pseudomonas* biofilms by peracid sanitizers. *J. Food Prot.* 62:761-765.
6. FDA, 2008. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Guide to minimize microbial food safety hazards of fresh-cut fruits and vegetables. Accessed on February 1st, 2014 from <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ProducePlantProducts/ucm064458.htm>
7. Gil MI, Selma MV, Lopez-Galvez F, Allende A. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. *Int. J. Food Microbiol.* 134:37-45. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021; 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021.
8. Hanning IB, Nutt JD, Ricke SC. 2009. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathog. Dis.* 6:635-648. doi: 10.1089/fpd.2008.0232; 10.1089/fpd.2008.0232.
9. Hilgren J, Swanson KM, Diez-Gonzalez F, Cords B. 2007. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores by liquid biocides in the presence of food residue. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:6370-6377. doi: 10.1128/AEM.00974-07.
10. Hoelzer K, Pouillot R, Dennis S. 2012. *Listeria monocytogenes* growth dynamics on produce: a review of the available data for predictive modeling. *Foodborne Pathog. Dis.* 9:661-673. doi: 10.1089/fpd.2011.1087; 10.1089/fpd.2011.1087.
11. Keskinen LA, Burke A, Annous BA. 2009. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous dióxido de cloro solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. *Int. J. Food Microbiol.* 132:134-140. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.006; 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.006.
12. Li Y, Brackett RE, Chen J, Beuchat LR. 2001. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated onto cut lettuce before or after heating in chlorinated water, followed by storage at 5 or 15 degrees C. *J. Food Prot.* 64:305-309.
13. Liao CH, Sapers GM. 2000. Attachment and growth of *Salmonella* Chester on apple fruits and in vivo response of attached bacteria to sanitizer treatments. *J. Food Prot.* 63:876-883.
14. Lopez-Galvez F, Allende A, Selma MV, Gil MI. 2009. Prevention of *Escherichia coli* cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. *Int.*

- J. Food Microbiol. 133:167-171. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.017; 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.017.
15. Luo Y, Nou X, Millner P, Zhou B, Shen C, Yang Y, Wu Y, Wang Q, Feng H, Shelton D. 2012. A pilot plant scale evaluation of a new process aid for enhancing chlorine efficacy against pathogen survival and cross-contamination during produce wash. Int. J. Food Microbiol. 158:133-139. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.008; 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.008.
16. Magnone JP, Marek PJ, Sulakvelidze A, Senecal AG. 2013. Additive approach for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* spp. on contaminated fresh fruits and vegetables using bacteriophage cocktail and produce wash. J. Food Prot. 76:1336-1341. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-517; 10.4315/0362-028X.JFP-12-517.
17. Mattson TE, Johnny AK, Amalaradjou MA, More K, Schreiber DT, Patel J, Venkitanarayanan K. 2011. Inactivation of *Salmonella* spp. on tomatoes by plant molecules. Int. J. Food Microbiol. 144:464-468. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.035; 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.035.
18. Monarca S, Richardson SD, Feretti D, Grottolo M, Thruston AD, Jr, Zani C, Navazio G, Ragazzo P, Zerbini I, Alberti A. 2002. Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. Environ. Toxicol. Chem. 21:309-318.
19. Nieto-Montenegro 2013. Food safety areas of opportunity in the mango industry. Accessed on February 4th, 2014 from http://www.mango.org/sites/default/files/Dr.%20Sergio%20Nieto%20Montenegro%20Presentation_McAllen_Final_02.25.2013_0.pdf.
20. NMB, 2010. National Mango Board. Mango postharvest best management practices manual. Accessed on January 21st, 2014 from http://www.mango.org/sites/default/files/download/mango_manual.pdf
21. Penteado AL, Eblen BS, Miller AJ. 2004. Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangos during simulated postharvest insect disinfestation procedures. J. Food Prot. 67:181-184.
22. Shen C, Luo Y, Nou X, Wang Q, Millner P. 2013. Dynamic effects of free chlorine concentration, organic load, and exposure time on the inactivation of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli*. J. Food Prot. 76:386-393. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-320; 10.4315/0362-028X.JFP-12-320.
23. Sivapalasingam S, Barrett E, Kimura A, Van Duyn S, De Witt W, Ying M, Frisch A, Phan Q, Gould E, Shillam P, Reddy V, Cooper T, Hoekstra M, Higgins C, Sanders JP, Tauxe RV, Slutsker L. 2003. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. Clin. Infect. Dis. 37:1585-1590. doi: 10.1086/379710.
24. Small DA, Chang W, Toghrol F, Bentley WE. 2007. Comparative global transcription analysis of sodium hypochlorite, peracetic acid, and hydrogen peroxide on *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 76:1093-1105. doi: 10.1007/s00253-007-1072-z.
25. USDA, 2010. U.S. Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. Plant Protection and Quarantine. 2010. Treatment manual. Accessed January 26th, 2014 from http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/ports/downloads/treatment.pdf.
26. Vandekinderen I, Devlieghere F, De Meulenaer B, Ragaert P, Van Camp J. 2009. Optimization and evaluation of a decontamination step with peroxyacetic acid for fresh-cut produce. Food Microbiol. 26:882-888. doi: 10.1016/j.fm.2009.06.004; 10.1016/j.fm.2009.06.004.

