“EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE AGUA ELECTROACTIVADA COMO SUSTITUTO DEL HIPOCLORITO DE SODIO EN EL PROCESADO DE VEGETALES”

TRABAJO FINAL DE LA ESPECIALIZACIÓN EN GESTIÓN AMBIENTAL EN SISTEMAS AGROALIMENTARIOS

AUTOR: Ing. Agr. Alvaro Bresciano

TUTOR: Ing. Agr. (Esp.) Horacio Fernández

ENERO DE 2018

ESCUELA PARA GRADUADOS ALBERTO SORIANO – FACULTAD DE AGRONOMÍA – U.B.A

Agradecimiento

Agradezco especialmente al Ing. José Mazzitelli de la firma Envirolife, quien facilitó la realización de los ensayos experimentales y los datos para la realización del estudio económico.

Resumen

Las verduras que se consumen crudas están sujetas a riesgos de contaminación microbiana potencialmente causantes de pérdidas económicas y/o riesgos para la salud de los consumidores. Antes, durante y después de la cosecha pueden ser estropeadas por una gran variedad de microorganismos, incluyendo muchas especies bacterianas y fúngicas.

El hipoclorito de sodio es el desinfectante más utilizado por la industria de vegetales mínimamente procesados, siendo un eficiente desinfectante. Sin embargo, hay evidencias que lo vinculan a riesgos ambientales y para la salud de los trabajadores, por lo que se ha investigado acerca de posibles sustitutos.

El agua electrolizada puede ser un sustituto eficiente del hipoclorito de sodio, con menor impacto sobre el medio ambiente y mucho menos riesgos para la salud de los trabajadores.

Según la búsqueda bibliográfica realizada, el agua electrolizada (AEA) constituye una alternativa promisoria al uso del hipoclorito de sodio para el procesado de verduras. Permitiría obtener una desinfección por lo menos similar a la del hipoclorito, reduciendo efectos adversos del cloro, y tendría ventajas relativas a la seguridad de los trabajadores.

Los resultados experimentales de éste trabajo avalan el uso del AEA como agente de desinfección, con una efectividad por lo menos idéntica a la de la solución de hipoclorito de sodio 200 ppm, ampliamente utilizada en el ámbito doméstico y comercial.

Palabras Clave: Verduras procesadas, hipoclorito de sodio, agua electrolizada.

Abstract

Raw consumed vegetables are subject to risks of microbial contamination potentially causing economic losses and / or risks to the health of consumers.

Before, during and after the harvest they can be spoiled by a wide variety of microorganisms, including many bacterial and fungal species.

Sodium hypochlorite is the most used disinfectant by the minimally processed vegetable industry, being an efficient disinfectant. However, there is evidence that links it to environmental risks and to workers' health, so it has been investigated about possible substitutes.

Electrolyzed water (EW) can be an efficient substitute for sodium hypochlorite, with less impact on the environment and much less risks to workers' health.

According to the literature search, electrolyzed water is a promising alternative to the use of sodium hypochlorite for processing vegetables. It would allow obtaining a disinfection at least similar to that of hypochlorite, reducing adverse effects of chlorine, and would have advantages related to the safety of workers.

The experimental results of this work support the use of EW as a disinfection agent, with an effectiveness that is at least identical to that of the 200 ppm sodium hypochlorite solution, widely used in the domestic and commercial environment.

Keywords: Processed vegetables, sodium hypochlorite, electrolyzed water

Tabla de contenido

Resumen 2
Abstract 2
Índice de ilustraciones: 4
Introducción: 5
Antecedentes 5
Contaminación de frutas y hortalizas 8
Riesgos de contaminación de frutas y hortalizas 8
Orígenes de la contaminación de frutas y hortalizas 10
Factores que afectan el grado de contaminación 11
Microorganismos de interés asociados a frutas y hortalizas frescas 14
Enfermedades relacionadas con el consumo de frutas y hortalizas. 18
Información complementaria 20
Crecimiento y medición de poblaciones bacterianas: 20
Criterios de aceptación microbiológica según el Código Alimentario Argentino: 21
Procesado de vegetales 22
Etapas del proceso productivo 22
Desinfección de frutas y hortalizas. 26
Desinfectantes comúnmente usados en la industria 28
Aguas Electroactivadas 39
Producción 39
Mecanismo de acción. 41
Propiedades 42
Análisis económico vs Hipoclorito de sodio 46
Máquina chica (40 lt/h) 46
Máquina mediana (200 lt/h) 49
Hipótesis de trabajo 51
Objetivo del trabajo 51
Metodología 52
Búsqueda Bibliográfica 52

Resultados y discusión 53
Conclusión 56
Resultados Experimentales 56
Introducción y Objetivo 57
Materiales y Métodos..... 57
Resultados..... 58
Discusión y conclusiones 59
Significado de las siglas utilizadas:..... 60
BIBLIOGRAFÍA 61

Índice de ilustraciones:

Ilustración 1: Fuentes de contaminación de microorganismos en frutas y hortalizas frescas en la pre-cosecha (Cadena Moreno, 2014)..... 9

Ilustración 2: Factores a los que se asocian los brotes de enfermedades por consumo de frutas y hortalizas..... 11

Ilustración 3: Cantidad de incidentes y casos de enfermedad atribuidos a frutas y hortalizas de 1998 a 2007 en USA. 19

Ilustración 4: Porcentaje de Incidentes y casos de enfermedad debidos a diferentes patógenos en USA 20

Ilustración 5. Relación UFC y Log_{10} 20

Ilustración 6. Criterios de aceptación microbiológica..... 21

Ilustración 7: Procesamiento de vegetales 23

Ilustración 8. Efectos de la exposición al cloro residual sobre diversas especies acuáticas. 34

Ilustración 9. Resultado de breves exposiciones al cloro residual para peces 35

Ilustración 10: Esquema de producción de agua electrolizada(Huang *et al.*, 2008)..... 40

Ilustración 11: Esquema de funcionamiento del reactor 41

Ilustración 12: Comparación entre AEA y otros productos (parte 1)..... 44

Ilustración 13: Comparación entre AEA y otros productos (parte 2)..... 45

Ilustración 14. Costos de producción AEA máquina chica. 47

Ilustración 15. Costos AEA según consumo vs HOCl máquina chica..... 48

Ilustración 16. Repago de inversión Maquina chica 48

Ilustración 17. Gráfico de repago de la inversión para máquina chica. 49

Ilustración 18. Costos de producción AEA máquina mediana. 49

Ilustración 19. Costos de producción según consumo vs HOCl máquina mediana. 50

Ilustración 20. Repago de inversión máquina mediana 51

Ilustración 21: Gráfico de repago de inversión máquina mediana 51

Ilustración 22. Palabras clave y búsquedas 53

Ilustración 23: Resultados de las búsquedas bibliográficas (1) 54

Ilustración 24. Resultados de búsquedas bibliográficas (2) 54

Ilustración 25. Resultados de búsquedas bibliográficas (3) 55

Ilustración 26. Propiedades químicas de las soluciones de prueba..... 58

Ilustración 27. Recuento de bacterias mesófilas (A), hongos y levaduras (B) en el limbo de hojas sin lavar o lavadas con diferentes soluciones de prueba. 59

Introducción:

Antecedentes

Las verduras que se consumen crudas están sujetas a riesgos de contaminación microbiana potencialmente causantes de pérdidas económicas y/o riesgos para la salud de los consumidores.

Después de la cosecha pueden ser estropeadas por una gran variedad de microorganismos, incluyendo muchas especies bacterianas y fúngicas.

Los agentes bacterianos más comunes son *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas spp.*, *Corynebacterium, Xanthomonas campestris* y bacterias lácticas, siendo *E. carotovora* la más común, atacando prácticamente todos los tipos vegetales. Los hongos comúnmente causantes de deterioro de las verduras frescas son *Botrytis cinerea*, varias especies de los géneros *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Colletotrichum, Phomopsis, Fusarium, Penicillium, Phoma, Phytophthora, Pythium y Rhizopus spp., Botrytis cinerea, Ceratocystis fimbriata, Rhizoctonia solani, Sclerotinia Sclerotiorum*, y algunos mildews.

Muchos de estos microorganismos penetran al tejido de la planta a través de lesiones mecánicas o de enfriamiento, o después de que la barrera de la piel haya sido descompuesta por otros organismos. Además de causar pérdidas económicas, algunas especies de hongos podrían producir metabolitos tóxicos en los sitios afectados, lo que constituye un potencial peligro para la salud de los seres humanos.

Además, los vegetales han servido a menudo como vehículos para bacterias patógenas, virus y parásitos implicados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Con el fin de frenar el deterioro de los vegetales y minimizar los efectos adversos asociados con la salud, se debe tener gran precaución para seguir una higiene estricta, buenas prácticas agrícolas (BPA) y buenas prácticas de manufactura durante el cultivo, cosecha, almacenamiento, transporte y comercialización. **(Tournas, 2017)**

Existen innumerables antecedentes de contaminación, microbiológica y química como consecuencia de diversos factores que actúan tanto a campo, como en el manejo después de la cosecha, destacando entre ellos la irrigación con aguas residuales **(Monge *et al.*, 1996)** el uso del estiércol como abono, la manipulación en las diversas etapas del ciclo productivo y el pésimo estado sanitario de embalajes y transportes.

Los antecedentes bibliográficos revelan que entre los agentes microbiológicos detectados con mayor frecuencia, surgen principalmente coliformes, *Escherichia coli*, *Salmonella sp. y Listeria sp.*, como así también parásitos intestinales y virus **(Monge *et al.*, 1996) (Rea *et al.*, 2004; Rivas *et al.*, 2006)** Ello contribuye a transformar a las verduras en alimentos que pueden provocar brotes

epidémicos de diarrea, porque pueden transportar una elevada carga microbiana que se suma al habitual consumo crudo y a las deficientes prácticas de manejo e higiene, del consumidor poco concientizado **(Monge *et al.*, 1996)**

Shigella sonnei, por otra parte, fue capaz de crecer en repollo envasado en vacío y en atmósferas modificadas **(Tournas, 2005)**

En Argentina son alarmantes los datos respecto a los brotes producidos por enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). El 25% de los eventos notificados al Sistema Nacional de Vigilancia de Salud en el año 2009 correspondieron a eventos gastrointestinales, siendo las diarreas sin especificar y las toxiinfecciones alimentarías las que durante dicho año acumularon la mayor proporción de los registros **(Nación, 2009)**

Entre las ETAs la frecuencia de la *E. coli* entero hemorrágica (ECEH) y, más concretamente, del Síndrome urémico Hemolítico (SHU), es muy elevada en Argentina comparada con otros países del mundo. Para Argentina se estiman aproximadamente 22 casos de SHU por 100 000 niños de edades comprendidas entre los 6 y los 48 meses. **(Oms, 2007)**

Si bien los alimentos más involucrados como fuente de infección son la carne y productos de origen vacuno existen otras fuentes como ser la leche y los productos lácteos, los productos frescos (como los brotes y las ensaladas), las bebidas (como la sidra o el jugo de manzana) y el agua. Un número cada vez mayor de brotes se ha relacionado con el consumo de frutas y verduras crudas o mínimamente procesadas. **(Rivas *et al.*, 2006; Oms, 2007)**

Se ha determinado que las hortalizas de hoja verde constituyen la segunda causa más importante de enfermedades por ECEH de transmisión alimentaria en el ser humano, ya que se contaminan fácilmente y se comen crudas**.**

Así lo demuestran los ejemplos de un total de 204 casos de infección por *Escherichia coli* O157:H7, en EEUU en el 2006 por espinacas frescas envasadas. La historia de los brotes de *Escherichia coli* O157:H7 ligados a hortalizas de hoja verde indica que es un problema mundial continuo. Sólo en los EE.UU. se han producido 19 brotes de enfermedad por *Escherichia coli* O157:H7 transmitida por lechugas y hortalizas de hoja verde **(Oms, 2007)**

Para garantizar la seguridad de los alimentos, la industria de IV Gama emplea agua clorada en el lavado, por ser el cloro uno de los higienizantes más efectivos. Sin embargo, en los últimos años se ha generalizado la recomendación de prescindir del uso del cloro y sus derivados. Los principales motivos son el riesgo medioambiental asociado al vertido de aguas con gran contenido en contaminantes y al posible riesgo para la salud debido a la formación de compuestos potencialmente cancerígenos (trihalometanos) formados por la reacción del cloro con la materia orgánica presente en el agua. Por este motivo, la mayoría de las investigaciones actuales se han centrado en la búsqueda de alternativas que permitan garantizar la seguridad microbiológica de

estos productos y evitar los efectos adversos mencionados. Sin embargo, a pesar de todos los estudios de investigación llevados a cabo, aún no se ha encontrado una alternativa eficaz al cloro. **(Gil, M. *et al.*, 2009)**

Moyano et al. hicieron una evaluación microbiológica del proceso de lavado de achicoria en la Provincia de Córdoba. Después de analizar desde el punto de vista microbiológico en tres etapas del proceso de elaboración de achicoria lavada, seleccionada y envasada (recepción, después del envasado y luego de un día en refrigeración (4°C), se arribó a las siguientes conclusiones:

1. Por el lavado y desinfección hubo una reducción de un logaritmo decimal tanto en recuento de aerobios totales como de coliformes totales.
2. La ausencia de coliformes fecales y *Escherichia coli* después del procesamiento debería ser considerada como indicativa de que el proceso de desinfección fue adecuado para eliminar los patógenos de origen intestinal. Esta consideración se hace teniendo en cuenta que los coliformes fecales y *Escherichia coli* se encontraron en el 43,57% del total de las muestras de achicoria fresca no seleccionadas que se analizaron.
3. En cuanto a la eliminación de patógenos después del lavado- desinfección, resultó efectiva, ya que sólo una muestra presentó coliformes fecales luego del procesamiento y dos muestras después de 24 horas en refrigeración. Esto sugiere que se puede utilizar la búsqueda de *Escherichia coli*, como indicativo inocuidad de estos productos, y utilizar como criterio que su ausencia indica la no existencia de bacterias de origen intestinal, patógenos principales causantes de gastroenteritis que tienen la vía de transmisión fecal-oral.
4. La determinación de coliformes fecales es un parámetro microbiológico útil para evaluar la eficiencia del proceso y garantizar la inocuidad de este tipo de vegetales preparados para ensaladas.

(Moyano *et al.*, 2003)

Contaminación de frutas y hortalizas

La contaminación de las verduras puede ser de origen físico, químico o biológico. La seguridad microbiológica es el principal tema de preocupación en la industria de las verduras y frutas mínimamente procesadas.

Riesgos de contaminación de frutas y hortalizas

Durante el cultivo, cosecha y transporte.

Según Lamikanra los mismos incluyen: malas prácticas agronómicas, uso de agua contaminada para el riego de cultivos o mezcla de productos químicos, aplicación de abono inapropiado como fertilizante y falta de capacitación de los trabajadores sobre la higiene personal. Un control sanitario deficiente durante las actividades de manejo pos cosecha es otro mecanismo para la contaminación de patógenos de los productos frescos.

La calidad del agua utilizada para el refrescado o lavado pos cosecha, y las condiciones de temperatura y humedad durante ese proceso son determinantes.

DeRoever (1999) informó de casos de salmonelosis ocurrieron en 1991 y 1993 debido al consumo de tomate fresco. Aunque el origen exacto de la contaminación no fue identificado, las fuentes posibles incluyeron mala higiene de contenedores y camiones usados para transportar los tomates, contaminación cruzada del agua del tanque de vertido de tomate, mala higiene personal entre los empleados y / o de los equipos.

(Lamikanra, 2002)

Fuente de contaminación	Producto en fresco	Microflora
Animales, estiércol	Vegetales	Esporulados, *Salmonella*, *E.coli* O157:H7
Malas prácticas de higiene de trabajadores	Frutas rebanadas	*Vibrio cholerae*
Agua de irrigación	Tomates	*Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*
Suelo, materia orgánica y transporte	Vegetales	*Clostridium perfringens*

Ilustración 1: Fuentes de contaminación de microorganismos en frutas y hortalizas frescas en la pre-cosecha (Cadena Moreno, 2014)

Operaciones de corte en la planta de procesamiento.

Según Lamikanra **(Lamikanra, 2002)** el tejido interno de los productos frescos normalmente está protegido contra la invasión microbiológica por las pieles exteriores y las cáscaras cerosas. El corte rompe esta barrera física, permitiendo que los jugos se distribuyan sobre las superficies de las frutas y verduras, y aumenta la superficie de contacto. Los jugos contienen nutrientes que aceleran el crecimiento microbiológico. Estos factores aumentan el riesgo potencial de desarrollo de poblaciones microbianas patógenas para el ser humano.

Se han determinado los principales riesgos microbiológicos de las verduras mínimamente procesadas e incluyen lo siguiente:

- No hay una etapa en el proceso que elimine posibles patógenos humanos (ej.: cocción).
- Varios patógenos (por ejemplo, *Listeria monocytogenes* y *Aeromonas hydrophila*) son psicotrópicos y pueden crecer a temperaturas usadas para almacenar productos recién cortados.
- La mayor vida útil (10-14 días) que es posible debido a un buen control de la temperatura y un envase sofisticado, puede proporcionar tiempo suficiente para el crecimiento del patógeno.

- Las atmósferas modificadas suprimen el crecimiento de organismos deteriorantes, pero ciertos patógenos (*Listeria monocytogenes*) sobreviven y pueden prosperar en estas condiciones.
- A diferencia de las frutas y verduras tradicionalmente procesadas (enlatadas y congeladas), los productos de corte fresco se consumen crudos"

(Lamikanra, 2002)

Orígenes de la contaminación de frutas y hortalizas

Suelo

Es el ambiente natural de una variedad de microorganismos patógenos incluyendo *B. cereus*, *Clostridium botulinum, Clostridium perfringens y Listeria monocytogenes* **(Olaimat, 2012)**. Se ha reportado que el periodo máxima se sobrevivencia en suelo de E.coliO157:H7 y Salmonella es de 7 a 25 semanas dependiendo del tipo del suelo, humedad, temperatura y fuente de contaminación.**(Erickson *et al.*, 2010)**

Los suelos que contienen estiércol como fertilizante son contaminantes de patógenos entéricos debido a su habilidad de sobrevivir en el suelo por meses e incluso años. La materia fecal suele contener entre 102 y 105 UFC/g de *Escherichia coli* y 102 y 107 UFC/g de *Salmonella spp*. El estiércol de los rumiantes (ganado, ovejas) es considerada la fuente principal de *Salmonella* y *Ecoli* O157:H7.**(Warriner *et al.*, 2009)**

Animales

Para la mayoría de los patógenos transmisibles por estos productos, la fuente de contaminación más frecuente es la materia fecal humana y de animales. Como fuente de contaminación animal de las frutas y hortalizas se incluye la materia fecal de animales domésticos, de crianza, silvestres e insectos.

Algunos patógenos, incluyendo *Listeria monocytogenes, Salmonella* y *Escherichia coli* pueden ser transmitidos a las frutas y hortalizas por el uso de agua contaminada, y materia fecal de animales que son usados como abono.

Contaminación humana

Los trabajadores también pueden tener un papel decisivo en la contaminación de las frutas y hortalizas desde su cultivo, cosecha y todas aquellas etapas ulteriores hasta su preparación en las cocinas y fábricas procesadoras. En el año 2004, se realizó un estudio para analizar las fuentes de contaminación y se clasificaron como factores de contaminación por "post-producción" en la que se incluyen manejo inapropiado en los servicios de alimento y factores de "productor "que fueron atribuidas por empacado, distribución y otras operaciones post-cosecha **(Sapers *et al.*, 2006)**. El 83% de las enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas fueron atribuidas al factor de productor y el 17% de los casos se asocian a las operaciones pos cosecha. (Ilustración 2)

Agua

La calidad del agua de irrigación y el tipo de sistema de irrigación son factores que influencian la seguridad microbiológica de las frutas y hortalizas.

