# revisión

# Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético

Aguayo Encarna<sup>1,2</sup>, Gómez Perla<sup>2</sup>, Artés-Hernández Francisco<sup>1,2</sup>, Artés Francisco<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Politécnica de Cartagena, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Paseo Alfonso XIII, 28, 30203 Cartagena, Murcia. Correo electrónico: encarna.aguayo@upct.es

Recibido: 2015-07-20 Aceptado: 2017-03-24

#### Resumen

La elaboración de hortalizas de IV Gama requiere de una etapa de desinfección que reduzca el crecimiento de microorganismos alterantes y patogénicos. En general, esta desinfección requiere de la adición de productos sanitizantes como el cloro o sus hipocloritos. Debido a que el cloro reacciona con otros compuestos orgánicos, dando lugar a la formación de subproductos halogenados perjudiciales para la salud como trihalometanos y cloraminas, las preocupaciones sobre la toxicidad de estos derivados han dado lugar al interés actual por utilizar productos alternativos y amigables con el medio ambiente. El interés por estos nuevos desinfectantes no solo se debe a su capacidad de inactivación frente a una amplia gama de microorganismos patógenos y deteriorantes, sino también a su capacidad para mantener la calidad sensorial del producto. Actualmente, existen diversas técnicas sostenibles y emergentes de desinfección que pueden reemplazar al cloro, proporcionando otros beneficios, como sucede con el ozono (O<sub>3</sub>), el agua electrolizada (AE), las radiaciones ionizantes o no, los antimicrobianos naturales, las bacteriocinas, los tratamientos térmicos, determinados agentes químicos como el ácido peroxiacético (AP) y otros muchos. En el presente trabajo revisaremos la eficacia del O<sub>3</sub>, AE y AP. Todos ellos han demostrado su eficacia microbicida con efecto frente a bacterias patógenas presentes en hortalizas de IV Gama.

Palabras clave: oxidante, agua ozonizada, calidad, microbiología

# Chemical Treatments to Sanitize Fresh-cut Vegetables: Ozone, Electrolyzed Water and Peracetic Acid

## Summary

The elaboration of fresh-cut vegetables needs a disinfection step to reduce the growth of spoilage and pathogenic microorganisms. In general, this requires the addition of sanitizers such as chlorine or hypochlorites. However, due to the fact that chlorine reacts with other organic compounds, leading to the formation of halogenated by-products that are harmful to health, such as trihalomethanes and chloramines, concerns over the toxicity of these derivatives have led to the current interest of using alternative and environmentally-friendlier products. The concern over these new sanitizers is not only due to their inactivation capabilities against a wide range of pathogenic and spoilage microorganisms, but at the same time, over their ability to maintain the sensory quality of the product. Currently, there are a number of sustainable and emerging disinfection techniques that can replace chlorine, providing other benefits, such as ozone  $(O_3)$ , electrolyzed water (AE), ionizing or non-ionizing radiation, natural antimicrobials, bacteriocins, heat treatments, certain chemical agents as peroxyacetic acid and many others. In this paper, we review the effectiveness of  $O_3$ , AE and peroxyacetic acid. All of them have proven their microbicidal efficacy against pathogenic bacteria in fresh-cut vegetables.

**Keywords:** oxidant, ozonated water, quality, microbiology

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidad Politécnica de Cartagena, Instituto de Biotecnología Vegetal, Unidad de Calidad y Salud

# Introducción

La demanda de frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF) o de IV gama es muy creciente tanto en los mercados internacionales como nacionales. El consumidor espera obtener un producto de fácil y de rápido consumo, con una alta calidad nutricional, sensorial y microbiológica. Como estos productos deben ser seguros, para ello es necesario emplear agentes desinfectantes en la etapa de lavado. Desde hace décadas, el cloro y sus hipocloritos de sodio (NaCIO) o calcio se han usado como principal agente desinfectante por razones de eficacia y economía. Sin embargo, algunos estudios indican que no siempre destruyen la microflora y, además, organizaciones de la salud y del medio ambiente han expresado su preocupación por su empleo debido a la formación de residuos químicos en el agua de proceso que recaen en el medio ambiente, o por generar compuestos perjudiciales para la salud como trihalometanos (THM) y cloraminas, considerados tóxicos para el hígado y el riñón (Graham, 1997). Estos THM se forman por la reacción del cloro libre (HOCI, OCI) con compuestos orgánicos y el nivel máximo tolerado de THM en el agua es de 100 mg L-1 (Garmendia y Vero, 2006). Surge así el interés por otras técnicas sostenibles y emergentes de desinfección que puedan reemplazar al cloro, proporcionando otros beneficios, como sucede con el ozono (O<sub>2</sub>), el agua electrolizada, las radiaciones ionizantes o no, los antimicrobianos naturales, las bacteriocinas, los tratamientos térmicos, ciertos agentes químicos como el ácido peroxiacético y otros muchos (Artés et al., 2009). Para revisar la situación actual de este extenso tema, se han seleccionado aspectos técnicos del O<sub>2</sub>, el agua electrolizada (AE) y el ácido peroxiacético (AP), examinando los resultados obtenidos por diversos investigadores.

