



## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y EFECTO DEL LAVADO EN LECHUGA

Giménez Viviana<sup>1</sup> , Padilla Nayalet<sup>1</sup> , Arroyo Alonso<sup>2</sup> , Godoy Yajaira<sup>1</sup> , Terán Yanira<sup>1</sup> , Petit-Jiménez Deysi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Ingeniería Agroindustrial. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Venezuela

<sup>2</sup>Laboratorio Zoonosario, Fitosanitario y Microbiológico, Barquisimeto- Lara, Venezuela  
vivicgs24@gmail.com nayapadilla@hotmail.com aaarroyocastillo@gmail.com  
yajairagodoy@ucla.edu.ve yanirateran@ucla.edu.ve dpetit@ucla.edu.ve

**ASA/EX 2020-12**

**Recibido: 21-01-2020**

**Aceptado: 09-07-2020**

### RESUMEN

En la actualidad, el consumo de lechuga constituye un motivo de preocupación con respecto a la seguridad e inocuidad alimentaria, debido a la posible presencia de microorganismos patógenos. El objetivo del trabajo fue evaluar la calidad microbiana y el efecto del lavado de la lechuga con agua, solución de jugo de limón y vinagre al 5% a 0, 15 y 30 minutos de inmersión de los tratamientos. Se adquirieron lechugas provenientes de 4 unidades de comercialización (A, B, C y D) en la ciudad de Barquisimeto, Lara-Venezuela. Las lechugas se seleccionaron visualmente libre de daños, se homogenizó la muestra por tamaño y se dividió en tres lotes de 36 lechugas por mercado, aplicando los tratamientos: lavado en inmersiones en agua (T1), solución de jugo de limón a un pH 2,5 (T2) y solución en vinagre al 5% a un pH 2,8 (T3) a tres tiempos de lavado: 0, 15 y 30 minutos. Se empleó un diseño factorial y los datos se analizaron con el programa NCSS. A cada muestra por triplicado se les determinó el recuento total de aerobios mesófilos, enterobacterias, *Escherichia coli* expresados como UFC/g y la presencia/ausencia de *Pseudomonas*. Se comprobó la presencia de distintos microorganismos en las muestras de lechuga. Los rangos de la carga microbiana obtenidos permitieron catalogar a las muestras de lechuga comercializadas en los mercados A, B, y D de Barquisimeto en el nivel de calidad microbiológica aceptable y el del mercado C inaceptable. El lavado con agua, solución de jugo de limón y solución de vinagre al 5% redujo en forma considerable la carga microbiana presente en las muestras de lechuga. La mayor eficiencia fue alcanzada con el uso de solución en jugo de limón obteniendo un 72% de eficiencia; por su parte, la solución de vinagre tuvo una eficiencia de un 66% a los 30 min.

**Palabras clave:** Lechuga, patógenos, inocuidad, calidad



## EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY AND EFFECT OF WASHING IN LETTUCE

### ABSTRACT

Currently, the consumption of lettuce is a cause for concern regarding food safety and food safety, due to the possible presence of pathogenic microorganisms. The objective of the work was to evaluate the microbial quality and the effect of washing the lettuce with water, lemon juice solution and 5% vinegar at 0, 15 and 30 minute immersion of the treatments. Lettuces were purchased from 4 marketing units (A, B, C and D) in the city of Barquisimeto, Lara-Venezuela. The lettuces were selected visually free of damage, the sample was homogenized by size and divided into three batches of 36 lettuces per market, applying the treatments: washing in immersions in water (T1), lemon juice solution at pH 2, 5 (T2) and 5% vinegar solution at pH 2.8 (T3) at three washing times: 0, 15 and 30 minutes. A factorial design was used and the data was analyzed with the NCSS program. The total count of mesophilic aerobes, enterobacteriaceae, *Escherichia coli* expressed as CFU / g and the presence / absence of *Pseudomonas* were determined for each sample in triplicate. The presence of different microorganisms in the lettuce samples was verified. The ranges of the microbial load obtained allowed the lettuce samples marketed in markets A, B, and D of Barquisimeto to be classified at the level of acceptable microbiological quality and that of market C as unacceptable. Washing with water, lemon juice solution, and 5% vinegar solution significantly reduced the microbial load present in the lettuce samples. The highest efficiency was achieved with the use of lemon juice solution, obtaining 72% efficiency; For its part, the vinegar solution had an efficiency of 66% at 30 min.

**Keywords:** Lettuce, pathogens, safety, quality.



## INTRODUCCIÓN

**E**n la actualidad, la ingesta de productos vegetales frescos se ha incrementado por los beneficios de su consumo para la salud, son considerados productos sanos y nutritivos que mejoran el rendimiento físico, reducen el riesgo de enfermedades y aumentan la duración de vida (OMS, 2019). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un consumo mínimo de 400 gramos de frutas y verduras cada día (OMS, 2003). Sin embargo la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS, 2003) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2015), señalan que su consumo se ha asociado con numerosos casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), como resultado de la falta de inocuidad de los alimentos, destacando las de origen microbiano (Zúñiga y Caro, 2017; Roller, 2003). Se ha demostrado que determinados patógenos tienen la capacidad de persistir sobre el producto lo suficiente como para

constituir un peligro para el consumidor y se caracterizan por ser no visibles a simple vista ni detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa del producto (Doyle et al. 2005).

