

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

**Comparación de la actividad antimicrobiana de desinfectantes
comerciales versus el vinagre en fresas expendidas en dos
supermercados de la ciudad de Cuenca-Ecuador**

Trabajo de titulación previo a
la obtención del título de
Bioquímico Farmacéutico

Autores:

Erika Fernanda Calle Torres

Jennifer Alexandra Plaza Quezada

Director:

Jéssica Andrea León Vizñay

ORCID:  0000-0003-4913-1717

Cuenca, Ecuador

2024-10-01

Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos se generan por el consumo de alimentos contaminados, siendo mayor en aquellos alimentos que se consumen crudos/frescos como la fresa (*Fragaria* × *ananassa*). En el presente estudio se comparó 4 opciones de desinfección que incluyen vinagre con concentración de ácido acético al 2,5 y 5%, ácido cítrico y ácido hipocloroso en muestras obtenidas en dos supermercados de la ciudad de Cuenca, Ecuador. Se realizó un estudio del tipo descriptivo y observacional. Las muestras fueron procesadas por duplicado en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Cuenca y se determinó el recuento bacteriano mediante siembra en placas Petrifilm para aerobios mesófilos, y *E.coli*/coliformes y para *Salmonella spp.* por el método tradicional. Se utilizó la Prueba T para medias de muestras emparejadas con significancia del 0,05% para establecer las diferencias significativas entre las poblaciones pre y post proceso de desinfección. De manera general para los microorganismos testeados y las diferentes muestras, exceptuando *Salmonella spp.* (por ausencia en el crecimiento) se observó una tendencia en la cual el vinagre a una concentración de ácido acético al 5% presentó mayor porcentaje de efectividad (98,50% a 99,98%), seguida de vinagre con ácido acético al 2,5% (94,67% a 99,97%), ácido cítrico (94,57% a 99,97%) y, finalmente el ácido hipocloroso (59,76% a 94,55%). Estos resultados demostraron que la carga microbiana en UFC/g se encontraba dentro de los límites microbiológicos permitidos para Frutas y Hortalizas semiprocesadas (desinfectadas), de acuerdo con la Norma NTS N° 071 MINSA/DIGESA-V.01.

Palabras clave del autor: alimentos contaminados, higiene alimentaria, control de alimentos



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

Foodborne diseases are caused by the consumption of contaminated food, being higher in those foods that are consumed raw/fresh such as strawberries (*Fragaria x ananassa*). In the present study, 4 disinfection options were compared, including vinegar with a concentration of acetic acid at 2.5 and 5%, citric acid and hypochlorous acid in samples obtained in two supermarkets in the city of Cuenca, Ecuador. A descriptive and observational study was performed. The samples were processed in duplicate in the Food Microbiology laboratory of the University of Cuenca and the bacterial count was determined by seeding in Petrifilm plates for mesophilic aerobes, and *E.coli*/coliforms and for *Salmonella* spp. by the traditional method. The T-Test was used for means of matched samples with significance of 0.05% to establish the significant differences between the pre and post disinfection populations. In general, for the tested microorganisms and the different samples, with the exception of *Salmonella* spp. (due to lack of growth) a trend was observed in which vinegar at a concentration of acetic acid at 5% had a higher percentage of effectiveness (98.50% to 99.98%), followed by vinegar with 2.5% acetic acid (94.67% to 99.97%), citric acid (94.57% to 99.97%) and finally hypochlorous acid (59.76% to 94.55%). These results showed that the microbial load in CFU/g was within the microbiological limits allowed for semi-processed fruit and vegetables (disinfected), according to NTS Standard N° 071 MINSA/DIGESA-V.01.

Authors keywords: contaminated food, food hygiene, food control



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

Introducción	12
Objetivos	14
Marco Teórico	15
1.1 Contaminación de alimentos.....	15
1.1.1 Fuentes de contaminación	15
1.2 Fresas	17
1.3 Enfermedades transmitidas por alimentos	18
1.4 Control microbiológico de alimentos	19
1.4.1 Microorganismos indicadores de condiciones de manejo	20
1.4.2 Microorganismos indicadores de contaminación fecal	20
1.5 Desinfección de alimentos	21
1.5.1 Tipos de desinfección	21
1.6 Agentes desinfectantes	22
1.6.1 Agentes desinfectantes orgánicos	22
1.6.2 Agentes desinfectantes inorgánicos	24
Metodología	27
2.1 Tipo de estudio.....	27
2.2 Área de estudio	27
2.3 Muestreo y tamaño de la muestra	27
2.4 Materiales, equipos y reactivos.....	27
2.5 Métodos y técnicas de análisis	30
2.5.1 Método de desinfección por inmersión.....	30
2.5.2 Análisis microbiológico de la muestra	31
2.6 Cálculos	34
2.7 Análisis estadístico	34
Resultados y Discusión	36
3.1 Análisis microbiológico de M1.....	36
3.2 Análisis microbiológico de M2.....	38
Conclusiones	45
Referencias.....	47

Anexos	55
--------------	----

Índice de figuras

Figura 1 Esquema de los procesos de desinfección aplicado a las fresas.....	30
Figura 2 Esquema para recuento microbiológico con placas Petrifilm.....	32
Figura 3 Esquema para la determinación de Salmonella.....	33
Figura 4 Recuento bacteriano pre y post desinfección de aerobios mesófilos de M1.....	37
Figura 5 Recuento bacteriano pre y post desinfección de E. coli/coliformes de M1....	38
Figura 6 Recuento bacteriano pre y post desinfección de aerobios mesófilos de M2.....	39
Figura 7 Recuento bacteriano pre y post desinfección de E. coli/coliformes de M2....	40
Figura 8 Porcentaje de efectividad de desinfectantes sobre Aerobios Mesófilos y E. Coli/ coliformes en M1 y M2	41

Índice de tablas

Tabla 1	Instrucciones de uso de los desinfectantes comerciales	30
Tabla 2	Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección de M1 ..	36
Tabla 3	Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección de M2. .	38
Tabla 4	Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección.....	45

Listado de anexos

Anexo 1. Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).....	55
Anexo 2. Frutas y hortalizas frescas semiprocessadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o congeladas)	55

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, deseamos expresar nuestro más profundo agradecimiento a nuestras familias, quienes nos han brindado un apoyo incondicional tanto emocional como económico a lo largo de todo el desarrollo de este trabajo y la carrera. Su comprensión, paciencia y constante motivación han sido fundamentales para alcanzar este importante logro académico.

También queremos manifestar nuestra sincera gratitud a la Bqf. Jessica León V. Mgt, al Ing. David Vanegas y a la Bqf. María Montaleza. Su orientación experta, su disposición para compartir sus conocimientos y su constante apoyo durante la elaboración de nuestro Trabajo de Titulación han sido esenciales para culminar con éxito este proyecto. Su compromiso y dedicación nos han inspirado a dar lo mejor de nosotras mismas en cada etapa del proceso.