#### Ozono

Este gas está considerado desde 1997 en EEUU como sustancia GRAS (Generally Recognized as Safe) para las aplicaciones en contacto con los alimentos (FDA, 1998). El  $\rm O_3$  es un oxidante 1,5 veces más potente que el cloro, muy corrosivo y letal para el hombre a concentraciones superiores a 4 ppm. Aun así, no se acumula en los tejidos grasos, no causa efectos crónicos, ni se le considera cancerígeno o mutagénico.

El método más usado para producir O<sub>3</sub> a escala comercial es el de descarga en corona, para lo que se emplea un generador formado por dos electrodos, uno de alta tensión y otro de baja, separados por un medio dieléctrico unido al

electrodo de alta. Se crea así un espacio de descarga entre la capa de material y el electrodo de baja, en el que al aplicar una corriente de 6.000 a 20.000 V en presencia de aire seco o de  $O_2$  se excitan los electrones del  $O_2$  produciéndose la ruptura de esta molécula tras lo cual dos átomos libres de oxígeno se combinan con dos moléculas de  $O_2$  y se forman dos moléculas de  $O_2$  (Guzel-Seydim, Green y Seydim, 2004).

La principal acción que se le atribuye es como microbicida y esterilizante, con un espectro antimicrobiano más amplio que el cloro (Rego et al., 2002). De hecho, el O<sub>2</sub> es activo contra bacterias (Gram-negativas y positivas), hongos, levaduras, virus, protozoos y esporas fúngicas y bacterianas, siendo más efectivo contra las bacterias celulares vegetativas que frente a esporas de bacterias y hongos (Kim, Yousef and Chism, 1999). Algunos autores afirman que el O<sub>2</sub> molecular es el principal inactivador de microorganismos, mientras otros sostienen que la actividad antimicrobiana se debe a la reacción de los subproductos procedentes de la descomposición del O<sub>2</sub>, como OH, O<sub>2</sub> y HO<sub>3</sub> (Hunt y Marinas, 1997). Aunque los radicales libres resultantes son oxidantes más poderosos, su vida media es muy corta (microsegundos) y no tienen un efecto significativo en la concentración. El O<sub>3</sub> en disolución de 0,5 a 5 ppm en el agua de procesado y con 3 a 5 min de contacto puede destruir, además de compuestos orgánicos tóxicos, diversos pesticidas y subproductos del cloro sin dejar residuos (Langlais et al., 1991).

La inactivación de microrganismos por el  ${\rm O_3}$  es un proceso complejo que afecta a gran número de constituyentes celulares, incluyendo proteínas, lípidos insaturados y enzimas respiratorias en las membranas celulares, péptidoglicanos en envoluturas celulares, enzimas y ácidos nucleicos del citoplasma, y proteínas y péptidoglicanos en cubiertas de esporas y cápsides de virus. El  ${\rm O_3}$  es generalmente más efectivo contra las bacterias celulares vegetativas que frente a esporas de bacterias y hongos (Kim, Yousef y Chism, 1999).

 ${\rm EI\,O_3}$  puede aplicarse en disoluciones acuosas o como gas en el aire. Según el método elegido los factores a controlar serán distintos, así como su eficacia sobre el producto en cuestión. En la desinfección de hortalizas MPF suele utilizarse en disolución acuosa, por lo que se examinará seguidamente esta forma de aplicación.

 ${\rm EI\,O_3}$  suele reducir notablemente la flora microbiana en la superficie de los alimentos ya que su descomposición en la fase acuosa del alimento es rápida, por lo que su acción microbicida tendrá lugar principalmente en la superficie. Su disolución en agua, al ser solo parcialmente soluble en ella,

cumple la ley de Henry donde la cantidad de O<sub>3</sub> presente en la solución a una determinada temperatura es linealmente proporcional a la presión parcial del gas. Con el aumento de la temperatura, el O<sub>3</sub> se va haciendo menos soluble y estable, pero la velocidad de reacción con el sustrato se incrementa (Bablon et al., 1991). La pureza y el pH del agua afectan considerablemente a la velocidad de solubilización del O<sub>3</sub>. La disolución es más rápida en agua desionizada y destilada con pH inferior a 6 que en agua corriente con un pH de 8,3 (Kim, Yousef y Chism, 1999). El O<sub>3</sub> se descompone a elevados pH dando como resultado radicales que contribuyen a su eficacia. La importancia relativa de estos dos mecanismos de inactivación puede variar con el microorganismo y las condiciones de tratamiento. No obstante, la actividad desinfectante de este gas no se ve afectada por un pH del agua entre 6 y 8,5 (Suslow, 1998). El exceso de O<sub>3</sub> se descompone rápidamente en O<sub>2</sub> sin dejar residuos en el alimento, produciendo numerosos radicales libres siendo el OH- el más abundante.

La presencia de sustancias orgánicas compite con los microorganismos ya que al demandar O<sub>3</sub> reducen la dosis eficaz del mismo. La sensibilidad de los microorganismos al O<sub>3</sub> está profundamente afectada no sólo por la cantidad sino también por la naturaleza de la materia orgánica presente en el medio (Restaino et al., 1995). Los microorganismos pueden encontrarse asociados o ligados a materia orgánica suspendida en la disolución, dificultando la accesibilidad del O<sub>3</sub>. El apropiado mezclado, burbujeo o turbulencia aumenta el contacto con las burbujas y la solubilización en agua y, además, rompe los grupos de microorganismos (Perry y Yousef, 2011). Por ello, el diseño de agitadores y la sonicación de O, en agua aumenta la velocidad de solubilización (Schultz y Bellamy, 2000). No obstante, la sonicación puede aumentar la descomposición de O<sub>3</sub> o aumentar la demanda del mismo al separar los materiales orgánicos del producto cortado (Kim y Yousef, 2000). En esta línea, se ha demostrado que los lavados con agua ozonizada aplicados en duchas incrementan el efecto microbicida del O<sub>a</sub> frente a la inmersión directa del producto en agua ozonizada, recomendándose además efectuar un prelavado con agua previo a la desinfección con agua ozonizada (Aguayo et al., 2010).