La inocuidad alimentaria es la garantía de obtención de alimentos libres de peligros para el consumo de la población (FAO-OMS, 2014). Según Tauffer et al. (2018) la aplicación de programas de inocuidad de alimentos, a través de la implementación de las buenas prácticas constituye pasos importantes para reducir los posibles riesgos de contaminación por factores físicos, químicos y biológicos a lo largo de la cadena de producción y distribución, que pueden afectar la inocuidad de los productos vegetales frescos, quienes son susceptibles a dichos factores después de la cosecha debido a la pérdida de su natural resistencia, su alto contenido de agua y contenido de nutrientes.

Esencialmente existen tres tipos de organismos que pueden ser transportados por las frutas y hortalizas y que



representan un peligro para la salud humana: virus, bacterias y parásitos. De todos estos organismos, las bacterias han sido responsables en la mayoría de los casos de diversas enfermedades (Zúñiga y Caro, 2017). Si bien algunos microorganismos peligrosos forman parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria de humanos o animales y el uso de fertilizantes orgánicos son las principales fuentes de contaminación y que llegan a las frutas y hortalizas, éstas se contaminan fundamentalmente a través del agua usada en riegos o lavados y la manipulación de los productos (Rincón et al. 2010).

El método principal para eliminar o reducir significativamente, patógenos en los productos es el cumplimiento estricto de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Análisis de Peligros Puntos de Control Críticos (APPCC), y otras estrategias pertinentes que impiden que la contaminación se produzca (Tauffer et al. 2018). Esto incluye el concepto de "buenas prácticas de gestión", como se describe en

la Guía para minimizar el Riesgo Microbiano en los Alimentos para las frutas frescas y hortalizas (FDA 1998).

Existen una variedad de métodos utilizados para reducir las poblaciones de microorganismos, cada método tiene ventajas y desventajas dependiendo del tipo de producto. El mejor método para eliminar los patógenos de los productos es evitar la contaminación. Sin embargo, esto no siempre es posible y la necesidad de lavar y desinfectar es de vital importancia para evitar brotes de enfermedades. Cabe señalar que con el lavado y la desinfección es poco probable que se eliminen totalmente los agentes patógenos después de que se contamine el producto. Por lo tanto, es importante utilizar protocolos de lavado y desinfección que sean eficientes (García et al. 2017; Gómez et al. 2012).

Dentro de los métodos de descontaminación aplicados a la superficie de frutas y vegetales, se tiene la generación y aplicación de ozono tanto en su forma acuosa (aplicado al agua de lavado), como en su forma gaseosa (para el uso en vegetales durante el almacenamiento);



desinfección mediante luz UV-C, el uso de ultrasonidos y el tratamiento con agua electrolizada (Gil et al. 2009; Koseki et al. 2003); irradiación (radiación ionizante) (FDA, 2008).

Como agentes químicos, se incluyen el cloro, dióxido de cloro, clorito de sodio acidificado, peróxido de hidrógeno, ácido peracético, ácidos orgánicos. (Aguayo et al. 2017; García et al. 2017; Parish et al. 2003). La eficacia de cada uno de los métodos en la eliminación de microorganismos depende de factores asociados al pH, temperatura, tiempo de contacto, cantidad de materia orgánica presente, así como al tipo, cantidad y estado fisiológico de células bacterianas presentes; naturaleza de los tejidos de frutas y vegetales (Beuchat, 1998).

Ante la preocupación por el consumo de vegetales frescos, específicamente lechugas, por el riesgo de una contaminación microbiológica, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiana y el efecto del lavado de la lechuga con agua, solución de jugo de

limón y vinagre al 5% a 0, 15 y 30 minutos de inmersión de los tratamientos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las lechugas, variedad criolla (*Lactuca sativa* var. Capitata L.) fueron adquiridas al azar, provenientes de 4 unidades de comercialización: supermercado (A), mayorista (B), cooperativa (C), hipermercado (D) y trasladadas en condiciones de refrigeración el mismo día al Laboratorio de Microbiología del Programa de Ingeniería Agroindustrial, Decanato de Agronomía, de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA), en la ciudad de Barquisimeto, Lara-Venezuela. Las lechugas se seleccionaron visualmente libre de daños, se homogenizó la muestra por tamaño y se dividió en tres lotes de 12 lechugas por cada uno de los mercados. A cada una se les despojó de sus tres hojas externas y las hojas restantes se sumergieron en un envase de plástico de 2 litros de capacidad aplicando los tratamientos descritos en el Cuadro 1.



**Cuadro 1. Tratamientos empleados para el lavado de las lechugas comercializadas en 4 mercados.**

| Tratamiento        | Composición   | Tiempo de lavado  |
|--------------------|---|-------------------|
| Tratamiento 1 (T1) | Agua (2 lt.). pH 7,3  | 0, 15, 30 minutos |
| Tratamiento 2 (T2) | Solución de jugo de limón (2 lt. agua + 200 ml de jugo de limón). pH 2,4. Concentración: 10% v/v.             | 0, 15, 30 minutos |
| Tratamiento 3 (T3) | Solución de vinagre blanco comercial al 5 % (2 lt. agua + 200 ml de vinagre). pH 2,8. Concentración: 10% v/v. | 0, 15, 30 minutos |

Fuente: Elaboración propia

### Análisis microbiológicos

Transcurridos los tiempos de lavado se procedió a realizar la evaluación de la carga microbiana, dilución ( $10_1$ ), donde se trocearon y pesaron 10 g de las hojas de cada muestra de forma directa en un frasco estéril que contenía 90 ml de agua peptonada y posteriormente agitando, haciéndolo para cada una de las evaluaciones. A cada muestra se les determinó el recuento total de aerobios mesófilos, enterobacterias, *Escherichia*

*coli*, así como también la presencia/ausencia de *Pseudomonas*. El número de microorganismos por gramo de muestra de lechuga analizada, se calculó multiplicando el número de colonias contadas en una placa de Petri por el factor de dilución. A partir factor de dilución 10 se realizaron diluciones seriadas. Los resultados se expresaron como Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g).