AMALARADJOU, University of Connecticut

Impact de agua de lavado desinfectants on Salmonella enterica transfer and survival in mango packing facility water tank operations

APÉNDICES

Publicaciones y Presentaciones (requerido)

Abstractos de Reuniones

1. Mathew EN and Amalaradjou MAR. 2017. Efficacy of wash water disinfectants in reducing water-to-mango contamination with *Salmonella* under simulated mango packing house conditions. IAFP annual meeting abstracts (submitted) (Eficacia de los desinfectantes del agua de lavado en la reducción de la contaminación de salmonella del agua al mango bajo condiciones simuladas de planta de empaque de mango) Abstractos de la reunión anual de la IAFP (presentados)

Presentaciones

1. Amalaradjou MAR. Junio de 2017. Investigating the efficacy of disinfectants in inactivating *Salmonella* in wash water and preventing water to mango cross contamination, Center for Produce Safety research symposium, Denver, CO. (Investigando la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de salmonella en aguas de lavado y en la prevención de la contaminación cruzada del agua al mango, simposio de investigación del *Center for Produce Safety*)
2. Amalaradjou MAR. June 2016. Investigating the efficacy of disinfectants in inactivating *Salmonella* in wash water and preventing water to mango cross contamination, Center for Produce Safety research symposium, Seattle, WA. (Investigando la eficacia de los desinfectantes en la desactivación de salmonella en aguas de lavado y en la prevención de la contaminación cruzada del agua al mango, simposio de investigación del *Center for Produce Safety*)
3. Amalaradjou MAR. June 2015. Impact wash water disinfectants on *Salmonella enterica* transfer and survival in mango packing facility water tank operations, Center for Produce Safety research symposium, Atlanta, GA. (Impacto de los desinfectantes del agua de lavado en la transferencia y supervivencia de *Salmonella* entérica en operaciones de estanque de agua de plantas de empaque de mango)

Publicaciones

Anticipamos poder presentar el ensayo sobre la eficacia de los desinfectantes de agua de lavado para el control de la salmonella en operaciones de estanque de lavado de plantas de empaque de mango.

Tablas y Cifras (opcional)

Objetivo 1: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua de lavado en la eliminación de la contaminación cruzada con *Salmonella enterica* (SE) del agua al mango en la presencia y la ausencia de materia orgánica.

A. Lavado en el estanque de depósito

Tabla 1: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque de agua de lavado (mango Ataulfo):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)							
	0 s		30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.21±0.03	7.16±0.03	7.20±0.03	7.29±0.04	7.19±0.03	7.27±0.04	7.19±0.03	7.25±0.03
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-	E-

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de las resucitación)

Tabla 2: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque de agua de lavado (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)							
	0 s		30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.29±0.05	7.26±0.04	7.25±0.03	7.24±0.03	7.24±0.03	7.26±0.03	7.28±0.03	7.25±0.03
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-	E-

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 3: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del estanque de agua de lavado al mango (Mango Ataulfo):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)					
	30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.25±0.027	7.21±0.04	7.24±0.03	7.22±0.03	7.28±0.03	7.19±0.03
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 4: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del estanque de agua de lavado al mango (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)					
	30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.2±0.04	7.21±0.02	7.24±0.03	7.24±0.03	7.23±0.04	7.23±0.02
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

B. Tratamiento Hidrotérmico**Tabla 5: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque de agua caliente (Mango Ataulfo):**

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)					
	0 min		65 min		75 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.29±0.03	7.2±0.05	7.29±0.02	7.22±0.05	7.28±0.02	7.19±0.04
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 6: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque de agua caliente (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)									
	0 min		65 min		75 min		90 min		110 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.38±0.04	7.3±0.05	7.37±0.05	7.28±0.04	7.26±0.09	7.28±0.04	7.22±0.09	7.28±0.06	7.2±0.09	7.26±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 7: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del agua de lavado caliente al mango (Mango Ataulfo):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)			
	65 min		75 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.25±0.025	7.14±0.04	7.23±0.024	7.12±0.04
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 8: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del agua de lavado caliente al mango (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)							
	65 min		75 min		90 min		110 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.39 ± 0.05	7.24± 0.05	7.39 ± 0.03	7.24 ± 0.04	7.38 ± 0.03	7.23 ± 0.04	7.39 ± 0.04	7.26 ± 0.04
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

C. Hidroenfriado**Tabla 9: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque del proceso de hidroenfriado (Mango Ataulfo):**

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)			
	0 min		30 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7±0.04	7.08±0.03	6.92±0.05	7.06±0.02
Cloro (200 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 10: La eficacia de 200 ppm chlorine, 80 ppm PAA and 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en el estanque de hidroenfriado (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)			
	0 min		30 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.11±0.01	7.253±0.05	7.05±0.03	7.178±0.04
Cloro (200 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 11: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del agua del hidrogenfriado al mango (Mango Ataulfo):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)	
	30 min	
	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.18±0.059	7.1±0.014
Cloro (200 ppm)	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 12: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE del agua del hidrogenfriado al mango (Mango Tommy Atkins):

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)	
	30 min	
	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.07±0.033	7.18±0.031
Cloro (200 ppm)	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Objetivo 2: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la desactivación de *Salmonella enterica* (SE) en la superficie de mango inoculado artificialmente en la presencia y ausencia de materia orgánica.

