

Tratamientos de desinfección de lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*)

Luis López V, José Romero R. y Fernando Ureta V.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago. Chile

RESUMEN. La desinfección de verduras y frutas es un tratamiento, destinado a reducir la microflora presente en forma natural en estos alimentos o aquella que se incorpora a través de las distintas etapas que ocurren desde su cultivo, hasta que el producto sea expendido y consumido. En el presente trabajo se estudió la acción germicida de dos productos desinfectantes: el extracto de semilla de toronja (400 ppm) por 10 min y el ácido peracético (2000 ppm) por 1 min (tiempos de acción recomendados por el fabricante) y a otros tiempos adicionales, frente a la contaminación natural presente en lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*), a través de la determinación de la eficacia germicida (%). En frutilla, se realizó una evaluación sensorial mediante la aplicación de un test de diferencia, test triangular, entre productos con y sin aplicación de los desinfectantes. Ninguno de los productos ensayados logró reducir en un 99,999% el nivel de contaminación presente, de acuerdo al test de Chambers. El ácido peracético resultó ser de mayor efectividad, dado que alcanzó porcentajes de destrucción mayores a menor tiempo de acción que el extracto de semilla de toronja. Sensorialmente no se observaron diferencias significativas al 5%, entre las muestras de frutilla con y sin aplicación de los productos desinfectantes, en las condiciones recomendadas por el fabricante.

Palabras clave: Desinfectantes, vegetales y frutas, evaluación sensorial.

SUMMARY. Disinfection treatments for lettuces (*Lactuca sativa*) and strawberries (*Fragaria chiloensis*). The disinfection of vegetables and fruits is a treatment applied in order to reduce their natural contamination or processes to the product along the different steps of the food chain until its consumption. In the present work the effect of two disinfectants products was studied: grapefruit seed extract (400 ppm) for 10 min and peracetic acid (2000 ppm) for 1 min (action times assayed according to the manufacturer recommendations) and other additional times. The germicidal action was carried out against the natural contaminants of lettuces and strawberries, through the determination of the germicidal efficiency (%). Treated and untreated strawberries were also evaluated for flavor changes through a sensorial difference test, triangular test. None of the assayed products reached the 99,999% destruction of the natural contaminants according to the Chambers test. Peracetic acid was the most effective disinfectant, reaching the highest destruction percentages at a time lower than that for grapefruit seed extract. Sensory analysis showed no significant differences ($p=0.05$) between strawberries with and without disinfection treatments, at the conditions suggested by the manufacturer.

Key words: Disinfectants, vegetables and fruits, sensory evaluation.

INTRODUCCION

La transmisión de enfermedades entéricas a través del consumo de vegetales y frutas contaminadas, es un problema conocido desde hace bastante tiempo. Esta contaminación proviene principalmente del agua de regadío, que puede ser un vehículo de transmisión de agentes tales como bacterias, virus y protozoos provenientes de material fecal humano y animal (1,2).

La microflora de los vegetales y frutas que crecen a ras del suelo está compuesta además, por microorganismos presentes en forma natural en el suelo y plantas en descomposición, y por agentes que son incorporados después de la cosecha a través de falta de higiene durante el almacenamiento, transporte, manipulación y exposición de los productos en los locales de expendio, las cuales pueden permitir y estimular el crecimiento

de agentes patógenos (1,2).

Existe una gran variedad de productos de uso doméstico e institucional, destinados a reducir la carga microbiana de estos vegetales y frutas. Entre ellos se encuentran derivados de amonio cuaternario y de halógenos, especialmente cloramina, cuya efectividad ya ha sido evaluada por los autores (3) demostrando que la mayor eficacia germicida la presentan los compuestos de acción oxidante, aunque no han alcanzado el 99,999% de destrucción considerado como adecuado en un buen proceso de desinfección.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la acción del extracto de la semilla de la toronja y del ácido peracético frente a la microflora natural presente en una hortaliza y en una fruta, lechuga (*Lactuca sativa*) y frutilla (*Fragaria chiloensis*), dado que ellos crecen a ras del suelo y además debido a su alto consumo, principalmente al estado crudo,

como así también determinar sensorialmente si existen alteraciones en el sabor de frutillas al usar estos desinfectantes.