Para el análisis de microorganismos aerobios mesófilos, se realizó siguiendo la técnica de COVENIN 902-87 (COVENIN, 87), siembra por profundidad en medio de cultivo PCA (Agar Plate Count).y se incubó a 37°C por 48 horas.

Determinación de enterobacterias, siembra por profundidad en medio de cultivo McConkey y se incubó a 37°C por 48 horas.

Determinación de *Escherichia coli* según COVENIN 1086-84 (COVENIN, 1984), siembra en superficie en medio de cultivo Levine y se incubó a 37°C por 48 horas.

Para la identificación de enterobacterias se realizaron pruebas bioquímicas mediante Pruebas IMViC (Indol, Rojo de metilo, Voges Proskauer y Citrato).

**Indol:** en tubos de agua triptonada, luego del agregado de unas gotas del reactivo de Kovacs, y tras unos minutos, se observa la aparición de una fase orgánica en la

superficie de color rojo. Esto indica que la prueba es positiva.

**Rojo metilo:** en la suspensión bacteriana luego de la incubación se agrega el indicador rojo de metilo, tornándose la muestra de color rojo. Esto es un resultado positivo de la prueba. Se emplea un medio de cultivo (RM).

**Voges Proskauer:** Luego de la incubación se agrega hidróxido de potasio y  $\alpha$ -naftol, la solución toma una coloración amarillenta en la superficie. Esto indica que la prueba es negativa.

**Citrato:** En esta prueba no se observan cambio de color en el medio de cultivo, ni desarrollo de colonias bacterianas. Esto indica que las bacterias no utilizaron citrato como fuente de carbono, por lo tanto no tienen el complejo enzimático citritasa.

Como criterio de eficacia se utilizó lo estipulado por el Test de Chambers, para determinar el % de eficiencia de los tratamientos empleados en la reducción de la carga microbiana presente en las muestras de lechuga, dicho test, citado por



López et al. (2003), consideran como buen desinfectante un producto que, a la concentración recomendada, cause un 99,999% de muerte de los microorganismos.

La acción del producto desinfectante se expresó como eficiencia germicida porcentual (%), calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

#### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron procesados el programa estadístico Number Cruncher Statistical Systems versión 6.0 (NCSS, 2007) fue utilizado para el análisis de varianza (ANOVA) con  $\alpha \leq 0.05$ . Se empleó un diseño factorial, en donde se

$$\text{Eficiencia (\%)} = (\text{No} - \text{Nt}) / \text{No} \times 100$$

Donde:

No = número de microorganismos iniciales

Nt = número de microorganismos sobrevivientes a tiempo t

estudiaron las muestras de lechuga proveniente de 4 mercados, empleando tres tratamientos de lavado (T1, T2 y T3), en tres tiempos (0, 15 y 30 min.) y al presentarse diferencia estadísticamente significativa se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Calidad microbiológica**

En el Cuadro 2 se muestran los valores promedios de aerobios mesófilos, enterobacterias y *E. coli*, expresados como mercados en la ciudad de Barquisimeto.

UFC/g y la presencia o ausencia de *Pseudomonas* de la evaluación de las muestras de lechuga obtenidas de 4



## Cuadro 2. Análisis microbiológico de las lechugas comercializadas en 4 mercados

| Mercados | Microorganismos                                  |  |                                 |                    |
|----------|--|--|---------------------------------|--------------------|
|          | Aerobios mesófilos                               | Enterobacterias                          | <i>E. coli</i>                  | <i>Pseudomonas</i> |
| A        | $9 \times 10^3 \pm 4,2 \times 10^{3a}$           | $2,9 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^{3a}$ | $3,0 \times 10 \pm \times 10^a$ | * <sup>a</sup>     |
| B        | $8,4 \times 10^3 \pm 4,5 \times 10^{3a}$         | $4,0 \times 10 \pm 1,9 \times 10^{3a}$   | 0,00 <sup>b</sup>               | * <sup>a</sup>     |
| C        | $5,1 \times 10^3 \pm \times 1,5 \times 10^{3ab}$ | $4,4 \times 10^2 \pm 1,8 \times 10^{3a}$ | $4,1 \times 10 \pm \times 10^a$ | * <sup>a</sup>     |
| D        | $2,2 \times 10^3 \pm 1 \times 10^{3b}$           | $2,4 \times 10^2 \pm 1,1 \times 10^{3a}$ | $5,5 \times 10 \pm \times 10^a$ | * <sup>a</sup>     |

UFC/g (promedio de 3 repeticiones)  $\pm$  Desviación estándar.

Los superíndices diferentes (a, b) indican grupos estadísticamente diferentes (P <0,05).

\*Presencia

Los resultados indican diferencia estadísticamente significativa (p<0,05) entre los mercados para los parámetros evaluados en aerobios mesófilos y *E. coli*. Los recuentos de Aerobios mesófilos presentaron rangos entre  $2,2 \times 10^3$  -  $9 \times 10^3$  UFC/g, siendo el mercado A y B donde se encontraron los valores superiores.