Finalmente, y no menos importante, extendemos nuestro agradecimiento a la Universidad de Cuenca. A lo largo de estos cinco años, esta institución nos ha brindado un espacio de crecimiento académico y personal, proporcionándonos el conocimiento y la práctica necesarios para alcanzar nuestro título de Bioquímica Farmacéutica. Agradecemos a todos los profesores, personal administrativo y compañeros que han formado parte de esta etapa tan significativa en nuestras vidas. Sin su contribución, este logro no habría sido posible.

Erika y Jennifer

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero dedicar este trabajo a mi familia, en especial a mi madre Zoraida, quien desde el día uno me ha brindado su apoyo y amor de manera incondicional. A mi padre Guillermo, quién siempre solía preguntarme sobre cómo me va en la universidad, y mi hermano Felipe, quien me aconsejaba y me alentaba a continuar con este sueño.

Al amor de mi vida, mi hijo Peluche, quien me acompaña desde que tengo 10 años, quien sin saberlo me ha dado la fuerza necesaria para superar las adversidades que he encontrado durante el camino hasta esta meta.

A mis tíos, tías, primos, y primas por siempre estar pendientes de mí y preguntarme sobre mi progreso universitario.

A mi amiga y compañera Jennifer, que, a pesar de contratiempos presentados durante la elaboración de este proyecto, ha sabido mantener la calma y guiar hacia su finalización. Así también a mis amigos Mateo, Claudia, Doménica, Tamara, Paula y demás por las risas y los momentos compartidos en las aulas de clase.

Finalmente, y no menos importante, a Josué, sin tu apoyo y amor no fuera lo que soy ahora. Tu paciencia y comprensión durante esta etapa sin duda me han ayudado para enfocarme en lograr esta meta. Valoro completamente cada uno de los momentos compartidos juntos. Estuviste desde el día uno y aunque no en el final, esta va por ti.

Erika Calle

Quiero dedicar este trabajo a mis padres, cuyo apoyo incondicional ha sido fundamental en mi vida, pero principalmente a mi madre Sonia, tus sacrificios y esfuerzos, el amor incondicional y la infinita paciencia que me brindaste a lo largo de estos años me dieron la fuerza para superar cada obstáculo y lograr la culminación de mis estudios. A mi padre William por brindarme su amor y los recursos necesarios para mi desarrollo académico y a mis hermanos Mateo y Gabriel por su apoyo constante y por estar siempre a mi lado, brindándome cariño y respaldo en todo momento.

A mi querida familia, cuya presencia y apoyo han sido fundamentales en mi vida. A mi abuelita por su sabiduría y amor incondicional que me han guiado a lo largo de los años. Así mismo, a mi abuelito, que desde el cielo ha sido mi guía y mi inspiración. Su memoria me ha dado la fuerza y el coraje para perseverar y alcanzar mis sueños.

A mis tías, tíos y primos, por su apoyo constante, sus palabras de aliento y por estar siempre presentes en mi vida.

A mis amigos Valeria, Tamara y Mateo, gracias por los momentos compartidos, las risas y el apoyo incondicional.

A Paula, su amistad ha sido un pilar fundamental en mi vida. Fuiste mi mayor apoyo en las aulas y te convertiste en una amiga para toda la vida.

A mi amiga Erika, con quien tuve el privilegio de desarrollar este trabajo. Tu compañerismo, dedicación y apoyo en los buenos y malos momentos fueron esenciales para salir adelante.

Finalmente, a todos aquellos que, son un gesto, una palabra o una acción, contribuyeron a mi crecimiento personal y académico. Aunque su paso por mi vida fue breve, dejaron un impacto duradero y un valioso granito de arena en mi camino.

Jennifer Plaza

Introducción

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) son, un problema de salud pública provocadas por la ingesta de alimentos contaminados con agentes físicos, químicos y/o microbiológicos, representando una significativa tasa de mortalidad y morbilidad en los sistemas de salud pública y el comercio internacional. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), 600 millones de personas alrededor del mundo se enferman debido a la ingesta de alimentos contaminados, y 420 000 personas mueren por esta causa (OMS, 2015). En países en vías de desarrollo como el Ecuador, existe una alta incidencia de enfermedades producidas por el consumo de alimentos que no reúnen requisitos de calidad e inocuidad. Según la Subsecretaria Nacional de Vigilancia, Prevención y Control de la Salud Pública, las ETA son frecuentemente causadas por microorganismos como *Salmonella sp.*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *S. aureus* pertenecientes al grupo de aerobios mesófilos, *E. coli*, *coliformes totales*, *Rotavirus*, *Virus de la Hepatitis A*, resultando en 11 048 casos reportados desde diferentes casas de salud (Ministerio de Salud Pública, 2022). Estas enfermedades gastrointestinales se encuentran entre las cinco principales causas de morbilidad, según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC).

La contaminación de los alimentos que se consumen crudos/frescos como frutas y verduras se produce principalmente por microorganismos patógenos y ocurre a lo largo de su vida útil (Kopper et al., 2009). La mayoría de los microorganismos patógenos se encuentran inicialmente en frutas enteras o en la superficie de los vegetales que crecen en el suelo como es el caso de las fresas. Se trata de una de las frutas de mayor aceptación mundial (Kessel Domini, 2012), por su alto contenido de vitamina C, taninos, flavonoides y antocianinas. En Ecuador, la fresa está presente en la mayoría de canastas familiares, con el 60% del volumen producido destinado al consumo nacional en fruta fresca (Garcés Venegas, 2015). Sin embargo, las prácticas inadecuadas de desinfección de frutas y verduras son un riesgo significativo para quienes las consumen (Chávez et al., 2015).

Por lo que es necesario garantizar la calidad e inocuidad y así eliminar al máximo los microorganismos patógenos que pueden afectar la salud del consumidor (Salgado, I, et al., 2020). El saneamiento después de la cosecha es vital para todos los productos frescos, ya que puede reducir las pérdidas por deterioro microbiano (García-Robles et al., 2017).

Ante la preocupación por la calidad e inocuidad de los alimentos, el mercado mundial ha desarrollado una variedad de productos químicos y físicos diseñados para la desinfección efectiva, especialmente en el contexto del riesgo epidemiológico actual (OIRSA, 2020). La desinfección es una técnica sencilla que disminuye significativamente la presencia de microorganismos patógenos causantes de ETA (Rahman, M., et al, 2021). El uso de agentes desinfectantes en el agua para el lavado de las frutas y hortalizas es particularmente efectivo para disminuir la carga bacteriana, en especial a los microorganismos patógenos.