A. Lavado en el Estanque de Depósito

Tabla 1: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Ataulfo al agua del lavado en el estanque de depósito

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)							
	0 s		30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	6.81±0.01	7.41±0.03	6.7±0.01	7.43±0.04	6.83±0.01	7.42±0.04	6.73±0.02	7.41±0.03
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 2: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Tommy Atkins al agua del lavado en el estanque de depósito

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)							
	0 s		30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	6.75±0.09	7.35±0.09	6.74±0.08	7.33±0.09	6.81±0.07	7.4±0.06	6.79±0.07	7.4±0.06
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 3: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie de mango Ataulfo durante el simulacro del lavado en el estanque de depósito

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)					
	30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.25±0.03	7.44±0.06	7.37±0.03	7.44±0.05	7.34±0.02	7.43±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 4: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie de mango Ataulfo durante el simulacro del lavado en el estanque de depósito

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)					
	30 s		1 min		2 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.84±0.08	7.33±0.07	7.81±0.08	7.35±0.06	7.75±0.07	7.39±0.06
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 315±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

B. Tratamiento Hidrotérmico

Tabla 5: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Ataulfo al agua de lavado durante el tratamiento hidrotérmico

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)					
	0 min		65 min		75 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.41±0.02	7.37±0.01	7.39±0.02	7.45±0.07	7.47±0.02	7.4±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 6: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Tommy Atkins al agua de lavado durante el tratamiento hidrotérmico

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)									
	0 min		65 min		75 min		90 min		110 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.36±0.08	7.51±0.07	7.32±0.08	7.56±0.06	7.31±0.07	7.56±0.04	7.27±0.07	7.51±0.04	7.45±0.07	7.42±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
PAA (80 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 7: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie del mango Ataulfo durante un simulacro del tratamiento hidrotérmico

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)			
	65 min		75 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.29±0.02	7.38±0.07	7.44±0.05	7.12±0.04
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 8: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie del mango Ataulfo durante un simulacro del tratamiento hidrotérmico

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)							
	65 min		75 min		90 min		110 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.28±0.09	7.28±0.08	7.44±0.06	7.29±0.08	7.35±0.05	7.23±0.08	7.28±0.06	7.16±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1	E-	0.9 ± 0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 30±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

C. Hidroenfriado

Tabla 9: La eficacia de 200 ppm chlorine, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Ataulfo al agua durante el hidroenfriado:

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)			
	0 min		30 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.2±0.01	7.2±0.03	7.21±0.01	7.18±0.04
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 10: La eficacia de 200 ppm chlorine, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la transferencia de SE de la superficie del mango Tommy Atkins al agua durante el hidroenfriado:

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/ml)			
	0 min		30 min	
	OM-	OM+	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.33±0.04	7.41±0.07	7.34±0.04	7.31±0.02
Cloro (200 ppm)	E-	E-	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9±0.1	E-	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/25 ml de agua de lavado (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 11: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie del mango Ataulfo durante un simulacro del proceso de hidrogenfriado

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)	
	30 min	
	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.17±0.01	7.32±0.05
Cloro (200 ppm)	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Tabla 12: La eficacia de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la desactivación de SE en la superficie del mango Tommy Atkins durante un simulacro del proceso de hidrogenfriado

Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)	
	30 min	
	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	7.30±0.03	7.27±0.03
Cloro (200 ppm)	E-	E-
PAA (80 ppm)	E-	E-
Dióxido de cloro (5 ppm)	E-	0.9±0.1

OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

E- : Negativo de enriquecimiento, < 1 CFU/mango (No se recuperó *Salmonella* después de la resucitación)

Objetivo 3: Determinar la eficacia de los desinfectantes del agua en la reducción de la interiorización de *Salmonella enterica* (SE) durante el proceso de hidrogenfriado del mango