MATERIALES Y METODOS

El estudio de la actividad antimicrobiana se realizó efectuando 5 repeticiones en días diferentes, de un pool compuesto de 5 unidades de lechuga y de 5 bandejas de 250 g de frutillas.

Las muestras de lechugas y frutillas fueron obtenidas de la vega central (mercado) de la ciudad de Santiago y fueron trasladadas al laboratorio en forma inmediata, manteniendo los productos en condiciones de refrigeración. Los análisis se realizaron al llegar las muestras al laboratorio. El período de tiempo transcurrido entre la obtención de las muestras y la realización de los ensayos no fue de más de 1 hora.

Los productos desinfectantes se estudiaron a la concentración de uso y tiempos de acción recomendados por el fabricante (*) y otros tiempos adicionales:

Extracto de semilla de toronja (A), 400 ppm y a 2, 5 y 10 (*) min de acción y

Acido peracético (B), 2000 ppm y a 1(*), 2 y 5 min de acción.

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vivo*

a) Preparación de los productos desinfectantes: se prepararon los desinfectantes de acuerdo a las especificaciones del fabricante, utilizando agua potable de 300 ppm CaCO_3 de dureza y a temperatura ambiente (15°C).

b) Lavado de las muestras: las muestras de ambos productos se lavaron con agua de la llave durante 5 min y se trozaron en una tabla empleada para estos efectos, simulando los procedimientos efectuados a nivel doméstico o institucional.

c) Recuento inicial de la contaminación microbiológica: la contaminación inicial en cada alimento, se determinó después del lavado y previo a la desinfección, a través del recuento de aerobios mesófilos en placas utilizando Agar Plate Count, de acuerdo al Bacteriological Analytical Manual del Food and Drug Administration (4).

d) Tratamiento con los productos desinfectantes: posteriormente y previo escurrimiento del agua durante 30 seg, se pusieron en contacto con las soluciones de los desinfectantes en una proporción 1:10, y se fueron extrayendo muestras a los tiempos de acción establecidos. Se enjuagó con agua potable y se dejó escurrir por 30 seg. Se pesó 20 g de cada muestra, se suspendió en 180 ml de agua peptonada al 0,1% (pH $7,0 \pm 0,2$) y se sometió a una agitación mecánica durante 10 min, para lograr que la mayoría de los microorganismos presentes quedaran en suspensión. No se

consideró un posible efecto residual de los productos desinfectantes, asumiendo que su concentración sería reducida considerablemente tanto por el enjuague como por la dilución de la muestra en el agua peptonada y además para simular al máximo, el procedimiento efectuado a nivel doméstico e institucional.

e) Recuento de los sobrevivientes a la acción desinfectante: del sobrenadante se tomó alícuotas de 1 ml y se sembraron para determinar el recuento de aerobios mesófilos en Agar Plate Count, de acuerdo a la metodología recomendada por el Bacteriological Analytical Manual del Food and Drug Administration (4).

Los resultados se expresaron como eficiencia germicida porcentual (% E), calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Eficiencia (\%)} = \frac{N_0 - N_t}{N_0} \times 100$$

donde N_0 = número de microorganismos iniciales

N_t = número de microorganismos sobrevivientes a tiempo t

Como criterio de eficacia se utilizó lo estipulado por el test de Chambers, el cual considera como buen desinfectante un producto que, a la concentración recomendada, cause un 99,999% de muerte a una cantidad entre $7,5 \times 10^7$ y $1,3 \times 10^8$ células / ml en 30 seg (5).

