

Efecto conservador de la SES con pH neutro en alimentos listos para su consumo: la fresa como modelo de estudio

Ventura Torres, P.¹ • Cano Buendía, J.A.¹ • Severiano Pérez, P.² • Ramírez Orejel, J.C.^{3*}

Palabras clave: Solución electrolizada de superoxidación, inocuidad, *Salmonella enterica*

Key words: : Electrolyzed superoxidation solution, safety, *Salmonella enterica*

Introducción

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una fuente importante de compuestos bioactivos con una gran capacidad antioxidante, además se ha demostrado que una dieta rica en frutas y vegetales se asocia a no padecer enfermedades patológicas [1].

Debido a que es una fruta cosechada a mano, empaquetada y comercializada como un producto listo para su consumo, no está sujeta a ningún tratamiento que ayude a eliminar los patógenos presentes después de su cosecha [2], se ha convertido en una de las frutas más importantes que en los últimos años ha ocasionado problemas de inocuidad alimentaria; las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) están

relacionadas con el consumo de fresa debido a la presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* spp [3]. Es por eso que la desinfección de este tipo de alimentos es un paso importante para garantizar su inocuidad y calidad.

La adición de un sanitizante al agua de lavado es una de las estrategias más seguras para inactivar o remover bacterias patógenas de este tipo de alimentos. El hipoclorito de sodio es el desinfectante más popular en la industria, sin embargo, presenta varias desventajas como su inestabilidad en el ambiente, corrosión en superficies metálicas y corrosión en vías respiratorias [4]. Es por eso que en los últimos años

1 Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán, 04510, México.

2 Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán 04510, México.

3 Departamento. de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Av. Universidad 3000, Coyoacán, 04510, México. 5622 5906

* jrorejel@unam.mx



se han generado otras alternativas en el control de patógenos y que ofrecen ventajas en su uso. La solución electrolizada de superoxidación (SES) con pH neutro es un novedoso agente sanitizante ya que tiene una alta eficacia en el control de patógenos, no ocasiona corrosión de superficies metálicas ni de las vías respiratorias, no genera resistencia bacteriana, es estable y ecológico. Su efecto bactericida se debe a la cantidad de ácido hipocloroso (HClO) con la que cuenta, las formas activas del cloro (Cl_2 , HClO y ClO^-) dañan la membrana externa de la bacteria permitiendo el paso del HClO al interior de la célula, oxidando a las proteínas y enzimas involucradas en los procesos metabólicos bacterianos [5]. Se ha demostrado que ayuda a reducir la cuenta microbiana en manzana, fresas, lechuga, pepino, tomates, carne de cerdo, carne de pollo, carne de res, huevo y pescado [5, 6]

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto conservador de la solución electrolizada de superoxidación con pH neutro en fresas contaminadas con *Salmonella enterica*.

Metodología

En el presente estudio se emplearon las siguientes soluciones: Solución Electrolizada de Superoxidación (SES) con pH neutro (Esteripharma México ® S.A. de C.V.); hipoclorito de sodio (NaClO) y solución salina fisiológica (SSF) como solución control de lavado. Debido a que la actividad antimicrobiana depende de las características fisicoquímicas [5] se evaluaron el pH, potencial óxido-reducción (ORP) [7] y la concentración de cloro mediante un ensayo yodométrico de cada una de las soluciones estudiadas.

Las soluciones fueron evaluadas para determinar su actividad germicida de forma *in vitro* [7].

La bacteria utilizada fue *Salmonella enterica* (ATCC 13311) y las fresas fueron obtenidas en un supermercado y seleccionadas para que todas tuvieran el mismo grado de madurez, tomando como referencia una tonalidad rojo-cereza completa.

Diseño experimental

Las fresas fueron divididas en dos grupos para ser tratadas por dos métodos: aspersión e inmersión. Cada grupo fue contaminado por 1 minuto con *Salmonella enterica* con un inóculo conteniendo una concentra-

ción de 107 UFC/mL. Posteriormente las fresas se dividieron en tres subgrupos, donde cada subgrupo fue tratado con SSF, NaClO (100 ppm) y SES (54 ppm). La aspersión se realizó con 13.5 mL de cada solución evaluada y la inmersión se llevó a cabo durante 1 min. con 200 mL de la solución a estudiar.

Conteo bacteriano

Las fresas contaminadas y tratadas se colocaron en una bolsa plástica estéril con 40 mL de SSF, se realizó un masaje por 1 minuto y posteriormente se tomó 1 mL del sobrenadante para realizar diluciones decimales. Las diluciones fueron sembradas en medio Agar Tripticosa Soya (TSA). Se determinó la cuenta viable obtenida para cada solución [7]; Los experimentos fueron realizados por triplicado.

Pruebas fisicoquímicas de fresas tratadas

Las fresas fueron divididas en dos grupos conteniendo cada uno 60 fresas; las cuales se subdividieron en tres grupos para ser tratadas con las soluciones a estudiar (SSF, SES y NaClO). La aspersión se realizó con 30 mL y la inmersión con 550 mL. Los tratamientos de inmersión fueron realizados por 5 min.