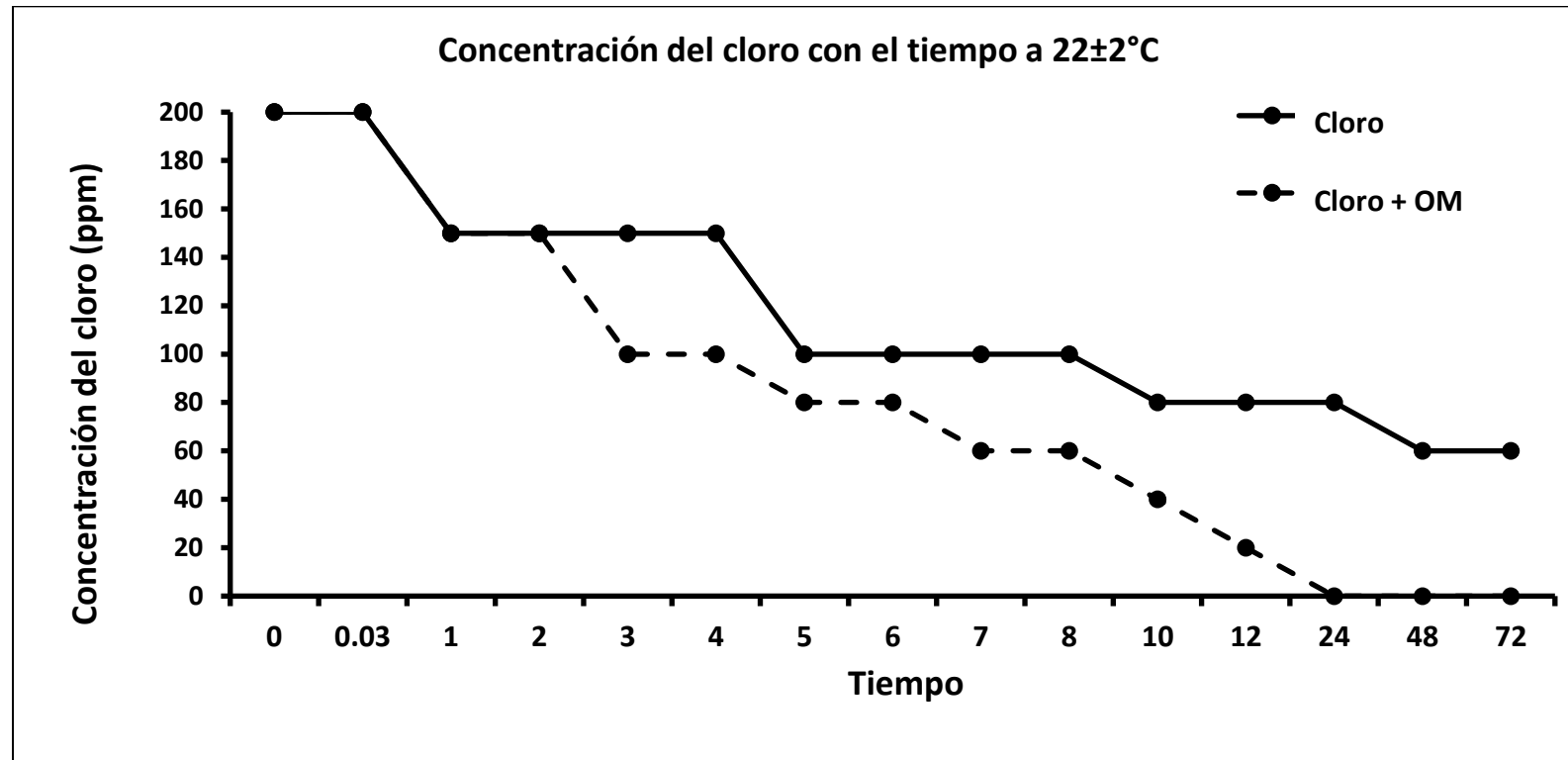
El efecto de 200 ppm cloro, 80 ppm PAA y 5 ppm dióxido de cloro en la prevención de la interiorización de SE en el mango después del proceso de hidrogenfriado

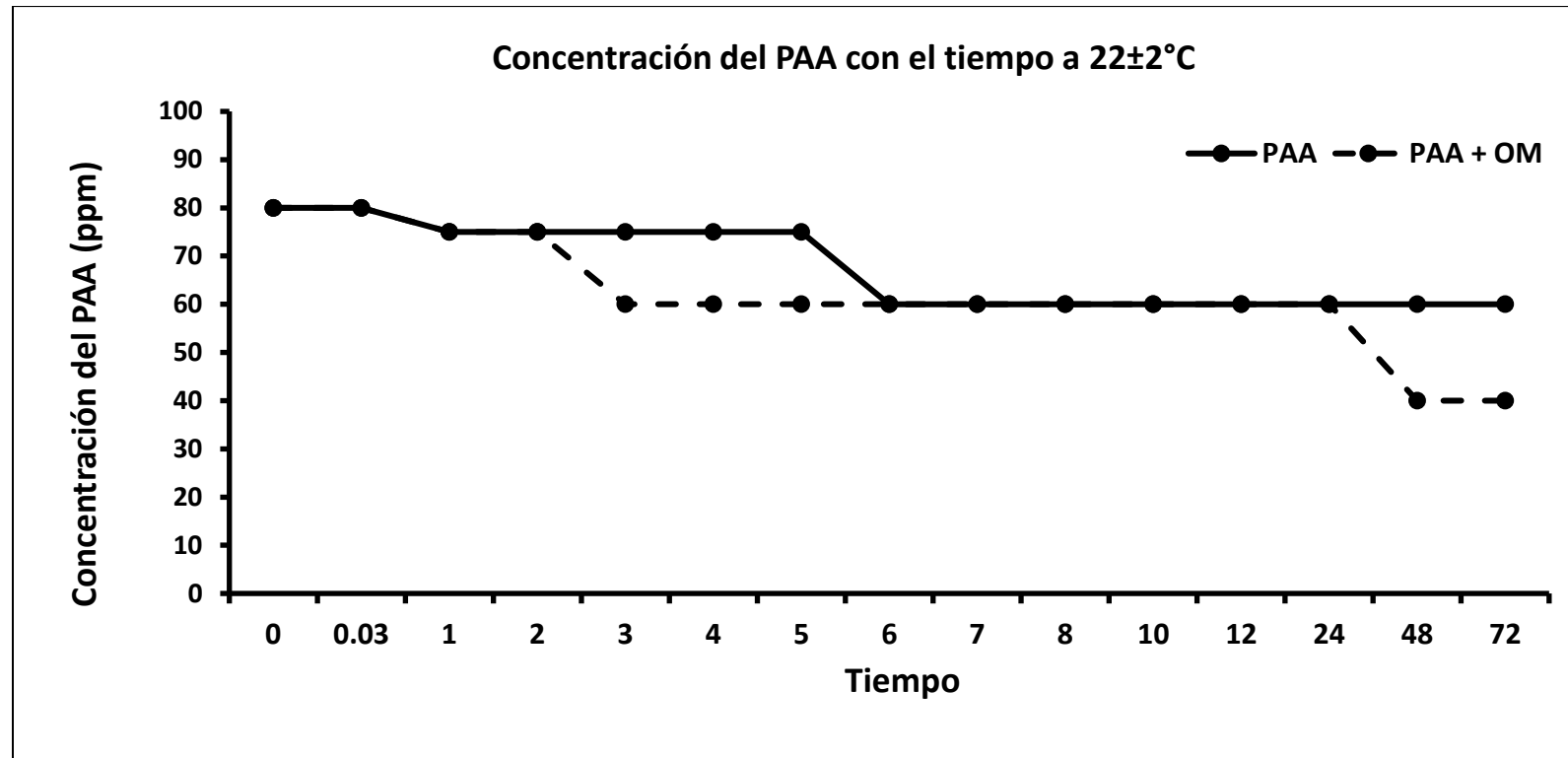
Tratamiento	Población de <i>Salmonella</i> (log CFU/mango)	
	OM-	OM+
Agua Destilada Estéril	2.34±0.06	2.39±0.03
Cloro (200 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1
PAA (80 ppm)	0.9±0.1	0.9±0.1
Dióxido de cloro (5 ppm)	0.9±0.1	2.27±0.05