Evaluación sensorial

La determinación se realizó sólo en frutillas, en el último pool de muestras. Por haber utilizado un panel de 14 jueces no entrenados, para detectar las diferencias entre las muestras con y sin tratamiento con desinfectante, se aplicó el Test Triangular (6), ya que presenta la menor probabilidad de acertar por azar (33,3%).

La evaluación se efectúa confeccionando una tabla de frecuencias para las respuestas correctas y falsas de cada juez y la validez de la evaluación se realiza por medio de la docimacia de hipótesis; en donde se establece la hipótesis nula (H_0) en que las muestras no presentan diferencias entre sí y la hipótesis alternativa, en que sí existen diferencias entre las muestras.

La docimacia de hipótesis se analiza por medio de la distribución chi cuadrado (χ^2), la cual para este test está determinada por la siguiente fórmula:

$$\chi^2 = \frac{[4a - 2f] - 3}{8n}$$

donde: a = aciertos

f = fallas

n = número de juicios = k x r

k = número de jueces

r = número de repeticiones

Si el valor calculado de χ^2 excede el tabulado, se concluye que H_0 no es válida pues se detectan diferencias y se señala el nivel de significación (5, 1 o 0,1%). Si por el contrario el χ^2 calculado es inferior al tabulado, se concluye que no hay evidencias suficientes para rechazar H_0 (6).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados presentados en las Tablas 1 y 2, corresponden a los recuentos iniciales y a los recuentos después del tratamiento con los productos desinfectantes en lechuga y frutilla, respectivamente. A continuación se discutirán los resultados en base a los valores promedios de las determinaciones efectuadas.

TABLA 1
Recuentos de aerobios mesófilos en lechuga a tiempo cero y después de ser tratadas con extracto de semilla de toronja (A) y ácido peracético (B)

Producto	Repeticiones	Recuento aerobios mesófilos (ufc/g)				
		0 min	1 min	2 min	5 min	10 min
A	1	$3,7 \times 10^5$		$5,8 \times 10^4$	$4,8 \times 10^4$	$12,0 \times 10^3$
	2	$4,4 \times 10^5$		$6,3 \times 10^4$	$5,4 \times 10^4$	$10,2 \times 10^3$
	3	$4,1 \times 10^5$		$6,9 \times 10^4$	$5,2 \times 10^4$	$9,2 \times 10^3$
	4	$4,6 \times 10^5$		$6,2 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$
	5	$3,0 \times 10^5$		$5,0 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$9,0 \times 10^3$
		$X = 4 \times 10^5$ d.s.= 0,63		$X = 6 \times 10^4$ d.s.= 0,70	$X = 4,5 \times 10^4$ d.s.= 1,04	$X = 9,9 \times 10^3$ d.s.= 1,24
B	1	$3,7 \times 10^5$	$6,2 \times 10^4$	$9,9 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	
	2	$4,4 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$0,8 \times 10^3$	
	3	$4,1 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$8,8 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	
	4	$4,6 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	
	5	$3,0 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$7,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	
		$X = 4 \times 10^5$ d.s.= 0,63	$X = 6 \times 10^4$ d.s.= 0,70	$X = 9 \times 10^3$ d.s.= 1,18	$X = 2 \times 10^3$ d.s.= 0,69	

TABLA 2
Recuentos de aerobios mesófilos en frutilla a tiempo cero y después de ser tratadas con extracto de semilla de toronja (A) y ácido peracético (B)