El riego por inundación y la irrigación por aspersión representan el mayor riesgo debido a que el agua contaminada puede depositarse directamente en las hojas del producto. El alto costo y la falta de disponibilidad de agua potable pueden conducir a que en algunas regiones se haga uso de agua no potable (aguas negras o residuales) para la irrigación de frutas y hortalizas. En el 2011, Gemmell y Schmidt estudiaron a calidad microbiológica del agua usada de un río para la irrigación de frutas y hortalizas en África, encontrando que el número total de coliformes y *Escherichia coli* alcanzaban los 6 Log y 5.5 NMP/100ml, respectivamente. **(Cadena Moreno, 2014)**

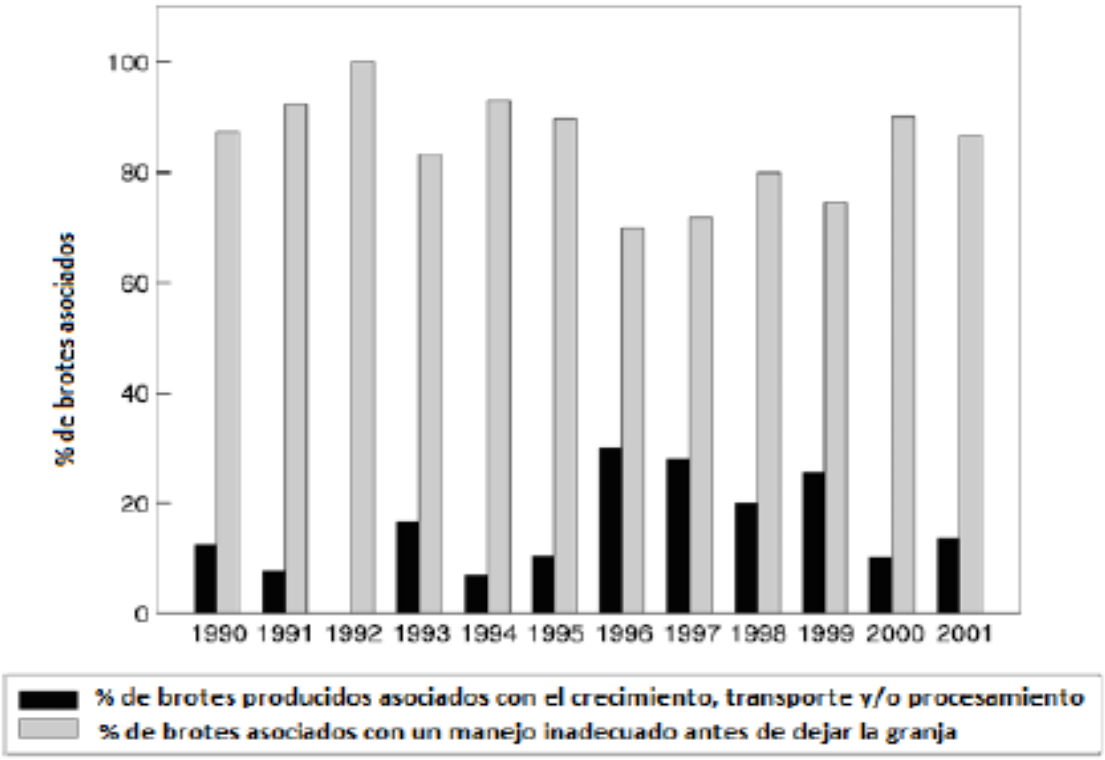


Ilustración 2: Factores a los que se asocian los brotes de enfermedades por consumo de frutas y hortalizas.

(Cadena Moreno, 2014)

Agua de enfriamiento y lavado

Toda el agua que entra en contacto con el producto para blanqueado, lavado o hidro enfriado, debe tener una calidad microbiológica lo suficientemente aceptable para prevenir la contaminación. El

agua que recircula en el proceso, deberá tener cantidades suficientes del agente desinfectante para prevenir la contaminación cruzada.

Factores que afectan el grado de contaminación

Temperaturas de transporte

Las frutas y hortalizas procesadas son transportadas en vehículos con sistema de control de temperatura. De esta manera, se mantienen los productos que son susceptibles a una temperatura apropiada hacia su destino, lo que permitirá que la vida de almacén se alargue más. Las frutas y hortalizas deben mantenerse a una temperatura por debajo de los 5ºC, la tasa de crecimiento de los microorganismos se ve reducida incluyendo los patógenos humanos. Sin embargo, condiciones de bajas temperaturas y una alta humedad relativa pueden actuar en favor de la viabilidad de algunos microorganismos patógenos como las partículas virales **(Sapers et al., 2006)**

Irregularidades de la superficie

Lavar las frutas y hortalizas con agua remueve algunos microorganismos, pero algunos quedan atrapados en huecos entre la unión de las células de la epidermis y los pliegues, estos tienen la característica de ser hidrofóbicas debido a la cera que se encuentra presente en la superficie, y sirven de escondites que no permiten el acceso a las soluciones acuosas, por lo que los microorganismos no se ven afectados **(Gómez-López *et al.*, 2008)**

Heridas

Los tejidos internos del producto fresco son virtualmente estériles y normalmente se encuentran protegidos de los microorganismos por una piel externa y cáscaras recubiertas de cera. Sin embargo, el procesamiento de frutas y hortalizas como el cortado o rebanado destruye la estructura del alimento o la barrera física, permitiendo la liberación de los nutrientes, de esa manera, la producción de etileno, la actividad respiratoria, el oscurecimiento enzimático y no enzimático se ven acelerados. Pero sobre todo se estimula el crecimiento de microorganismos, incluyendo los patógenos. La calidad de las frutas y hortalizas se ve afectada y también la vida de almacenamiento. **(Sapers *et al.*, 2006; Artés *et al.*, 2009; Graça *et al.*, 2011)**

La exposición de áreas con heridas debidas al proceso de cortado y rebanado, incrementa el área de la superficie para la adhesión microbiana, lo que a su vez incrementa la posibilidad de sobrevivencia de los microorganismos. Estas heridas presentes en la superficie del alimento introducen material orgánico en el agua de lavado y disminuye la eficacia de los sanitizantes.**(Gómez-López *et al.*, 2008)**

Internalización

Los microorganismos incluidos en el tejido de las plantas se denominan "internalizados". Los mismos no pueden ser removidos por lavado, debido a que están protegidos del estrés ambiental y no pueden ser inactivados por contacto con agentes desinfectantes. En el interior de la planta, la mayoría de los microorganismos (epifitos y endófitos) se encuentran localizados en los espacios intercelulares, donde infectan la célula hospedera sin causar daño aparente. **(Gómez-López *et al.*, 2008)**

La internalización puede presentarse de manera natural o pasiva antes de la cosecha o puede presentarse durante el procesamiento de las frutas y hortalizas de manera activa. Durante el proceso activo, los microorganismos crecen en la superficie del fruto o vegetal e ingresan al interior del alimento a través de estomas o heridas. La internalización pasiva implica el transporte del microorganismo al interior debido al contacto con algún objeto que infrinja una herida o por la penetración a través de aperturas debido a un diferencial de temperatura negativo.

La internalización de los microorganismos ocurre durante el empacado y el procesamiento de los alimentos. Cuando una fruta u hortaliza se encuentra con una temperatura superior a la normal, el espacio interno se llena de aire, y cuando este producto es colocado en agua fría, el gas interno se enfría y se contrae generando un vacío parcial que permite que el agua y cualquier microorganismo puedan transportarse al interior del producto a través de los poros, canales o punciones en el alimento **(Sapers e G.M, 2001; Sapers *et al.*, 2006; Gil, M. I. *et al.*, 2009)**

Biofilms

Aproximadamente el 80% de las infecciones bacterianas persistentes en los Estados Unidos se encuentran asociadas a biofilms. Existen varios mecanismos por los cuales ocurre una interacción inicial para que se dé lugar de manera exitosa la colonización del alimento.

Cualquier superficie es vulnerable al desarrollo de biofilms, desde plástico, vidrio, metal, madera y superficie de los alimentos. La adhesión a la superficie depende de las propiedades fisicoquímicas de la superficie como la textura, carga de la superficie, hidrofobicidad, pH, temperatura y la presencia de nutrientes. El segundo paso involucra la síntesis de fibrillas de celulosa o de exo polímero extracelular que mantiene unida a la bacteria al sitio de infección y funcionan como una barrera física responsable de que los agentes antimicrobianos no penetren al interior retardando su difusión. Otro factor que interviene en la adhesión, es la presencia de fimbrias y pillis que interactúan con la membrana celular **(Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2013) (Srey e Kabir, 2013)**

La habilidad de los microorganismos patógenos de adherirse a un producto fresco como las frutas y hortalizas, depende de factores intrínsecos y extrínsecos incluyendo su movilidad, su interacción con otros microorganismos y su capacidad para absorber nutrientes de la planta. La movilidad es un

factor importante que contribuye a la infiltración del patógeno permitiendo la entrada a través de heridas, estomas y otras entradas. Algunas bacterias como Escherichia coli O157:H7 posee mecanismos, como quimiotaxis, movilidad y quorum sensing (comunicación celular), que los dirige hacia los estomas. Algunos estudios han demostrado que la adhesión en las hojas de la lechuga y espinacas, *Escherichia coli* entero toxigénica usa flagelos y *Escherichia coli* entero agregativa usa fimbrias agregativas de adhesión, que comúnmente son usados para la adhesión de este microorganismo patógeno en la mucosa intestinal humana. En el caso de *Salmonella*, éste puede utilizar flagelos que permite el desplazamiento en la superficie de los productos en fresco y contribuye a la colonización exitosa de regiones dañadas de la superficie.

Las áreas más comunes en la planta donde hay agregación bacteriana son los tricomas, alrededor de los estomas y a lo largo de las venas de las hojas, estas regiones tienen una alta mojabilidad que promueve la disponibilidad del agua y la absorción de nutrientes que sostiene el crecimiento microbiano. Algunos estudios encontraron que *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* entérica crecen y el número incrementa a 7 Log UFC/g cuando hay 100% humedad. Otros estudios demuestran que vegetales intactos como la lechuga, tomates, endivias, zanahoria, col, espárrago, brócoli y coliflor promueven el desarrollo y crecimiento de *Listeria monocytogenes*. En adición, los tejidos dañados proporcionan protección de tratamientos pos cosecha, lo que los hace más difícil de remover e inactivar.**(Olaimat e Holley, 2012)**

Microorganismos de interés asociados a frutas y hortalizas frescas.

En el 2003, Harris et al., reportaron los microorganismos patógenos relacionados con enfermedades transmisibles por frutas y hortalizas. Estos microorganismos pueden ser categorizados como sigue:

> Microorganismos asociados al suelo: *Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum*.

> Microorganismos asociados a materia fecal: *Salmonella spp., Shigella spp., E. coli* O157:H7.

> Parásitos patógenos: *Cryptosporidium, Cyclospora*.

> Virus patógenos: Hepatitis A, enterovirus, virus Nonwalk.

Muchos de estos microorganismos patógenos pueden contaminar las frutas y hortalizas por vía humana (o animal). El manejo de frutas y hortalizas por parte de trabajadores o consumidores infectados, la contaminación cruzada, el uso de agua contaminada, el uso inadecuado de estiércol como fertilizante o el contacto con el suelo, puede causar la contaminación de los alimentos.**(Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2013)**

Escherichia coli

Escherichia coli es parte de la micro flora natural del tracto intestinal de humanos y animales de sangre caliente. Sin embargo, también hay cepas capaces de causar enfermedad gastrointestinal en

los seres humanos. Estas cepas se agrupan como las cepas entero toxigénicas, entero hemorrágicas, entero patógenas y entero invasoras de *Escherichia coli*.**(Doyle *et al.*, 1997)**

La *Escherichia coli* entero toxigénica causa diarrea del viajero, y los productos contaminados pueden ser una fuente de este organismo. Del mismo modo, la *Escherichia coli* entero patógena causa síntomas de gastroenteritis en adultos y niños, y *Escherichia coli* entero invasiva invade el tejido epitelial que recubre el colon, lo que da lugar a la aparición de diarrea sanguinolenta. *Escherichia coli* entero hemorrágica es probablemente la más peligrosa para los seres humanos. Se ha demostrado que la dosis infecciosa de este organismo puede ser tan baja como dos células en 25 g de alimento y ahora se cree que la dosis infecciosa es menor que 100 células / g de alimento. Aunque la patogenicidad no se entiende completamente, produce una serie de verotoxinas (citotoxinas a las células de riñón de mono verde africano), dependiendo de la cepa y entero hemolisina. Los signos más graves se observan en los ancianos y en los niños. Causa colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (usualmente en niños) y púrpura trombocitopénica (en adultos). Las muertes se han reportado principalmente en los ancianos. **(Doyle et al., 1997)**

Los productos frescos pueden contaminarse con cualquiera de estos organismos a través del contacto con excrementos de animales contaminados, particularmente de rumiantes, o de fertilizantes orgánicos, como el estiércol sin compostar. Otras fuentes potenciales de contaminación son el agua utilizada, las manos de los trabajadores y la contaminación del viento y el polvo.

La *Escherichia coli* O157: H7 entero hemorrágica ha sido reconocida como patógeno relacionado con la alimentación y ha sido responsable de incidentes vinculados a una amplia gama de alimentos, incluyendo productos frescos.

Este organismo puede crecer en frutas procesadas como la sandía y el melón, lechugas cortadas, pepinos en rodajas y brotes. El organismo puede crecer a temperaturas de alrededor de 7-8 ° C y se ha demostrado que sobreviven bajo condiciones ácidas en jugo de manzana a esta temperatura durante hasta 12 días.

Fluctuaciones en las temperaturas de manipulación y almacenamiento de los productos recién cortados en frutas como el melón, pueden proporcionar la oportunidad para que este organismo sobreviva, creando un riesgo para la salud pública. Es de cierta preocupación que la mayoría de las investigaciones sobre supervivencia, detección y enumeración de *Escherichia coli* entero hemorrágica se ha centrado en un solo serotipo, O157: H7. Otros serotipos, incluyendo O111: NM, O26: H11 y O26: HNM también están frecuentemente implicados en brotes de enfermedad, sin embargo, hay poca evidencia para documentar su incidencia en los alimentos. **(Lamikanra, 2002)**

Shigella

El género *Shigella* está estrechamente relacionado con *Escherichia coli*. El género se divide en cuatro especies: *Shigella dysenteriae, Shigella sonnei, Shigella flexneri y Shigella boydii*, todas las cuales

pueden causar shigelosis o disentería bacilar en seres humanos. Serovares invasivos de *Shigella dysenteriae* producen una citotoxina llamada toxina Shiga. Los serovares no invasivos y otras especies de Shigella producen sólo niveles bajos de citotoxicidad y muestran actividad endo tóxica y neurotóxica. Los brotes de shigelosis están generalmente relacionados con el agua de alimentos contaminados con heces humanas.

Así, los productos frescos pueden contaminarse mediante el uso de agua de riego contaminada, el uso de aguas residuales crudas como fertilizantes, transferencia de insectos o contacto humano. Las especies de *Shigella* pueden sobrevivir en lechugas cortadas bajo refrigeración hasta por tres días sin disminución de poblaciones y también pueden sobrevivir en frutas en rodajas, incluyendo sandía y papaya cruda. Las frutas y hortalizas procesadas han estado implicadas en varios brotes de shigelosis. **(Lamikanra, 2002)**

Salmonella spp.

Salmonella es un bacilo Gram negativo, perteneciente a la familia de Enterobacteriaceae, es una bacteria parásita intestinal de los animales, incluido el hombre. Se libera al medio cuando es expulsada a través de la materia fecal y muestra capacidad de supervivencia en los materiales con los que entra en contacto y bajo condiciones favorables puede multiplicarse en ellos.

La mayoría de casos de salmonelosis se atribuyen al consumo de productos de aves, sin embargo, se ha incrementado el número de enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas frescas, como tomates, melón, lechuga y mangos.

Los brotes de *Salmonella* debido al consumo de estos alimentos sugiere una contaminación previa a la producción, como en el campo o en la planta procesadora.

De manera natural, las frutas y hortalizas frescas pueden contaminarse con *Salmonella* a partir del contacto directo o indirecto con materia fecal animal o humana, las condiciones higiénicas en la producción, cosecha, transporte, distribución facilitan su contaminación. Se le puede detectar en cereales, frutas y hortalizas e incluso en especias y granos de cocoa, en ambos casos, se relacionan con brotes de salmonelosis. Las hortalizas de tierras que son regadas con aguas contaminadas, cercanas a animales, o abonadas con materia fecal de animales suelen estar contaminados con patógenos intestinales incluida a *Salmonella*.

Las frutas y hortalizas frescas son asociados a brotes de salmonelosis y se registraron tres brotes en 1992, 1993 y 2000, donde el vehículo del microorganismo fue el tomate y se aseguró que el microorganismo puede crecer en tomates dañados, picado y rebanado. **(Lamikanra, 2002)**

La contaminación por *Salmonella* puede ocurrir por internalización o por adhesión en la superficie externa del tomate y la población bacteriana puede incrementarse con el tiempo, dependiendo de las condiciones ambientales. Y una vez contaminado, puede resultar difícil limpiar la superficie, debido a que la eficiencia de los agentes sanitizantes como el cloro, depende del lugar donde se

encuentre *Salmonella*, ya que ésta sobrevive mejor en grietas de la piel que en superficies lisas. La internalización de los microorganismos dificulta los tratamientos sanitizantes debido a que los patógenos se encuentran físicamente protegidos de los agentes químicos.**(Cadena Moreno, 2014)**

Listeria monocytogenes

El control de *Listeria monocytogenes* es un gran reto en la industria de alimentos procesados, especialmente en aquellas que producen productos listos para consumir. *Listeria monocytogenes* es un patógeno con la capacidad de adherirse y crecer en superficies frías y húmedas que son ideales para la formación de biofilms como el acero inoxidable, plástico, superficies de policarbonato y otros materiales como superficies de alimentos. Comparado con otros patógenos, *Listeria monocytogenes* es único en la resistencia que presenta a las condiciones adversas que normalmente impiden el crecimiento de otras bacterias. Por lo que el crecimiento de este microorganismo en alimentos reviste especial importancia por los aspectos ligados a la vida útil de los productos y a la salud del consumidor.

Puede reconocerse que *Listeria monocytogenes* es un patógeno oportunista y es el causante de provocar listeriosis en individuos entre los que se incluyen las personas de tercera edad, las mujeres embarazadas, los recién nacidos y las personas inmunocomprometidas como las que se encuentran enfermas de SIDA.

Listeria monocytogenes puede encontrarse en una gran variedad de alimentos procesados y crudos. Alimentos como la leche, productos lácteos, carne porcina y vacuna, salchichas y productos frescos como los garbanzos, coliflor y pescado han sido asociados a la contaminación con Listeria.

Listeria monocytogenes presenta un carácter halo tolerante pues crece en medios con una concentración de 10% NaCl. Una cualidad predominante del microorganismo es su notable potencial psicrótrofo. Los límites de temperatura para el crecimiento son inusualmente amplios con un rango entre 2ºC y 45ºC, con óptima entre 30ºC y 37ºC. **(Cadena Moreno, 2014)**

Este microorganismo entra a la cadena de procesamiento de las frutas y hortalizas desde la granja debido al ambiente de procesamiento. Se encuentra presente en el tracto intestinal de los animales y humanos, y se encuentra ampliamente distribuido en el suelo y en agua residuales y puede diseminarse en las granjas por la materia fecal de los animales. Si este microorganismo llega a contaminar el ambiente de procesamiento, puede llegar a colonizar las superficies de los equipos, sobreviviendo en el suelo y paredes e incluso en hendiduras de los equipos formando biofilms. Se encuentra ampliamente distribuido en frutas y hortalizas frescas. Ha sido aislado en diferentes productos como en ensaladas, hojas de lechuga, pepino y frutas rebanadas, así como en tomate y melón. La mayoría de los reportes de listeriosis son asociados al consumo de frutas y hortalizas frescas, como espárrago, brócoli, col y coliflor que son almacenados a 4ºC.**(Lamikanra, 2002; Cadena Moreno, 2014)**

Bacterias formadoras de esporas

Los patógenos formadores de esporas como *Clostridium perfringens, Clostridium botulinum y Bacillus cereus* se pueden aislar del suelo y se han aislado de verduras frescas y mínimamente procesadas y de brotes vegetales de semillas crudas. *Clostridium botulinum* produce neuro toxinas potentes que producen una serie de síntomas en los seres humanos, incluyendo náuseas, diarrea y vómitos y síntomas neurológicos como visión borrosa, pupilas dilatadas, parálisis de los nervios motores, pérdida de funciones normales de la boca y garganta, falta de coordinación muscular y otras complicaciones, y posible muerte. Las condiciones atmosféricas modificadas favorecen el desarrollo del organismo y, aunque no se ha detectado la producción de toxinas en los vegetales almacenados a temperaturas de refrigeración, se debe tener cuidado para evitar aumentos de temperatura, para prevenir la germinación de esporas, el crecimiento de células vegetativas y la producción de toxinas. *Clostridium perfringens y Bacillus cereus* producen entero toxinas responsables de producir cólicos abdominales y diarrea. También existe una cepa emética de *Bacillus cereus* que causa un inicio rápido de la enfermedad caracterizada por náuseas y vómitos agudos, pero generalmente no causa diarrea. Las células de *Clostridium perfringens* mueren a temperaturas inferiores a 10 ° C, pero pueden crecer a 15 ° C. El riesgo para la salud pública se produce si los productos contaminados con estos organismos se manipulan de tal manera que permitan la germinación de esporas y la proliferación de la célula vegetativa, por ejemplo, cuando se producen fluctuaciones de temperatura durante la manipulación, transporte y venta al por menor del producto terminado. Las cepas psicrotróficas de Bacillus cereus han sido aisladas de los alimentos y pueden representar un riesgo para la salud pública si están presentes en productos refrigerados frescos.**(Lamikanra, 2002)**

Enfermedades relacionadas con el consumo de frutas y hortalizas.

Las enfermedades transmitidas por alimentos son un tema muy importante a nivel mundial en términos del número de personas que son afectadas y del costo económico que causan. Los cambios en el consumo de alimentos y dieta de las personas, el incremento en la susceptibilidad de los consumidores ha incrementado el número de brotes relacionado con el consumo de alimentos. El centro de prevención y control de enfermedades (CDC, USA) reporta brotes ocasionados por microorganismos patógenos asociados a productos en fresco, así como ensalada de frutas, frutas mixtas, fresas y moras. En el 2004, estos microorganismos patógenos causaron 16058 enfermedades, 598 hospitalizaciones y 8 muertes. Y las pérdidas económicas que debidas a las enfermedades están estimadas en 12.7 billones de dólares por año Por otro lado, la CDC en el año de 2011 presenta una estimación más actual, en la que se reportan 48 millones de personas enfermas, 128000 hospitalizaciones y 3000 muertes cada año, de las cuales 14.8% son asociados

con frutas y hortalizas frescas, los alimentos procesados que incluyen ensaladas, frutas y hortalizas se relacionan con 345, 228 enfermedades.