En el recuento de las Enterobacterias, se evidenció que no existe diferencia significativa (p<0,05) y los valores se presentaron entre  $4,0 \times 10$  -  $2,9 \times 10^3$  UFC/g, destacándose el mercado B en el recuento con los menores valores.

Para *E. coli*, se muestran niveles de  $3,0 \times 10$  y  $5,5 \times 10$  UFC/g en los mercados A, C y D respectivamente, mientras que en los mercados B no se evidenció este microorganismo. Los resultados de las

Pruebas IMViC (Indol, Rojo de metilo, Voges Proskauer y Citrato) fueron (+ + - -), dichos resultados indican la ausencia de *E. coli* al ser comparadas con la guía de Pruebas bioquímicas IMViC para Enterobacteriaceae (Bailon et al. 2003).

En relación a los resultados de *Pseudomonas*, fue detectada la presencia en todas las muestras evaluadas de los 4 mercados estudiados.

Al evaluar la procedencia de las lechugas examinadas y la presencia de microorganismos se verificó que indistintamente del mercado, se encontraron lechugas contaminadas; posiblemente, esto se debe a que tanto en la precosecha como en la poscosecha hay manejo inadecuado durante la



comercialización, principalmente en lo que respecta a la manipulación. De igual forma, la carga microbiológica de las lechugas se puede ver relacionada con el eslabón de la cadena de comercialización (supermercado, mayorista, cooperativa, hipermercado). Se puede inferir que una gran carga de UFC es el resultado de la alta manipulación de las lechugas por los operarios, desde el campo hasta su exhibición en el mercado.

Estudios relacionados a la calidad microbiológica de la lechuga han reportado altos recuentos de bacterias (Aliyu et al. 2005; Rodríguez, 2005; Kim y Harrison, 2008; Rivera et al. 2009; Abdullahi y Abdulkareem, 2010; Monge et al. 2011; Muñoz et al. 2013), demostrando que los microorganismos son abundantes en la superficie de las lechugas. Los autores señalan que los altos recuentos pueden atribuirse a las prácticas antihigiénicas realizadas desde la granja hasta el mercado. De igual manera, Ginestre et al. (2009) evaluaron la calidad microbiológica de la lechuga en dos mercados en la ciudad de Maracaibo,

afirmando que un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas.

Los resultados de este estudio concuerdan con los reportados por Prakash et al. (2000) quienes señalan que la contaminación microbiana en lechuga fluctúa entre 70 UFC/g y  $3,0 \times 10^8$  UFC/g, como carga total para aerobios mesófilos valores entre  $3,0 \times 10^4$  y  $1,0 \times 10^6$  UFC/g, siendo predominante la presencia de bacterias Gram negativas. De igual manera, coinciden con el estudio realizado por Campos y Manzano (2007), quienes reportan la presencia de *Shigella* en muestras de lechuga cortadas en la ciudad de San Salvador-El Salvador.

En Venezuela no existen normas microbiológicas que señalen los criterios para considerar los vegetales frescos aptos o no para el consumo. En otros países, utilizan como indicador entérico los recuentos de *E. coli*, tomando como referencia los criterios establecidos en la guía publicada por el PHLS Advisory



Committee for Food and Dairy Products (Gilbert et al. 2000), en la cual se establecen 3 categorías: satisfactorio (<20 UFC/gr), aceptable (20<100 UFC/gr) e insatisfactorio ( $\geq 100$  UFC/gr). Basados en este criterio los resultados de la investigación reflejan que las muestras analizadas fueron aceptables.

En investigaciones realizadas por Monge et al. (2011) y Halablab et al. (2011) en lechugas comercializadas en los mercados en Costa Rica y Líbano respectivamente, reportaron un recuento de *E. coli* superiores a  $7 \times 10$  UFC/g, a diferencia del presente estudio donde se detectaron valores inferiores. Se pudiera inferir que los factores involucrados en la poca presencia de *E. coli* en este estudio, serían la utilización de las hojas del interior de la lechuga (no existía presencia de agua y tampoco tierra) y se desecharon las hojas en mal estado del exterior que están en contacto con el agua y con el suelo mismo del cultivo. Otro factor implicado que está relacionado con el manejo del cultivo es el agua utilizada para el riego.

González (2014) afirma que desde el punto de vista epidemiológico, es importante tener presente que las hortalizas son alimentos para consumo interno y para la exportación, razón por la cual su producción, cosecha, almacenamiento, distribución y comercialización deben someterse a programas de producción conocidos como Buenas Prácticas Agrícolas, para asegurar su calidad y reducir al mínimo su contaminación.

### **Efecto del lavado**

De acuerdo a los resultados del presente estudio, en aerobios mesófilos, el lavado de la lechuga reduce la carga microbiana, indistintamente del tratamiento aplicado a los 30 min de inmersión. Con el uso del T2 y T3 la reducción se presenta desde el tiempo 0.

Las Enterobacterias (Cuadro 3), se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tres tiempos empleados para su reducción. El T1 generó dos efectos: en el mercado C, un aumento de colonias a los 15 min,



explicado por una posible disgregación de algunas partículas de tierra presentes en la superficie de la lechuga que contienen bacterias; sin embargo, el tratamiento llega a ser efectivo para las muestras del mercado D, esto puede explicarse debido al efecto de barrido que ejerce el agua empleada para el lavado, la cual posee un residual de cloro por ser agua tratada. Igualmente, el mercado A y B con el T2 a los 15 min se presenta una posible

disgregación de algunas partículas de tierra (presentes en la superficie de la lechuga) que a los 30 min se disminuye levemente. Este tratamiento tuvo un efecto importante en el mercado D a los 30 min donde se observa la total eliminación de las bacterias. Con el T3 se disminuyó la carga bacteriana de modo significativo en el mercado A, y en el mercado D, el efecto del vinagre eliminó desde los 0 min la presencia de microorganismos.