Dentro de los agentes desinfectantes más empleados destacan los compuestos clorados, ácidos orgánicos y compuestos de oxígeno activo los cuales se diluyen formando una solución acuosa y, se trata el alimento mediante inmersión o aspersión (Severino, 2023). Los ácidos orgánicos como el ácido cítrico y acético se usan comúnmente en el lavado de frutas y verduras (Ortiz-Solà et al., 2020). El vinagre reúne propiedades químicas comparables con otros desinfectantes mostrando efecto antibacteriano contra patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* entre otros, y algunos hongos (Cáceres Espitia et al., 2022).

Basado en lo anterior, el estudio tuvo como objetivo comparar la efectividad antimicrobiana del vinagre a diferentes concentraciones frente a desinfectantes comerciales disponibles en la ciudad de Cuenca, en fresas expandidas en los diversos supermercados de la ciudad.

Objetivos

Objetivo general

Comparar la efectividad antimicrobiana del vinagre frente a desinfectantes comerciales en fresas expandidas en los supermercados de la ciudad de Cuenca.

Objetivos específicos

- Determinar la efectividad del vinagre frente a los desinfectantes comerciales mediante el análisis microbiológico de Aerobios Mesófilos, *E. coli/coliformes* y *Salmonella* en fresas pre y post desinfección.
- Comparar la carga microbiana inicial y después de la desinfección de las fresas para evaluar la actividad antimicrobiana del vinagre y de los desinfectantes comerciales.
- Determinar la concentración efectiva del vinagre para la desinfección de fresas.

Marco Teórico

1.1 Contaminación de alimentos

La contaminación de alimentos se define como la presencia y/o aparición de material atípico en los alimentos que pueden llegar a comprometer su calidad y seguridad para el consumo humano (Kamala & Kumar, 2018).

La contaminación alimentaria puede darse durante la vida útil del alimento y se dividen en tres categorías:

1. Contaminación biológica: ocurre cuando microorganismos como bacterias, hongos, virus o parásitos dañinos colonizan los alimentos. Son causa común de intoxicación, infección o toxicoinfección, y deterioro de los alimentos. Aunque todos los alimentos pueden llegar a albergar microorganismos patógenos, algunos pueden ser más vulnerables a sufrir este tipo de contaminación.
2. Contaminación química: es producida cuando los alimentos han sido contaminados por algún tipo de sustancia química. Se incluyen agroquímicos como pesticidas o plaguicidas, agentes de limpieza y/o toxinas.
3. Contaminación física: se refiere a la presencia de cualquier material extraño como huesos, vidrio, cabellos, uñas, joyas o metal en los alimentos que pudiesen causar daño al consumidor.

(Sadiku et al., 2022).

En los alimentos que se consumen crudos/frescos la contaminación biológica es predominante, además produce el deterioro de los alimentos, causando grandes pérdidas para la industria y sus consumidores (Sagar et al., 2018).

1.1.1 Fuentes de contaminación

Las fuentes de contaminación son mayores en alimentos que crecen en el suelo, como es el caso de vegetales y frutas. Además, estas fuentes varían según la región geográfica y del tipo de alimento, ya que cada cultivo presenta una combinación específica de factores de riesgo ambiental, como la topografía, las interacciones con otros agentes y el uso de la tierra. Generalmente, los alimentos que se desarrollan a nivel del suelo tienden a contaminarse durante su vida útil. A continuación, se describen las fuentes de contaminación de las etapas más importantes de la vida útil de dichos alimentos:

Fase de pre cosecha:

- Precipitaciones a través de la absorción de suelos y aguas subterráneas contaminados.
- Fertilizantes crudos (o desechos) y compost.
- Exposición a agua contaminada (riego o inundación).
- Transmisión de insectos.
- Contaminación fecal producida por animales o vida silvestre.

(Alegbeleye et al., 2018)

Fase post cosecha:

- Manipulación humana.
- Equipo de cosecha.
- Contenedores de transporte.
- Insectos.
- Agua de enjuague y hielo.

(Mostafidi et al., 2020)

La mayoría de los microorganismos patógenos se encuentran inicialmente en frutas enteras o en la superficie de los vegetales que crecen en el suelo, los cuales son productos que se venden al consumidor crudos/frescos y en gran mayoría sin recibir algún proceso posterior a su cosecha (Mostafidi et al., 2020). La prevalencia de enfermedades gastrointestinales vinculadas al consumo de frutas y verduras ha ido en aumento debido al creciente interés por dietas más saludables (Balali et al., 2020). Dado al mínimo procesamiento de este tipo de alimentos frescos, y la carencia de tratamientos post cosecha para reducir o eliminar microorganismos, se vuelven susceptibles a la contaminación biológica (García-Robles et al., 2017). Las frutas como la fresa, frambuesa y otras bayas, y vegetales como hojas y hierbas para ensaladas que son comercializados enteros y a granel presentan mayor contaminación, ya que no son sometidos a ningún tratamiento de desinfección o lavado para la reducción de la carga microbiana presente en su superficie (H. Zhang et al., 2020).

El control microbiológico post cosecha es una de las operaciones más importantes para evitar que las ETA se propaguen y mantener la calidad y seguridad del alimento. Por ello, se ha implementado estrategias que indican el uso de sustancias desinfectantes con el objetivo de minimizar la contaminación con patógenos y reducir las pérdidas por deterioro microbiano (García, J., et al 2017).

1.2 Fresas

Las fresas (*Fragaria* × *ananassa*) son frutas blandas consumidas durante todo el año, destacan por su alto nivel nutricional en micronutrientes (Steinka & Kukułowicz, 2018). Sin embargo, es una fruta extremadamente perecedera y se deteriora rápidamente en comparación con otras frutas debido a su alta tasa de respiración postcosecha (Ong & Nyam, 2022). Las fresas contienen aproximadamente un 90% de agua en relación a su peso (Muncan et al., 2022), una actividad acuosa (aw) entre 0,90 a 0,99 (Urzúa, 2016), y un pH que oscila entre 3 y 4,5 (Harris & Mitcham, 2007; Mostafidi et al., 2020; Oliveira et al., 2019). Su potencial redox se sitúa entre 202 a 204 mV, lo que permite el crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos (Harris & Mitcham, 2007). Estas características, junto con su vulnerabilidad al daño mecánico, hacen que las fresa sean particularmente un alimento muy susceptible a la contaminación microbiana (Satitmunnaithum et al., 2022).

Los microorganismos patógenos se originan en el entorno en el que crecen las plantas. En el caso de las fresas, cuyos cultivos se desarrollan a pocos centímetros del suelo y no superan los 50 cm de altura, la proximidad a la tierra facilita la contaminación por microorganismos patógenos (Salgado-Escobar et al., 2020). Los más comunes asociados a productos frescos que crecen en el suelo son *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*, especies de *Shigella* y *E. coli* O157:H7 (Mostafidi et al., 2020).