En la Ilustración 3 se muestra la cantidad de incidentes y casos de enfermedad relacionados con el consumo de alimentos en USA. **(Olaimat e Holley, 2012)**

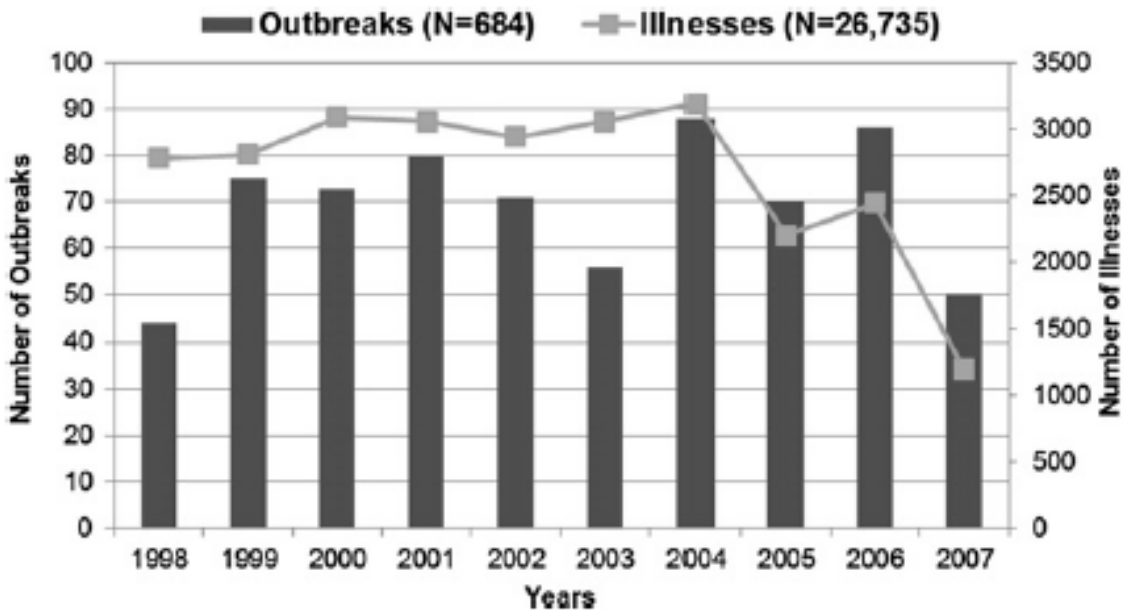


Ilustración 3: Cantidad de incidentes y casos de enfermedad atribuidos a frutas y hortalizas de 1998 a 2007 en USA.

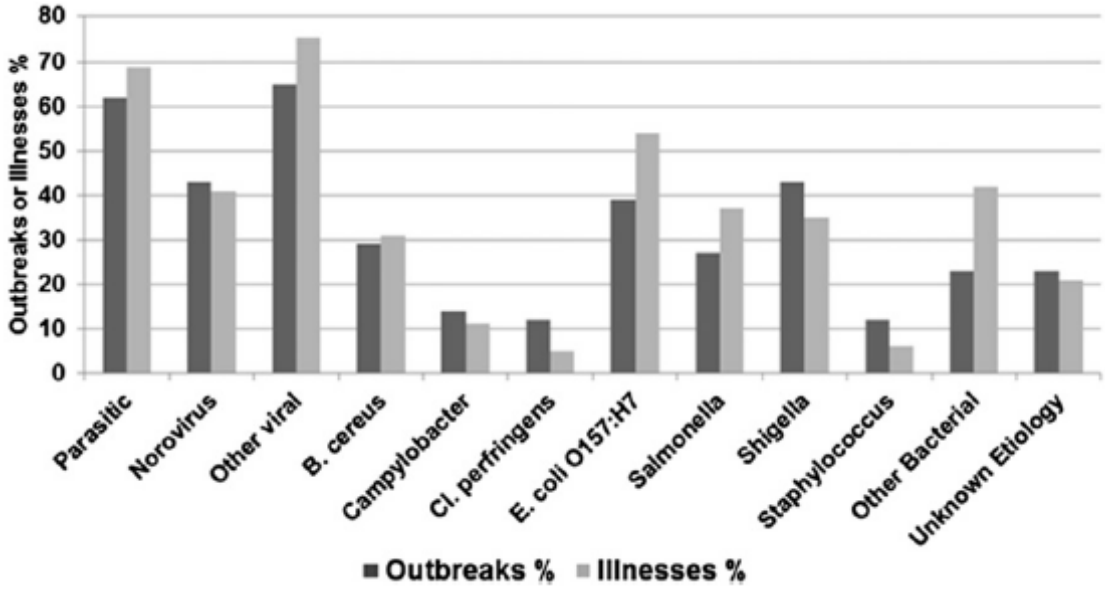


Ilustración 4: Porcentaje de Incidentes y casos de enfermedad debidos a diferentes patógenos en USA

Información complementaria

Crecimiento y medición de poblaciones bacterianas:

Las bacterias crecen siguiendo una progresión geométrica en la que el número de individuos se duplica al cabo de un tiempo determinado denominado tiempo de generación **(τ)**. De esta forma, podemos calcular el número de bacterias (N) al cabo de un número de generaciones **(n)** usando la ecuación siguiente:

$$\mathbf{N = N_0\, 2^n}$$

N_0 es el número de células en el momento actual.

El número de generaciones **(n)** se puede calcular de la siguiente forma: $\mathbf{n = t / \tau}$ donde t es el tiempo transcurrido.

Los tiempos de generación de bacterias creciendo en ambientes favorables pueden ser muy cortos (valores de **τ** de 20 min). Esto lleva a que una única célula ($\mathbf{N_0} = 1$) creciendo con un **τ** = 20 min, llegue a poder producir 4.7×10^{21} células en 24 horas.

Por este motivo el desarrollo bacteriano se mide en $\log_{10}$ a fin de expresarlo en cifras manejables.

UFC	Log_{10}
100	2
1000	3
10000	4
100000	5
1000000	6
10000000	7
100000000	8

Ilustración 5. Relación UFC y Log_{10}

Si la bacteria crece en un medio líquido, las células que se producen en cada división continúan su vida independientemente en la mayoría de los casos formando una suspensión de células libres. Cuando una célula aislada comienza a crecer sobre un substrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una colonia. Se denomina unidad formadora de colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas y produce una colonia en un breve lapso de tiempo. Una UFC también puede corresponder a más de una célula cuando éstas forman parte de grupos unidos fuertemente (estreptococos o diplococos, por ejemplo) ya que cada grupo formará una sola colonia.

Criterios de aceptación microbiológica según el Código Alimentario Argentino:

"Se entiende por comida preparada lista para consumo, la elaboración culinaria resultado de la preparación con o sin cocción de uno o varios productos alimenticios de origen animal o vegetal, con o sin adición de otras sustancias autorizadas para el consumo"

Para éste grupo de productos alimenticios se aplican los criterios de aceptación microbiológica expresados en la siguiente tabla.

Parámetro	Criterio de aceptación	Metodología [1]
Recuento de Enterobacterias[2] (UFC/g)	n=5, c=2, m=10^3, M=10^4	ISO 21528-2:2004 ICMSF
Recuento de *E. coli* (NMP/g)	n=5, c=0, m<3	ISO 16649-3:2005 ICMSF (método 1) BAM-FDA:2002 (método 1)
Recuento de Estafilococos coagulasa positiva (NMP/g)	n=5, c=1, m=10^2, M=10^3	ISO 6888-3:1999 ICMSF
Salmonella spp.	n=5, c=0, Ausencia en 25 g	ISO 6579:2002, Co: 2004 BAM-FDA:2011 USDA-FSIS:2011
Listeria monocytogenes	n=5, c=0, Ausencia en 25 g	ISO 11290-1:1996, Amd:2004 BAM-FDA:2011 USDA-FSIS:2009
Recuento de *Clostridium perfringens* [3] (UFC/g)	n=5, c=1, m=10^2, M=10^3	ISO 7937:2004
Recuento de presuntos *Bacillus cereus* [4] (UFC/g)	n=5, c=1, m=10^2, M=10^3	ISO 7932:2004
E. coli O157:H7/NM [5]	n=5, c=0, Ausencia en 65 g	USDA-FSIS:2010 ISO 16654:2001 BAM-FDA:2011
E. coli no O157 [5] [6]	n=5, c=0, Ausencia en 65g	ISO 13136: 2012 BAM-FDA:2014

Ilustración 6. Criterios de aceptación microbiológica

Donde:
n: número de unidades que componen la muestra.
c: número de unidades de la muestra que pueden dar valores entre m y M.
m: valor umbral del número de UFC; el resultado se considera satisfactorio si todas las unidades de que se compone la muestra tienen un número de bacteria igual o menor que m.
M: valor límite del número de UFC; el resultado se considerará no satisfactorio si una o varias unidades de las que componen la muestra tienen un número de UFC igual o mayor que M.
(Código Alimentario Argentino)

Procesado de vegetales

Etapas del proceso productivo

(Parzanese, 2012) describe : Si bien los procesos de producción dependen de la materia prima y del producto final que se desee obtener, es posible describir un esquema general que enuncie las principales etapas, y las operaciones realizadas en la mayoría de los procesos de elaboración de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

Es conveniente que los establecimientos procesadores de alimentos dispongan de un diagrama de proceso, donde se detallen cada una de las operaciones que se realizan desde la entrada de la materia prima hasta la comercialización del producto final. Para garantizar la calidad e inocuidad de

los productos, es fundamental conocer cuál es la forma correcta de llevar a cabo cada una de las distintas etapas.

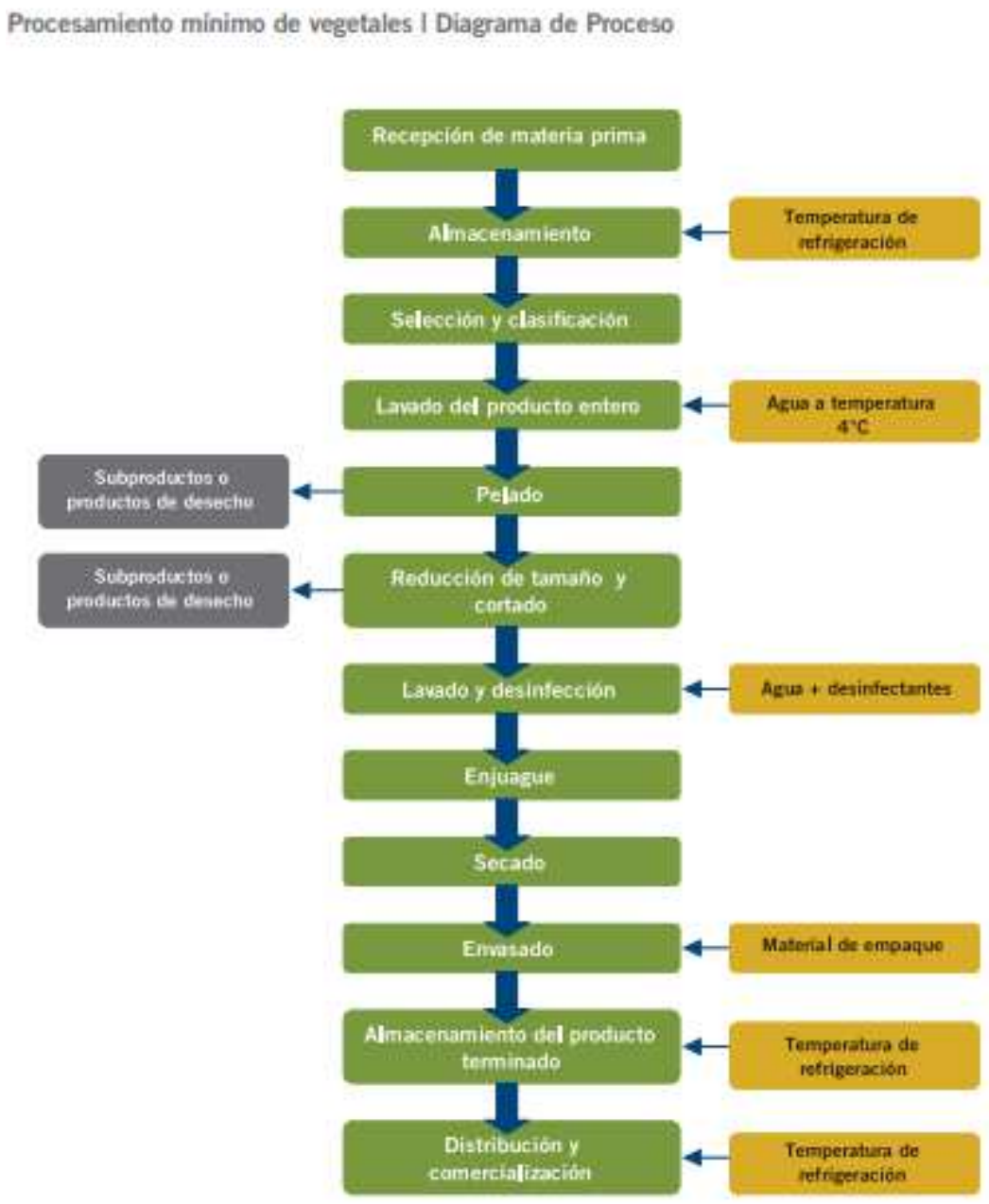


Ilustración 7: Procesamiento de vegetales

Recepción de materia prima.

En esta etapa es fundamental realizar una inspección visual para controlar características como color, olor, textura, temperatura de llegada, y otras. Es recomendable efectuar una evaluación y

control de los proveedores para garantizar que la materia prima fue producida y recolectada en forma adecuada y respetando períodos de carencia.

Asegurar la calidad óptima de la materia prima es fundamental en la elaboración de VMP.

Almacenamiento.

Cuando hay que almacenar la materia prima durante un período prolongado (mayor a un día) antes de su transformación, es necesario hacerlo a temperaturas de refrigeración. Dependiendo de cada producto, esa temperatura de almacenamiento debería estar entre los siguientes rangos: -1 a 6°C, de 6 a 13°C o 13 a 18 °C. **(Parzanese, 2012)**

Selección y clasificación.

El objetivo de esta operación es obtener un producto final que cumpla con un estándar de calidad uniforme al momento de su comercialización. Consiste en realizar una selección y clasificación relacionadas con diversos factores: tamaño, forma, color, firmeza, magulladuras, superficies cortadas, alteración y solidez.

Lavado.

Para eliminar la suciedad, restos de tierra, contaminantes físicos y en reducir la carga microbiana mediante la utilización de agua. Esta operación puede realizarse en forma manual o mecánica. Este es el primer lavado que se realiza en el proceso y tiene como objetivo separar y eliminar las sustancias extrañas eventualmente presentes en las frutas u hortalizas o en los cestos o bins de recolección y transporte (ramitas, estacas, insectos, arena, tierra, etc.). En algunos casos resulta efectivo realizar operaciones de separación mediante gravedad, flotación, escurrido o inmersión. Es recomendable que la temperatura del agua sea de 4°C aproximadamente para mantener el producto frío. **(Parzanese, 2012)**

Pelado.

Consiste en separar la corteza o piel del vegetal.

Es importante que durante el pelado el producto no sufra daños físicos ni químicos. Se describen tres tipos de pelado que pueden implementarse en la elaboración de VMP, sin causar deterioro en las características sensoriales. Pelado al vapor, Pelado a cuchillo, Pelado por abrasión.

Reducción de tamaño y cortado.

Son operaciones dirigidas a dar forma y tamaño definido a las frutas y hortalizas. Es importante recordar que el cortado causa daños mecánicos y modificaciones metabólicas y fisiológicas que a su vez pueden ocasionar el rápido deterioro del tejido vegetal. Por esto es necesario enfriar el producto hasta 4°C inmediatamente después del cortado. En la actualidad se comercializan distintos tipos de cortadoras automáticas en continuo o semi continuo, que satisfacen las distintas necesidades de

esta industria, según la fruta o vegetal y el tipo de corte que se desee obtener (cubos, rodajas, tiras, rallado, etc.). **(Parzanese, 2012)**

Lavado y desinfección.

Es una etapa crítica del proceso, ya que su resultado influye directamente en la inocuidad y vida útil del producto final. Su objetivo es enfriar los vegetales luego de la etapa de corte y eliminar los exudados celulares que se producen tras esa operación y que pueden favorecer el crecimiento microbiano, por lo que se emplea abundante agua clorada.

El cloro y sus derivados son desinfectantes muy efectivos, tanto para la higienización del producto como para desinfectar el agua empleada en el proceso. En los últimos años se han desarrollado nuevos sistemas de desinfección y agentes desinfectantes para procesamiento de VMP, que son resultado de distintos trabajos de investigación y como alternativa al uso de cloro y sus derivados. Pueden mencionarse al respecto los tratamientos no térmicos como los ultrasonidos, la luz UV-C, la radiación ionizante; o el empleo de otros agentes químicos desinfectantes como el ácido peroxiacético, el ozono, ácidos orgánicos, entre otros.

Es importante destacar que, aunque no presentan las mismas desventajas que el uso del cloro, todos ellos tienen grandes dificultades para resultar efectivos en el lavado y desinfección de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, por lo que el cloro continúa siendo la alternativa más eficaz. Por ello debe enfatizarse la importancia de establecer condiciones óptimas de control y dosificación a fin de maximizar la eficacia y reducir los efectos adversos de este compuesto, como el riesgo medioambiental asociado al vertido de agua y posibles efectos negativos para la salud debidos a la formación de compuestos cancerígenos originados por la reacción del cloro con la materia orgánica presente en el agua.

En la selección de un sistema de lavado y desinfección adecuado es necesario tener en cuenta numerosos factores:

- Parámetros físico-químicos del agua de lavado tales como pH, temperatura, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, turbidez, contenido de materia orgánica, etc.
- Tipo de vegetal a procesar. Específicamente las características que tiene la superficie del producto (roturas, hendiduras, tipo de tejido, hojas internas o externas, etc.).
- Forma de aplicación de los desinfectantes (lavado por inmersión con o sin agitación, spray, etc.).
- Tiempo de contacto.
- Carga microbiana inicial.
- Aplicación de una o varias etapas de lavado.
- Relación entre peso y superficie del producto.

Un sistema de desinfección resulta efectivo cuando es capaz de mantener un nivel residual del agente desinfectante a la salida del tanque de lavado que garantice la presencia necesaria de

desinfectante en el agua, previniendo así la contaminación cruzada entre producto contaminado y producto limpio.

Es esencial tener en cuenta que utilizar agentes desinfectantes es necesario para asegurar la calidad microbiológica del vegetal lavado y del agua de proceso.

Para obtener mejores resultados se recomienda incluir una etapa de prelavado en forma de ducha que elimine la suciedad y los exudados celulares, y luego una etapa de desinfección por inmersión donde se aplique el desinfectante. **(Parzanese, 2012)**

Enjuague.

Esta etapa se efectúa dependiendo del agente desinfectante utilizado, a fin de eliminar residuos de la superficie del producto. Para mantener fríos los vegetales la operación debe realizarse con agua de proceso a temperaturas próximas a los 4°C.

Secado.

Operación esencial para garantizar un tiempo de vida útil aceptable de los productos. Dependiendo de las características del vegetal y del volumen de producción puede realizarse un secado centrífugo, o un secado convectivo por aire frío seco.

Envasado.

Está destinado a proteger el producto terminado de daños físicos, químicos o microbiológicos durante su almacenamiento, distribución y comercialización.

Debido a que los vegetales continúan respirando, dentro del envase se producirá una disminución en el contenido de O_2 y un aumento del de CO_2, lo que puede ocasionar un rápido deterioro del producto.

Para evitarlo puede utilizarse la tecnología de envasado en atmósfera modificada, que consiste en reemplazar el aire atmosférico por una mezcla de gases, generalmente N_2, O_2 y CO_2. Esto permite reducir la velocidad de respiración, la actividad metabólica, la pérdida de humedad del producto y la prevención del crecimiento de microorganismos. **(Parzanese, 2012)**

Almacenamiento del producto terminado.

Es fundamental que el depósito donde se almacenan los VMP posea óptimas condiciones de limpieza e higiene y cuente con un sistema de refrigeración que evite el deterioro del producto.

Distribución y comercialización.

En esta etapa, al igual que durante el almacenamiento, se debe garantizar la integridad de la cadena de frío. Si esto no se cumple el producto perderá calidad y tendrá menor vida útil.**(Parzanese, 2012)**

Desinfección de frutas y hortalizas.

A la vista de todo lo hasta aquí expuesto, resulta clara la necesidad de reducir la contaminación de frutas y verduras en las etapas de cultivo, cosecha y transporte. Para ello se deben seguir los lineamientos de las Buenas Prácticas Agrícolas, extremando las medidas de higiene y capacitación de los trabajadores, evitando la contaminación proveniente de la utilización de abonos orgánicos o del agua de riego, y realizando un buen tratamiento pos cosecha.

Un producto con una baja tasa de contaminación debe ser recibido en las plantas de procesamiento, pero eso no es suficiente para asegurar la inocuidad de los alimentos.

Uno de los mayores desafíos de la industria de los alimentos, es el control de la contaminación microbiana para satisfacer la demanda del consumidor al proporcionar productos de calidad.

El proceso de desinfección se refiere a la destrucción física de los microorganismos cuya actividad compromete la inocuidad de los alimentos. La eficacia de este proceso depende de cuatro factores: los microorganismos (tipo y número), el sustrato sobre el cual se encuentran (presencia de materia orgánica), la estructura del material (que permita el acceso directo del germicida a los microorganismos) y el germicida (concentración, tiempo de contacto y temperatura).