Producto	Repeticiones	Recuento aerobios mesófilos (ufc/g)				
		0 min	1 min	2 min	5 min	10 min
A	1	$2,0 \times 10^4$		$1,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^2$	$8,0 \times 10$
	2	$2,8 \times 10^4$		$0,8 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10$
	3	$2,5 \times 10^4$		$0,3 \times 10^3$	$3,6 \times 10^2$	$8,4 \times 10$
	4	$2,0 \times 10^4$		$1,5 \times 10^3$	$3,4 \times 10^2$	$11,0 \times 10$
	5	$0,5 \times 10^4$		$1,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^2$	$8,8 \times 10$
		$X = 2 \times 10^4$ d.s.= 0,88		$X = 1,1 \times 10^3$ d.s.= 0,55	$X = 3 \times 10^2$ d.s.= 0,63	$X = 9 \times 10$ d.s.= 1,16
B	1	$2,0 \times 10^4$	$3,2 \times 10^3$	$5,6 \times 10^2$	$4,1 \times 10$	
	2	$2,8 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$5,4 \times 10^2$	$4,0 \times 10$	
	3	$2,5 \times 10^4$	$2,8 \times 10^3$	$4,6 \times 10^2$	$2,8 \times 10$	
	4	$2,0 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	$5,2 \times 10^2$	$4,4 \times 10$	
	5	$0,5 \times 10^4$	$3,8 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10$	
		$X = 2 \times 10^4$ d.s.= 0,88	$X = 3,1 \times 10^3$ d.s.= 0,69	$X = 4,9 \times 10^2$ d.s.= 0,85	$X = 4 \times 10$ d.s.= 0,68	

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vivo*

En lechugas (Tabla 3), la acción del extracto de semilla de toronja a los 2 min de contacto redujo en un 85,250% la contaminación inicial, a los 5 min en un 88,750% y solo alcanzó un 97,525% de destrucción de la microflora contaminante, al tiempo de acción recomendado (10 min). De acuerdo a las recomendaciones del fabricante, el ácido

peracético fue ensayado a un tiempo de acción de 1 min, el cual es menor que el recomendado para el extracto de semilla de toronja, presentando una efectividad de 85,000% de destrucción, sin embargo a los 2 min este % es de 97,761 y al dejar actuar el producto por 5 min, la efectividad se elevó a 99,501% superando el porcentaje de destrucción alcanzado por el otro producto en un tiempo de acción mayor.

TABLA 3
Recuentos promedios (log N de ufc/g) y Efectividad (%) de los tratamientos con extracto de semilla de toronja (A) 400 ppm y ácido peracético (B) 2000 ppm en lechugas y frutillas

Desinfectante	Tiempo (min)	Lechuga		Frutilla	
		log N (ufc/g)	Efectividad (%)	log N (ufc/g)	Efectividad (%)
A	0	5,6	—	4,3	—
	2	4,8	85,250	3,0	94,517
	5	4,6	88,750	2,5	98,506
	10*	4,0	97,525	2,0	99,550
B	0	5,6	—	4,3	—
	1*	4,8	85,000	3,5	84,500
	2	4,0	97,761	2,7	97,537
	5	3,3	99,501	1,6	99,798

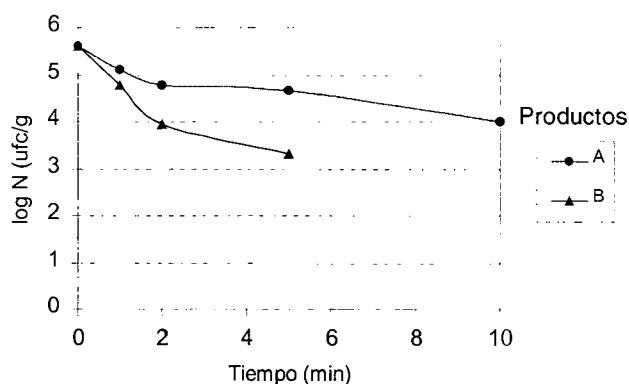
*Tiempo de acción recomendado por el fabricante

En la Tabla 3 y Gráfico 1, se observa que el recuento de microorganismos aerobios mesófilos iniciales en lechuga, $4,0 \times 10^5$ ufc/g (5,6 expresado como log N), después de estar en contacto durante 10 min con el producto A, no alcanzó a experimentar una reducción de 2 ciclos logarítmicos. Al usar el producto B, durante 1 min, no se logró reducir 1 ciclo logarítmico de la contaminación presente. Por lo tanto, de acuerdo al test de Chambers, criterio de eficacia utilizado, ninguno de los productos presentaría una acción desinfectante aceptable en lechugas, considerando además que los niveles de contaminación inicial fueron más bajos y que los tiempos de acción superaron los 30 seg establecidos.