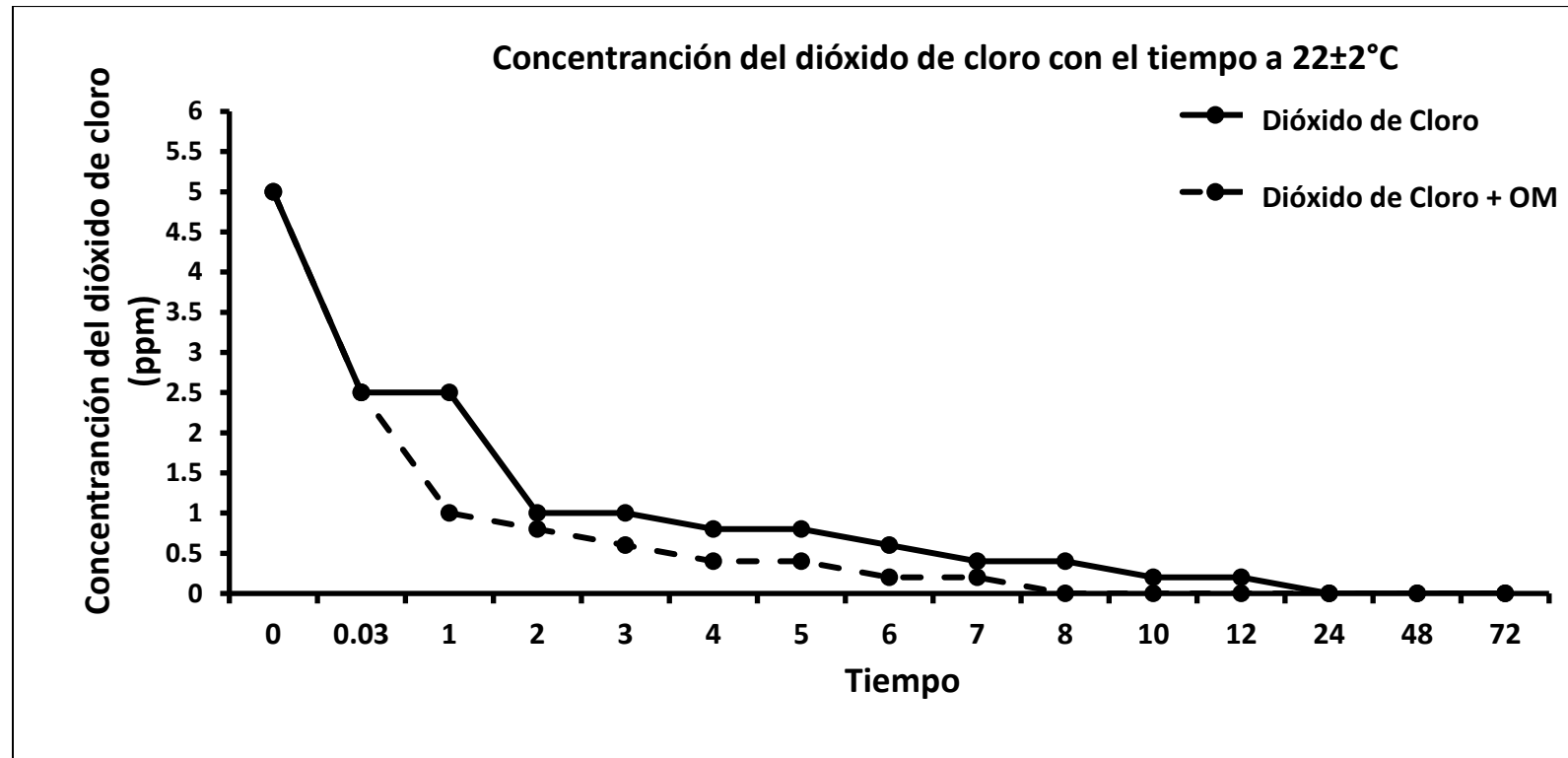
OM- : Ausencia de contaminación orgánica; OM+ : Presencia de contaminación orgánica (COD 15±5 ppm)