La susceptibilidad a un germicida varía entre microorganismos; algunos pueden ser inactivados desde el primer contacto con el germicida y otros pueden sobrevivir y desarrollar resistencia a los germicidas.

La combinación de tratamientos físicos y químicos para el lavado de productos cortados en fresco parece ser una herramienta muy prometedora para reducir el riesgo microbiano. Los agentes desinfectantes reducen significativamente las cargas microbianas iniciales, pero resultan en una mayor supervivencia y / o crecimiento durante el almacenamiento.

El mantenimiento de la calidad del agua de proceso es muy importante ya que podría servir como una fuente de contaminación cruzada. El principal efecto de los tratamientos de desinfección para el lavado de productos cortados en fresco es reducir la carga microbiana y mantener el agua del proceso libre de contaminación. La mayoría de los estudios sobre agentes de desinfección para la industria de alimentos frescos se han centrado en tratamientos de desinfección alternativos al cloro debido a su excesivo uso (híper cloración), que causa varios efectos ambientales y para la salud humana. Los productos derivados del cloro tienen un mayor potencial para la desinfección de los vegetales cuando se elimina la materia orgánica. Las lavadoras modernas deben ser diseñadas para ayudar con el proceso de desinfección incorporando diferentes etapas como duchas para eliminar los líquidos y exudados de las superficies cortadas antes de la desinfección. La última etapa antes del envasado debe ser el paso de desinfección que requiere dosis bajas de agente desinfectante para lograr buenos resultados. Este lavado no se puede hacer con agua limpia sin desinfectantes

debido a su incapacidad para evitar la contaminación cruzada de un lote de producto a otro.**(Gil, M. I. *et al.*, 2009)**

El principal paso para la descontaminación de las frutas y hortalizas es el lavado, considerado como un método directo e indispensable para remover suciedad que soporte el crecimiento de microorganismos, residuos de pesticidas y microorganismos deterioradores y patógenos de la superficie de los alimentos que comprometan la calidad e inocuidad del alimento, sin embargo, el lavado con agua reduce la carga microbiana en aproximadamente 1-2 Log UFC/g, debido a esta razón, el proceso incluye la aplicación de agua con productos desinfectantes bajo diferentes condiciones.

El objetivo de la desinfección es destruir o disminuir sustancialmente el número de microorganismos deteriorantes y patógenos sin afectar la calidad del producto y la seguridad del consumidor. Algunos microorganismos pueden transferirse los alimentos a través del agua de lavado y resistir a la acción de los agentes desinfectantes, causando contaminación cruzada. La localización de los microorganismos en la superficie de los alimentos afecta la su desinfección y la inactivación del microorganismo debido a que tienden a localizarse en poros, irregularidades y heridas. Es sabido que estos factores aumentan la posibilidad de los microorganismos para sobrevivir a la acción de los agentes desinfectantes, además de que las heridas introducen material orgánico que disminuye la efectividad de los antimicrobianos. La variedad de topografías de las superficies de los alimentos que proveen numerosos sitios de protección así como la formación de biofilms que son difíciles de remover afectan la desinfección de los alimentos.**(Lamikanra, 2002)**

Desinfectantes comúnmente usados en la industria

Hipoclorito de sodio (NaClO)

Numerosos autores mencionan que el principal desinfectante utilizado en la industria de alimentos es el hipoclorito de sodio (NaClO). **(Izumi, 1999; Koseki *et al.*, 2001; Abadias *et al.*, 2008; Rico *et al.*, 2008; Gil, M. *et al.*, 2009; Gil, M. I. *et al.*, 2009; Keskinen *et al.*, 2009; Koide *et al.*, 2009; Villena Rodríguez, 2010; Artés *et al.*, 2011; Olaimat e Holley, 2012; Martínez Hernández *et al.*, 2015; I. *et al.*, 2016; Machado *et al.*, 2016)**

Los compuestos clorados son germicidas muy poderosos debido a su poder oxidante y a su poder desinfectante, ejercen efectos a través de diversos mecanismos que afectan procesos metabólicos vitales como la inhibición de enzimas que participan en el metabolismo, en la biosíntesis de proteínas y en el transporte activo a través de la membrana, lesiones en las cadenas de ADN y mutaciones. El hipoclorito comercial puede ser de sodio o calcio y ambos son germicidas con un amplio espectro y son los más utilizados en la industria alimentaria. No manchan, muestran baja toxicidad, pero son irritantes, corrosivos, con olor propio y pierden fuerza con la presencia de materia orgánica. La forma activa es el ácido hipocloroso (HClO), molécula generada mediante el ion hipoclorito a pH ácido de 4 a 7 forma moléculas como cloraminas con las aminas que también

son usados como agentes germicidas. Sin embargo, el uso de hipoclorito de sodio (NaClO) produce trihalometanos, subproductos reconocidos como carcinógenos, que se producen cuando el cloro reacciona con materia orgánica. Su uso a concentraciones por arriba de 200 ppm lleva a la pérdida de calidad del alimento y daño al ambiente **(Keskinen e Annous, 2011)**

Su efectividad se ve reducida por la presencia de materia orgánica en el agua y/o la exposición a la luz o aire por lo que es considerado un desinfectante inestable. Su uso ha sido asociado a la formación de compuestos carcinogénicos (cloroformo y ácidos halo acéticos) y a la aparición de microorganismos emergentes más resistentes a la acción letal de este desinfectante.**(Allende *et al.*, 2009; Koide *et al.*, 2009; Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2013)**

Según Cadena Moreno, en el 2005, Virto et al., realizaron un estudio cuyo objetivo fue investigar el daño sub letal y la relación del daño en la membrana y la pérdida de la viabilidad en dos microorganismos Gram positivos (*Listeria monocytogenes y Bacillus subtilis*) y dos Gram negativos (*Escherichia coli, y Yersinia enterocolitica*) después de la exposición al NaClO en ausencia y presencia de materia orgánica o demanda de oxígeno. Los resultados en ausencia de materia orgánica, las Gram positivas demostraron una alta resistencia al NaClO (0.3-1.2 ppm) con tiempos de contacto de 2 min. La presencia de materia orgánica incrementó de manera drástica la resistencia de los microorganismos al NaClO, pues las concentraciones tuvieron que aumentarse de 10-30 ppm. La resistencia se vio especialmente marcada en los microorganismos Gram negativos, y después de 2 min de contacto, comenzó la muerte celular a concentraciones mayores de 20 ppm. Los resultados obtenidos muestran que hay grandes diferencias en la resistencia al NaClO dependiendo del microorganismo estudiado y la composición del medio en el tratamiento, por ejemplo, en agua destilada, los microorganismos Gram negativos fueron más sensibles que las bacterias Gram positivas, pero en presencia de materia orgánica la resistencia al tratamiento aumenta. A través de esta investigación, se determinó el efecto protector de la materia orgánica, el efecto es atribuido a la demanda de cloro de compuestos orgánicos, que resulta en un decline rápido del cloro disponible. Se estableció que hay estructuras celulares estabilizadas en presencia de materia orgánica. Cuando los microorganismos presentan un daño acumulado, este pasa a un nivel crítico e irreparable.

El cloro es considerado, generalmente, como un oxidante no selectivo, que actúa ávidamente sobre diferentes componentes celulares, y afecta procesos metabólicos. La membrana citoplasmática ha sido propuesta como un blanco clave involucrado en la inactivación bacteriana, dado a la permeabilidad ocasionada después de la cloración. Para investigar el daño a la membrana se estudió la fuga de sustancias intracelulares de las bacterias, a través de la absorbancia UV (260— 280 nm) del material después del tratamiento con cloro. Los resultados mostraron que la adición de pequeñas cantidades de materia orgánica al tratamiento previene de manera completa la absorbancia del material intracelular, sugiriendo que hubo una protección de la membrana celular de los microorganismos. Debido a que el tamaño molecular del ARN y de las proteínas y péptidos, principales moléculas detectadas por la medición de absorbancia UV. Los resultados obtenidos en

esta investigación indican la posibilidad de que la membrana celular desempeña un papel importante en la inactivación de las células, dado que la presencia de la materia orgánica en el medio protegerá las membranas celulares contra la permeabilización y simultáneamente incrementará la concentración de cloro disponible para alcanzar la inactivación o muerte celular. Resultado de esta investigación sugieren que la presencia de materia orgánica puede estabilizar la envoltura y de esta manera disminuir la penetración del cloro hacia el interior de la célula. La envoltura de las bacterias Gram positivas consiste en una membrana citoplasmática rodeada de una pared delgada de peptodoglicanos, por otro lado, la envoltura de las Gram negativas posee una capa externa, la membrana externa, que provee una barrera extra contra los compuestos antimicrobianos.

Según Cadena Moreno: Mahmoud et al., en el 2012, realizaron un estudio similar al anterior y se demostró que la muerte celular depende de la penetración del cloro al interior de la célula. Así mismo, los autores tuvieron resultados similares a Virto et al., (2005), concluyendo que la presencia de materia orgánica, estabiliza la membrana y dificulta la penetración del antimicrobiano al interior de la célula. **(Cadena Moreno, 2014)**

Riesgos para la salud humana y el medio ambiente vinculados al uso del hipoclorito de sodio:

El uso del hipoclorito de sodio está relacionado a algunos riesgos para la salud y el medio ambiente. Es un producto irritante y corrosivo, puede liberar cloro por calentamiento, reacciona violentamente con la materia orgánica, generando productos peligrosos como los trihalometanos, probablemente cancerígenos.

El hipoclorito de sodio es un sólido cristalino blanco muy inestable, por lo que es más utilizado en disoluciones acuosas, las cuales poseen olor a cloro. Se descompone con el CO_2 del aire. Es corrosivo del aluminio.

Las aguas lavandinas son soluciones acuosas con una concentración de hipoclorito de sodio entre 25 y 110 g por litro.**(Mancheno Gualpa, 2011)**

De las fichas de seguridad del hipoclorito de sodio (solución al 5%), **(Insht; México)** surgen los siguientes datos:

NUMEROS DE IDENTIFICACION:

Disolución acuosa y sólido:

CAS: 7681-52-9 (disolución acuosa) UN: 1791

NIOSH: NH 3486300 STCC: 4944143

NOAA: 4503 (disolución acuosa) RTECS: NH3486300

9074 (sólido) NOM 114: Salud: 1 Reactividad: 0

Fuego: 0

HAZCHEM CODE: 2R El producto está incluido en: CERCLA.

MARCAJE: SUSTANCIA CORROSIVA

PROPIEDADES FISICAS:

Punto de ebullición: se descompone, Punto de fusión: 18 C, Solubilidad: soluble en agua.

Solubilidad del NaClO. 5H2O: 29.3 g /100 ml de H2O a 0 C.

PROPIEDADES QUIMICAS:

Se desprende Cloro como producto de descomposición por calentamiento. Este producto reacciona violentamente con sales de amonio, metanol, aziridina y fenilacetonitrilo. Por otra parte, forma N-cloroaminas, inestables y explosivas con aminas primarias alifáticas y aromáticas y etilenamina.

En general es incompatible con ácidos fuertes, aminas y amoniaco.

RIESGOS:

Riesgos de fuego y explosión:

Es un producto no inflamable, sin embargo, puede provocar fuego en contacto con material orgánico. Además, puede generar gases tóxicos (como cloro) cuando se calienta. Puede generar explosivos con aminas. Almacenar en lugares fríos, oscuros y alejados de materiales combustibles.

Riesgos a la salud:

Es extremadamente destructivo de las membranas, del tracto respiratorio superior, ojos y piel. Es peligroso si se ingiere o se respiran sus vapores y puede absorberse a través de la piel. Los primeros síntomas de intoxicación son: sensación de quemado, tos, dolor de garganta, dificultad al respirar, náusea y vómito.

Inhalación: Puede provocar tos y después la irritación de los bronquios y su inflamación, lo mismo que a la laringe, produciendo neumonitis química y edema pulmonar.

Contacto con ojos: Enrojecimiento, dolor, quemaduras profundas graves.

Contacto con la piel: Puede irritarla si el contacto es constante

Ingestión: Es irritante de las membranas mucosas, por lo que produce quemaduras en la boca.

Además, provoca dolor estomacal, náuseas, vómito, delirio y coma. Al ingerir disoluciones concentradas se pueden generar perforaciones en el estómago y esófago. En casos de suicidio por ingestión de este producto se ha encontrado que produce necrosis y hemorragia del tracto digestivo inferior, además de edema y enfisema pulmonar y metahemoglobinemia.

Carcinogenicidad: No existe información al respecto.

Mutagenicidad: No se han presentado casos de mutación en ensayos con Salmonella, sin embargo, se han obtenido resultados positivos con cierto tipo de Escherichia coli. En células humanas se ha encontrado que produce intercambio de cromátidas hermanas, pero no, ruptura de cromosomas.

Peligros reproductivos: No existe información al respecto.

Fugas y derrames:

Portar el equipo de seguridad adecuado como bata, guantes, lentes de seguridad, botas y, dependiendo de la cantidad derramada, equipo autónomo de respiración. Evacuar y ventilar el área.

Mantener el material alejado de fuentes de agua y drenajes.

ALMACENAMIENTO:

Debe almacenarse en recipientes bien cerrados en lugares secos, fríos y bien ventilados.

REQUISITOS DE TRANSPORTE Y EMPAQUE:

Transportación terrestre: Transportación marítima:

Marcaje: 1791 Código IMDG: 8177

Sustancia Corrosiva Clase: 8

Datos ambientales: La sustancia es tóxica para los organismos acuáticos.

(Martínez Hernández *et al.*, 2015)

EFECTOS DE EXPOSICION DE CORTA DURACION La sustancia es corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Corrosiva por ingestión. La inhalación del aerosol puede originar edema pulmonar. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata. Se recomienda vigilancia médica. EFECTOS DE EXPOSICION PROLONGADA O REPETIDA El contacto prolongado o repetido puede producir sensibilización de la piel.

En general, los blanqueadores que contienen una concentración de hipoclorito sódico del 5% tienen un pH= 11 y son irritantes. Si la concentración de hipoclorito sódico fuera superior al 10% la solución tiene un pH= 13 y es corrosiva. El hipoclorito de sodio no es un agente sensibilizante, aunque puede producir reacciones alérgicas raramente. Los síntomas del edema pulmonar no se ponen de manifiesto, a menudo, hasta pasadas algunas horas y se agravan por el esfuerzo físico. Reposo y vigilancia médica son, por ello, imprescindibles. Debe considerarse la inmediata administración de un aerosol adecuado por un médico o persona por él autorizada. Enjuagar la ropa contaminada con agua abundante (peligro de incendio). **(Martínez-Hernández *et al.*, 2013)**

EFECTOS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE

El cloro a niveles bajos, no causa daños a la flora y a la fauna, sin embargo, un exceso puede causar daños permanentes al ambiente, ya que causaría igualmente quemaduras a las células de los animales y plantas, atacando primero las zonas más sensibles como los ojos.

No todos los microorganismos son malos o causantes de enfermedades. Por ejemplo, los hay ligados a los ciclos biogeoquímicos (ciclos de los elementos), como las bacterias nitrificantes y des nitrificantes, las cuales ayudan a la fijación del nitrógeno en las plantas. Si el cloro llegara a zonas de vegetación o a ríos y lagos en cantidades excesivas provocaría un desequilibrio en el medio ambiente.

Este desinfectante reacciona con la materia orgánica del agua generando cientos de subproductos, los más prevalentes son los trihalometanos (THM) (cloroformo, bromodiclorometano, dibromoclorometano y bromoformo) y el ácido acético halogénico, el cual es un compuesto cancerígeno, estos cuentan con un carácter volátil y pueden llegar al ser humano por medio de ingestión, inhalación y absorción dérmica.**(Koseki *et al.*, 2001; Keskinen *et al.*, 2009)**

Los estudios epidemiológicos asocian determinadas exposiciones a THM y en general la exposición a subproductos de la desinfección con efectos sobre la salud como el cáncer de vejiga y determinados defectos de nacimiento en recién nacidos de madres expuestas. Los estudios sobre el cáncer de vejiga encuentran un incremento del riesgo debido a largas exposiciones a los THM (más de 30 años) a pesar de que los resultados no son siempre significativos. La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) clasifica el cloroformo y el bromodiclorometano como posibles carcinógenos para los humanos en ciertas condiciones de exposición. Esto quiere decir, a pesar de que existen indicios de su carcinogenicidad en animales experimentales, que la evidencia es limitada en humanos. El bromoformo y el dibromoclorometano no se han clasificado como cancerígenos.**(Stopforth *et al.*, 2008)**

William A. Brungs (1973), encontró que las variables ambientales no parecen afectar significativamente a la toxicidad residual del cloro, aunque a pH bajo puede incrementarse la toxicidad como resultado de la mayor proporción de cloro libre presente. Los efectos de la toxicidad crónica sobre el crecimiento y la reproducción se producen a concentraciones mucho más bajas que las concentraciones agudas letales. La mayoría de los efectos letales del cloro residual ocurren dentro de 12 a 24 horas. Los efectos letales del cloro libre son más rápidos y se producen a concentraciones menores que las de las cloraminas. La cloración de las aguas residuales produce una variedad de compuestos clorados, además de las cloraminas. El cloro residual persiste durante períodos más largos que los pocos minutos u horas indicados por algunas autoridades. Especies como trucha y salmón son más sensibles a los efectos del cloro que otras especies.**(Brungs, 1973)**

Los resultados de los efectos de la exposición al cloro residual sobre diversas especies acuáticas se expresan en las tablas siguientes.

TABLE I.—Selected Summary of Acute and Chronic Toxic Effects of Residual Chlorine on Aquatic Life

Species	Effect Endpoint	Measured Residual Chlorine Concentration (mg/l)	Reference
Coho salmon	7-day TL_{50}*	0.083	65
Pink salmon	100% kill (1–2 days)	0.08–0.10	66
Coho salmon	100% kill (1–2 days)	0.13–0.20	66
Pink salmon	Maximum nonlethal	0.05	66
Coho salmon	Maximum nonlethal	0.05	66
Brook trout	7-day TL_{50}	0.083	65
Brook trout	Absent in streams	0.015	98
Brown trout	Absent in streams	0.015	98
Brook trout	67% lethality (4 days)	0.01	124
Brook trout	Depressed activity	0.005	125
Rainbow trout	96-hr TL_{50}	0.14–0.29	97
Rainbow trout	7-day TL_{50}	0.08	52
Rainbow trout	Lethal (12 days)	0.01	123
Trout fry	Lethal (2 days)	0.06	14
Yellow perch	7-day TL_{50}	0.205	65
Largemouth bass	7-day TL_{50}	0.261	65
Smallmouth bass	Absent in streams	0.1	98
White sucker	7-day TL_{50}	0.132	65
Walleye	7-day TL_{50}	0.15	65
Black bullhead	96-hr TL_{50}	0.099	65
Fathead minnow	96-hr TL_{50}	0.05–0.16	99, 100
Fathead minnow	7-day TL_{50}	0.082–0.115	65
Fathead minnow	Safe concentration	0.0165	17
Golden shiner	96-hr TL_{50}	0.19	102
Fish species diversity	50% reduction	0.01	98
Scud	Safe concentration	0.0034	17
Scud	Safe concentration	0.012	65
Daphnia magna	Safe concentration	0.003	65
Protozoa	Lethal	0.1	3

Ilustración 8. Efectos de la exposición al cloro residual sobre diversas especies acuáticas.

TABLE II.—Summary of Results of Brief Exposures of Fish to Residual Chlorine

Species	Effect Endpoint	Time	Measured Residual Chlorine Concentration (mg/l)	Reference
Chinook salmon	First death	2.2 hr	0.25	66
Brook trout	Median mortality	90 min	0.5	13
Brook trout	Mean survival time	9 hr	0.35	125
Brook trout	Mean survival time	18 hr	0.08	125
Brook trout	Mean survival time	48 hr	0.04	125
Brook trout	Depressed activity	24 hr	0.005	125
Brown trout	Total mortality	2 min	0.04	120
Rainbow trout	Slight avoidance	10 min	0.001	123
Rainbow trout	Lethal	2 hr	0.3	16
Fingerling Rainbow trout	Lethal	4–5 hr	0.25	16
Trout fry	Lethal	Instantly	0.3	14
Yellow perch	TL_{50}*	1 hr	>0.88	65
Yellow perch	TL_{50}	12 hr	0.494	65
Smallmouth bass	Median mortality	15 hr	0.5	13
White sucker	Lethal	30–60 min	1.0	63
Largemouth bass	TL_{50}	1 hr	>0.74	65
Largemouth bass	TL_{50}	12 hr	0.365	65
Fathead minnow	TL_{50}	1 hr	>0.79	65
Fathead minnow	TL_{50}	12 hr	0.26	65
Miscellaneous	Initial kill	15 min	0.28	64
Miscellaneous	Erratic swimming	6 min	0.09	64

* TL_{50} = median tolerance limit (50 percent survival).