En frutillas y considerando que la carga microbiana inicial fue menor que en lechugas (Tabla 3), el producto A a los 10 min recomendados por el fabricante, presentó una eficacia de 99,550%, a los 5 min una reducción de 98,506% y a los 2 min un 94,517% de eficiencia. La acción del producto B fue solo de 84,500%, al tiempo de acción recomendado (1 min), de 97,537% a los 2 min y aumentó a 99,798% a los 5 min de contacto.

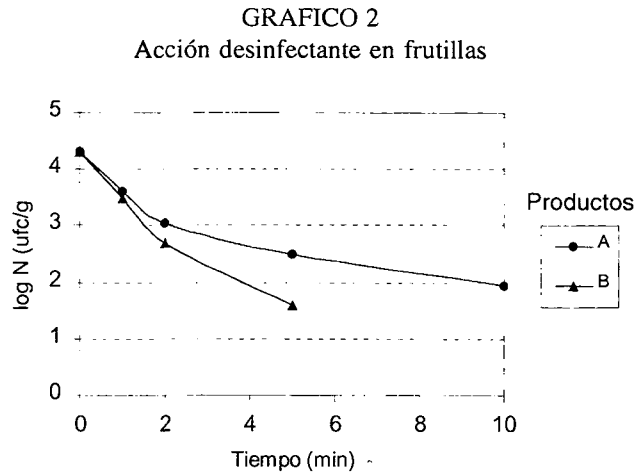
A los tiempos de acción recomendados, la reducción de la contaminación inicial de frutilla, $2,0 \times 10^4$ ufc/g (4,3 expresado como log N), fue mayor en el caso del producto A, en el que se disminuyó más de 2 ciclos logarítmicos, que lo observado en el producto B, en que no se alcanzó a reducir en 1 ciclo la contaminación presente (Tabla 3 y Gráfico 2). De igual forma que en lechugas, los productos no podrían ser considerados como buenos desinfectantes, de acuerdo al criterio de eficacia utilizado.

GRAFICO 1
Acción desinfectante en lechugas



Los resultados obtenidos concuerdan con otros trabajos similares, en los cuales se postula que ningún tratamiento químico o físico usado corrientemente para desinfectar frutas y vegetales puede ser confiable para eliminar todo tipo de patógenos de los tejidos superficiales o internos (1).

En este caso es importante considerar además, que aunque el recuento inicial de microorganismos aerobios mesófilos, pudiera parecer aceptable (10^5 y 10^4 ufc/g en lechuga y frutilla, respectivamente), solo da una visión general de la cantidad de bacterias presentes, pudiendo existir la posibilidad que se encuentren entre ellas enterobacterias patógenas (*Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7).



En forma general se podría establecer que comparativamente presentaría una mayor eficacia el producto B, debido a que a un menor tiempo de acción (5 min) logra un mayor porcentaje de destrucción de los contaminantes presentes. Como agente oxidante, su acción antimicrobiana es similar a la que presenta el peróxido de hidrógeno, es decir ataca la membrana citoplasmática y denatura enzimas por oxidación de grupos sulfhidrilos y aminos asociados con las moléculas aminoacídicas (7).

Evaluación sensorial

En la Tabla 4 se presenta la respuesta de los jueces a la evaluación sensorial de frutilla con y sin tratamiento de desinfección.