Una ventaja del O<sub>3</sub>, especialmente en regiones con escasez de agua, es que facilita la reutilización del agua de lavado de frutas y hortalizas tras una filtración, al eliminar el color, olor y turbidez del agua una vez desprovista de cargas orgánicas (Aguayo, Escalona y Artés, 2005; Rice, Farquhar y Bollyky, 1982). Por otra parte, en la industria de

productos MPF la ozonización del ambiente en las áreas de procesado y de envasado puede ser eficaz para limitar o impedir la contaminación microbiana del producto y la pérdida de calidad derivada. Por tanto, la sensibilidad de los microorganismos al O<sub>3</sub>, es decir, la efectividad del mismo, depende de la dosis y de su efecto residual en el medio después de haber sido consumido por otros componentes. Este efecto residual sobre el producto cortado también está relacionado con la duración del lavado, ya que tiempos largos inducen deterioro del producto sin mejorar la reducción microbiológica, debido a la reacción del gas con los tejidos y con lugares extracelulares, imposibilitando la inactivación de los microorganismos (Ogawa, Feliciano y Manji, 1990; Aguayo et al., 2014).

Seguidamente se citan algunos resultados seleccionados sobre el efecto antimicrobiano del agua ozonizada en hortalizas de IV gama. En bastones de patata y rodajas de zanahoria lavados con agua ozonizada (3,7 mg L-1) durante 7,5 min, el recuento de mesófilos totales se redujo en 0,6 y 1 unidad log respectivamente, tras una semana de conservación a 8 °C (Beltrán et al., 2005a). En lechuga MPF, se lograron reducciones de 1,5 log ufc g<sup>-1</sup> en *Escherichia* coli al lavar durante 5 min con agua ozonizada (10 mg L-1) partiendo de un conteo inicial de 7,82 log ufc g<sup>-1</sup>. Cuando la población inicial fue de solo 3,7 log ufc g<sup>-1</sup>, la reducción fue de 1,63 log ufc g-1 (Singh et al., 2002). En esta misma hortaliza, Beltrán et al. (2005b) redujeron la población de mesófilos totales en 1,6 y 2,1 unidades log, utilizando agua ozonizada (10 mg L<sup>-1</sup>) y cloro respectivamente, en comparación con agua. Akbas y Olmez (2007) obtuvieron reducciones de 1,7 y 1,5 unidades log en bacterias mesófilas y psicrótrofas, respectivamente, utilizando 4 mg L-1 O<sub>2</sub> durante 2 min. También en lechuqa cortada se redujeron en 2 log ufc g<sup>-1</sup> los recuentos de *Shigella sonnei* con 5 mg L<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> durante 5 min (Selma et al., 2007). En cambio, Zhang et al. (2005) obtuvieron similares reducciones en apio cortado utilizando tan sólo 0,18 mg L-1 O<sub>2</sub> en agua. Por su parte, Silveira, Aguayo y Artés (2010a) lograron una desinfección similar en melón Galia MPF utilizando agua clorada (150 mg L-1 NaOCl) y O<sub>2</sub> (0,4 mg L-1 durante 3 min). Frente al agua, ambos tratamientos redujeron la carga microbiana en 1 log cfu g<sup>-1</sup>, alcanzado una vida útil de 10 días a 5 °C. Alexandre et al. (2011) obtuvieron en pimiento reducciones de 2,8 log ufc g<sup>-1</sup> en *Listeria innocua* y 1,7 log en coliformes totales de berros con la inmersión de dichos productos durante 3 min en agua ozonizada (2 mg L-1). Más recientemente, Aguayo et al. (2014) mostraron que el agua ozonizada (0,4 mg L-1) aplicada durante 3 min, lograba una

notable reducción (0,7 unidades log) respecto al testigo en los recuentos de mesófilos y psicrótrofos.

Los beneficios de la aplicación de O<sub>3</sub> no se deben sólo a su control microbiano, ya que se ha demostrado que tiene diversos efectos también sobre el metabolismo del órgano vegetal, como la oxidación del etileno, una cierta reducción de la respiración, del consumo de azúcares, del pardeamiento debido a enzimas oxidativas y de la pérdida de peso, así como un mantenimiento de la firmeza y una cierta inducción en la síntesis de fitoalexinas (Kim, Yousef y Chism, 1999; Zhang et al., 2005; Silveira, Aguayo y Artés, 2010a; Alexandre et al., 2011; Aguayo et al., 2014).

## Agua electrolizada

El empleo del agua electrolizada en el lavado-desinfección es una alternativa prometedora para desinfectar hortalizas de IV gama. En sus versiones ácida (AEA) y neutra (AEN), se ha estudiado como desinfectante emergente en la industria alimentaria desde hace casi dos décadas (Izumi, 1999) y en los últimos años ha experimentado un gran aumento en el número de publicaciones y usos industriales.