Se ha demostrado que la microbiota presente en fresas sanas es compleja e incluye patógenos vegetales como hongos, levaduras y bacterias que se denominan como agentes de deterioro (Ponce Navarro, 2022). Entre los principales hongos y levaduras encontrados se encuentran los del género *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, entre otros (Bovi et al., 2019). Así como, bacterias del género *Enterobacter* y *Pseudomonas*.

Así mismo, se han reportado microorganismos patógenos oportunistas en las fresas incluyendo *Klebsiella*, *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* spp y *Listeria* (Argyropoulou et al., 2021; Balali et al., 2020; Ortiz-Solà, et al., 2020). Como ya hemos mencionado, la propagación de estos microorganismos puede ocurrir en diversas etapas, como el cultivo, cosecha, desplazamiento post cosecha, empaque, el transporte, el almacenamiento, el procesamiento y la venta para consumo humano (Mostafidi et al., 2020).

1.3 Enfermedades transmitidas por alimentos

Se ha estimado que alrededor del 12% de las ETA en los últimos años, están fuertemente relacionadas con el consumo de productos frescos, incluidas frutas y verduras (Balali et al., 2020).

Una ETA se define como un síndrome originado por el consumo de agua y/o alimentos, que contengan agentes etiológicos, los cuales, si se encuentran en cantidades suficientes, afectarán al bienestar individual y colectivo de los consumidores (Organización Mundial de la Salud & Organización Panamericana de la Salud, 2022). Esta contaminación se produce en cualquier etapa durante el procesamiento de los alimentos, desde su producción hasta que el producto llega a los usuarios y posterior consumo. De manera que, los síntomas gastrointestinales se convierten en la manifestación clínica más común. (Ministerio de Salud Pública, 2022).

Estos agentes etiológicos se clasifican en:

- Físicos: se considera a cualquier objeto presente en el alimento. Por ejemplo: fragmentos de vidrio, metal, madera, material de envasado, etc.
- Químicos: compuestos orgánicos y/o inorgánicos que pueden resultar nocivos o tóxicos a corto, mediano o largo plazo. Se consideran: metales pesados, pesticidas, promotores de crecimiento, etc.
- Biológicos: debido a seres bióticos microscópicos y macroscópicos como bacterias, parásitos, hongos, y agentes infecciosos acelulares como los virus.

(Fernandez et al., 2021).

Las ETA de origen biológico pueden clasificarse en:

- Infecciones: resultado del consumo de alimentos que contienen microorganismos patógenos vivos. Se caracterizan por que producen invasión en el huésped, se multiplican y alteran los tejidos de este. Ej. *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Yersinia*, *virus hepatitis A*, etc.
- Toxiinfecciones: ocasionada por bacterias no invasivas, las cuales presentan la capacidad de colonizar, esporular y liberar toxinas. Se encuentran: *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *E. coli* (enterotoxigénica), etc.
- Intoxicaciones: debido al consumo de sustancias químicas denominadas toxinas que provienen del metabolismo de los microorganismos como bacterias y hongos en cantidades suficientes que afectan a la salud. Puede ser producida por: *S.*

aureus, *Clostridium botulinum*. Así como micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, etc.

(OMS & OPS, 2017).

Para que se produzca una ETA, es necesario que exista la cantidad suficiente de células para causar infección o producir toxinas. Existen ciertos factores que participan en el desarrollo de microorganismos en los alimentos como la fresa, son las características intrínsecas (características propias del alimento), y las características extrínsecas (del entorno) en el cual se encuentra el alimento (Urzúa, 2016).

1.4 Control microbiológico de alimentos

Es un proceso que proporciona información en cuanto a la calidad del producto bruto y a las condiciones sanitarias en las cuales está siendo procesado (Erkmen, 2021). Es una etapa crucial dentro de los procesos productivos, ya que asegura el cumplimiento de los parámetros de calidad y seguridad para el consumidor. Por lo que, la seguridad de los alimentos va a depender de factores como la calidad de las materias primas y de la correcta aplicación de las prácticas de manipulación, almacenamiento y distribución. El grado de cumplimiento de los parámetros microbiológicos permitidos es un indicador esencial de la inocuidad alimentaria (León et al., 2023).

Actualmente, el Ecuador no cuenta con una normativa específica que establezca los límites microbiológicos permitidos para todos los alimentos crudos/frescos incluyendo las frutas. Debido a esto, se debe adoptar normativas de otros países, siendo la norma Sanitaria Peruana (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01) la más empleada, considerando la proximidad y similitud de las zonas geográficas. Esta norma determina los límites microbiológicos para la obtención de la calidad e inocuidad para los alimentos de consumo humano. En el apartado dedicado a “Frutas, hortalizas, frutos secos y similares” se detallan los requisitos microbiológicos específicos tanto para las frutas sin ningún tratamiento y aquellas que han sido semi procesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas) (ver anexo 1 y 2). Entre los microorganismos a analizar se incluyen: Aerobios mesófilos, *E. coli*/coliformes totales y *Salmonella*. Estos microorganismos son indicadores clave que permiten detectar de manera oportuna un manejo inadecuado o contaminación de los alimentos, incrementando el riesgo de presencia de patógenos perjudiciales para la salud humana.

1.4.1 Microorganismos indicadores de condiciones de manejo

- **Aerobios mesófilos**

Son microorganismos que crecen a temperaturas moderadas, entre 20 °C y 45 °C, con una temperatura de crecimiento óptima en el rango de 35 °C a 37 °C. Son capaces de desarrollarse en condiciones aeróbicas, lo que los convierte en uno de los indicadores microbiológicos más generales y extensivos de la calidad de los alimentos. Su presencia evidencia la idoneidad del control de temperatura y saneamiento durante su procesamiento, así como en su transporte y almacenamiento (Zuberer & Zibilske, 2021).

Muchas especies bacterianas implicadas en la biodegradación de los alimentos son mesófilas y dentro de este grupo se encuentran: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus vulgaris* y cepas específicas de *Escherichia coli* (Schiraldi & De Rosa, 2016).

1.4.2 Microorganismos indicadores de contaminación fecal

- ***Escherichia coli***

Es un microorganismo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es un bacilo gram negativo que suele presentar movilidad, mide aproximadamente 0,5 micrómetros de longitud y 3 µm de ancho, fermentador de azúcares como la lactosa, produciendo ácido y gas. Es un organismo mesófilo, ya que posee la capacidad de crecer en temperaturas de entre 7 °C hasta los 50 °C. Sin embargo, su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C. Es una bacteria no termorresistente y puede permanecer en condiciones de refrigeración durante tiempos prolongados. *E. coli* O157:H7, es un patógeno duradero que puede sobrevivir largos períodos de tiempo en el agua, especialmente a temperaturas frías. En comparación con otros patógenos transmitidos por los alimentos, *E. coli* O157: H7 es más resistente a algunos ácidos orgánicos y puede sobrevivir bien en alimentos y bebidas ácidas como es característico de las fresas. Los estudios han demostrado que se puede mantener fresco y vivo en alimentos ácidos durante semanas (Mritunjay y Kumar, 2015). Los síntomas producidos por esta bacteria incluyen diarrea, cólicos estomacales y vómito.