Ilustración 9. Resultado de breves exposiciones al cloro residual para peces

Dióxido de cloro

No reacciona con los compuestos de amonio o materia orgánica, muestra una mayor actividad oxidante y su poder germicida no es afectado por el pH, no reacciona con las aminas y fenoles y es menos corrosivo que los hipocloritos, pero su poder germicida se ve afectada por la temperatura Su uso está permitido por la FDA para la desinfección de equipos y alimentos a concentraciones que no excedan las 5 ppm. **(Gil, M. et al., 2009)**

Ácido peracético

También conocido como ácido peroxiacético es un producto de interés debido a su eficacia reduciendo la carga microbiana, como a la inocuidad de sus productos de descomposición espontánea: ácido acético, agua y oxígeno. Se ha descrito que es menos efectivo que el hipoclorito de sodio en la reducción de patógenos en el agua de red. Sin embargo, no se observaron diferencias entre ambos cuando se comparó su eficacia en el proceso en presencia de materia orgánica. Según los límites establecido por la FDA la concentración máxima permitida de ácido peracético para el lavado de frutas y hortalizas IV gama son 80 ppm, aunque algunos estudios indican que ésta concentración no es suficiente para garantizar la inocuidad de estos productos **(Gil, M. *et al.*, 2009)**

Estos germicidas ejercen un poder bacteriostático o bactericida dependiendo de la concentración usada. Su efectividad depende de la temperatura, pH y la cepa del microorganismo. La acción de estos compuestos involucra la formación de compuestos oxigenados tóxicos como el radical OH que daña a los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. Sin embargo, su uso en frutas y hortalizas tiene efectos negativos en la coloración de la superficie, pues induce oscurecimiento.**(Rahman *et al.*, 2010)**

En el caso del ácido peracético se ha encontrado que es efectivo contra las bacterias de la bio película. La actividad antimicrobiana de estos compuestos se extiende a la inactivación de esporas. Es un desinfectante que se descompone en ácido acético y peróxido de hidrógeno, residuos que son seguros para el medio ambiente, por lo que puede aplicarse en los alimentos **(Cadena Moreno, 2014)**

Ozono

Es el agente oxidante más poderoso (potencial oxidante es 1.36 veces más poderoso que el cloro), y la FDA aprobó su uso como desinfectante directo en alimentos. Estudios demuestran que logra reducir la población de *S. typhimurium* en 4.3 Log. Su acción germicida es a través de la descomposición de la molécula de ozono (03) a radicales y los microorganismos son erradicados al inducir ruptura en la membrana ocasionando la salida del contenido celular, ataca numerosos constituyentes celulares incluyendo proteínas, lípidos insaturados y enzimas respiratorias y ácidos nucleicos. La lisis celular es un mecanismo rápido de inactivación y es indispensable para inactivar a los microorganismos. Debido a este mecanismo, se especula que este agente desinfectante no induce resistencia. Sin embargo, es muy inestable y se descompone en 0_2 rápidamente (20-30 min). El agua que contiene sustancias orgánicas e inorgánicas, que pueden ser oxidables y reaccionan rápidamente con el ozono **(Cadena Moreno, 2014)**

Luz UV

La emisión de luz UV tiene longitudes de onda de 190 a 280 nm, aunque un 95% de la energía UV emitida por las lámparas germicidas con presión de Hg, las más empleadas, lo hace en una longitud de onda de 254 nm, con máxima eficacia germicida. Es una radiación no ionizante, sin residuos, que no altera la estructura de las células vegetales, pero daña el ADN microbiano induciendo la formación de dímeros de pirimidina que distorsionan la doble hélice de ADN y bloquean la replicación celular, al tiempo que se producen entrecruzamientos entre los dobles enlaces de los aminoácidos aromáticos. Ello impide al ADN abrirse para la replicación y el microorganismo no puede reproducirse. Es una técnica simple y barata, en instalación y mantenimiento. La eficacia de la luz UV no depende de la temperatura entre 5 y 37ºC, pero sí de la incidencia de la radiación sobre el producto según su forma y superficie. Pero diversas bacterias y levaduras poseen un potente mecanismo enzimático de reparación, denominado foto reactivación. Además, una excesiva radiación UV puede alterar la permeabilidad de la pared celular aumentando la salida de

electrolitos, aminoácidos y carbohidratos, lo que puede facilitar el crecimiento microbiano. Por tanto, se deben encontrar dosis seguras que inactiven el crecimiento microbiano sin dañar al producto.**(Artés *et al.*, 2011)**

Ultrasonidos

Los ultrasonidos pueden definirse como ondas acústicas inaudibles de una frecuencia superior a 20 kHz. Para la conservación de los alimentos, son más eficaces las ondas ultrasónicas de baja frecuencia (18-100 kHz; λ=145mm) y alta intensidad (10-1000 W/cm2). El efecto conservador de los ultrasonidos está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de micro burbujas en un medio líquido. La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente. Durante la mitad negativa del ciclo de presión, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional y durante la mitad positiva del ciclo experimenta una compresión. El resultado es la formación ininterrumpida de micro burbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces (se expanden) en la alternancia de los ciclos de presión. Las micro burbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el micro entorno. No obstante, el efecto de los ultrasonidos sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores por ello, su aplicación se ha encaminado hacia la combinación, simultanea o alterna, con otras Innovaciones en el procesado de alimentos. **(Herrero e Romero De Avila, 2006)**

Irradiación

En la Industria Alimentaria, el término de “irradiación” se utiliza para referirse a tratamientos en los que los alimentos se exponen a la acción de radiaciones ionizantes durante un cierto tiempo. En el sistema internacional, la dosis absorbida se mide en gray (Gy), siendo este equivalente a la absorción de un julio por kilogramo de masa tratada. Los tipos de fuentes de radiación ionizante apropiados para la irradiación de alimentos son:

a) radiación gamma procedente de los radionúclidos Cobalto- 60 y Cesio- 137.

b) rayos X generados por aparatos que funcionen con una energía nominal igual o menor a 5 MeV.

c) electrones acelerados generados por aparatos que funcionen con una energía nominal igual o menor a 10 MeV (Real Decreto 348/2001).

Los tratamientos pueden clasificarse según la OMS y de acuerdo con la dosis media absorbida como:

a) dosis baja (hasta 1 kGy), usada para retardar procesos biológicos (maduración y senescencia) de frutas frescas y hortalizas, así como para eliminar insectos y parásitos en diversos alimentos.

b) dosis media (hasta 10 kGy), usada para reducir microorganismos patógenos y alterantes de diferentes alimentos, así como para mejorar propiedades tecnológicas de los alimentos;

c) dosis alta (superior a 10 kGy), para la esterilización comercial (generalmente en combinación con tratamientos térmicos suaves) de diversos alimentos en casos especiales (por ejemplo, dietas hospitalarias para inmuno deficientes y alimentos para astronautas, etc.).

Este tipo de tratamientos puede producir: un "efecto primario", derivado de la ruptura y pérdida de estabilidad de los átomos y/o moléculas, que conduce a la formación de iones y radicales libres y un "efecto secundario" derivado de la combinación y dimerización de los iones y radicales libres formados para dar lugar a nuevas moléculas o compuestos. El efecto conjunto (primario más secundario) se denomina "radiolisis" y a los nuevos compuestos resultantes, "productos radiolíticos". En diversas investigaciones se ha puesto en evidencia que cuando la dosis absorbida es ≤ a 10 kGy la formación de compuestos radiolíticos no supone riesgo para la salud. La radiolisis produce alteraciones del ADN y formación de radicales a partir de las moléculas de agua con elevado potencial reductor y oxidante. Estos dos hechos son fundamentales para explicar el efecto conservador de este tratamiento y la afectación sensorial del alimento. Las instalaciones para el tratamiento de alimentos están sujetas a las mismas normas de seguridad que cualquier otra que utilice radiaciones ionizantes. Las instalaciones pueden ser de funcionamiento continuo o discontinuo. En cualquier caso, el habitáculo de tratamiento estará construido con material de elevada densidad, que asegure el blindaje de la estructura y diseñado de tal forma que asegure el aislamiento del entorno. El empleo de fuentes mecánicas alimentadas por corriente eléctrica (como aceleradores de electrones) permite la conexión y desconexión automática del equipo. Sin embargo, la utilización de radiación gamma procedente de radionúclidos (cobalto 60 o cesio 137), supone el manejo de una fuente constante de emisión de radiación, que requiere un recinto o fosa de confinamiento cuando no está en uso. Dependiendo del tipo de instalación, una cinta transportadora, o el arrastre de contenedores, sirven para colocar el alimento en la zona de tratamiento, el tiempo de permanencia permite ajustar la dosis de energía absorbida a los efectos requeridos.**(Herrero e Romero De Avila, 2006)**

Los sanitizantes comúnmente usados presentan algunos riesgos e inconveniencias tienen una limitada capacidad para penetrar y dejan residuos químicos, causan decoloración del alimento, tienen un alto costo y efectividad limitada por lo que se hace urgente el desarrollo de nuevos tratamientos de desinfección que sean más efectivos, menos tóxicos y que permitan inactivar los microorganismos patógenos al mismo tiempo que reduzca el costo del uso de agua y disminuya el riesgo en la salud en los trabajadores y sobe todo que garanticen la seguridad microbiológica sin comprometer las características organolépticas del producto.**(Ongeng *et al.*, 2006)**

Aguas Electroactivadas

Las Aguas Electroactivadas son producto de la tecnología espacial de la ex URSS (Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas). La mezcla de sólo 2 componentes, agua y sal común de mesa, NaCl, se introduce en una celda electrolítica diafragmática, obteniendo luego del proceso 2 soluciones acuosas totalmente diferentes: anódica y catódica separadas por un diafragma semipermeable, y el desplazamiento iónico hacia las cámaras correspondientes.**(Mazzitelli, 2013)**

Producción

Las AEA se producen mediante el pasaje de una solución salina diluida a través de una celda electrolítica diafragmática, en donde ánodo y cátodo están separados por una membrana semipermeable. Sometiendo los electrodos a una corriente continua los iones cargados negativamente se mueven hacia el ánodo entregando electrones y generando gas oxígeno, gas cloro, ion hipoclorito ácido hipocloroso y ácido hidroclórico, mientras que los iones cargados positivamente como hidrógeno y sodio se mueven hacia el cátodo, tomando electrones y generando gas hidrógeno e hidróxido de sodio. Se producen simultáneamente dos tipos de aguas. La AEA con bajo pH (2,3 a 2,7), con alto potencial de óxido reducción (ORP >1000mV), oxígeno disuelto y cloro activo libre (su concentración dependerá de la programación del equipo) se produce en la cámara anódica. A su vez, el agua electroactivada reductora AER, con alto valor de pH (10,5 a 11,5), hidrógeno disuelto y bajo valor de ORP (-800 a -900 mV), se produce en la cámara catódica. Las AER con alto potencial reductor pueden ser usadas para limpieza y disolución de grasas en herramientas de cocina y planchas de corte de alimentos. **(Envirolife)**

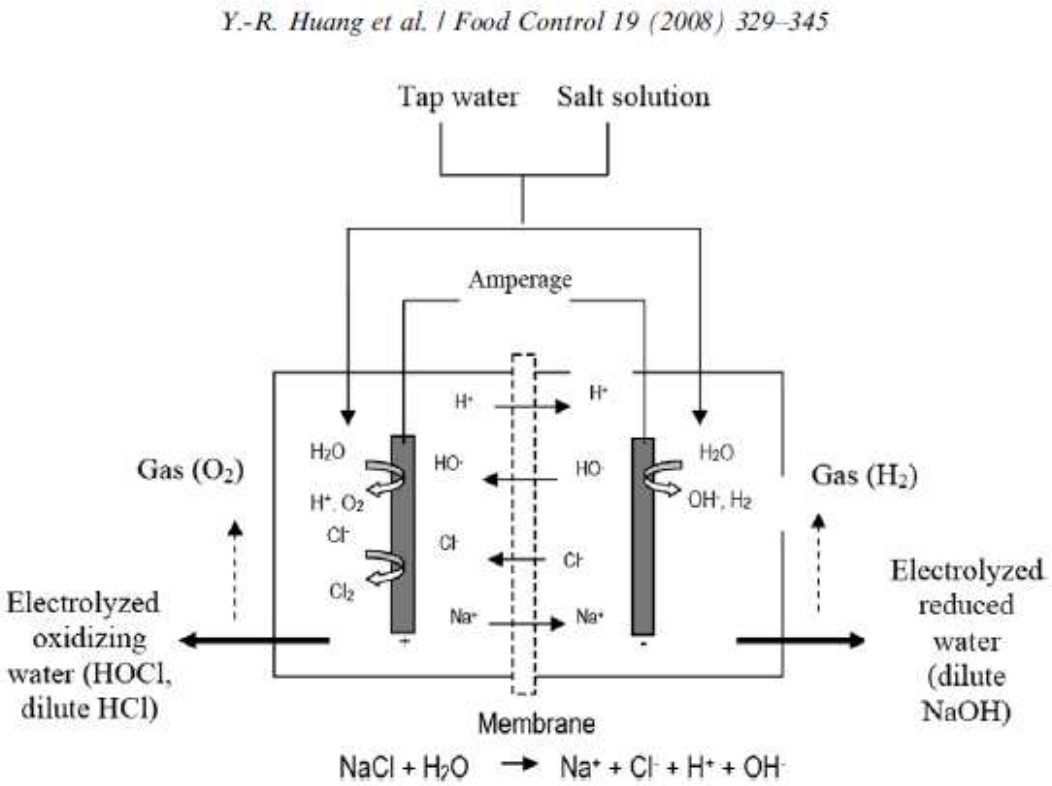


Fig. 1. Schematics of electrolyzed water generator and produced compounds.

Ilustración 10: Esquema de producción de agua electrolizada(Huang *et al.*, 2008)

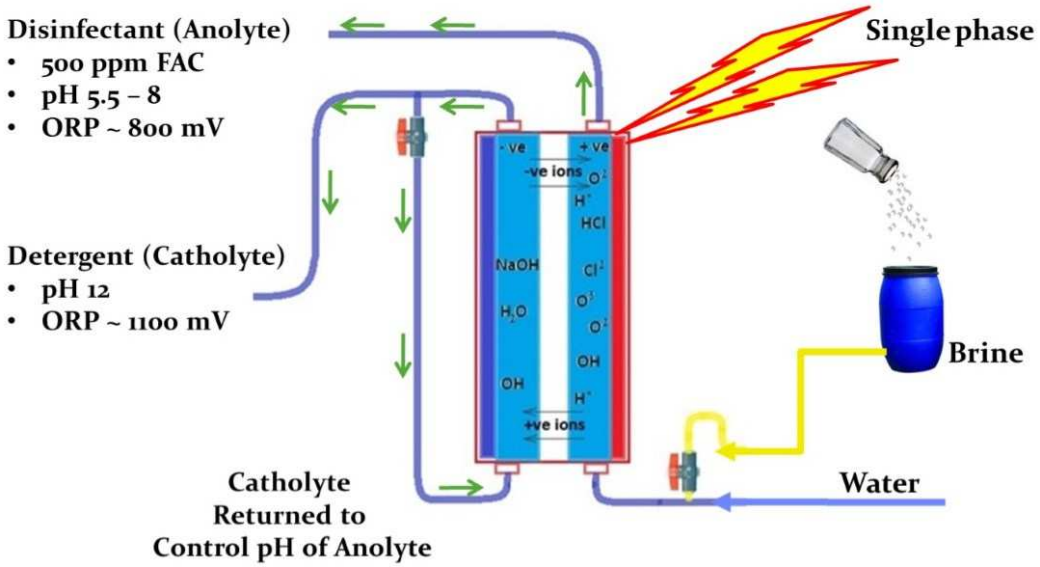


Ilustración 11: Esquema de funcionamiento del reactor

El agua electroquímicamente activada (AEA) se forma electrolizando una solución de sal diluida (NaCl) que se separa adicionalmente en una fracción básica (Catolito) y una fracción ácida (Anolito). El catolito tiene un fuerte efecto de limpieza o detergente mientras que el anolito es antimicrobiano.

La solución desinfectante, llamada anolito, con pH neutro, proviene de la cámara anódica y contiene diversas sustancias oxidantes, entre ellas el ácido hipocloroso, un ácido débil con gran poder biocida, hasta 100 veces más potente que el ion hipoclorito. Estas sustancias se suman a una micro carga eléctrica en cada molécula, que potencia el poder biocida. La solución desengrasante, llamada catolito, posee un pH mayor a 11,5, proviene de la cámara catódica, contiene sustancias reductoras como el hidróxido de sodio, posee un fuerte poder desengrasante, sin espuma, reemplaza con ventaja en muchas aplicaciones a la soda cáustica. **(Mazzitelli, 2013)**

Mecanismo de acción.

La capacidad de desinfección del agua electrolizada se debe a tres factores: el pH, concentración de cloro disponible y el potencial de óxido reducción (Redox). El potencial de óxido-reducción (Redox) de una solución es un indicador de la capacidad para oxidar o reducir. Un potencial positivo y alto indica un gran poder oxidante. El pH bajo junto a un potencial oxidante alto y la presencia de cloro total disponible hacen del agua electrolizada un sanitizante efectivo.

En el caso de los microorganismos, la oxidación daña la membrana de la célula, creando un desbalance en los procesos metabólicos causando su muerte.**(Bialka *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2008)** En general, las bacterias suelen crecer en un rango de pH de 4 a 9. Las bacterias aeróbicas crecen sobre todo en un rango de potencial oxidante de +200 a +800 mV, mientras que las bacterias anaeróbicas crecen bien en -700 a -200 mV. Un alto potencial de oxidación en el agua podría causar la modificación de los flujos metabólicos y la producción de ATP, probablemente debido al cambio en el flujo de electrones en las células **(Huang *et al.*, 2008)**

El pH bajo sensibiliza la membrana celular de las bacterias ocasionando la entrada del ácido hipocloroso (HClO) al interior de la célula. El ácido hipocloroso (HClO) es el más activo de los compuestos clorados, al parecer elimina a los microorganismos al interrumpir la síntesis de proteínas, inhibe la oxidación de glucosa debido a que se oxidan los grupos sulfhidrilo de ciertas enzimas importantes en el metabolismo de los carbohidratos, reacciona con los ácidos nucleicos, purinas y pirimidas, causando un desbalance del metabolismo al destruir enzimas claves, induce lesiones en el ADN, forma de derivados tóxicos a partir de citosina y la creación de aberraciones cromosomales **(Bialka *et al.*, 2004; Hao *et al.*, 2012)**. El ácido hipocloroso también produce el radical OH que actúa en los microorganismos, otros factores que influyen en la potencia bactericida son las concentraciones del ion hipoclorito (ClO) y cloro gas (Cl_2). El agua electrolizada no afecta el tejido, color de la superficie y la apariencia en general del producto. **(Huang *et al.*, 2008)**

El efecto antimicrobiano del agua activada resulta de diferentes especies oxidantes generados durante la aplicación del campo eléctrico en la solución. Como resultado, la solución se satura con especies activas de oxígeno y otros oxidantes, incluyendo peróxido de hidrogeno y ozono, iones cloro, cloro libre y dióxido de cloro. Por lo que el efecto antimicrobiano de las soluciones activadas es el resultado de la acción de estos oxidantes. Se ha indicado que le HOCI producido a partir de electrólisis es 400% más efectivo que el formado químicamente, por ejemplo, en el hipoclorito. Algunos estudios reportan que radicales libres como el OH se encuentran presentes en el agua electrolizada y el agua electrolizada neutra, este radical es uno de las especies más reactivas y puede ser uno de los principales responsables del efecto antimicrobiano del AEN y AEA.

Cualquier cambio significativo en el potencial de óxido reducción del medio de la bacteria puede causar consecuencias letales en las células bacterianas, debido a que el re-arreglo de las moléculas de agua permite una mejor penetrabilidad e interacción de los iones microbiocidas. Los cambios irreversibles en el potencial trans membranal originados por la acción de aceptores/donadores de electrones pueden ser asociados a los procesos electrolíticos acompañados por la difusión del agua contra el gradiente de oxidación-reducción, resultando en una ruptura de la membrana y la salida del contenido celular. Se ha establecido que la membrana celular se encuentra cargada eléctricamente, el exceso de aniones presente en la solución de anolito puede reaccionar con la membrana celular. Este fenómeno interrumpe funciones vitales de la célula bacteriana.**(Xiong *et al.*, 2010; Issa-Zacharia *et al.*, 2011; Aider *et al.*, 2012)**

Machado et al. (2016) presentaron el efecto de la citada tecnología para prevenir la carga microbiana y prevenir el crecimiento de biofilms en el proceso de corte de vegetales frescos, considerando que la descontaminación es uno de los procesos más importantes de la práctica higiénica en las industrias alimentarias tales como la de hortalizas mínimamente procesadas y resaltan que puede ser una técnica de desinfección de agua alternativa exitosa, reduciendo la concentración de cloro necesaria para desinfectar ensaladas, también está disminuyendo el consumo de agua teniendo en cuenta el impacto sobre el medio ambiente y calidad de los alimentos.**(Machado *et al.*, 2016)**

Propiedades

Los estudios sobre el agua activada electroquímicamente (Anolito) demostraron sus propiedades bactericidas, antivirales y parcialmente fungicidas. En Japón, Estados Unidos, China y Rusia se han realizado extensos estudios sobre el uso de agua tratada electroquímicamente para reducir la contaminación por micobióticos durante el procesamiento de la cosecha. El anolito posee actividad antimicrobiana contra una variedad de microorganismos como desinfectante utilizado en la agricultura, la odontología, la medicina y la industria alimentaria.

Se encontró que el Anolito se caracteriza por un efecto micostatico y, especialmente, bacteriostático sobre los microorganismos, continuando durante un periodo de 24 horas. Esta agua se utilizó en el

tratamiento pos cosecha de seguridad micológica de frutas y hortalizas, en sustitución de fungicidas químicos. La solución existe en un estado meta estable después de la producción y contiene muchos radicales libres y una variedad de moléculas e iones.