EI AE se genera a partir de la electrolisis de una solución salina mediante la aplicación de un voltaje. La reacción ocurre dentro de una célula electrolítica compuesta por un ánodo y cátodo separados por una membrana. Tras someter a los electrodos a un voltaje, los iones cargados negativamente en la solución salina se mueven hacia el ánodo para ceder electrones y generarse O2 gaseoso, Cl2 gas, ión hipoclorito, ácido hipocloroso y ácido clorhídrico, mientras que los iones cargados positivamente se mueven hacia el cátodo generándose hidrógeno gaseoso e hidróxido de sodio (Huang et al., 2008).

Polo positivo:  $2H_2O \rightarrow 4H^+ + O_2 + 4e^-$ 

 $2NaCl \rightarrow Cl_2 + 2e^- + 2Na^+$ 

 $Cl_2 + H_2O \rightarrow HCI + HOCI$ 

 $2H_{3}O + 2e^{-} \rightarrow 2OH^{-} + H_{3}$ Polo negativo:

2NaCl + 2OH → 2NaOH + Cl

Las substancias activas en el polo positivo son HOCI, Cl<sub>2</sub> y el ion OCL<sup>2</sup>. El AEN es un líquido incoloro, transparente, con ligero olor a cloro, que contiene como cloro activo componentes como HCIO y CIO, así como varios hidroxilos como HO<sub>2</sub>, HO<sub>2</sub>, O', H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y los compuestos de oxígeno como O2 y O3, que le da las propiedades biocidas. La principal ventaja de este desinfectante es su seguridad. A diferencia de los problemas derivados del uso de NaClO, como irritación de la piel y mucosas y su toxicidad, el AE no es corrosiva. De hecho, cuando el AE entra en contacto con materia orgánica o se diluye con agua osmotizada o de la red, se convierte en agua ordinaria. Por todo ello, se considera al AE más respetuosa del medio ambiente que el NaClO y no es perjudicial para la salud humana. Por el contrario, la principal desventaja del AE es la rápida pérdida de su actividad microbicida si no hay un suministro constante de H<sup>+</sup>, HOCl y Cl<sub>2</sub> (Artés et al., 2009; Tomás-Callejas et al., 2011).

Diversos investigadores han estudiado el efecto del AEN y AEA en la desinfección de equipos de proceso de la industria alimentaria (Venkitanarayanan et al., 1999a; Kim et al., 2001; Park, Hung y Kim, 2002; Guentzel et al., 2008). Ayebah y Hung (2005) demostraron que el AEA no tenía ningún efecto adverso sobre las superficies de acero inoxidable. Sin embargo, problemas como la emisión de gases, la acidez del AEA, la corrosión de metales y la formación de subproductos requieren que se continúe investigando su optimización (Artés et al., 2011; Tomás-Callejas et al., 2011).

El AE se ha estudiado para reducir la microflora natural así como los principales patógenos alimentarios asociados a los productos MPF. Un lavado-desinfección con AEA (30 mg L<sup>-1</sup> cloro libre; pH 2,6; 1140 mV ORP) durante 10 min en lechuga cortada redujo la carga de aerobios mesófilos en 2 log ufc g<sup>-1</sup> (Koseki y Itoh, 2001). En cilantro, el AEA controló moderadamente el crecimiento microbiano durante su almacenamiento refrigerado (Wang, Feng y Luo, 2004). Del mismo modo, el AEA resultó efectiva para la reducción de E. coli O157:H7 (Venkitanarayanan et al., 1999b; Sharma y Demirci, 2003; Liao, Chen y Xiao, 2007; Stopforth et al., 2008), Salmonella y L. monocytogenes (Venkitanarayanan et al., 1999b; Stopforth et al., 2008). El carácter neutro del AEN podría resultar menos agresivo para los equipos de procesado comparado con el AEA. Izumi (1999) estudió la efectividad del AEN (15-50 mg L-1 cloro libre) en diferentes productos vegetales no obteniendo cambios significativos en el color, el pH de los tejidos y la apariencia general. Por su parte, Abadías et al. (2008) demostraron un efecto bactericida del AEN (50 mg L-1 cloro libre; pH 8,60) en lechuga cortada sobre E. coli O157 H7, Salmonella, L. innocua y Erwinia carotovora, similar al de un tratamiento convencional con NaClO (120 mg L<sup>-1</sup> cloro libre).

Sin embargo, existe escasa información de los efectos del AE sobre los principales atributos de calidad de los productos MPF, sobre lo que hemos trabajado en nuestro Grupo de Investigación.

Tomás-Callejas et al. (2011) estudiaron los efectos del AEA y AEN (70 mg L<sup>-1</sup> cloro libre) sobre la calidad microbiológica, nutritiva y sensorial de brotes de mizuna (Brassica rapa subsp. nipposinica) MPF durante 11 días a 5 °C, comparados con una desinfección con NaClO (100 mg L-1; pH 6,5). Los análisis microbiológicos mostraron una tendencia similar a la del NaClO, consiguiendo mantener el producto estable durante su vida comercial. No se encontraron diferencias para el contenido de clorofila entre los tratamientos durante el día de proceso ni al final de la vida comercial, lo que indica que esos tratamientos oxidantes no afectaron el contenido de clorofila total. Para el contenido en polifenoles totales la tendencia general fue la retención del contenido inicial durante 11 días a 5 °C para todos los tratamientos, mientras que la capacidad antioxidante total disminuyó un 35 %.