A las fresas tratadas se les midió el espectro CIE-Lab para determinar el cambio en el color [8] (se tomaron cinco lecturas de cada fresa) y se determinó la cantidad de sólidos solubles [8]. Las mediciones se realizaron a los días 0, 1, 2, 3 y 4.

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de uno y dos factores respectivamente empleando el software Graphpad Prism® 9 con un nivel de confianza del 95%.

Resultados y discusión

Análisis fisicoquímico de las soluciones

Los valores fisicoquímicos de las soluciones se muestran en la Tabla 1. El análisis mostró que la SES presentó un mayor valor de ORP ya que el 95% de la SES es ácido hipocloroso lo que hace que exhiba su poder oxidante, mientras que su pH neutro le da su estabilidad [5]. El NaClO mostró un menor ORP lo que indica un menor poder oxidativo, sin embargo, mostró una mayor concentración de cloro libre.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de las soluciones desinfectantes

	SES	NaClO	SSF
pH	6.8 ± 0.02	9.8 ± 0.01	6.9 ± 0.06
ORP (mV)	861 ± 1	528 ± 10.71	380 ± 1.43
Cl ₂ (ppm)	54.96 ± 0.58	100.18 ± 1.48	ND

Evaluación *In vitro*

El efecto bactericida de la SES y del NaClO fueron comparados con los resultados obtenidos de la bacteria tratada con SSF. Las cuentas bacterianas mostraron que las soluciones SES y NaClO son consideradas como productos germicidas, debido a que generaron una reducción de *Salmonella enterica* > 99.999% [7].

Pruebas microbiológicas

La SES mostró una disminución bacteriológica de 1.81 log(UFC/mL) al ser aplicada por aspersión y 2.07 log(UFC/mL) por inmersión. En comparación, el NaClO generó una disminución bacteriológica de 0.23 log(UFC/mL) cuando fue aplicada por aspersión y 1.76 log(UFC/mL) por inmersión (Figura 1). El hipoclorito de sodio y la SSF no mostraron diferencia significativa cuando son aplicados por aspersión.

La SES es un desinfectante con un mayor poder bactericida con respecto al NaClO, ya que existe diferencia significativa entre estas soluciones para ambos métodos. La diferencia significativa entre SES y la SSF en ambos métodos demuestra que la SES es un bactericida efectivo contra *Salmonella enterica* en fresas.

Pruebas fisicoquímicas

Color. Se evaluó el cambio de color debido a que es un parámetro de calidad sobre el cual, el consumidor decide su compra. Para obtener el cambio global de color (ΔE), se utilizaron los valores promedio del día 0 y se compararon con los valores promedio del día 4. En el método de aspersión la SSF, NaClO y SES obtuvieron valores de 8.19, 6.28 y 10.41 respectivamente; mostrando que el tratamiento con SES obtuvo un mayor cambio de color con respecto al control.

En el método de inmersión la SSF, NaClO y SES obtuvieron los valores 7.90, 5.61 y 7.84 mostrando que la SES generó un menor cambio que la SSF mientras que el tratamiento con NaClO fue el que menor cambio de color generó. Al hacer el análisis del espectro CIELab que intervienen en el cambio de coloración se identificó que la SES favorece la aparición prematura de un color rojo oscuro al ser aplicada por aspersión.

Sólidos solubles. Son compuestos principalmente por azúcares (glucosa y fructosa) los cuales se representan como °Bx. Se evaluó el contenido de éstos ya que son importantes indicadores de calidad y frescura. Durante la maduración, los ácidos orgánicos son utilizados como sustratos durante el proceso de respiración transformándose en azúcares, como consecuencia ocurre una disminución del porcentaje de ácido cítrico [8]. Cuando la solución de NaClO es aplicada mediante una aspersión, se afecta la síntesis de azúcares reductores en el día 1, 2 y 3 de almacenamiento a 6°C (Figura 2). En comparación, la SES afecta esta síntesis en el día 3 de almacenamiento al ser aplicada por aspersión. Existen diferencias significativas entre SSF y NaClO así como entre SSF y SES en los días 2 y 4 del método inmersión, ya que las fresas tratadas con NaClO y SES demostraron tener mayor cantidad de sólidos solubles. Estos resultados muestran una ventaja con respecto a los atributos sensoriales de la fruta, debido a que contienen una mayor cantidad de azúcares. También se observa una desventaja, ya que, al contener una mayor cantidad de azúcares, las fresas pueden ser contaminadas por microorganismos con mayor facilidad.