El agua oxidante electrolizada se ha considerado una alternativa al cloro para la desinfección como resultado de las propiedades que posee. Las investigaciones indican que un valor de ORP de + 650 mV a 700 mV puede matar bacterias en cuestión de segundos **(Cloete *et al.*, 2009).** Además, el alto potencial de oxidación de las soluciones AEA puede inhibir el crecimiento microbiano a través de la oxidación de compuestos sulfhidrilos sobre superficies celulares y otros metabolitos clave.

En comparación con el cloro; el AEA es un desinfectante más respetuoso con el medio ambiente que tiene mayor eficacia de desinfección debido a la presencia de una mezcla de oxidantes. El anolito es una solución oxidante mixta que incluye ácido hipoclórico (HOCl) y tiene un Potencial de Reducción de la Oxidación (ORP) mayor que 1000 mV. **(Seiphetlheng, 2015)**

Otro trabajo reciente **(Aday, 2015)**, se centró en la eficacia del agua electrolizada (AEA) en diferentes concentraciones (5, 25, 50 y 100 mg/L) combinado con el envasado en atmósfera pasiva sobre la calidad de setas, y los resultados de esta investigación apoyan la idea de que la combinación del uso del tratamiento de AEA con envasado en atmósfera modificada pasiva puede utilizarse para ampliar la vida útil de las setas.

Cravero et al **(Cravero *et al.*, 2016)** confirman que el agua electrolizada (AEA) recientemente ha atraído mucha atención debido a su eficacia contra un amplio espectro de microorganismos, en este caso se utilizó en uvas y se demostró la efectividad de la AEA para reducir la especie de levaduras capaces de producir altos niveles de compuestos indeseables. Esta investigación presenta a un innovador agente antimicrobiano, que podría ayudar en el primer paso de la producción de vino.

Después del uso, el anolito se degrada sin la formación de sustancias tóxicas y no requiere neutralización antes de la descarga. **(Vermaas *et al.*, 2015)**

La mayor ventaja del AEA para la inactivación de microorganismos patógenos se basa en su menor impacto adverso en el medio ambiente, así como en la salud de los usuarios debido a que no se agregan productos químicos peligrosos en su producción. Además, se ha aclarado que el AEA no hace daño al cuerpo humano. Es más eficaz, menos peligroso y menos costoso que la mayoría de los métodos tradicionales de conservación como el glutaraldehído, hipoclorito sódico y ácido acético.**(Huang *et al.*, 2008)**

Cuando el AEA entra en contacto con la materia orgánica, o se diluye con agua del grifo o agua de ósmosis inversa (RO), se convierte en agua corriente otra vez. Por lo tanto, es menos el impacto negativo sobre el medio ambiente, así como la salud de los usuarios. Además, en comparación con otras técnicas convencionales de desinfección, el AEA reduce los tiempos de limpieza, es fácil de manejar, tiene muy pocos efectos secundarios y es relativamente barato **(Huang *et al.*, 2008)**

COMPARACIÓN ENTRE EL AEA Y OTROS PRODUCTOS TRADICIONALMENTE USADOS EN DESINFECCIÓN (PARTE 1)					
	AEA	**Gas cloro**	**Dioxido de cloro**	**Ozono**	**Hipoclorito de sodio**
Desinfección	300 x más efectivo que el hipoclorito. Desinfección más rápida. Rango más amplio de inactivación.	Efectivo para ciertos organismos. Desinfección más lenta. No mata ciertos organismos resistentes.	Inactivan la mayoría de los microorganismos. Más eficaz que el cloro que el ozono. Propiedades biocidas no influenciadas por el pH Eficaz contra Cryptosporidium y Giardia.	Fuerte desinfectante y agente de oxidación. Más eficaz que el cloro y el dióxido de cloro. Requiere un tiempo de contacto muy corto. Muy eficaz contra Cryptosporidium y Giardia. Actividad biocida no influenciada por el pH.	A pH alto, domina OCl, lo que provoca una disminución en la eficiencia de desinfección. Requiere mayores concentraciones. Requiere tiempos de contacto más largos. No es eficaz contra Cryptosporidium y Giardia.
Estabilidad y efecto residual	Más estable - La solución dura hasta 9 meses en condiciones óptimas. Efecto residual sin afectar sabor y olor. Menos desinfectante para mantener efecto residual. No necesita amoníaco. Bajo nivel de formación de THM. No produce cloritos/cloratos	Puede variar ampliamente según en sistema. A menudo debe ser potenciado o combinado con amoníaco para durar en todo el sistema. Se requiere una dosificación más alta para mantener una residualidad igual. La producción de THM es mucho mayor.	Reacciona con muchos orgánicos e inorgánicos. Se producen cloritos y cloratos - causa de efectos sobre la salud. No produce THM's - ClO2 ayuda a reducir la formación de THM. Residuales en el sistema pueden causar problemas de sabor / olor. Se descompone al sol.	El ozono no proporciona residuos. El ozono se descompone rápidamente a altas temperaturas y pH. Formas DBP incluyendo aldehidos, cetonas, ácidos orgánicos, bromo que contiene THM y bromatos. Tras la descomposición, el único residuo es el oxígeno disuelto.	Formación de THM y otros DBP así como cloritos y cloratos. La estabilidad de la solución de hipoclorito de sodio depende de la concentración de hipoclorito, la temperatura de almacenamiento, la duración del almacenamiento (tiempo), las impurezas de la solución y la exposición a la luz. Las soluciones de hipoclorito sódico se degradan con el tiempo. La solución de hipoclorito sódico típicamente no se diluye antes de mezclar para reducir los problemas de escala.
Seguridad	Uso sólo de sal, agua y electricidad. Riesgos reducidos. Se evita equipamiento especial y entrenamiento de los trabajadores. Pocos problemas de corrosión de equipos. Se evitan riesgos de incendio de los concentrados de HClO	El gas Cl está bajo presión - riesgo de explosión o incendio. Exposición a la responsabilidad. Coloca riesgos para la comunidad circundante y para el operador del sistema. Potencial de quemaduras de cloro y altamente corrosivo para el equipo. Se requiere equipo de seguridad y entrenamiento.	El gas ClO2 es explosivo a niveles superiores al 10% en el aire. La dosis de CLO2 no puede exceder 1,4 mg / l para limitar la formación de cloritos y cloratos. La medición del gas ClO2 es explosiva. El dióxido de cloro también es muy corrosivo	Los altos niveles de ozono son tóxicos cuando se inhalan. Se ha demostrado que el ozono, cuando se aplica correctamente, mantiene tasas de corrosión uniformemente bajas, similares y frecuentemente mejores que los sistemas tratados con productos químicos tradicionales.	La solución de hipoclorito sódico es un líquido corrosivo con un pH aproximado de 12. Deben usarse las precauciones típicas para manipular materiales corrosivos tales como evitar el contacto con metales, incluyendo acero inoxidable. Pueden formarse cloratos, evitar limitando el tiempo de almacenamiento, alta temperatura y reducir la exposición a la luz. Se debe proveer contención de derrames. El equipo de seguridad y la formación son esenciales.

Ilustración 12: Comparación entre AEA y otros productos (parte 1)

(Villena Rodríguez, 2010)

COMPARACIÓN ENTRE EL AEA Y OTROS PRODUCTOS TRADICIONALMENTE USADOS EN DESINFECCIÓN (PARTE 2)					
	AEA	**Gas cloro**	**Dioxido de cloro**	**Ozono**	**Hipoclorito de sodio**
Generación	Oxidantes generados en el sitio. Soluciones frescas con potencia constante. No materiales peligrosos que transportar o almacenar.	El transporte de materiales peligrosos requiere permisos,seguros, etc. El almacenamiento de materiales peligrosos a menudo requiere un depurador de gases para eliminar los vapores.	Debe ser generado en el sitio, fácil de hacer esto. Se genera según se necesita e inyecta directamente en la corriente de dilución. Variedad de materia prima usada como clorito de sodio, gas Cl2, NaOCl, HCL o H2SO4. Sólo se pueden almacenar muestras pequeñas hasta un 1% si las soluciones están protegidas de la luz, refrigeradas, no tienen espacio libre sin ventilación.	La generación de ozono requiere alta energía y debe generarse in situ.	El hipoclorito de sodio se produce cuando el gas cloro se disuelve en una solución de hidróxido sódico. Solución alcalina producida con menor efecto biocida. Soluciones diluidas de hipoclorito sódico pueden generarse electroquímicamente in situ a partir de una solución de salmuera.
Costo	El mayor costo de capital se compensa con un menor costo del ciclo de vida cuando se compara con otros productos químicos.	Menor costo de instalación cuando no se considera el depurador de gas, pero un costo más alto del ciclo de vida.	El equipo suele ser alquilado y los costos de clorito de sodio son altos. Los costos asociados con la capacitación, el muestreo y las pruebas para cloratos / cloritos son altos.	El costo inicial del equipo de ozonación es muy alto. Gastos considerables para la formación de los operadores y el apoyo a la instalación.	Menos costosos cuando se compran en contenedores, pero pueden ser caros cuando se usan generadores in situ. Típicamente, el hipoclorito de sodio y de calcio es más caro que el gas de cloro.
Simplicidad y confiabilidad	El proceso totalmente automatizado requiere mínimo entrenamiento y mantenimiento. Periódicamente se agrega sal y se chequea el sistema. El reactor es fácilmente reemplazado una vez por año.	El cambio regular de cilindros requiere un entrenamiento y un equipo de seguridad complicados. Se requiere limpieza periódica. El cilindro se cambia con frecuencia, hasta 2 por mes.	Se debe completar el estudio de la demanda de oxidante para determinar la dosis aproximada de ClO2 para obtener el valor CT requerido para la desinfección. Se descompone al sol. La eficiencia del generador y la dificultad de optimización pueden causar que el exceso de cloro sea introducido en el sistema - pueden formar DBPs basados en halógeno.	Se necesitan filtros biológicamente activados para eliminar las DBP biodegradables de carbono orgánico. El mantenimiento de generadores requiere de técnicos calificados. El proceso es altamente automatizado y muy confiable, requiriendo sólo un modesto grado de habilidad y tiempo del operador para operar un sistema de ozono.	Método de desinfección más fácil y menos costoso. No requiere mantenimiento. Más fáciles de usar, son más seguros y necesitan menos equipo comparado con el gas de cloro.
Gusto y olor	Excelente sabor. No reacciona con amoníaco y fenoles produciendo compuestos que normalmente imparten olor y sabor. Remueve H2S mejorando la calidad del agua.	A menudo imparte un sabor a cloro y olor especialmente cuando se combina con amoníaco. No se puede eliminar el sabor u olor a H2S.	Las preocupaciones sobre posibles problemas de sabor y olor tienen un uso limitado de ClO2 para proporcionar un residuo en el sistema.	El ozono controla el color, el sabor y los olores.	El agua podría tener problemas de sabor y olor, dependiendo de la calidad del agua y la dosis.
Usos múltiples	Puede usarse para un mayor rango de aplicaciones que el Cl2. Puede usarse para remover metales pesados (Fe y Mn). Usado para remover H2S. Mejora el rendimiento de los filtros. Mejora la turbidez. Mejorando la floculación del prefiltro.	Mayormente usado para desinfección.	Desinfectante primario y secundario, para el control del sabor y el olor. Reducción de TTHM / HAA, control de Fe y Mn, eliminación de color. Destrucción de sulfuro y fenol. Control de mejillón cebra. Mejorar el proceso de clarificación.	A veces, el ozono puede mejorar el proceso de clarificación y la eliminación de la turbidez. El ozono oxida el hierro, el manganeso y los sulfuros.	Oxida hierro, manganeso y sulfuros.

Ilustración 13: Comparación entre AEA y otros productos (parte 2)

(Villena Rodríguez, 2010)

Análisis económico vs Hipoclorito de sodio

El costo operativo del AEA es muy bajo, sin embargo, siendo un producto que se utiliza sin dilución, debe ser elaborado en el lugar de utilización, lo que requiere una inversión importante en la compra del reactor.

A los efectos de realizar un análisis económico, se consideraron dos opciones de compra de equipos en el mercado local: http://envirolife.com.ar/aguas-electroactivadas/ .

La empresa cotizó un equipo chico con una capacidad de producción de 40 lt/h, (http://www.envirolyte.com/el-400.html) con un costo de U$S 13396, y uno mediano con una capacidad de producción de 200 lt/h, (http://www.envirolyte.com/ela-200.html)con un costo de U$S 35220.

Las máquinas tienen una vida útil de 20 años, y es necesario un cambio de celda electrolítica cada 7 años con un valor equivalente al 20% del valor total de la máquina.

El costo operativo incluye sal (NaCl) y energía eléctrica, y fue estimado por el proveedor en U$S 0,005220126 por litro de solución con 500 ppm de cloro activo,

Se estima que la máquina puede trabajar 14 horas diarias los 365 días del año, produciendo un total de 1.022.000 litros de solución (500 ppm). Para producir la misma cantidad de litros de solución de 500 ppm es necesario adquirir 5110 lts de solución de hipoclorito de sodio concentrada (100 g/l)

A los efectos de la comparación se establece un valor de U$S 0,0258 por litro de solución de hipoclorito de sodio con 500 ppm de cloro activo a valores de mercado.

Máquina chica (40 lt/h)

Dependiendo del consumo anual de hipoclorito de sodio equivalente será el % de utilización de la capacidad de la máquina, lo que origina la siguiente tabla.

% Ocupación	Consumo NaClO (100 g/l)/Año (Lts)	Ahorro/Año (U$S)	Años repago inversión
10%	102,2	0,00	0,00
20%	204,4	0,00	0,00
30%	306,6	323,37	41,43
40%	408,8	743,74	18,01
50%	511	1164,11	11,51
60%	613,2	1584,48	8,45
70%	715,4	2004,85	6,68
80%	817,6	2425,22	5,52
90%	919,8	2845,59	4,71
100%	1022	3265,96	4,10

Ilustración 14. Costos de producción AEA máquina chica.

En la siguiente figura (Tournas, 2017) se nota que para un consumo anual de 102 litros de hipoclorito concentrado la inversión es deficitaria, pero a partir de un consumo de aproximadamente 236 lts el costo por litro se iguala al del hipoclorito.

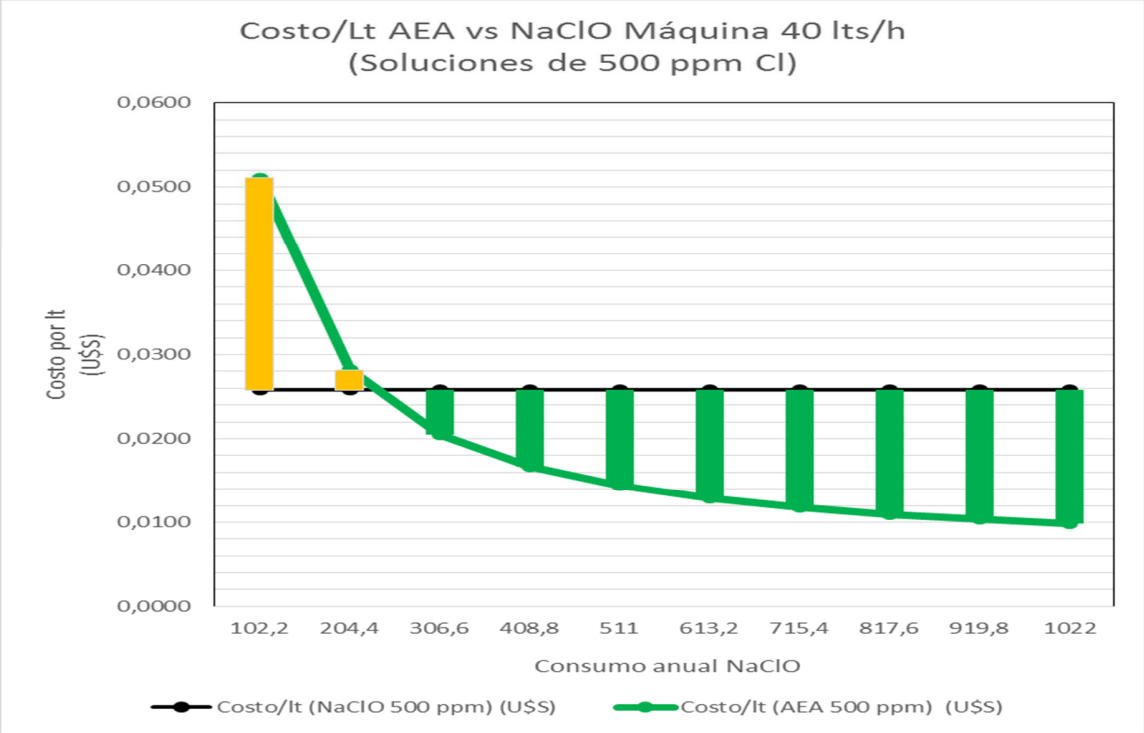


Ilustración 15. Costos AEA según consumo vs NaClO máquina chica

Esto da origen a la siguiente tabla en que se analiza el repago de la inversión.

Máquina chica			
Capacidad de producción		40 lts/h	
Inversión (U$S)		13396,23	
% Ocupación	Consumo NaClO (100 g/l)/Año (Lts)	Ahorro/Año (U$S)	Años repago inversión
10%	102,2	0,00	0,00
20%	204,4	0,00	0,00
30%	306,6	323,37	41,43
40%	408,8	743,74	18,01
50%	511	1164,11	11,51
60%	613,2	1584,48	8,45
70%	715,4	2004,85	6,68
80%	817,6	2425,22	5,52
90%	919,8	2845,59	4,71
100%	1022	3265,96	4,10

Ilustración 16. Repago de inversión Maquina chica

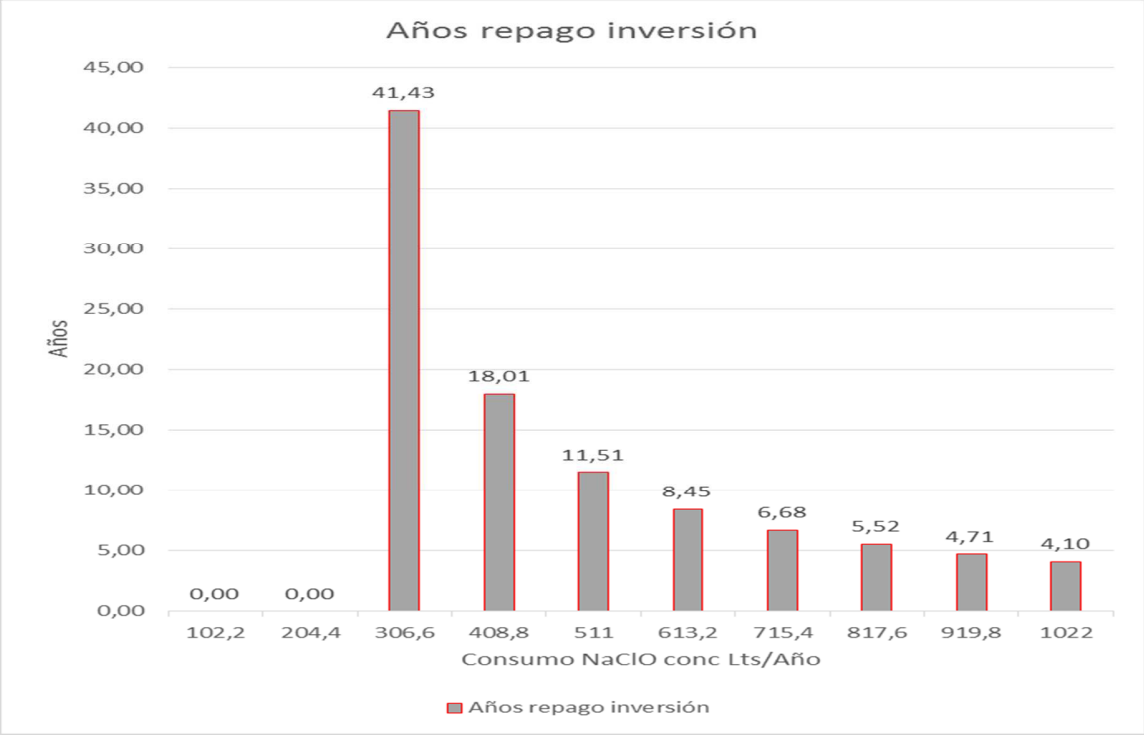


Ilustración 17. Gráfico de repago de la inversión para máquina chica.

Máquina mediana (200 lt/h)

Dependiendo del consumo anual de hipoclorito de sodio equivalente será el % de utilización de la capacidad de la máquina, lo que origina la siguiente tabla.

Máquina mediana			
Capacidad de producción		200 lts/h	
Inversión (U$S)		35220,13	
% Ocupación	Consumo NaClO (100 g/l)/Año (Lts)	Costo/lt (NaClO 500 ppm) (U$S)	Costo/lt (AEA 500 ppm) (U$S)
10%	511	0,0258	0,029343
20%	1022	0,0258	0,017282
30%	1533	0,0258	0,013261
40%	2044	0,0258	0,011251
50%	2555	0,0258	0,010045
60%	3066	0,0258	0,009241
70%	3577	0,0258	0,008666
80%	4088	0,0258	0,008236
90%	4599	0,0258	0,007901
100%	5110	0,0258	0,007632

Ilustración 18. Costos de producción AEA máquina mediana.

En la siguiente figura se nota que para un consumo anual de 511 litros de hipoclorito concentrado la inversión es deficitaria, pero a partir de un consumo de aproximadamente 660 lts el costo por litro se iguala al del hipoclorito.