Martínez-Hernández et al. (2013) lograron una buena desinfección con AEN (100 mg L-1 cloro libre; 5 °C; pH  $7\pm0.1$ ; ORP = 900 mV) así como con su combinación con un pretratamiento con 6 KJ UV-C m<sup>-2</sup> y/o un envasado en alto O<sub>2</sub> (90 kPa iniciales), que fueron eficaces para preservar e incluso potenciar la calidad de brócoli híbrido Bimi MPF mantenido 19 días a 5 °C. Sugirieron la posibilidad de que el efecto sinérgico de la aplicación combinada de estas técnicas emergentes tenga éxito en otros productos hortifrutícolas. En este sentido, Navarro-Rico et al. (2014) observaron cómo un lavado-desinfección con AEN o AEA (70 o 100 mg L<sup>-1</sup> cloro libre), además de preservar la calidad durante la vida comercial, como sucede tras una desinfección convencional, retuvieron mejor los compuestos bioactivos en brócoli Parthenon y en Bimi MPF tras 19 días a 5 °C. En particular el tratamiento con AEN (100 mg L-1) obtuvo la mayor reducción del crecimiento microbiano en ambos cultivares de brócoli. En todo momento se obtuvo una retención de compuestos fenólicos del 30 % superior a lo sucedido en un lavado convencional. Se observó que el Bimi contenía más myrosinasa, enzima que cataliza la hidrólisis de glucosinolatos, y que tras la desinfección con AEA se preservó, mientras que tras un lavado convencional los niveles de dicha enzima se redujeron. En una ampliación de dichos estudios, se considera que mediante recubrimientos comestibles se puede potenciar la calidad sensorial de ciertos productos hortícolas tras su desinfección con AEA (Navarro-Rico et al., 2015).

Por su parte, Jemni et al. (2014) observaron en dátiles Deglet Nour cómo la combinación del AEN (100 mg L-1 cloro libre; pH 6,99; 870 mV ORP) o del AEA (1,83 mg L-1 cloro libre; pH 11,28; 880 mV ORP) seguido a un tratamiento con 6,22 kJ UV-C m-2 mantuvo la calidad de los frutos durante 30 días a 20 °C, minimizando el crecimiento microbiano.

# Ácido peroxiacético

El AP es un oxidante fuerte que ha demostrado ser efectivo para el control de microrganismos patógenos y responsables del deterioro de los productos vegetales MPF, aunque inicialmente se utilizó para la desinfección de superficies destinadas a la preparación de alimentos, a dosis de unas 85 ppm (FDA, 1998).

El AP normalmente se comercializa como líquido en una solución de equilibrio cuaternaria (ácido acético, ácido peracético, peróxido de hidrógeno y agua), siendo un ácido más débil que el acético y el peracético. El AP se ha convertido en una alternativa interesante para reemplazar al NaClO como desinfectante, especialmente porque los productos resultantes de su descomposición (ácido acético,  $O_2$ ,  $CO_2$  y  $H_2$ O) no tienen efectos carcinogénicos, ni mutagénicos, ni tóxicos, siendo completamente sostenible y ambientalmente seguro. Además, es económico y compatible con otros tratamientos de desinfección.

En relación al mecanismo de acción del AP, se piensa que actúa primeramente sobre las lipoproteínas de la membrana celular y, muy especialmente, sobre las lipoproteínas localizadas en las membranas externas, actuando más eficazmente sobre las células Gram negativas (Leaper, 1984). A partir de allí, atraviesa la membrana citoplasmática, oxidando los componentes y destruyendo el sistema enzimático.

Una de las principales ventajas del AP es que tiene un gran espectro biocida y que resulta efectivo en un rango amplio de temperaturas, además de tolerar un rango de pH entre 1 y 8. Al mismo tiempo, admite que el agua para preparar la solución tenga una concentración de carbonatos alta, no perdiendo su efecto biocida aun en presencia de cierta contaminación con materia orgánica. Por otra parte, los tiempos de contacto requeridos son cortos. Debido a todas estas razones, su principal campo de aplicación actual es el de las frutas y hortalizas MPF (Artés et al., 2009). Por ejemplo, se ha mostrado que el AP fue efectivo para controlar *E. coli, Salmonella spp.* y *L. monocytogenes* en melones, espárragos, lechuga, fresas, zanahorias y manzanas MPF (Rodgers et al., 2004; Ruiz-Cruz et al., 2007; Abadias et al., 2011).

En lechuga cortada inoculada con *Enterobacter sakazakii* los recuentos disminuyeron en 5 unidades logarítmicas (log) cuando se utilizó 90 ppm de AP (Kim, Kim y Song, 2009). Por otra parte, 80 ppm de AP redujeron los recuentos de psicrótrofos en 2 unidades log y los de mesófilos en 1 unidad log cuando fue utilizado para la desinfección

de melón Galia cortado, siendo igual de efectivo que 150 ppm de NaClO (Silveira, Aguayo y Artés, 2010b).