- ***Salmonella sp.***

Las especies de *Salmonella* pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos gram negativos, no esporulantes que miden 0,5 µm de largo y 1-3 µm de ancho aproximadamente, son bacterias móviles, aerobios facultativos, formadores de gas. Además, fermentan la glucosa, producen sulfuro de hidrógeno; no generan indoles y son ureasa negativa. Se desarrollan a temperaturas de entre 5°C a 47°C, siendo los 37°C su temperatura óptima de crecimiento. Tienen la capacidad de multiplicarse en muchos alimentos sin afectar las cualidades de este, haciéndolos aceptables visualmente y apetecibles para los consumidores. La salmonelosis se caracteriza por ser de tipo gastrointestinal, que principalmente se manifiestan con diarrea y calambres intestinales (Kusstatscher et al., 2020).

1.5 Desinfección de alimentos

La desinfección es un procedimiento que permite eliminar, matar, inactivar, inhibir o minimizar a un gran número de microorganismos encontrados en productos como frutas y/o verduras, y en las instalaciones donde se procesan dichos alimentos (Gómez-López, 2012).

1.5.1 Tipos de desinfección

Los dos tipos de desinfección más empleados por la industria alimentaria son:

- **Desinfección física**

Emplea tratamientos físicos para inhibir, destruir o eliminar microorganismos indeseables sin involucrar aditivos antimicrobianos. Los cuales se subdividen en:

- a) Tratamientos térmicos: buscan reducir la actividad antimicrobiana y enzimática de los alimentos mediante el aumento de la temperatura. Se menciona: el escaldado, pasteurización, cocción, etc. (Lafarga et al., 2019).
- b) Tratamientos no térmicos: Alta presión hidrostática (HPP), campo eléctrico pulsado, radiación UV, irradiación, entre otros (Pérez et al., 2017)

- **Desinfección química**

Consiste en el uso de sustancias orgánicas e inorgánicas, que se conocen como agentes desinfectantes los cuales se pueden encontrar en estado líquido o gaseoso, y permiten la inhibición, destrucción y eliminación de microorganismos indeseables, mediante procesos como la inmersión, en el cual los alimentos son sumergidos en una solución desinfectante durante un tiempo determinado (Van de Velde et al., 2019), o aspersión, mediante el empleo de un atomizador se rocía la solución desinfectante directamente a los alimentos (Universidad Pontificia Bolivariana, 2022).

1.6 Agentes desinfectantes

Los desinfectantes son reactivos químicos antimicrobianos que permiten lograr condiciones higiénicas adecuadas y se utilizan para eliminar y/o disminuir el riesgo de infección por patógenos. Un agente desinfectante debe ser efectivo, seguro, fácil de utilizar, y no debe dejar residuos que afecten las características sensoriales de los productos (Yemiş, 2020). Su acción está condicionada por factores como: el tiempo de contacto con el alimento, temperatura, concentración, pH del medio, cantidad y localización de los microorganismos (Betelgeux, s. f.).

Los agentes desinfectantes pueden clasificarse de acuerdo con su naturaleza química en agentes desinfectantes orgánicos y agentes desinfectantes inorgánicos.

1.6.1 Agentes desinfectantes orgánicos

Son sustancias permitidas en las industrias alimentarias y reconocidas como Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS) según la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, 2001), que se aplican sobre la superficie de frutas y hortalizas, por sus propiedades antimicrobianas. Se utilizan como conservantes alimentarios, ya que pueden actuar como antimicrobianos, evitando el deterioro de los alimentos por bacterias y hongos, o como antioxidantes, retardando o previniendo cambios de color, sabor o textura y retrasando el enranciamiento (Feliziani et al., 2016). Actualmente se está evaluando su uso como agentes desinfectantes. Los ácidos orgánicos tienen la capacidad de matar a los microorganismos al reducir el pH ambiental y celular de los microorganismos, lo que altera el transporte de membrana y permeabilidad (Rico et al., 2007).

- **Ácido acético**

También denominado ácido etanoico, es un compuesto orgánico, de aspecto líquido y transparente, con olor a acre y ácido, de fórmula química CH_3COOH (Wagner, 2002). Es soluble en agua debido a que el anión acetato $[\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2]^-$, se presenta como la base fuerte conjugada del ácido acético, este ion tiene alta solubilidad en agua debido a la formación de puentes de hidrógeno, además es soluble en alcohol, éter, glicerina, acetona, benceno (Cáceres Espitia et al., 2022). Es elaborado exclusivamente a partir de productos que contienen azúcares mediante doble fermentación, alcohólica y acética (Wood, B.J., 2014). La concentración a la cual el ácido acético presenta su actividad antimicrobiana está entre 2,5% y 5%. El efecto antimicrobiano se atribuye principalmente a su forma no disociada, ingresa por la pared celular de la bacteria mediante difusión pasiva, en donde se da un cambio del pH interno y finalmente, produce la muerte celular (Cáceres Espitia et al., 2022). Este ácido orgánico débil se encuentra en el vinagre, el cual se obtiene a partir de la dilución de ácido acético glacial en agua. El vinagre es una sustancia de uso común, especialmente el vinagre blanco, en el cual el ácido acético se encuentra en concentración de hasta el 5%.

- **Vinagre**

El vinagre es la solución diluida de ácido acético, miscible en agua (Wood, B.J., 2014) y se caracteriza por su fuerte aroma debido a la presencia de ácido acético, seguido de otros ácidos orgánicos, ésteres, cetonas y aldehídos que contribuyen a sus propiedades organolépticas (Cáceres Espitia et al., 2022).

Existen varios tipos de vinagre, tales como: vinagre blanco, de arroz, balsámico, etc., los cuales se obtienen utilizando diferentes materiales crudos, cepas de levaduras y bacterias, y procesos fermentativos (Ho et al., 2017). A partir de la materia prima que se emplee y del proceso usado para la obtención del vinagre, lo podemos clasificar en vinagre natural o fermentado y vinagre sintético. El natural es producto de una serie de fermentaciones de distintas frutas, mientras que el sintético se obtiene de una dilución acuosa de ácido acético. El vinagre es empleado principalmente como condimento de mesa o de productos procesados como mayonesa, mostaza, conservas, etc. Pero también puede ser empleado como desinfectante, principalmente el vinagre sintético, ya que no contiene trazas de azúcares como subproductos del proceso de elaboración, haciéndolo más eficaz (Arias Flores, 2019).