TABLA 4

Respuesta de los jueces a la evaluación sensorial de frutilla con y sin tratamiento de desinfección

Juez	Producto A		Producto B	
	Aciertos	Fallas	Aciertos	Fallas
I	0	3	1	2
II	1	2	1	2
III	1	2	2	1
IV	1	2	0	3
V	2	1	1	2
VI	1	2	2	1
VII	0	3	1	2
VIII	1	2	1	2
IX	1	2	0	3
X	2	1	0	3
XI	1	2	3	0
XII	2	1	3	0
XIII	2	1	2	1
XIV	1	2	1	2
Totales	16	26	18	24

Para el caso del producto A, la cantidad total de aciertos obtenidos por el panel fue 16, lo cual es menor que el valor tabulado para 42 juicios a un nivel de significación del 5%, que es de 21, de acuerdo a la tabla de Significación para Test Triangular, $p=1/3$ (6). Además el valor de chi cuadrado obtenido (0,24), fue menor que el tabulado para un nivel de significación del 5%, lo que indica que entre las muestras con y sin tratamiento de desinfección existe dificultad para identificar una de otra.

Al tratar las frutillas con el producto B, tampoco se detectaron diferencias significativas entre los productos con y sin aplicación del desinfectante, dado que la cantidad de aciertos obtenidos por el panel fue de 18, menor al tabulado para 42 juicios a un nivel de significación del 5% y el chi cuadrado fue de 1,31, menor al tabulado para un nivel de significación del 0.05.

Estos resultados permiten establecer, que usando estos productos a las concentraciones y tiempos establecidos por el fabricante, no se vería afectada la calidad sensorial de la frutilla, lo cual ya había sido demostrado en el caso de manzanas sumergidas en mezclas de ácido láctico y peróxido de hidrógeno, por otros autores (8).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El desinfectante A, en el tiempo señalado por el fabricante (10 min) mostró una efectividad de 97,525% para lechugas y 99,550% para frutillas.

El desinfectante B, en el tiempo indicado por el fabricante (1 min) mostró una efectividad de 85% para lechugas y 84,500% para frutillas. Cuando el tiempo de acción fue de 5 min, su efectividad se elevó a 99,501% y 99,798% para lechugas y frutillas, respectivamente.

Para lograr una mayor eficiencia del desinfectante B, se recomienda un tiempo de acción de 5 min.

En la evaluación sensorial de frutillas, no se detectaron diferencias significativas entre las muestras con y sin aplicación de los desinfectantes A y B, en las concentraciones y tiempos establecidos por el fabricante.

Considerando los resultados microbiológicos y sensoriales del presente trabajo, sería recomendable, efectuar estudios en los cuales se prolongara el tiempo de acción de los productos, para lograr una mayor eficiencia en la destrucción de los contaminantes iniciales de este tipo de productos alimenticios, reduciendo de esta forma el riesgo potencial de presencia de posibles patógenos entéricos y efectuando además pruebas sensoriales tendientes a determinar si existen modificaciones en los parámetros organolépticos, a través de test de detección de diferencias entre los productos con y sin desinfección.

Es recomendable efectuar estudios de reto microbiano con *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7.

REFERENCIAS

1. Richardson K, George B. Food Safety and Hygiene. Food Science Australia. 2000.
2. Marriott N. Essentials of Food Sanitation. Chapman & Hall, International Thompson Publishing, New York. 1997.
3. López L, Romero J, Urbina J. Eficiencia de desinfectantes en vegetales y frutas. Alimentos 1988; 13(1):25-30
4. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD. USA.1995.
5. Ayres JC, Mundt JO, Sandine WE. Microbiology of Foods. San Francisco: WH Freeman & Co. 1980.
6. Wittig E. Evaluación Sensorial: Una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH. Santiago Chile. 1981.
7. Garbutt J. Essentials of Food Microbiology. Arnold International Student's Edition. London. 1997.
8. McWatters KH, Doyle MP, Venkitanarayanan KS, Bailey HB. Effect of an antibacterial wash treatment on the sensory quality of raw apples. Research Programs, Center for Food Safety and Quality Enhancement. College of Agricultural and Environmental Sciences. University of Georgia, USA. 1999.

Recibido: 02-02-2001

Aceptado: 05-10-2001