Como ha sido reportado con otros desinfectantes, se ha observado que en algunos casos el AP puede afectar la capacidad antioxidante o el contenido de vitamina C de los productos tratados, tal como ocurrió en melón (Silveira, Aguayo y Artés, 2010b). Sin embargo, cuando en zanahorias ralladas se utilizó una dosis de 80 ppm, se observó que ni la calidad sensorial ni el contenido de nutrientes se vieron afectados (Vandekinderen et al., 2009). El AP, a diferencia de otros desinfectantes como el peróxido de hidrógeno, no produce un incremento en la tasa respiratoria del producto tratado, ni modificaciones en la pérdida de electrolitos. De este modo, la atmósfera de equilibrio que se alcanzó en el caso de lechuga tipo Iceberg MPF procesada envasada en atmósferas modificadas pasivas fue muy similar a la obtenida cuando el producto se lavó solamente con aqua corriente, manteniendo además la calidad organoléptica y nutricional (López-Galvez et al., 2013).

EI AP se ha utilizado también en la industria de brotes y germinados frescos, productos que en algún caso han causado alarmas alimentarias. Dosis crecientes de 25 a 70 ppm de AP produjeron un aumento en el control de *L. monocytogenes, Salmonella* y *E. coli* en relación al NaClO (170 ppm). Cuando el tratamiento se aplicó sobre cepas de estas mismas bacterias adaptadas a ambientes ácidos, el efecto inhibidor fue menor, independientemente del desinfectante empleado (Neo et al., 2013).

La etapa del proceso en la cual se aplique el desinfectante también puede influir en su efectividad. Se ha observado que en lechuga cortada la disminución en el recuento de *E. coli* O157:H7 fue mayor cuando el lavado se hizo antes del corte que después (Palma-Salgado et al., 2014).

Estudios más recientes han analizado el efecto de la combinación del AP con otros desinfectantes. Martínez-Hernández et al. (2015) mostraron que sobre *E. coli y S. enteriditis* inoculadas en kailan-brócoli se logró una reducción de recuentos del orden 2,3 a 1,2 unidades log después de 14 días a 5 °C cuando el producto se trató con una combinación de AP y AEN.

EI AP se puede utilizar también para reacondicionar el agua proveniente de la industria del procesado mínimo. En un trabajo donde se combinaron AP y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (15,2 % y 11,2 % respectivamente) con ultrasonidos (0,56 kW L<sup>-1</sup>, 20 kHz) se observó que bacterias patogénicas como *E.i*O157:H7 y *Salmonella* fueron menos resistentes a la desinfección que los virus (Sánchez et al., 2015). Por otra parte, si bien este procedimiento es válido para reacondicionar el agua de

lavado, por el momento no se puede utilizar para el agua de proceso, porque en este caso la desinfección debe ser instantánea (Gómez-López et al., 2015).

En definitiva, el AP puede considerarse una alternativa al NaClO, si bien es necesario analizar en cada caso la dosis y el tiempo de contacto necesarios. Asimismo, su versatilidad para ser combinado con otros productos favorece su difusión como desinfectante en la industria del procesado mínimo de frutas y hortalizas.

## **Conclusiones**

Como se demuestra en esta revisión el uso de  $O_3$ , AE o AP presenta efectos microbicidas, sin llegar a dañar la calidad del producto, constituyéndose en agentes capaces de reemplazar el uso del cloro en el lavado y desinfección de hortalizas de IV gama.

# Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco de la red CYTED HORTYFRESCO (113RT0480) «Producción artesanal de hortalizas de IV y V gama: inocuidad y valor funcional».

## **Bibliografía**

- Abadías, M., Alegra, I., Usall, J., Torres, R. y Viñas, I. (2011). Evaluation of alternative sanitizers to chlorine disinfection for reducing foodborne pathogens in fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 59, 289-292.
- Abadías, M., Usall, J., Oliveira, M., Alegre, I. y Viñas, I. (2008). Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimallyprocessed vegetables. *International Journal Food Microbiol*, 123, 151-158.
- **Aguayo**, E., **Escalona**, V. H. y **Artés**, F. (2005). Revisión: El ozono y su utilización en la industria agroalimentaria. *Alimentaria*, 19(12), 48-60.
- Aguayo, E., Allende, A., Ameur, M., Otón, M., Gómez, P. y Artés, F. (2010). Microbiological quality of shredded endive as affected by pre-washing and chlorinated or ozonated water. *Acta Horticulturae*, 877, 1827-1832.
- Aguayo, E., Escalona, V. H., Silveira, A. C. y Artés, F. (2014). Quality of tomato slices disinfected with ozonated water. *Food Science and Technology International*, 20, 227-235.
- Akbas, M. Y. y Olmez, H. (2007). Effectiveness of organic acids, ozonated water and chlorine dipping on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. *Journal of Science Food and Agriculture*, 87, 2609–2616.
- Alexandre, E., Santos-Pedro, D., Brandao, T. y Silva, C. (2011). Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. *Journal Food Engineering*, 105, 277-282.
- Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V. y Artés-Hernández, F. (2009). Improved strategies for keeping overall quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 287-296.
- Artés, F., Gómez, P., Tomás-Callejas, A. y Artés-Hernández, F. (2011).

  Sanitation of fresh-cut fruit and vegetables: New trends, methods and impacts.

  En: J. M. McMann (Eds.). *Potable water and sanitation* (pp. 1-36). New York:

  Nova Science Publishers.