El vinagre posee propiedades antibacterianas, y este efecto es un resultado que depende principalmente de la concentración del ácido acético en la solución con agua.

Las concentraciones de acidez que han presentado efectividad se encuentran entre 2,5% y 5 % para restringir el crecimiento de microorganismos como *Staphylococcus aureus* y al 0,1% para *E. coli* (Cáceres Espitia et al., 2022).

- **Ácido cítrico**

Es un ácido tricarboxílico ($C_6H_8O_7$), se caracteriza como un polvo cristalino incoloro con sabor ácido e inodoro completamente soluble en agua, e industrialmente se obtiene de la fermentación de almidón de maíz y soluciones de azúcar, o extraída a partir de frutas ácidas (FDA, 1992). Naturalmente se encuentra en plantas y tejidos animales, principalmente en frutas ácidas como lima, limón, piña, tomate, fresa, etc. Entre sus usos están: conservante, acidulante, saborizante, agente secuestrante y emulsificante (EliUz, 2020), así como desinfectante, y sanitizante de alimentos en una concentración al 4% (Lafarga et al., 2019).

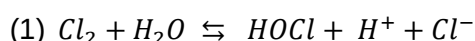
- **Ácido láctico**

Es un ácido tricarboxílico con fórmula $C_3H_6O_3$. Se utiliza a concentraciones de entre 2% a 5%. Su mecanismo de acción consiste en inducir el estrés oxidativo en las bacterias mediante la formación de radicales libres que producen la muerte celular (Feliziani et al., 2016).

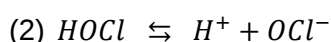
1.6.2 Agentes desinfectantes inorgánicos

- **Agentes clorados**

Los desinfectantes a base de cloro se utilizan ampliamente en la industria de productos frescos (Chen & Hung, 2017), presentan efecto bactericida y microbicida, se usan a bajas concentraciones (Yemiş, 2020). Para procesos de desinfección, el uso de cloro gaseoso e hipoclorito de sodio y calcio son utilizados para la formación de ácido hipocloroso, que presenta mayor acción antimicrobiana (Feliziani et al., 2016). Al disolver cloro gaseoso en agua esta forma ácido hipocloroso y ácido clorhídrico produciéndose el equilibrio de la reacción.



A su vez el ácido hipocloroso se encuentra en equilibrio con su forma dissociada, el ion hipoclorito (OCl^-).



El ácido hipocloroso es el compuesto que presenta actividad frente a los microorganismos. Sin embargo, su acción es dependiente del pH, entre 4-6 donde predomina la forma no disociada y es el responsable directo de la acción bactericida. Pero cuando el pH desciende aún más, se forma cloro gaseoso (Garmendia & Vero, 2006).

- **Ácido hipocloroso (HOCl):** es una sustancia antimicrobiana atóxica, no irritante y no corrosiva (Eryilmaz & Palabiyik, 2013). Es considerado como uno de los ácidos halogenados más fuertes, y con alto poder oxidante, propiedad a la cual se le confieren la acción bactericida (Garmendia & Vero, 2006). La concentración a la cual presenta esta actividad es de entre 0,1 a 2% causando así la pérdida respiratoria en las membranas bacterianas, debido a la unión irreversible con las enzimas de membrana, así como de proteínas estructurales, causando la muerte celular (Muñoz-Castellanos et al., 2021).
- **Hipoclorito (OCl⁻):** es el producto de la reacción de cloro con productos cáusticos, formando hipoclorito de sodio, calcio, etc. (Pérez et al., 2017). Presenta actividad bactericida, y se utiliza a concentraciones de 0,5% al 2%. Esta sustancia es un agente oxidante que produce la ruptura de la membrana celular y la inactivación de enzimas de la membrana plasmática (Yemiş, 2020).
- **Dióxido de cloro (ClO₂):** es un radical libre monomérico y se disuelve fácilmente en agua. Debido a que no se ioniza en el agua, se ve poco afectado por el pH. Presenta similar acción que el hipoclorito, pero al ser un gas disuelto con menor fuerza de oxidación conserva su actividad por más tiempo, además de no formar compuestos cancerígenos. El dióxido de cloro se utiliza principalmente para la desinfección del agua potable (Feliziani et al., 2016). Sin embargo, es usado como agente desinfectante de frutas y hortalizas. La desventaja de este desinfectante es su alta inestabilidad en temperaturas mayores a 30°C y cuando es expuesto a la luz (Garmendia & Vero, 2006).

- **Agentes con oxígeno activo**

- **Ozono**

Es un gas (O₃), se caracteriza por ser un agente oxidante fuerte y de potente de amplio espectro microbicida, es activo contra bacterias, hongos, virus y esporas. Su acción se basa en reaccionar con los polisacáridos para romper los enlaces glicosídicos, oxidar los grupos sulfhidrilo y aminoácidos de proteínas y péptidos (Khadre et al., 2001). Se aprobó el ozono para el procesamiento de alimentos y

se clasifica dentro del grupo GRAS para aplicaciones acuosas y gaseosas para su uso en contacto directo con alimentos mínimamente procesados como las frutas y verduras (FDA, 2001).

- **Ácido peracético**

Es un fuerte oxidante, que proviene de la mezcla de peróxido de hidrógeno y ácido acético, lo cual lo hace eficaz en la mayoría de los microorganismos (Garmendia & Vero, 2006). Su actividad desinfectante se basa en la liberación de oxígeno activo, donde los enlaces sulfhidrilo y azufre de las proteínas, enzimas y otros metabolitos se oxidan y que los dobles enlaces reaccionen interrumpiendo la función de la membrana citoplásmica de las lipoproteínas y el transporte a través de la dislocación o ruptura de las paredes celulares (Kitis, 2004). En 2001 fue aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos para la desinfección directa de frutas y verduras a una concentración de entre 40-80 ppm (FDA, 2001).

Metodología

2.1 Tipo de estudio

Se desarrolló un estudio observacional del tipo descriptivo.

2.2 Área de estudio

Se recolectaron muestras de envases de 1 kg de fresas frescas de dos marcas comerciales, considerando la fecha de empaquetado, con un máximo de siete días antes del análisis de dos supermercados de la ciudad de Cuenca, durante el período febrero - marzo 2024 y los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

2.3 Muestreo y tamaño de la muestra

Los desinfectantes empleados para el estudio se seleccionaron en base a su composición química, la cual debía estar bien detallada en la etiqueta del producto y contener un solo agente desinfectante. Únicamente, dos marcas cumplieron con este requisito, D1 a base de extracto de semillas y pulpa de cítricos (ácido cítrico) y D2 (ácido hipocloroso). Estos dos desinfectantes se contrastaron con el ácido acético glacial al 100%, del cual se prepararon diluciones a una concentración de 2,5% y 5% con agua destilada.