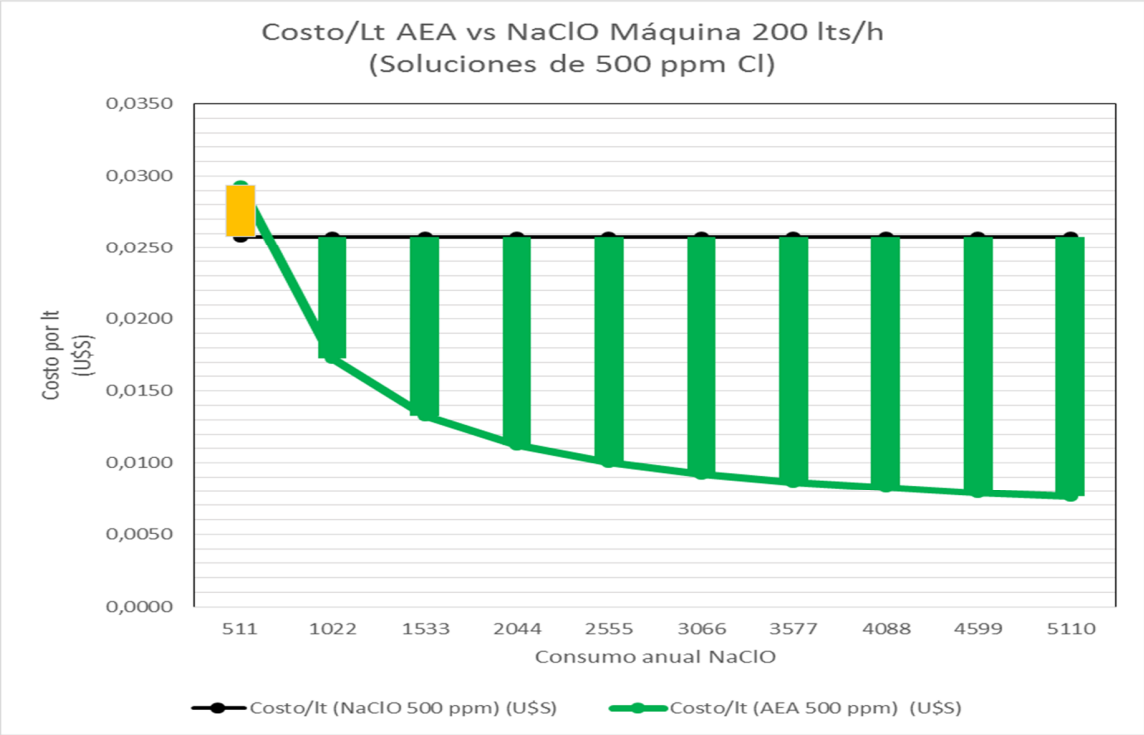


Ilustración 19. Costos de producción según consumo vs NaClO máquina mediana.

Esto da origen a la siguiente tabla en que se analiza el repago de la inversión.

Máquina mediana			
Capacidad de producción		200 lts/h	
Inversión (U$S)		35220,13	
% Ocupación	Consumo HClO (100 g/l)/Año (Lts)	Ahorro/Año (U$S)	Años repago inversión
10%	511	0,00	0,00
20%	1022	1738,29	20,26
30%	1533	3840,14	9,17
40%	2044	5941,99	5,93
50%	2555	8043,84	4,38
60%	3066	10145,69	3,47
70%	3577	12247,53	2,88
80%	4088	14349,38	2,45
90%	4599	16451,23	2,14
100%	5110	18553,08	1,90

Ilustración 20. Repago de inversión máquina mediana

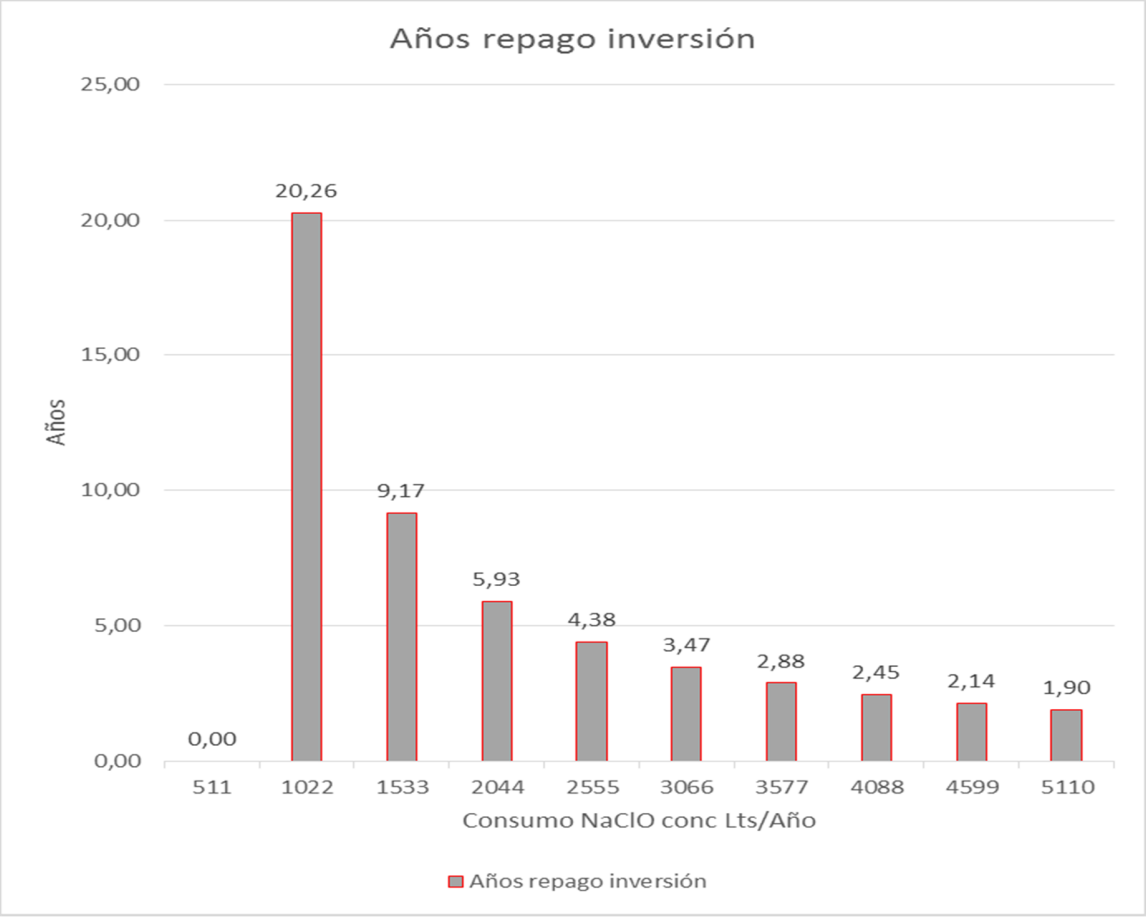


Ilustración 21: Gráfico de repago de inversión máquina mediana

Hipótesis de trabajo

El hipoclorito de sodio es el desinfectante más utilizado por la industria de vegetales mínimamente procesados, siendo un eficiente desinfectante. Sin embargo, hay evidencias que lo vinculan a riesgos ambientales y para la salud de los trabajadores, por lo que se ha investigado acerca de posibles sustitutos.

El agua electrolizada puede ser un sustituto eficiente del hipoclorito de sodio, con menor impacto sobre el medio ambiente y mucho menos riesgos para la salud de los trabajadores.

Objetivo del trabajo

El presente trabajo pretende aportar información relevante que permita contrastar la hipótesis anterior. Para eso se plantean dos objetivos específicos:

1. Hacer una búsqueda bibliográfica de antecedentes y su análisis sistematizado a fin de determinar si los mismos apoyan o no la hipótesis.
2. Realizar una experimentación de laboratorio comparando la capacidad del AEA con la del Hipoclorito de sodio en la desinfección verduras mínimamente procesadas.

Metodología

Búsqueda Bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica de antecedentes, con el fin de encontrar respuestas de la comunidad científica a las siguientes preguntas:

1) ¿Es efectiva el agua electrolizada como desinfectante?
2) ¿Lo es particularmente para su uso en vegetales procesados?
3) Su efectividad en relación a la del hipoclorito de sodio:
    a. ¿Es menor?
    b. ¿Es similar?
    c. ¿Es mayor?
4) ¿Cuáles son sus ventajas en relación al uso del hipoclorito de sodio?

A fin de acotar la búsqueda, se optó por realizarla en PubMed, por tratarse de la base de datos internacional de publicaciones científicas referidas a la salud más más eficiente y abarcativa. **(Falagas *et al.*, 2008)**

Se realizaron las siguientes búsquedas:

Any Field		**Any Field**		**Any field**
Electrolyzed water	and	vegetables	and	chlorine
Electrolyzed water	and	vegetables	and	hypochlorite
Electrolyzed water	and	vegetables	and	efficacy
Electrolyzed water	and	efficacy	and	disinfection
Electrolyzed water	and	efficacy	and	Escherichia coli
Electrolyzed water	and	efficacy	and	salmonella
Electrolyzed water	and	efficacy	and	listeria
Electrolyzed water	and	efficacy	and	Chlorine
Electrolyzed water	and	efficacy	and	hypochlorite

Ilustración 22. Palabras clave y búsquedas

Resultados y discusión

Las búsquedas dieron como resultado un total de 194 registros. Una vez eliminados los duplicados quedaron 71 referencias bibliográficas que se detallan en las tablas siguientes:

N°	Titulo	Autor	Año
1	Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables	Abadias, M.	2008
2	The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium, and Listeria monocytogenes on green onions and tomatoes with differing organic demands	Park, E. J.	2009
3	Effectiveness of electrolyzed acidic water in killing Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis, and Listeria monocytogenes on the surfaces of tomatoes	Bari, M. L.	2003
4	Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water	Deza, M. A.	2003
5	Efficacy of neutral electrolyzed water to inactivate Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus on plastic and wooden kitchen cutting boards	Deza, M. A.	2007
6	Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions	Rahman, S.	2010
7	Stability of electrolyzed oxidizing water and its efficacy against cell suspensions of Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes	Fabrizio, K.	2003
8	Meta-analysis of the effects of sanitizing treatments on Salmonella, Escherichia coli O157:H7, and Listeria monocytogenes inactivation in fresh produce	Prado-Silva	2015
9	Application of slightly acidic electrolyzed water for decontamination of stainless steel surfaces in animal transport vehicles	Ni, L.	2016
10	Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs	Bialka, K. L.	2004
11	Influence of inoculation method, spot inoculation site, and inoculation size on the efficacy of acidic electrolyzed water against pathogens on lettuce	Koseki, S.	2003
12	Reduction of microbial contamination on the surfaces of layer houses using slightly acidic electrolyzed water	Ni, L.	2015
13	Combined Effect of Thermosonication and Slightly Acidic Electrolyzed Water to Reduce Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms on Fresh-cut Kale	Mansur, A. R	2015
14	Antimicrobial effect of electrolyzed oxidizing water against Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on fresh strawberries (Fragaria x ananassa)	Udompijitkul	2007
15	Hurdle enhancement of slightly acidic electrolyzed water antimicrobial efficacy on Chinese cabbage, lettuce, sesame leaf and spinach using ultrasonication and water wash	Forghani, F.	2013
16	Effect of electrolyzed water for reduction of foodborne pathogens on lettuce and spinach	Park, E. J.	2008
17	Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of Escherichia coli	Hao, J.	2012
18	Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes	Park, H.	2004
19	Efficacy of acidic electrolyzed water ice for pathogen control on lettuce	Koseki, S.	2004
20	Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens	Kim, C.	2000
21	Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from the melted ice	Feliciano, L.	2010
22	Effects of slightly acidic low concentration electrolyzed water on microbiological, physicochemical, and sensory quality of fresh chicken breast meat	Rahman, S.	2012
23	Efficacy of electrolyzed water in inactivating Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes on shell eggs	Park, C. M.	2005
24	Efficacy of neutral electrolyzed water for reducing pathogenic bacteria contaminating shrimp	Ratana-Arp	2014

Ilustración 23: Resultados de las búsquedas bibliográficas (1)

N°	Titulo	Autor	Año
25	Efficacy of Neutral pH Electrolyzed Water in Reducing Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium DT 104 on Fresh Produce Items using an Automated Washer at Simulated Food Service Conditions	Afari, G. K.	2015
26	Microbial reduction efficacy of various disinfection treatments on fresh-cut cabbage	Lee, H. H.	2014
27	Reduction of Escherichia coli O157:H7 on produce by use of electrolyzed water under simulated food service operation conditions	Pangloli, P.	2009
28	Efficacy of electrolyzed water in the inactivation of planktonic and biofilm Listeria monocytogenes in the presence of organic matter	Ayebah, B.	2006
29	Efficacy of electrolyzed water and an acidic formulation compared with regularly used chemical sanitizers for tableware sanitization during mechanical and manual ware-washing protocols	Handojo, A.	2009
30	Combined effects of thermosonication and slightly acidic electrolyzed water on the microbial quality and shelf life extension of fresh-cut kale during refrigeration storage	Mansur, A.	2015
31	Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis, and Listeria monocytogenes	Venkitanara	1999
32	Efficacy of Neutral Electrolyzed Water, Quaternary Ammonium and Lactic Acid-Based Solutions in Controlling Microbial Contamination of Food Cutting Boards Using a Manual Spraying Technique	Al-Qadiri, H	2016
33	[Antimicrobial effects and efficacy on habitually hand-washing of strong acidic electrolyzed water--a comparative study of alcoholic antiseptics and soap and tap water]	Sakashita, I	2002
34	Efficacy of acidic and basic electrolyzed water in eradicating Staphylococcus aureus biofilm	Sun, J. L.	2012
35	Free chlorine loss during spraying of membraneless acidic electrolyzed water and its antimicrobial effect on airborne bacteria from poultry house	Zhao, Y.	2014
36	Monitoring the decontamination efficacy of the novel Poseidon-S disinfectant system in dental unit water lines	Fujita, M.	2015
37	Control of browning and microbial growth on fresh-cut apples by sequential treatment of sanitizers and calcium ascorbate	Wang, H.	2007
38	Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate Escherichia coli O157:H7 from lettuce leaves	Keskinen, L.	2009
39	Efficacy of slightly acidic electrolyzed water in killing or reducing Escherichia coli O157:H7 on iceberg lettuce and tomatoes under simulated food service operation conditions	Pangloli, P.	2011
40	Inactivation of E. coli O157:H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone	Kim, C.	2012
41	The effect of pH and chloride concentration on the stability and antimicrobial activity of chlorine-based sanitizers	Waters, B.	2014
42	Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of Escherichia coli O157:H7 population on spinach leaves	Zhou, B.	2009
43	Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating Salmonella on alfalfa seeds and sprouts	Kim, C.	2003
44	Efficacy of various sanitizers against Salmonella during simulated commercial packing of tomatoes	Wang, H.	2014
45	Reduction of pesticide residues on fresh vegetables with electrolyzed water treatment	Hao, J.	2011
46	Effect of surface roughness on retention and removal of Escherichia coli O157:H7 on surfaces of selected fruits	Wang, H.	2009
47	Growth model of Escherichia coli O157:H7 at various storage temperatures on kale treated by thermosonication combined with slightly acidic electrolyzed water	Mansur, A.	2014
48	Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries	Koseki, S.	2004

Ilustración 24. Resultados de búsquedas bibliográficas (2)

N°	Titulo	Autor	Año
49	Evaluation of an electrolysis apparatus for inactivating antineoplastics in clinical wastewater	Kobayashi,	2008
50	Inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in aqueous suspension and on apples by neutral electrolyzed water	Torlak, E.	2014
51	Susceptibility of Penicillium expansum spores to sodium hypochlorite, electrolyzed oxidizing water, and chlorine dioxide solutions modified with nonionic surfactants	Okull, D. O.	2006
52	Comparative Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Three Immersion Chemical Disinfectants on Clinically Derived Poly(Vinyl Siloxane) Impressions	Jeyapalan,	2016
53	Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals	Boyce, J. M	2016
54	Comparative Study on the Efficacy of Bacteriophages, Sanitizers, and UV Light Treatments To Control Listeria monocytogenes on Sliced Mushrooms (Agaricus bisporus)	Murray, K.	2015
55	Efficiency of electrolyzed oxidizing water on reducing Listeria monocytogenes contamination on seafood processing gloves	Liu, C.	2006
56	Effectiveness of sanitizers, dry heat, hot water, and gas catalytic infrared heat treatments to inactivate Salmonella on almonds	Bari, M. L.	2009
57	Effects of Electrolyzed Oxidizing Water on Inactivation of Bacillus subtilis and Bacillus cereus Spores in Suspension and on Carriers	Zhang, C.	2016
58	[Investigation of the efficacy of electrolyzed acid water on the standard strains of some pathogenic microorganisms]	Ileri, C.	2006
59	Disinfecting the acrylic resin plate using electrolyzed acid water and 2% glutaraldehyde: a comparative microbiological study	Jnanadev, K	2011
60	Efficacy of electrolyzed acid water in reprocessing patient-used flexible upper endoscopes: Comparison with 2% alkaline glutaraldehyde	Lee, J. H.	2004
61	Effects of water source, dilution, storage, and bacterial and fecal loads on the efficacy of electrolyzed oxidizing water for the control of Escherichia coli O157:H7	Stevenson,	2004
62	Efficacy of ozonated and electrolyzed oxidative waters to decontaminate hides of cattle before slaughter	Bosilevac, J	2005
63	Efficacy of Slightly Acidic Electrolyzed Water and UV-Ozonated Water Combination for Inactivating Escherichia Coli O157:H7 on Romaine and Iceberg Lettuce during Spray Washing Process	Pang, Y. H.	2016
64	Rapid detection of viable Escherichia coli O157 by coupling propidium monoazide with loop-mediated isothermal amplification	Zhao, X.	2013
65	Repeated quick hot-and-chilling treatments for the inactivation of Escherichia coli O157:H7 in mung bean and radish seeds	Bari, M. L.	2009
66	Application of Antimicrobial Agents via Commercial Spray Cabinet To Inactivate Salmonella on Skinless Chicken Meat	Hawkins, J.	2016
67	Control of spoiler Pseudomonas spp. on fresh cut vegetables by neutral electrolyzed water	Pinto, L.	2015
68	Effect of acidified sodium chlorite, chlorine, and acidic electrolyzed water on Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Listeria monocytogenes inoculated onto leafy greens	Stopforth, J	2008
69	Electrolyzed water and its application in the food industry	Hricova, D.	2008
70	Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review	Olaimat, A.	2012
71	Synergistic effect of electrolyzed water and citric Acid against bacillus cereus cells and spores on cereal grains	Park, Y. B.	2009

Ilustración 25. Resultados de búsquedas bibliográficas (3)

En primer lugar, se determinó si los papers eran relevantes o no en relación al tema en estudio. Para eso se tuvo en cuenta si involucraban de alguna forma al tratamiento de productos alimenticios vegetales o animales.

De esta forma quedaron 50 papers a analizar para responder a las interrogantes planteadas.

En 11 casos se utilizó AEA combinada con otros tratamientos, y en los restantes 39 se utilizó AEA sola.

Primer interrogante: ¿Es efectiva el agua electrolizada como desinfectante?

En 45 de los 50 papers (90%) se considera buena la efectividad bactericida del AEA, y en 5 regular.

Segundo interrogante: ¿Lo es particularmente para su uso en vegetales procesados?

En 34 casos se involucran vegetales en la investigación. En un 85% de ellos se cita como buena la efectividad del AEA, y en un 15% como reglar.

Tercer interrogante: Su efectividad en relación a la del hipoclorito de sodio: ¿Es menor?, ¿Es similar?, ¿Es mayor?

En 20 de los casos se hace referencia a una comparación del AEA con el hipoclorito de sodio. En 15 de ellos (75%) se cita como igual la efectividad de ambos y en 5 se cita como más efectiva el AEA.

Cuarta interrogante: ¿Cuáles son sus ventajas en relación al uso del hipoclorito de sodio?

En 14 de los casos se comparan soluciones de AEA con menor concentración de cloro libre que la solución de hipoclorito. En 11 de esos casos se menciona una efectividad igual de ambas soluciones, y en 3 casos se menciona una mayor efectividad del AEA. Eso permite concluir que una de las ventajas probables es la obtención de un poder bactericida por lo menos similar con una menor concentración de cloro activo.

Sólo en 6 de los papers se mencionan ventajas del AEA en relación al hipoclorito de sodio. En 5 casos se menciona la mayor efectividad, y en 1 caso la seguridad en su utilización.

Conclusión

Según la búsqueda bibliográfica realizada, el agua electroactivada constituye una alternativa promisoria al uso del hipoclorito de sodio para el procesado de verduras. Permitiría obtener una desinfección por lo menos similar a la del hipoclorito, reduciendo efectos adversos del cloro, y tendría ventajas relativas a la seguridad de los trabajadores.

Resultados Experimentales

Introducción y Objetivo

En el marco de éste trabajo se ha acumulado evidencia bibliográfica sobre la capacidad desinfectante del agua electroactivada (AEA) y su comparación con agentes de desinfección clásicos. Con el objetivo de complementar la información previamente publicada, se han obtenido datos experimentales de primera mano para contrastar la hipótesis de estudio. Empleando hojas de *Spinacia oleracea*, hortaliza de amplia comercialización, se pretende comparar la capacidad del AEA y de una solución de hipoclorito de sodio de uso comercial para reducir el número de bacterias, hongos y levaduras en las hojas de la materia prima.