**Cuadro 3. Efecto comparativo del lavado de la lechuga con agua (T1), soluciones de limón (T2) y vinagre (2%) (T3) en la reducción de Enterobacterias.**

| MERCADO / TRATAMIENTO | Agua (T1) | Limón (T2)                             | Vinagre (T3)                           |
|-----------------------|-----------|--|--|
| A                     | 0         | $1,9 \times 10^3 \pm 6,56 \times 10^a$ | $2,0 \times 10^2 \pm 3,64 \times 10^a$ |
|                       | 15        | $2 \times 10^3 \pm 6,50 \times 10^a$   | $4,8 \times 10^2 \pm 3,54 \times 10^a$ |
|                       | 30        | $2,5 \times 10^2 \pm 3,24 \times 10^a$ | $1,2 \times 10^2 \pm 3,44 \times 10^b$ |
| B                     | 0         | $1,2 \times 10^2 \pm 3,04 \times 10^a$ | $7,6 \times 10 \pm 1,32 \times 10^b$   |
|                       | 15        | $9,7 \times 10 \pm 1,44 \times 10^b$   | $9,3 \times 10 \pm 1,45 \times 10^b$   |
|                       | 30        | $5,3 \times 10 \pm 1,34 \times 10^b$   | $8,3 \times 10 \pm 1,78 \times 10^b$   |
| C                     | 0         | $2,9 \times 10^2 \pm 3,54 \times 10^b$ | $1,3 \times 10^2 \pm 3,14 \times 10^a$ |
|                       | 15        | $1,7 \times 10^3 \pm 6,54 \times 10^a$ | $6,3 \times 10 \pm 1,14 \times 10^b$   |
|                       | 30        | $6 \times 10^2 \pm 3,54 \times 10^a$   | $1,7 \times 10 \pm 1,56 \times 10^b$   |
| D                     | 0         | $8 \times 10 \pm 1,24 \times 10^b$     | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 15        | $5,3 \times 10 \pm 1,14 \times 10^b$   | $5,3 \times 10 \pm 1,09 \times 10^b$   |
|                       | 30        | 0 <sub>c</sub>                         | 0 <sub>c</sub>                         |

UFC/g (promedio de 3 repeticiones) ± Desviación estándar.

Los superíndices diferentes (a, b, c) indican grupos estadísticamente diferentes (P < 0,05).



En los vegetales de consumo fresco, la mayor parte de las Enterobacteriaceae proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado (Koneman, 2008).

### *Escherichia coli*

En la reducción de la carga microbiana de *E. coli* (Cuadro 4), en el mercado A se aprecia que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) para su reducción en el T2 y T3 y los valores obtenidos fueron de 0 UFC/g, mientras que en el T1 fue de  $3 \times 10$  UFC/g a los 0 y 15 min. Por su parte, en el mercado B no se evidenció este microorganismo.

**Cuadro 4. Efecto del Agua (T1), soluciones con jugo de limón (T2), soluciones con vinagre (T3) a 0, 15 y 30 min en la reducción de la carga microbiana de *E. coli* de las lechugas provenientes de 4 mercados.**

| MERCADO / TRATAMIENTO | Agua (T1) | Limón (T2)                             | Vinagre (T3)                           |
|-----------------------|-----------|--|--|
| A                     | 0         | $3 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 15        | $3 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 30        | 0 <sub>c</sub>                         | 0 <sub>c</sub>                         |
| B                     | 0         | 0 <sub>c</sub>                         | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 15        | 0 <sub>c</sub>                         | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 30        | 0 <sub>c</sub>                         | 0 <sub>c</sub>                         |
| C                     | 0         | $4,6 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$   | $2,9 \times 10^2 \pm 2,74 \times 10_a$ |
|                       | 15        | $7 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     | $3 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     |
|                       | 30        | $1,2 \times 10^2 \pm 2,74 \times 10_b$ | $9,7 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$   |
| D                     | 0         | 0 <sub>c</sub>                         | $5 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     |
|                       | 15        | $2 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$     | 0 <sub>c</sub>                         |
|                       | 30        | $1,5 \times 10 \pm 1,54 \times 10_b$   | 0 <sub>c</sub>                         |

UFC/g (promedio de 3 repeticiones)  $\pm$  Desviación estándar.

Los superíndices diferentes (a, b, c) indican grupos estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).



En el mercado C se evidenció diferencias significativas entre los tiempos de lavado con el T2 con reducción de  $2,9 \times 10^2$  a  $3 \times 10$  UFC/g. Mientras tanto en el mercado D existen diferencias significativas en el uso de los tres tratamientos, siendo el T2 desde los 15 min y el T3 en los 30 min los que redujeron la carga microbiana en su totalidad.

Los resultados de éste trabajo concuerdan con los reportados por Akbas y Ölmes (2007), Raftari et al. (2009) y Jaimés y Gómez (2013). en la reducción de la carga microbiana, de igual forma, con la investigación de Gómez et al. (2012), quienes revelaron en lechuga fresca con pruebas *in vitro*, el mejor desempeño del desinfectante a base de ácidos orgánicos (Citrosan®) en la eliminación de *E. coli* a 5 minutos de contacto comparados con el agua, eliminando de esta manera más de un 99% de esta bacteria; así mismo los autores señalan que la eficiencia del lavado va a depender de la carga microbiana inicial.