Las muestras de fresas frescas se recolectaron en los dos supermercados más concurridos de la ciudad de Cuenca reportados en el estudio de Córdova & Escandón, 2018. Se seleccionaron dos marcas de fresa, M1 del supermercado 1 y M2 del supermercado 2, considerando las mismas condiciones de almacenamiento en percha de venta al público y el envase de plástico. De cada marca se seleccionó un producto, mediante un muestreo aleatorio simple. Cada producto seleccionado se rotuló de acuerdo a la NTE INEN 1750 (NTE INEN, 1994), y fue transportado en condiciones de refrigeración de 2 a 8 °C hasta el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Cuenca.

2.4 Materiales, equipos y reactivos

2.4.1 Insumos y reactivos usados para el proceso de desinfección

Materiales

- Recipientes plásticos
- Cernidores plásticos

- Balones de aforo de 1000 ml
- Vasos de precipitación
- Gasas

Equipos

- Termómetro
- Potenciómetro
- Cronómetro

Reactivos

- Agua destilada
- Agua potable
- Ácido acético glacial conc. 100%
- Desinfectantes comerciales a base de ácido cítrico y ácido hipocloroso
- Alcohol etílico al 70%

2.4.2 Insumos y reactivos usados para la técnica de siembra de aerobios mesófilos y coliformes totales.

Materiales

- Tubos tapa rosca
- Pipetas serológicas de 10, 5 y 1 mL
- Matraz de Erlenmeyer de 500 mL
- Varillas
- Gradillas para tubos
- Peras de succión
- Vasos de precipitación de 500 mL
- Papel aluminio
- Lámpara de alcohol
- Fundas estériles 24 oz
- Stomacher
- Cucharas
- Cuchillos

Equipos

- Autoclave N° serie 91997, marca All American, modelo 930
- Estufa Fanem Modelo 002 CB a $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Contador de colonias marca Quebec
- Cocineta de gas N° serie 92086
- Refrigerador ecasa

- Balanza Analítica N° serie 14952, marca Ohaus, modelo Scout II
- Licuadora marca Oster
- Cronómetro

Reactivos

- Agua de Peptona al 0.1%
- Agua destilada
- Placas Petrifilm

2.4.3 Insumos y reactivos usados para la técnica de siembra en placa para *Salmonella***Materiales**

- Tubos tapa rosca
- Cajas petri
- Pipetas serológicas de 10, 5 y 1 mL
- Matraz de Erlenmeyer de 500 mL
- Varillas
- Gradillas para tubos
- Peras de succión
- Vasos de precipitación de 500 mL
- Papel aluminio
- Gasas algodón
- Lámpara de alcohol
- Fundas estériles 24 oz
- Stomacher
- Cucharas

Equipos

- Autoclave N° serie 91997, marca All American, modelo 930
- Estufa Memmert a $41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Contador de colonias marca Quebec
- Cocineta de gas N° serie 92086
- Refrigerador ecasa
- Balanza Analítica N° serie 14952, marca Ohaus, modelo Scout II
- Licuadora marca Oster
- Cronómetro

Reactivos

- Agua de Peptona al 0.1%

- Agua destilada
- Caldo tetrionato verde brillante
- Caldo selenito cistina
- Agar *Salmonella-Shigella* (SS)

2.5 Métodos y técnicas de análisis

2.5.1 Método de desinfección por inmersión

El método de desinfección aplicado fue por inmersión, que consistió en sumergir a los alimentos en una solución desinfectante durante un período de tiempo específico para eliminar o reducir significativamente los microorganismos presentes (Universidad Zaragoza, 2024). Para garantizar las mismas condiciones en el momento de la desinfección se midió la temperatura en °C y el pH del agua potable empleada. Se siguieron las instrucciones de uso señaladas en la etiqueta de cada una de las marcas de desinfectantes como se indica en la Tabla 1. Para el ácido acético glacial al 2,5 y 5 % se empleó el mismo tiempo de inmersión sin enjuague.

Tabla 1

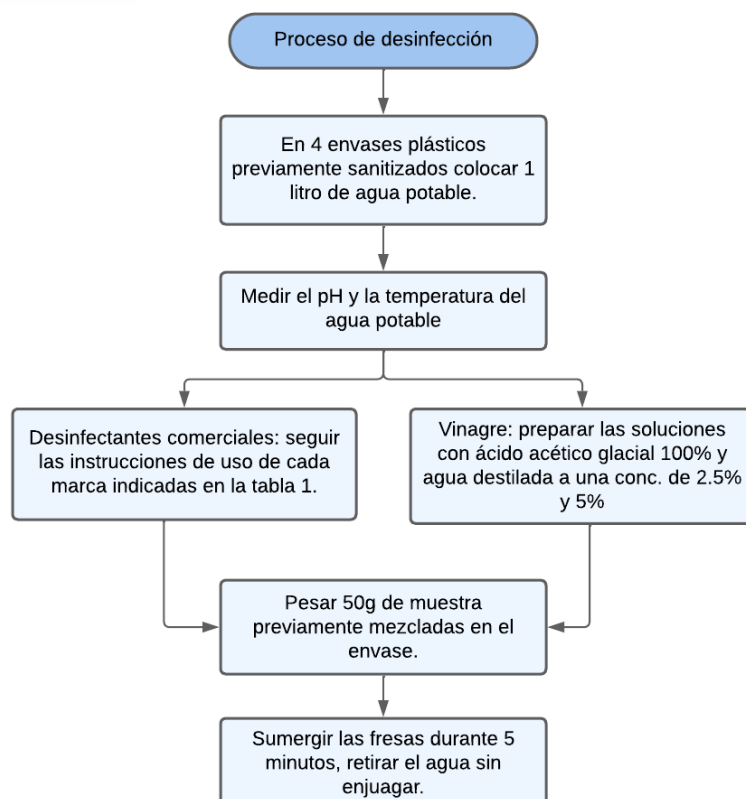
Instrucciones de uso de los desinfectantes comerciales

Desinfectante	Modo de uso:
D1	1. Limpiar los alimentos con agua corriente. 2. Añadir 4 cucharadas del producto en un litro de agua. 3. Sumergir los alimentos durante 5 minutos. 4. No requiere enjuague.
D2	1. Limpiar los alimentos con agua corriente. 2. Diluir 3 cucharadas en un litro de agua. 3. Sumergir los alimentos durante 5 minutos. 4. No requiere enjuague.

En la **Figura 1** se describe el método de desinfección aplicado para las fresas.

Figura 1

Esquema de los procesos de desinfección aplicado a las fresas. Elaborado por el autor, 2024.