Materiales y Métodos

Materia prima.

Se utilizó como hortaliza de hoja modelo *Spinacia oleracea*, especie de comercialización frecuente en el mercado minorista nacional. Hojas aisladas fueron obtenidas en comercios minoristas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y trasladadas inmediatamente al laboratorio para su procesamiento. Durante todo el experimento se trabajó principalmente con el limbo de la hoja, eliminando previamente el pecíolo.

Grupos experimentales y determinaciones.

Se trabajó con materia prima sin lavar, y materia prima lavada y luego sometida a 4 soluciones de prueba: hipoclorito de sodio 200 ppm, AEA 100%, AEA 50% y AEA 20%. El pH de la solución de hipoclorito de sodio fue ajustado a 6,5 con ácido clorhídrico para asegurar la prevalencia del ácido hipocloroso, la forma más efectiva como desinfectante. Los tratamientos se realizaron por inmersión durante 5 minutos en un volumen de solución equivalente a 20 veces la masa de la materia prima a testear. Luego, las muestras fueron escurridas y sometidas a centrifugación en una centrífuga doméstica durante 30 segundos. Este protocolo fue repetido utilizando 4 muestras independientes por tratamiento.

Con el objetivo de caracterizar las soluciones de testeo, se midió el pH con un pH-metro comercial y los niveles de cloro libre en solución usando el sistema Free chlorine High Range Test Strips (LaMotte, EE UU).

Una vez procesadas las muestras, se evaluó la eficiencia de desinfección de cada tratamiento a partir de la determinación de la calidad microbiológica de las muestras a través de un recuento de bacterias aerobias mesófilas y de hongos y levaduras.

Finalmente, se estudió el efecto de los tratamientos sobre la calidad sensorial de la materia prima luego de ser almacenada en unidades de polietileno y conservada en condiciones comerciales de refrigeración durante 7 días.

Resultados

Propiedades químicas de las soluciones de prueba.

Las soluciones de testeo mostraron tener propiedades diferentes en cuanto al pH y niveles de cloro libre (Ilustración 26). Mientras que el valor del pH del hipoclorito de sodio fue ajustado a valores cercanos a 6,5 para asegurar la máxima capacidad de desinfección, las soluciones de AEA tuvieron valores de pH similares, a excepción de la solución de AEA 20% que fue ligeramente más básico, pero no de forma considerable. En cuanto a los niveles de cloro, la solución de AEA 100% presentó valores considerablemente mayores al hipoclorito de sodio, y los mismos disminuyeron linealmente con la dilución de la solución.

Tabla. *Propiedades químicas de las soluciones de prueba.*

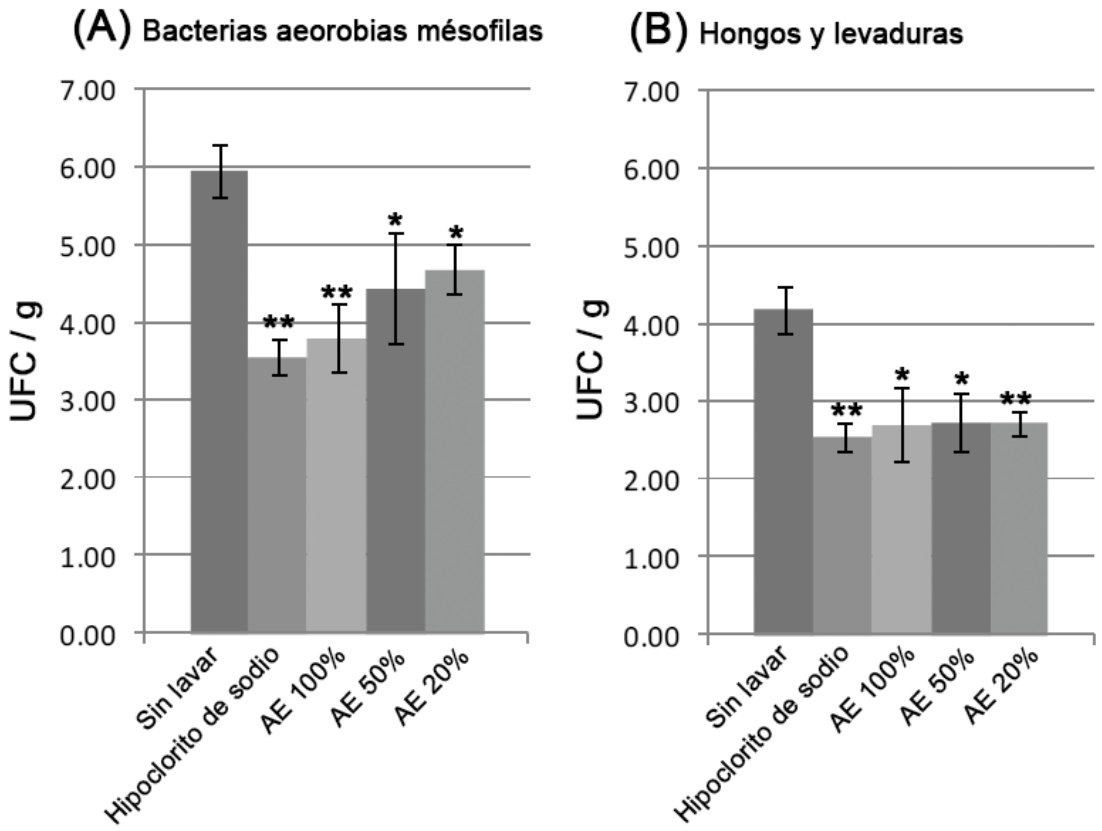
	Hipoclorito de sodio 200 ppm	**AEA 100%**	**AEA 50%**	**AEA 20%**
pH	6,65	6,98	6,96	7,24
Cloro libre (ppm)	200	≈500	≈250	≈100

Ilustración 26. Propiedades químicas de las soluciones de prueba.

Capacidad de desinfección del AEA en comparación al hipoclorito de sodio.

Como se esperaba, el tratamiento con solución de hipoclorito de sodio produce una disminución significativa en el número de bacterias en comparación a las hojas sin lavar (Ilustración 27-A). Paralelamente, el tratamiento con AEA 100% produjo un efecto similar al del hipoclorito de sodio. Este efecto desinfectante disminuye en intensidad a medida que se diluye el AEA; sin embargo, aún en el caso más diluido se logra una reducción significativa de 1,3 log UFC/g.

Por otro lado, tanto el hipoclorito de sodio como todas las concentraciones ensayadas de AEA mostraron una reducción significativa del recuento de hongos y levaduras (Ilustración 27-B). En promedio, esta reducción fue de 1,5 log UFC/g.



*Los asteriscos representan diferencias significativas respecto del grupo "sin lavar" (ANOVA, seguido de comparaciones de Dunnet). ** p<0,01, *p<0,05.*

Ilustración 27. Recuento de bacterias mesófilas (A), hongos y levaduras (B) en el limbo de hojas sin lavar o lavadas con diferentes soluciones de prueba.

Calidad sensorial.

No se observaron diferencias cualitativas respecto del color, olor o textura de la materia prima lavada con las diferentes soluciones de prueba.

Discusión y conclusiones

Los resultados aquí expuestos apoyan el uso del AEA como agente de desinfección. Su uso en el lavado de hojas de *Spinacia oleracea* produjo una reducción significativa tanto de bacterias como de hongos y levaduras mayor al 50% respecto de las hojas sin lavar. En todos los casos, la reducción producida no presentó diferencias significativas en comparación a la obtenida utilizando hipoclorito de sodio, clásico agente desinfectante. En este punto se debe destacar el hecho de que la solución de hipoclorito de sodio fue corregida en su pH, de manera tal que se maximiza la concentración de ácido hipocloroso, principal agente desinfectante de la solución. Esta condición puede no representar la verdadera eficacia de la solución en condiciones domésticas, dado que normalmente

no se regula el pH. Por lo tanto, se podría estar sobreestimando la capacidad desinfectante del hipoclorito de sodio. Interesantemente, la eficacia del AEA no depende de la corrección de su pH. Por lo tanto, en su preparación de forma doméstica, no se puede descartar la posibilidad de que el AEA sea aún más eficiente que el hipoclorito de sodio como agente de desinfección.

Por otro lado, el AEA parece tener una mayor efectividad en reducir el número de hongos y levaduras que de bacterias. Si bien la reducción producida con la solución 100% es similar en ambos tipos de microorganismos, el poder desinfectante sobre las bacterias disminuye linealmente con la dilución empleada; mientras que para los hongos y levaduras preserva el mismo grado de desinfección aún en soluciones que están 5 veces diluidas.

En su conjunto, estos resultados avalan el uso del AEA como agente de desinfección, con una efectividad que es por lo menos idéntica a la de la solución de hipoclorito de sodio 200 ppm, ampliamente utilizada en el ámbito doméstico y comercial.

Significado de las siglas utilizadas:

ADN: Acido Desoxi ribo Nucleico
AEA: Agua Electro Activada
AEN: Agua electrolizada neutra
ARN: Acido ribo nucleico
ATP: Adenosin tri fosfato
BPA: Buenas Prácticas Agrícolas
CDC: Control Desease Center
ECEH:Escherichia coli entero hemorrágica
EW: Electrolyzed wáter
FDA: Federal drug administration
IARC: International agency research cancer
NaClO: Hipoclorito de sodio
NMP: Número más probable (Método de determinación de bacterias coliformes)
OMS: Organización Mundial de la Salud
ORP: Potencial de Oxido reducción
RO: Osmosis inversa
THM: Trihalometanos
UFC: Unidades formadoras de colonias
USA: United States of America
UV-C: Ultra violeta C
VMP: Vegetales mínimamente procesados

BIBLIOGRAFÍA

ABADIAS, M. et al. Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. **Int J Food Microbiol,** v. 123, n. 1-2, p. 151-8, Mar 2008. ISSN 0168-1605. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18237810 >.

ADAY, M. S. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. **LWT - Food Science and Technology,** v. 68, p. 44-51, 2015.

AIDER, M. et al. Electro activated aqueous solutions: Theory and application in the food industry and biotechnology. **Innovative Food Science and Emerging Technologies,** v. 15, p. 38-49, 2012.

ALLENDE, A. et al. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on Escherichia coli O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. **Food Control,** v. 20, p. 230-234, 2009.

ARTÉS, F. et al. Sustainable sanitation thechniques for keeping quality and safety of fresh-cut plany commodities. **Postharvest biology and thechnology,** v. 51, p. 287-296, 2009.

_____. Innovaciones en el mantenimiento de la calidad y seguridad alimentaria de los productos hortícolas minimamente procesados. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha,** v. 12, n. 1, p. 8-18, 2011. ISSN 1665-0204.

BERMÚDEZ-AGUIRRE; BARBOSA-CÁNOVAS. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. **Food Control,** v. 29, p. 82-90, 2013.

BIALKA, K. L. et al. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs. **Poult Sci,** v. 83, n. 12, p. 2071-8, Dec 2004. ISSN 0032-5791. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15615022 >.

BRUNGS, W. A. Effects of residual chlorine on aquatic life. **J Water Pollut Control Fed,** v. 45, n. 10, p. 2180-93, Oct 1973. ISSN 0043-1303. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4583385 >.

CADENA MORENO, E. **Estudio de la aplicación del Agua Electrolizada Neutra en la desinfección de frutas y hortalizas frescas**. 2014. 155 (Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Facultad de Quimica, Universidad Autónoma de Querétaro.

CLOETE, T. E. et al. The antimicrobial mechanism of electrochemically activated water against Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli as determined by SDS-PAGE analysis. **J Appl Microbiol,** v. 107, n. 2, p. 379-84, Aug 2009. ISSN 1365-2672. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19320957 >.

CRAVERO, F. et al. Post-harvest control of wine-grape mycobiota using electrolyzed water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2016.

Código Alimentario Argentino. http://www.alimentosargentinos.gob.ar**:** Art. 156 tris p.

DOYLE, M. P. et al. **"Escherichia coli O157:H7."**. Amer. Soc. Microbiol Press. Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers**:** 171–191 p. 1997.

ENVIROLIFE. AGUAS ELECTROACTIVADAS EN ALIMENTOS. p. Bibliografía, Disponível em: < http://envirolife.com.ar/wp-content/uploads/aguas-electroactivadas-en-alimentos.pdf >. Acesso em: 2017/01/17.

ERICKSON, M. et al. Infrequent internalization of Escherichia coli O157:H7 into field grown leafy greens. **Journal of Food Protection,** v. 73, p. 500-506, 2010.

FALAGAS, M. E. et al. Comparison of PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar: strengths and weaknesses. **FASEB J,** v. 22, n. 2, p. 338-42, Feb 2008. ISSN 1530-6860. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17884971 >.

GIL, M. et al. ¿Hay alternativas al cloro como higienizante para productos de IV gama? **Horticultura Internacional,** v. 69, p. 38-45, 2009.

GIL, M. I. et al. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **Int J Food Microbiol,** v. 134, n. 1-2, p. 37-45, Aug 2009. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19539390 >.

GRAÇA, A. et al. The use of electrolyzed water as a disinfectant for minimally processed apples. **Postharvest biology and technology,** v. 61, p. 172-177, 2011.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. et al. Decontamination methods to prolong the shelf-life of minimally processed vegetables, state-of-the-art. **Crit Rev Food Sci Nutr,** v. 48, n. 6, p. 487-95, Jun 2008. ISSN 1549-7852. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18568855 >.

HAO, J. et al. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of Escherichia coli. **Int J Food Microbiol,** v. 155, n. 3, p. 99-104, Apr 2012. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22342456 >.

HERRERO, A.; ROMERO DE AVILA, M. Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. **REV MED UNIVERSIDAD DE NAVARRA,** v. 50, n. 4, p. 71-74, 2006.

HUANG, Y.-R. et al. Applications of Electrolyzed Water in the food industry. **Food Control,** v. 19, p. 329–345, 2008.

I., M. et al. Disinfection with neutral electrolyzed oxidizing water to reduce microbial load and to prevent biofilm regrowth in the processing of fresh-cut vegetables. **Food and Bioproducts Processing**, 2016. Disponível em: < http://www.fbp.ichemejournals.com/article/S0960-3085(16)00034-1/pdf >.

ISSA-ZACHARIA, A. et al. Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts. **Food Control,** v. 22, p. 601-607, 2011.

IZUMI, H. Electrolyzed Water as a Disinfectant for Fresh-cut Vegetables. **JOURNAL OF FOOD SCIENCE,** v. 64, n. 2, p. 539-539, 1999.

KESKINEN, L. A.; ANNOUS, B. A. Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of Escherichia coli O157:H7 on Romaine lettuce. **Int J Food Microbiol,** v. 147, n. 3, p. 157-61, Jun 2011. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21529976 >.

KESKINEN, L. A.; BURKE, A.; ANNOUS, B. A. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate Escherichia coli O157:H7 from lettuce leaves. **Int J Food Microbiol,** v. 132, n. 2-3, p. 134-40, Jun 2009. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19428137 >.

KOIDE, S. et al. Disinfection efficacy of slightly acidic electrolyzed water on fresh cut cabbage. **Food Control,** v. 20, p. 294-297, 2009.

KOSEKI, S. et al. Decontamination of lettuce using acidic electrolyzed water. **J Food Prot,** v. 64, n. 5, p. 652-8, May 2001. ISSN 0362-028X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11347995 >.

LAMIKANRA, O. **Fresh-cut Fruits and Vegetables.** United States of America: CRC Press, 2002. 452 ISBN 1-58716-030-7.

MACHADO, I. et al. Disinfection with neutral electrolyzed oxidizing water to reduce microbial load and to prevent biofilm regrowth in the processing of fresh-cut vegetables. **Food and Bioproducts Processing**, 2016. Disponível em: < http://www.fbp.ichemejournals.com/article/S0960-3085(16)00034-1/pdf >.

MANCHENO GUALPA, A. E. **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCIDA Y FUNGICIDA QUE TIENE EL AGUA ACTIVADA FRENTE A 6 MICROORGANISMOS FITOPATÓGENOS PRESENTES EN EL TOMATE DE MESA (Solanum lichopersicum. V. Nemmo Netta)**. 2011. 164 (Ingeniero Ambiental). FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES, UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA

MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, G. B. et al. Combined sustainable sanitising treatments to reduce Escherichia coli and Salmonella Enteriditis growth on fresh-cut kailan-hybrid broccoli. **Food Control,** v. 47, p. 312-317, 2015.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B. et al. Combination of electrolysed water, UV-C and superatmospheric O2 packaging for improving fresh-cut broccoli quality. **Postharvest Biology and Technology,** v. 76, p. 125-134

2013

MAZZITELLI, J. DESINFECCIÓN ECOLÓGICA. AGUAS

ELECTROACTIVADAS, LA EVOLUCIÓN

INTELIGENTE. 2013. Disponível em: < http://www.produccion-animal.com.ar/agua_cono_sur_de_america/60-aguas_electroactivadas.pdf >. Acesso em: 2017/01/17.

MONGE, R.; CHINCHILLA, M.; REYES, L. Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. **Rev. BioI. Trop,** v. 44, n. 2, p. 369-375, 1996.

MOYANO, S. A.; MARÍN, G. N.; D., A. **EVALUACION MICROBIOLOGICA DEL PROCESO DE LAVADO Y DESINFECCIÓN EN ACHICORIA SELECCIONADA ENVASADA**. PRIMER CONGRESO ARGENTINO MERCOSUR BPM POES HACCP2003 2003.

NACIÓN, M. D. S. D. L. **Boletín Epidemiológico Anual** 2009.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. **Food Microbiol,** v. 32, n. 1, p. 1-19, Oct 2012. ISSN 1095-9998. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22850369 >.

OMS. **Brote de Escherichia coli O157:H7 en espinacas** 2007.

ONGENG, D. et al. The efficacy of electrolysed oxidising water for inactivating spoilage microorganisms in process water and on minimally processed vegetables. **Int J Food Microbiol,** v. 109, n. 3, p. 187-97, Jun 2006. ISSN 0168-1605. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16504328 >.

PARZANESE, M. **Vegetales mínimamente procesados**. Alimentos Argentinos. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca,. 55**:** 31-39 p. 2012.

RAHMAN, S. M.; DING, T.; OH, D. H. Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. **Int J Food Microbiol,** v. 139, n. 3, p. 147-53, May 2010. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20385418 >.

REA, M. J. F.; FLEITAS, A.; BORDA, C. E. **Existencia de parásitos intestinales en hortalizas que se comercializan en la ciudad de Corrientes, Argentina.** Comunicaciones científicas y tecnológicas: Universidad Nacional del Nordeste. Resumen M-102 2004.

RICO, D. et al. Use of neutral electrolysed water (EW) for quality maintenance and shelf-life extension of minimally processed lettuce. **Innovative Food Science and Emerging Technologies,** v. 9, p. 37-48, 2008.

RIVAS, M. et al. EPIDEMIOLOGIA DEL SINDROME UREMICO HEMOLITICO EN ARGENTINA. DIAGNOSTICO DEL AGENTE ETIOLOGICO, RESERVORIOS Y VIAS DE TRANSMISION. **MEDICINA (Buenos Aires),** v. 66, n. Supl III, p. 27-32, 2006.

SAPERS; G.M. Efficacy of Washing and Sanitizing Methods for Disinfection of Fresh Fruit and Vegetable Products. **Food Technology and Biotechnology.,** v. 39, p. 305-311, 2001.

SAPERS, G.; GORNY, J.; YOUSEF, A. **Microbiology of fruits and vegetables**. CRC PRESS 2006.

SEIPHETLHENG, K. **Anolyte as an alternative bleach for cotton fabrics**. 2015. Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of the Free State, Bloemfontaine, South Africa

SREY, S.; KABIR, I. Biofilm formation in food industries. **Food Control,** v. 31, p. 572-585, 2013.

STOPFORTH, J. D. et al. Effect of acidified sodium chlorite, chlorine, and acidic electrolyzed water on Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Listeria monocytogenes inoculated onto leafy greens. **J Food Prot,** v. 71, n. 3, p. 625-8, Mar 2008. ISSN 0362-028X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18389712 >.

TOURNAS, V. H. Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. **Crit Rev Microbiol,** v. 31, n. 1, p. 33-44, 2005. ISSN 1040-841X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15839403 >.

_____. Spoilage of Vegetable Crops by Bacteria and Fungi and Related Health Hazards. 2017. Disponível em: < http://sci-hub.cc/http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408410590886024 >.

VERMAAS, J. F. et al. THE EFFICACY OF ANOLYTE AS AN ENVIRONMENTALLY FRIENDLY DISIN-FECTANT ON ESCHERICHIA coli AND STAPHYLOCOCCUS AUREUS CON-TAMINATED COTTON, POLYESTERCOTTON AND POLYESTER. **Journal of Family Ecology and Consumer Sciences,** v. 43, p. 26-32, 2015.

VILLENA RODRÍGUEZ, P. C. **EFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES EN LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE BERROS (Nasturtium officinale R. Br.) ENVASADOS EN ATMÓSFERA MODIFICADA**. 2010. 60 (Ingeniero Agrónomo). FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS, UNIVERSIDAD DE CHILE

WARRINER, K. et al. Recent advances in the microbial safety of fresh fruits and vegetables. **Adv Food Nutr Res,** v. 57, p. 155-208, 2009. ISSN 1043-4526. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19595387 >.

XIONG, K. et al. Differences in fungicidal efficiency against Aspergillus flavus for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters. **Int J Food Microbiol,** v. 137, n. 1, p. 67-75, Jan 2010. ISSN 1879-3460. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19926156 >.