- Ayebah, B. y Hung, Y. C. (2005). Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface materials commonly found in food processing facilities. *Journal of Food* Process Engineering, 28, 247–264.
- Bablon, G., Belamy, W. D., Billen, G. L., Bourbigot, M. M. y Ventresque, C. (1991). Practical applications of ozone: Principles and case studies. En: G. Langlais, D. A. Reckhow y D. R. Brink (Eds). *Ozone in water treatment: Application* and engineering (pp. 133-316). Chelsea: Lewis Publisher.
- Beltrán, D., Selma, M. V., Tudela, J. A. y Gil, M. I. (2005a). Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. Postharvest Biology and *Technology*, 37, 37–46.
- Beltrán, D., Selma, M. V., Marín, A. y Gil, M. I. (2005b). Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. Journal Agriculture and Food Chemistry, 53, 5654-5663.
- FDA. (1998). 173.300 chlorine dioxide. Recuperado de https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/ CFR-1998-title21-vol3/pdf/CFR-1998-title21-vol3-sec173-300.pdf
- Garmendia, G. y Vero, S. (2006). Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. Horticultura, 197, 18-27.
- Gómez-López, V., Gil, M. I., Allende, A., Vanhee, B. y Selma, M. V. (2015). Water reconditioning by high power ultrasound combined with residual chemical sanitizers to inactivate foodborne pathogens associated with fresh-cut products. Food Control, 53, 29-34.
- **Graham**, **D. M**. (1997). Use of ozone for food processing. *Food Technology*, 51, 72-75. Guentzel, J. L., Lam, K. L., Callan, M. A., Emmons, S. A. y Dunham, V. L. (2008). Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed water. Food Microbiology, 25, 36-41.
- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K. y Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 37, 453-460.
- Huang, Y. R., Hung, Y. C., Hsu, S. Y., Huang, Y. W. y Hwang, D. F. (2008). Application of electrolyzed water in the food industry. Food Control, 19, 329-345.
- Hunt, N. K. y Marinas, B. J. (1997). Kinetics of Escherichia coli inactivation with ozone water. Water Research, 31, 1355-1362.
- **Izumi**, H. (1999). Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *Journal of* Food Science, 64, 536-539.
- Jemni, M., Gómez, P. A., Souza, M., Otón, M. y Artés F. (2014). Combined effect of UV-C, ozone and electrolyzed water for keeping overall quality of date palm. LWT-Food Science Technology, 59, 649-655.
- Kim, C., Hung, Y. C., Brachett, R. E. y Frank, J. F. (2001). Inactivation of Listeria monocytogenes biofilms by electrolyzed oxidizing water. Journal Food Processing and Preservation, 25, 91-100.
- Kim, J. G. y Yousef, A. E. (2000). Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. Journal Food Science, 65, 521-528.
- Kim, J. G., Yousef, A. y Chism, G. (1999). Use of ozone to inactivate microorganism on lettuce. Journal Food Safety, 19, 17–34.
- Kim, Y. J., Kim, M. H. y Song K. B. (2009). Efficacy of aqueous chlorine dioxide and fumaric acid for inactivating pre-existing microorganisms and Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium, and Listeria monocytogenes on broccoli sprouts. Food Control, 20, 1002-1005.
- Koseki, S. y Itoh, K. (2001). Prediction of microbial growth in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. Journal Food Protection, 64, 1935-1942.
- Langlais, B., Reckhow, D.A., Brink, D.R. (1991). Ozone in water treatment: Application and engineering. Boca Ratón: CRC.
- Leaper, S. (1984). Synergistic killing of spores of Bacillus subtilis by peracetic acid and alcohol. Journal of Food Technology, 19, 355-360.