Objetivo 4: Determinar el efecto de la carga orgánica en la concentración del desinfectante en el agua de lavado del mango

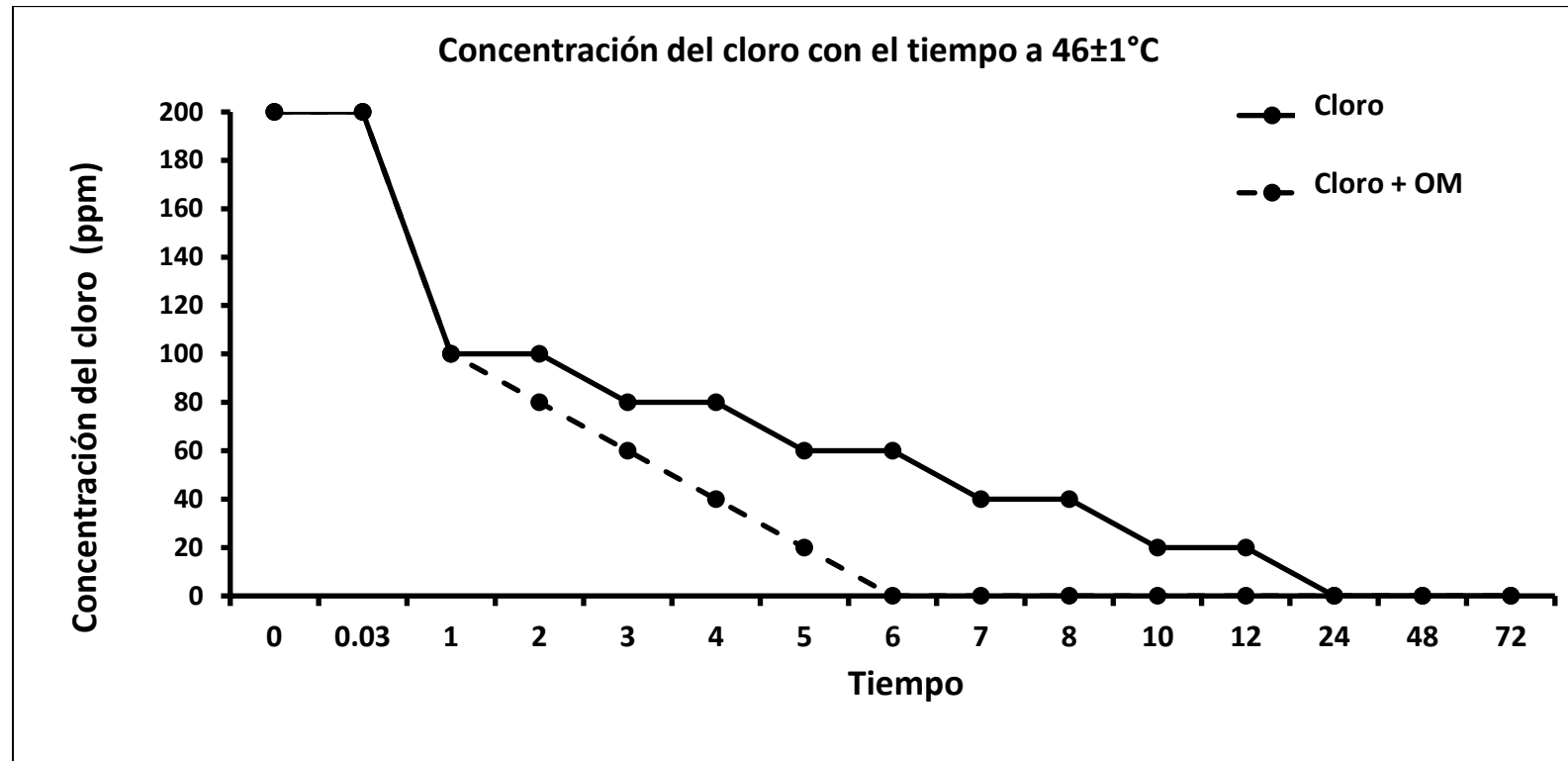
A. Temperatura Ambiente: Estanque de Depósito /Hidrogenfriado