### **Pseudomonas**

Los resultados del efecto del lavado con Agua (T1), soluciones con jugo de limón (T2), soluciones con vinagre (T3) a 0, 15 y 30 min en la reducción de la carga microbiana de *Pseudomonas* de las lechugas provenientes de 4 mercados, tuvo efecto en el mercado A con el uso del vinagre a los 30 min, mientras que el mercado D indiferentemente del tratamiento aplicado, no se registró presencia de la bacteria a los 30 min.

La detección de la presencia de esta bacteria en todas las muestras puede ser explicado por el uso de *Pseudomonas* como promotor de crecimiento, agente de control biológico o protector de infecciones, sin embargo también pueden generar alteraciones en la lechuga. En este estudio no se realizaron pruebas bioquímicas para determinar el tipo específico de esta bacteria.

El género *Pseudomonas* comprende a microorganismos caracterizados por ser



bacilos Gram negativos rectos o ligeramente curvos, son aerobios estrictos; la mayoría de cepas son móviles, utilizan la glucosa y otros hidratos de carbono oxidativamente, y por lo general son citocromo oxidasa positivos. La importancia de su determinación radica que este género ha sido encontrado en suministros de agua, ocasionando infecciones del tracto respiratorio (Bourgeois et al. 1994).

Viswanathan y Kaur (2001) reportaron presencia de *Pseudomonas* en la evaluación microbiológica de la lechuga utilizada para ensaladas en la India. De igual forma Arias y Antillón (2000) en una

revisión sobre contaminación microbiológica de los alimentos de 10 años en Costa Rica.

### Eficiencia de las soluciones

En la Figura 1 se muestran los porcentajes del efecto de reducción de la carga microbiana de las soluciones evaluadas en los diferentes tiempos de exposición

El uso de soluciones de jugo de limón comparadas con el uso de vinagre no presentó diferencias significativas; se destaca la solución del jugo de limón alcanzando un 72% de eficiencia a los 30 min; mientras, la solución de vinagre tuvo una eficiencia de un 66% a los 30 min.

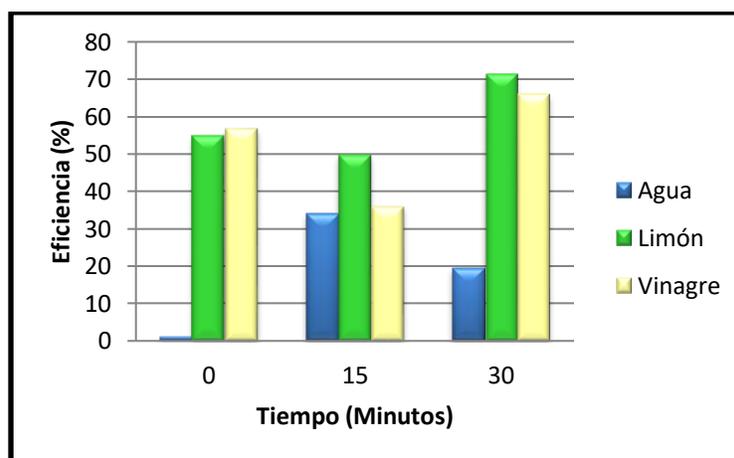


Figura N° 1. Eficiencia (%) de los tratamientos en la reducción de la carga microbiana. Agua (T1), soluciones con jugo de limón (T2), soluciones con vinagre (T3).



Cherry (1999), señala, que la eliminación de microorganismos presentes en frutas y vegetales por lavado con agentes antimicrobianos es un problema complejo. Esto puede ser atribuido en parte a la morfología de la superficie del vegetal o posiblemente a la capacidad que poseen ciertos microorganismos de formar biofilms en la superficie, los cuales resisten en cierto grado la remoción incluso por tratamientos de escobillado usando soluciones desinfectantes.

De acuerdo a Gómez et al. (2012) el pH es el factor donde los ácidos orgánicos intervienen, debido a que valores de pH entre 5 y 9 son los ambientes comunes donde sobreviven los microorganismos como la *E. coli*, valores de pH menores o cercanos a 2 y mayores a 10 son ambientes inadecuados para la mayoría de microorganismo patógenos.

Se han realizado estudios sobre la acción de agentes antimicrobianos y su comportamiento como desinfectante en vegetales frescos, en general, las propiedades antimicrobianas de los ácidos orgánicos han sido reconocidas.

Matamorros (1998), reportó que los agentes antimicrobianos de origen vegetal no contribuyen al desarrollo de cadenas de resistencia o alteran el ambiente del producto de manera que crezcan otros organismos patógenos. Mendoza y Cantor (2012), confirman la eficacia del uso de ácidos orgánicos, como el vinagre y cítrico, brindando así calidad e inocuidad a hortalizas frescas.

Ray y Sandine (1992) señalan que los resultados generales demuestran que la eficacia del vinagre aumenta a medida que aumenta la concentración, disminuye el pH, la temperatura aumenta y la carga microbiana disminuye. Entre las bacterias, las Gram positivas suelen ser más resistentes que las bacterias Gram negativas.

El vinagre es una sustancia inocua; no existen límites oficiales para la ingesta diaria en el hombre. Cuando se incorpora vinagre a un alimento se expresan dos efectos, uno acidulante y otro preservativo. A concentración de 1-2% inhibe casi toda la flora total dentro de límites razonablemente elevados de carga inicial.