- Liao, L. B., Chen, W. M. y Xiao, X. M. (2007). The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. *Journal* of Food Engineering, 78, 1326-1332.
- López-Galvez, F., Ragaert, P., Palermo, L., Eriksson, M. y Devlieghere, F. (2013). Effect of new sanitizing formulations on quality of fresh-cut iceberg lettuce. Postharvest Biology and Technology, 85, 102-108.
- Martínez-Hernández, G. B., Artés-Hernández, F., Gómez, P. A., Formica, A. C. y Artés, F. (2013). Combination of electrolyzed water, UV-C and super atmospheric O<sub>2</sub> packaging for improving fresh-cut broccoli quality. *Postharvest* Biology and Technology, 76, 125-134.
- Martínez-Hernández, G. B., Navarro-Rico, J., Gómez, P. A., Otón, M., Artés, F. y Artés-Hernández, F. (2015). Combined sustainable sanitizing treatments to reduce Escherichia coli and Salmonella enteritidis growth on fresh-cut kailan-hybrid broccoli. Food Control, 47, 312-317.
- Navarro-Rico, J., Artés-Hernández, F., Gómez, P. A., Núñez-Sánchez, M. A., Artés, F. y Martínez-Hernández, G. B. (2014). Neutral and acidic electrolyzed water kept microbial quality and health promoting compounds of fresh-cut broccoli throughout shelf life. *Innovative Food Science Emerging* Technology 21, 74-81.
- Navarro-Rico, J., Martínez-Hernández, G. B., Gómez, P. A., Artés, F. y Artés-Hernández, F. (2015). Effect of edible coatings and electrolyzed water sanitation on fresh-cut Bimi broccoli quality. Acta Horticulturae, 1071(2), 463-470.
- Neo, S., Lim, P., Phua, L., Khoo, G., Kim, S., Lee, S. y Yuk, H. (2013). Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid on reduction of natural microflora, Escherichia coli O157:H7, Listeria monocyotgenes and Salmonella spp. on mung bean sprouts. Food Microbiology, 36, 475-480.
- Ogawa, J. M., Feliciano, A. J. y Manji, B. T. (1990). Evaluation of ozone as a disinfectant in postharvest dump tank treatments for tomato. Phytopathology,
- Palma-Salgado, S., Pearlstein, A., Luoc, L., Park, H. y Feng, H. (2014). Whole-head washing, prior to cutting, provides sanitization advantages for fresh-cut Iceberg lettuce (Latuca sativa L.). International Journal of Food Microbiology, 179, 18-23.
- Park, H., Hung, Y. C. y Kim, C. (2002). Effectiveness of electrolyzed water as a sanitizer for treating different surfaces. *Journal Food Protection*, 65, 1276–1280.
- Perry, J. J. y Yousef, A. E. (2011). Decontamination of raw foods using ozonebased sanitization techniques. Annual Review of Food Science and Technology, 2, 281-98.
- Rego, P., Vendrell, M. C., García, F. J., Gallardo, C. S., González, J. A., Gallego, A. R. y Rodríguez, L. A. (2002). Estudio de la cinética de muerte con tratamientos de ozono a microorganismos patógenos típicos de hortalizas. Alimentaria, 3, 125-128.
- Restaino, L., Frampton, E. W., Hemphill, J. B. y Palikar, P. (1995). Efficacy of ozonated water against various food related microorganisms. AppliedEnvironmental Microbiology, 61, 3471-3475.
- Rice, R. G., Farquhar, J. W. y Bollyky, L. J. (1982). Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishable foods. Ozone Science Engineering, 4, 147-163.
- Rodgers, S., Cash, J., Siddiq, M. y Ryser, E. (2004). A comparison of different chemical sanitizers for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. Journal of Food Protection, 67, 721-731.
- Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M., Islas-Osuna, M. A. y González-Aguilar, G. A. (2007). Efficacy of sanitizers in reducing Escherichia coli O157:H7, Salmonella ssp. and Listeria monocytogenes populations on freshcut carrots. Food Control, 18, 1383-1390.

- Sánchez, G., Elizaquível, P., Aznar, R. y Selma, M. V. (2015). Virucidal effect of high power ultrasound combined with a chemical sanitizer containing peroxyacetic acid for water reconditioning in the fresh-cut industry. *Food Control*, 52, 126-131.
- **Schultz, C. R. y Bellamy, W. D.** (2000). The role of mixing in ozone dissolution systems. *Ozone Science Engineering*, 22, 329-350.
- Selma, M., Beltrán, D., Allende, A. y Gil, M. I. (2007). Elimination by ozone of Shigella sonnei in shredded lettuce and water. Food Microbiology, 24, 492–499.
- Sharma, R. R. y Demirci, A. (2003). Treatment of Escherichia coli O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water. *International Journal Food Microbiology*, 86, 231–237.
- Silveira, A. C., Aguayo, E. y Artés, F. (2010a). Emerging sanitizers and Clean Room packaging for improving the microbial quality of fresh-cut 'Galia' melon. *Food Control*, 21, 863–871.
- Silveira, A. C., Aguayo, E. y Artés, F. (2010b). Hot water treatment and peracetic acid to maintain fresh-cut Galia melon. *Food Control*, 21, 863-871.
- Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K. y Stroshine, R. L. (2002). Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiology*, 19, 183-193.
- Stopforth, J. D., Mai, T., Kottapalli, B. y Samadpour, M. (2008). Effect of acidified sodium chlorite, chlorine, and acidic electrolyzed water on Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Listeria monocytogenes inoculated onto leafy greens. *Journal Food Protection*, 71, 625-628.

- Suslow, T. V. (1998). Basics of ozone applications for postharvest treatment of vegetables. Perishables Handling Quarterly, (94), 9-11. Recuperado de http://ucanr.edu/datastoreFiles/234-198.pdf
- Tomás-Callejas, A., Martínez-Hernández, G. B., Artés, F. y Artés-Hernández, F. (2011). Neutral and acidic electrolyzed water as novel sanitizers on fresh-cut mizuna baby leaves: Effects on safety and quality attributes. Postharvest Biology and Technology, 59, 298–306.
- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Ragaert, P. y Van Camp, J. (2009). Optimization and evaluation of a decontamination step with peroxyacetic acid for fresh-cut produce. *Food Microbiology*, 26, 882–888.
- Venkitanarayanan, K. S., Ezeike, G. O., Hung, Y. C. y Doyle, M. P. (1999a). Inactivation of Escherichia coli O157:H7 and Listera moncytogenes on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Protection*, 62, 857–860.
- Venkitanarayanan, K. S., Ezeike, G. O., Hung, Y. C. y Doyle, M. P. (1999b). Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4276–4279.
- Wang, H., Feng, H. y Luo, Y. (2004). Microbial reduction and storage quality of freshcut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. Food Research International, 37, 949-56.
- Zhang, L., Lu, Z., Yu, Z. y Gao, X. (2005). Preservation of fresh-cut-celery by treatment of ozonated water. *Food Control*, 16, 279–283.