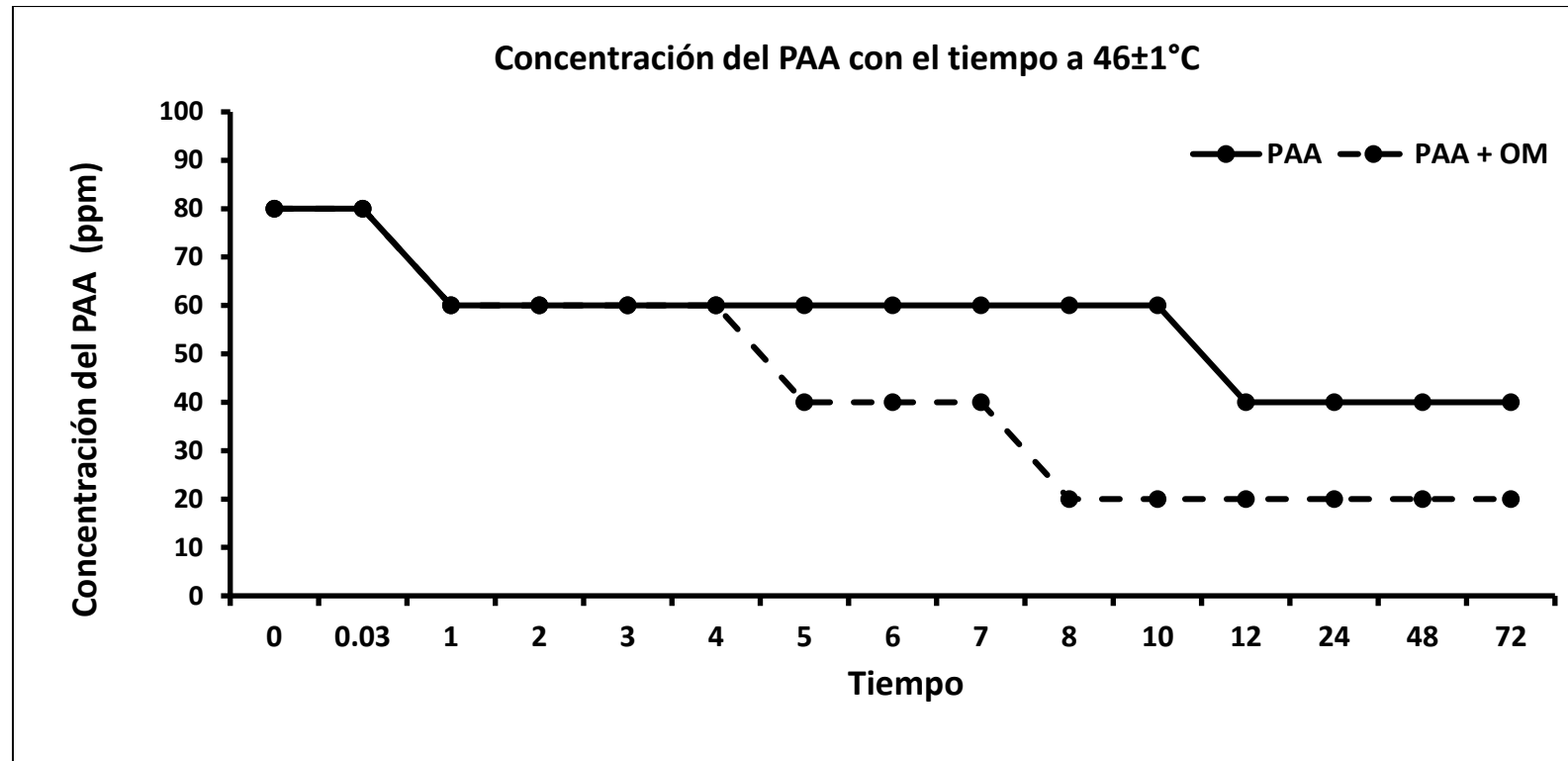


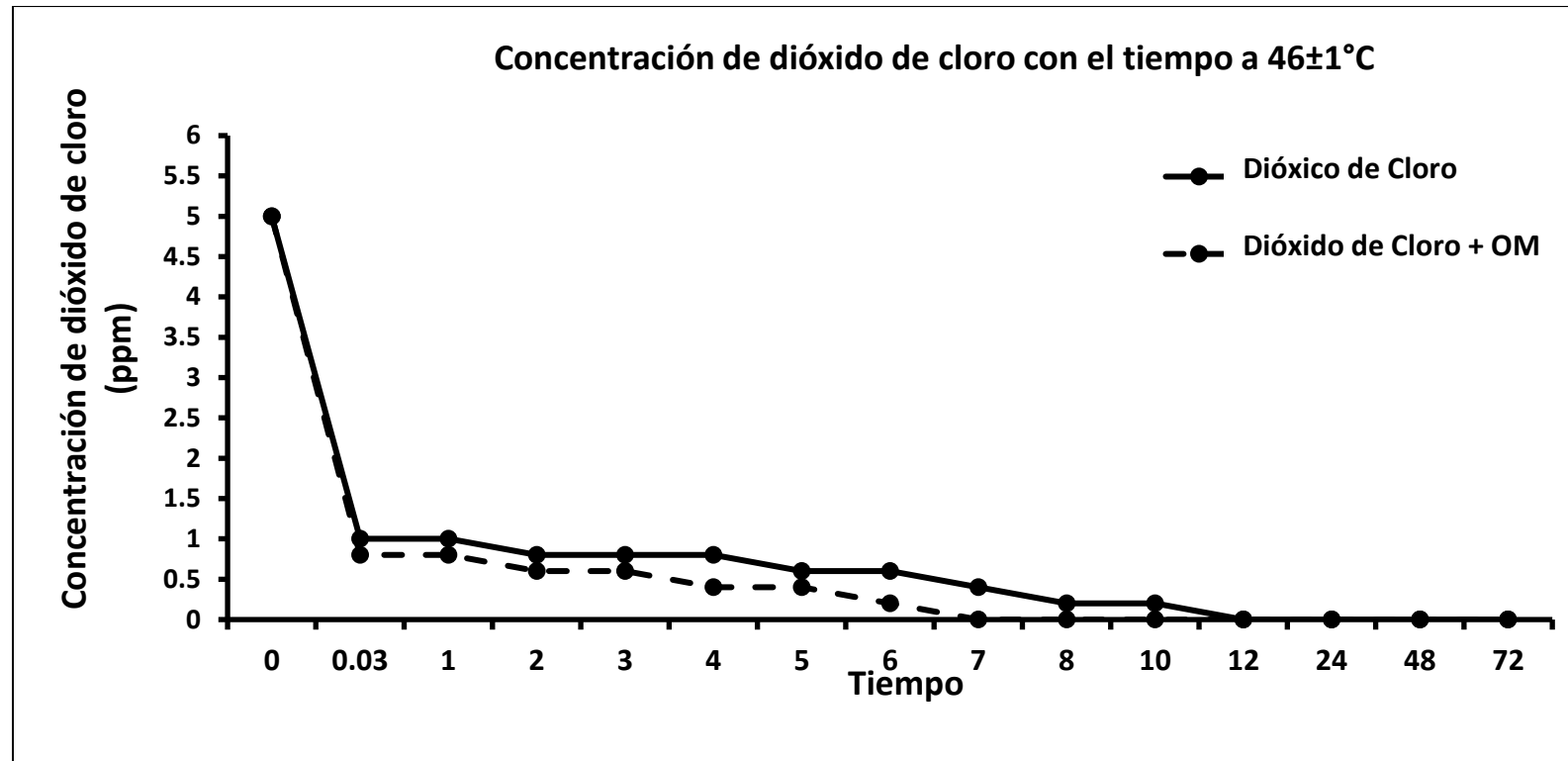




B. Estanque de Agua Caliente







Objetivo 5: Determinar el efecto del tratamiento de desinfectante en el color del mango**A. Lavado en el Estanque de Depósito****Tabla 1: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Ataulfo después del lavado en el estanque de depósito (2 minutos)**

Tratamiento	Color del Ataulfo (b*value – Color Amarillo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	32.19±0.46	32.54±0.39
Cloro (200 ppm)	33.82±0.59	34.46±0.55
PAA (80 ppm)	33.45±0.64	34.24±0.67
Dióxido de cloro (5 ppm)	34.34±0.38	35.42±0.38

Tabla 2: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Tommy Atkins después del lavado en el estanque de depósito (2 minutos)

Tratamiento	Color del Tommy Atkins (a*value – Color Rojo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	21.35±0.65	21.80±0.65
Cloro (200 ppm)	24.03±0.61	24.22±0.61
PAA (80 ppm)	24.25±0.59	25.28±0.65
Dióxido de cloro (5 ppm)	23.96±0.76	24.42±0.38

B. Tratamiento Hidrotérmico

Tabla 3: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Ataulfo después del tratamiento hidrotérmico (75 minutos)

Tratamiento	Color del Ataulfo (b*value – Color Amarillo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	33.56±0.49	34.41±0.51