Al 0,1% actúa sobre la mayoría de los patógenos y esporulados; al 0,5% tiene efecto sobre los hongos toxigénicos.

Los datos obtenidos permiten evidenciar que no se aplican las buenas prácticas agrícolas y buenas prácticas de manejo poscosecha, sin embargo, es importante señalar que el consumo del producto sin una adecuada limpieza y desinfección representa un riesgo para la salud del consumidor. La estrategia más efectiva para asegurar que un alimento sea beneficioso y seguro para su consumo, es la prevención de la contaminación microbiana. Por lo tanto, el mejor método para eliminar microorganismos patógenos es, en primer lugar, prevenir su contaminación (FAO, 2015).

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de investigación en éste trabajo, se encontró la presencia de distintos microorganismos en las muestras de lechuga obtenidas de 4 tipos de mercados (supermercado, mayorista, cooperativa, hipermercado) en la ciudad de Barquisimeto.

Los rangos de la carga microbiana obtenidos permitieron catalogar a las muestras de lechuga comercializadas en los mercados A, B y D de Barquisimeto en el nivel de calidad microbiológica aceptable y en el mercado C inaceptable por la posible contaminación con microorganismos.

De acuerdo a los resultados del presente estudio, el lavado con agua, solución de jugo de limón a pH 2,4 y solución de vinagre al 5% a pH 2,8 redujo en forma considerable la carga microbiana presente en las muestras de lechuga, el uso de solución en jugo de limón alcanzó la mayor eficiencia obteniendo un 72% , seguida del vinagre con un 66% de eficiencia.

## REFERENCIAS

- Abdullahi, I.O. and Abdulkareem, S. (2010). Bacteriological quality of some ready to eat vegetables as retailed and consumed in Sabon-Gari, Zaria, Nigeria. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1): 173 – 175.



- Aguayo E.; Gómez P.; Artés-Hernández F. y Artés, F. (2017). Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético. *Agrociencia Uruguay* Vol 21(1):7-14.
- Akbas, M. and Ölmec H. (2007). Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids. *Journal compilation The society for applied Microbiology. Institute of Technology, Gebze, Kocaeli, Turkey.* 6 p.
- Aliyu, Y.U, Bassey, S.E and Kawo, A.H (2005). Bacteriological quality of vegetables sold in some shops around Kano metropolis, Nigeria. *Biological and Environmental Science Journal for the Tropics* 2(1): 145 – 148.
- Arias M y Antillón F. (2000). Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. *Rev Biomed* 11:113-122.
- Beuchat, L. (1998). Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: A review. *Food Safety Unit, WHO. WHO/FSF/FOS/98.2. Food control.* 13:526-532.
- Bourgeois C., Mescle J. y Zucca J. (1994). *Microbiología Alimentaria. Volumen I. Aspectos Microbiológicos de la Seguridad y Calidad Alimentaria.* Editorial Acribia, S.A. España, Zaragoza. Pág. 158-161.
- Campos M. y Manzano W. (2007). Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas que se consumen en crudo. [Disponible en línea]. Disponible en: <http://core.ac.uk/download/pdf/11227667.pdf> Consulta: 2015, marzo 22.
- Cherry J. (1999). Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. *Food Technol.* 53(11):54-59.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1984). *Alimentos. Métodos para recuento de bacterias coliformes en placas de Petri (COVENIN 1086).* Venezuela: Ministerio de Fomento.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1987). *Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri. (COVENIN 902-87).* Venezuela: Ministerio de Fomento
- Doyle M., Beuchar L. y Montville T. (2005). *Microbiología de los Alimentos.* Editorial Acribia, S.A. 816 p.



- Food and Drug Administration “FDA” (1998). “Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables”.
- Food and Drug Administration “FDA” (2008). La irradiación de alimentos. [En línea]. Disponible: <http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/UCM262298.pdf> Consulta: 2018, octubre 3.
- García-Robles, J.; Medina, L., Mercado-Ruiz, J. y Báez-Sañudo, R. (2017). Evaluación de desinfectantes para el control de microorganismos en frutas y verduras. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha* Vol 18(1):9-16.
- Gil M., Allende A., López F., Selma M. (2009). Hay alternativas al cloro como higienizante para productos de IV Gama?. *Revista Horticultura. Extra May.* 2009. Consulta: 2018, octubre 3.
- Gilbert RJ, Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro C et al. (2000). Guidelines for the Microbiological quality of some ready- to- eat foods sampled at the point of sale. *PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. Commun Dis Public Health* 3: 163-7.
- Ginestre M., Romero S., Rincón G., Castellano M., Ávila Y., Colina G., Perozo A. (2009). Calidad microbiológica y bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología;* 29:52-56. Consulta: 2015, mayo 20.
- Gómez L., Jaimes S. y Montes J. (2012). Evaluación de un producto a base de ácidos orgánicos frente a *E. coli* y *Salmonella spp*, en la desinfección de lechuga fresca. *Revista Lasallista de Investigación.* Vol. 9 N° 2: 122-131. Consulta: 2018, febrero 22.
- González C. (2014). Estudio microbiológico de muestras de hortalizas comercializadas en mercados públicos de San Salvador. *Enero-Julio 2014 Vol. 4.* [Consulta en línea]. Disponible en: [http://www.cic.ues.edu.sv/REVISTA\\_CICUES\\_MINERVA/makeupwebsitetemplate/articulos/Ciencias%20de%20la%20Salud/Minervahortalizas.pdf](http://www.cic.ues.edu.sv/REVISTA_CICUES_MINERVA/makeupwebsitetemplate/articulos/Ciencias%20de%20la%20Salud/Minervahortalizas.pdf) Consulta: 2018, febrero 5.
- Halablab M., Sheet I y Holail H. (2011). Microbiological quality of raw vegetables grown in Bekaa Valley, Lebanon. *American Journal of Food Technology* 6(2):129-139.
- Jaimes S y Gómez L. (2013). Evaluación de un producto a base de ácidos orgánicos frente a *E.coli* y *Salmonella spp*, en la desinfección de lechuga fresca.