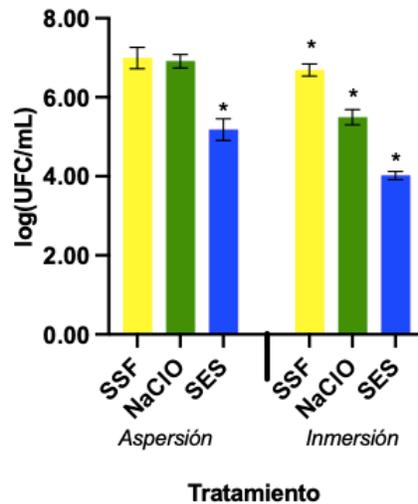


Figura 1. Reducción en cuentas bacterianas de *Salmonella enterica* con (* $p < 0.001$) en fresa contaminada después de la aplicación de los tratamientos por ambos métodos.

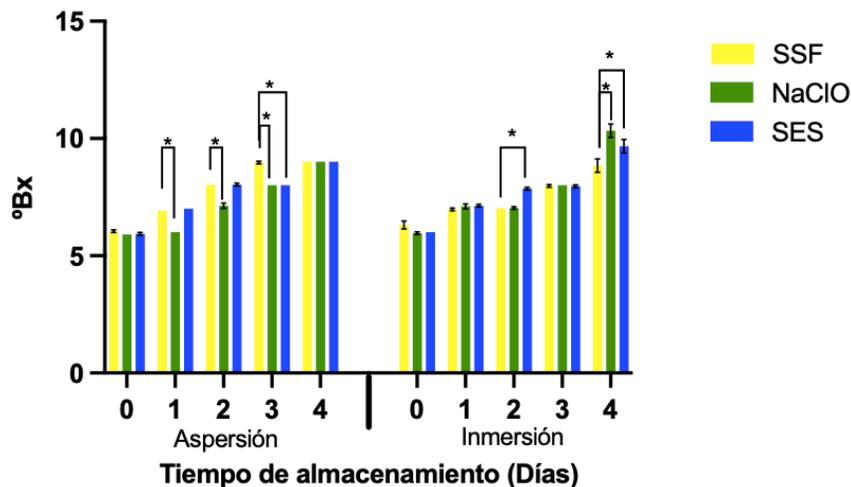


Figura 2. Comparación de los sólidos solubles para cada método. Se muestra la media de tres repeticiones por tratamiento (* $p < 0.0001$).

Conclusión

La SES demostró ser una solución con actividad bactericida efectiva en fresas contaminadas con *Salmonella enterica* mediante aspersión o inmersión. Sin embargo, la mayor efectividad se obtuvo mediante el tratamiento por inmersión. El NaClO también demostró ser una solución con actividad bactericida en fresas contaminadas con *Salmonella enterica*, al aplicarse por inmersión.

En cuanto al cambio de color, la SES obtuvo el valor más alto, seguido de la SSF y finalmente el NaClO al

ser aplicadas por aspersión. Al ser aplicadas por inmersión, la SSF obtuvo el valor más alto, seguido de la SES y finalmente el NaClO. La SES y el NaClO al ser aplicados por aspersión inhiben la síntesis de azúcares. Cuando se aplican por inmersión el dulzor de las fresas aumenta, sin embargo, son propensas a sufrir una contaminación microbiológica.

El uso de la SES puede ser una alternativa en el lavado/desinfección de fresas, sin embargo, hace falta un mayor número de estudios.

Referencias

1. Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*. 2012;28(1):9-19. doi:10.1016/j.nut.2011.08.009
2. Ortiz-Solà J, Abadías M, Colás-Medà P, Sánchez G, Bobo G, Viñas I. Evaluation of a sanitizing washing step with different chemical disinfectants for the strawberry processing industry. *International Journal of Food Microbiology*. 2020;334.
3. Gómez R, Villarreal T, Vázquez A, Arteaga Garibay RI, Osuna García JA. Actividad esporicida de la Solución Electrolizada con pH neutro en hongos de Importancia Poscosecha. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2017;19:3993-4007.
4. Ortiz-Solà J, Colás-Medà P, Nicolau-Lapeña I, Alegre I, Abadías M, Viñas I. Pathogenic potential of the surviving *Salmonella Enteritidis* on strawberries after disinfection treatments based on ultraviolet-C light and peracetic acid. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;364. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109536.
5. Orejel JCR, CanoBuendía JA. Applications of electrolyzed water as a sanitizer in the food and animal-by products industry. *Processes*. 2020;8(5). doi:10.3390/PR8050534
6. Ampiauw RE, Yaqub M, Lee W. Electrolyzed water as a disinfectant: A systematic review of factors affecting the production and efficiency of hypochlorous acid. *Journal of Water Process Engineering*. 2021;43. doi:10.1016/j.jwpe.2021.102228.
7. Torres E, Rivera A, Rosario PJ, et al. Application of Neutral Electrolyzed Water on pork chops and its impact on meat quality. *Scientific Reports*. 2020;10(1). doi:10.1038/s41598-02076931-4
8. Janurianti NMD, I Made Supartha Utama, Ida Bagus Wayan Gunam. Colour and Quality of Strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) at Different Levels of Maturity. *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*. 2021;5(1):22-28. doi:10.22225/seas.5.1.3166.22-28.