Cloro (200 ppm)	31.97±0.63	33.62±0.64
PAA (80 ppm)	32.62±0.69	33.47±0.56
Dióxido de cloro (5 ppm)	32.06±0.59	33.50±0.62

Tabla 4: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Tommy Atkins después del tratamiento hidrotérmico (110 minutos)

Tratamiento	Color del Tommy Atkins (a*value – Color Rojo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	22.33±0.74	23.52±0.75
Cloro (200 ppm)	24.10±0.79	25.47±0.85
PAA (80 ppm)	24.70±0.54	25.94±0.57
Dióxido de cloro (5 ppm)	23.02±0.72	24.25±0.80

C. Hidroenfriado

Tabla 5: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Ataulfo después del tratamiento de hidroenfriado (30 minutos)

Tratamiento	Color del Ataulfo (b*value – Color Amarillo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	31.29±0.58	32.59±0.57
Cloro (200 ppm)	33.23±0.62	34.13±0.61
PAA (80 ppm)	33.35±0.66	33.96±0.62
Dióxido de cloro (5 ppm)	32.68±0.70	33.19±0.63

Tabla 6: El efecto de 200 ppm de cloro, 80 ppm de PAA y 5 ppm de dióxido de cloro en en el color del mango Tommy Atkins después del tratamiento de hidroenfriado (30 minutos)

Tratamiento	Color del Tommy Atkins (a*value – Color Rojo)	
	Antes del lavado	Después del lavado
Agua Destilada Estéril	23.82±0.72	24.88±0.64
Cloro (200 ppm)	23.27±0.97	23.81±0.95
PAA (80 ppm)	23.60±0.60	24.93±0.64
Dióxido de cloro (5 ppm)	22.91±0.68	23.55±0.61