- Kim, J.K and Harrison, M.A (2008). Transfer of *E. coli* 0157:H7 to Romaine lettuce due to contact water from melting ice. *Journal of Food protection* 71 (2): 252- 256.
- Koneman (2008). Diagnóstico Microbiológico. Panamericana Buenos Aires – Argentina. Pág. 204-207.
- Matamoros, L., (1998). Aumenta el uso de antimicrobianos naturales en la UE para garantizar la seguridad de los alimentos manteniendo sus características. Disponible en: <http://www.salud7.com.mx/nutricion/2006/12/antimicrobianos-naturales-y-conservacin>. Html [Consulta 2018, octubre 28]
- Mendoza M. y Cantor F. (2012). Efecto del uso de vinagre, cítrico e hipoclorito de calcio para control de *Escherichia coli* (ATCC 25922) en lechuga (*Lactuca sativa* L.) y chile dulce (*Capsicum annuum* L.). Honduras. [Consulta en línea]. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/952/1/T3248.pdf> Consulta: 2018, febrero 22.
- Monge C., Chaves C. y Arias M. (2011). Comparación de la calidad bacteriológica de la lechuga (*Lactuca sativa*) producida en Costa Rica mediante cultivo tradicional, orgánico o hidropónico. Costa Rica. Vol. 61 N° 1. [Consulta en línea]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v61n1/art9.pdf>. Consulta: 2014, octubre 10.
- Muñoz S., Vilca M., Ramos D. y Lucas J. (2013). Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expandidas en cuatro mercados de Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú*; 24(3): 300-306. Consulta: 2014, octubre 10.
- Organización Mundial de la Salud (OMS), (2019). Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles. Disponible: [https://www.who.int/elena/titles/fruit\\_vegetables\\_ncds/es/](https://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/es/) [Consulta: 2019, Julio 01].
- Organización Mundial de la Salud (OMS), (2015). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). [En línea]. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>. [Consulta: 2019, marzo 18].
- Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2015). Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es)



- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)/OMS (2003). Garantía de la inocuidad y Calidad de los alimentos: Directrices para el fortalecimiento De los sistemas nacionales de control De los alimentos. Roma. [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/y8705s/y8705s03.htm#bm03.1> Consulta: 2018, marzo 2.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (2015). Inocuidad y calidad de los Alimentos. [Consulta en línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/antimicrobial/es/> Consulta: 2018, marzo 18.
- Parish, M.E.; Beuchat, L.R.; Suslow, T.V.; Harris, L.J.; Garrett, E.H.; Farber, J.N.; Busta, F.F. (2003). Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. Chapter V. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.
- Prakash A., Guner A.R., Caporaso F and Foley D.M. (2000) Effects of low-dose gamma irradiation on the shelf life and quality characteristics of cut romaine lettuce packaged under modified atmosphere. *J. Food Sci.* 65(3):549-553.
- Raftari M., Azizi Jalilian F., Abdulamir A., Son R., Sekawi Z., y Fatimah, A (2009). Effect of Organic Acids on *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* Contaminated Meat. *Open Microbiology Journal.* 3: 121–127.
- Ray, B. y Sandine, W.E. (1992). Acetic, Propionic, and Lactic Acids of Starter Culture Bacteria as Biopreservatives. In: B. Ray and M. Daeschel (eds.), *Food Biopreservatives of Microbial Origin.* 103-136. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Rincón G., Ginestre M., Romero S., Castellano M. y Ávila Y. (2010). Calidad microbiológica y bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología;* 29:52-56. Consulta: 2018, marzo 20.
- Rivera M., Rodríguez C. y López J. (2009). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. 26(1): 45-48. Consulta: 2018, febrero 22.
- Rodríguez A. (2005). Determinación de *Escherichia coli* en ensaladas a base de lechuga preparadas en restaurantes de comida rápida.



- Universidad de San Carlos de Guatemala. [Consulta en línea]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/638/1/TN1034.pdf>. Consulta: 2014, octubre 10.
- Roller, S. (2003). *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*. CRC Editors. Cambridge, England. 880 p.
- Tauffer J.; Ferreira C.; Tezotto J.; Dallocca B; Lucazechi G. y Kluge R. (2018). Implementación de prácticas para la reducción del riesgo microbiológico en el proceso de elaboración de hortalizas de IV gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol 19(1): 21-29.
- Terragno R., Caffer M. y Binsztein N. (2007). Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de *Shigella spp.* [Consulta en línea]. Disponible en: [http://bvs.panalimentos.org/local/Fil e/Manual\\_Shigella\\_procedimientos.pdf](http://bvs.panalimentos.org/local/Fil e/Manual_Shigella_procedimientos.pdf). Consulta: 2015, marzo 18.
- Viswanathan P y Kaur R. (2001). Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *Int J Hyg Environ Health*. Mar; 203(3):205-123.
- Zúñiga, I. y Caro J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *ENF INF MICROBIOL* 2017 37 (3): 95-104.