2.5.2 Análisis microbiológico de la muestra

Los parámetros analizados fueron seleccionados en base a la norma NTS N° 071-MINSA/DIGESA que aplica para las fresas, en donde se indica el análisis de los siguientes parámetros microbiológicos: Aerobios mesófilos, *E. coli/coliformes*, y *Salmonella sp* (ver Anexo 1 y 2).

2.5.2.1 Recuento microbiológico mediante placas petrifilm.

Se usó el método de recuento en placas petrifilm por su aplicación sencilla y por ser un método aprobado por la Asociación Internacional de Químicos Analíticos (AOAC) (FDA, 2020).

- ***Escherichia coli/Coliformes totales:***

Las placas Petrifilm para el Recuento de *E. coli/coliformes* contienen agar selectivo Bilis Rojo-Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, presenta un indicador de actividad de la glucuronidasa facilitando la enumeración de las colonias. Las colonias de coliformes se muestran con un color rosa salmón dentro del agar VRB (3M, 2015). Mientras que, para la determinación de *E. coli*, las placas contienen beta-glucuronidasa que al reaccionar con el indicador producen una coloración azul o rojo-azul, por lo que, las colonias típicas se muestran de dicho color (FDA, 2020). En la **Figura 2** se describe

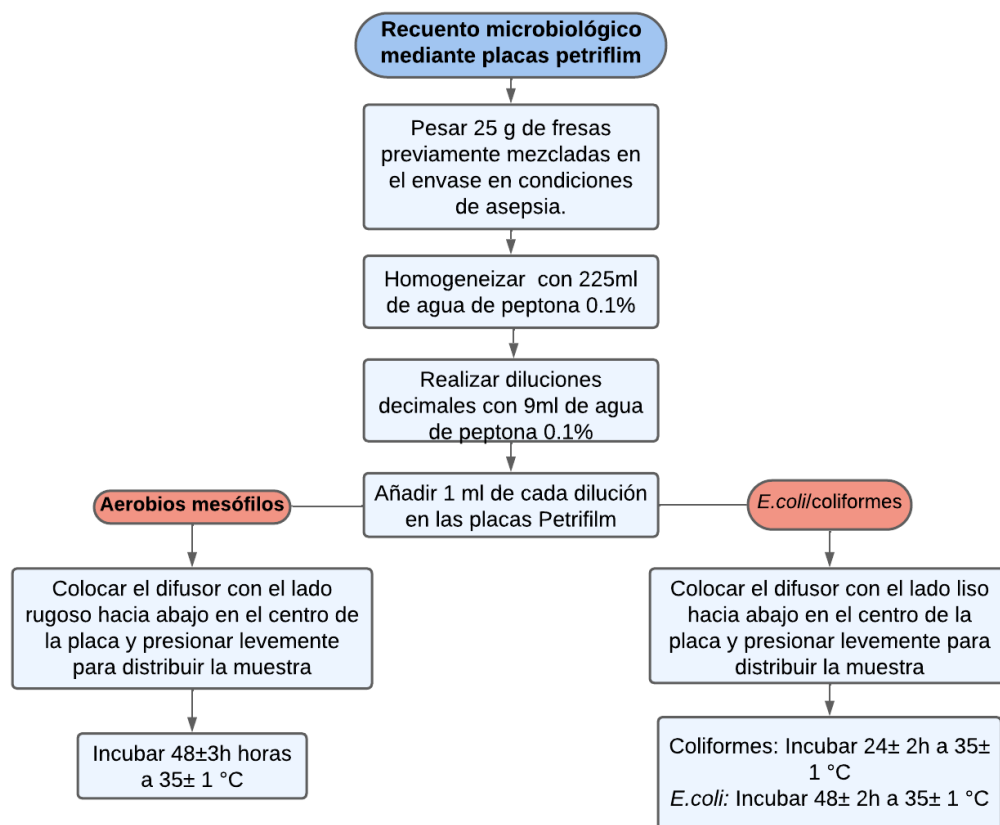
el proceso de análisis efectuado para la determinación de *E. coli*/coliformes en las fresas pre y post desinfección.

- **Aerobios mesófilos**

Las Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios mesófilos son un medio de cultivo listo para su uso, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador tetrazolio que facilita la enumeración de colonias (3M, 2021). A continuación, se describe el proceso de análisis efectuado para la determinación de Aerobios mesófilos en las fresas pre y post desinfección (**Figura 2**).

Figura 2

Esquema para recuento microbiológico con placas Petrifilm. Elaborado por el autor, 2024.



2.5.2.2 *Determinación de Salmonella por método tradicional*

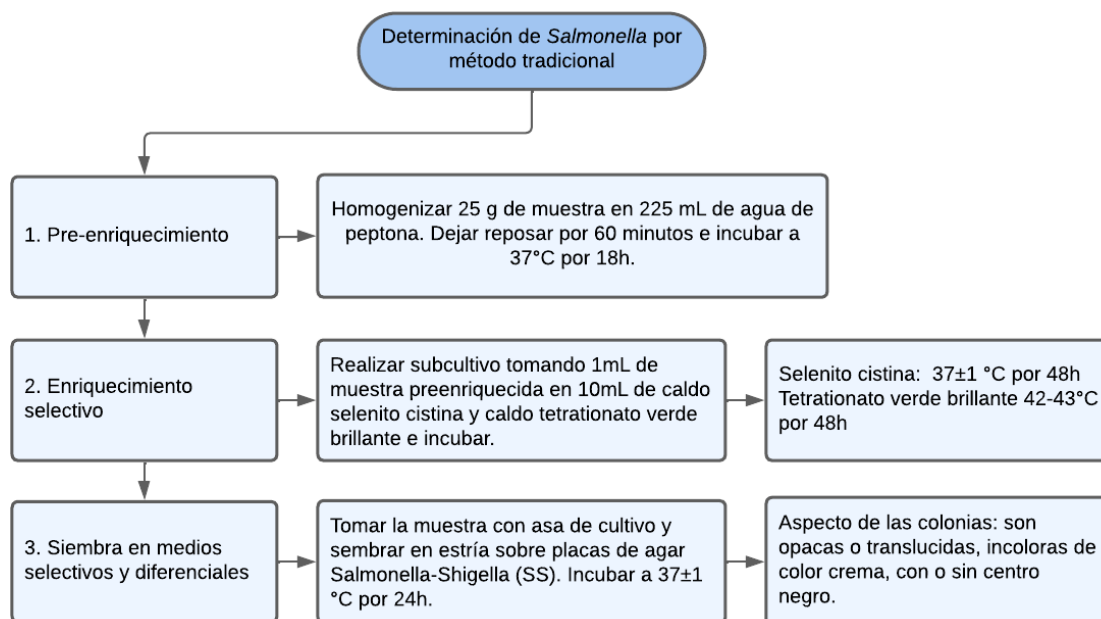
La técnica para la detección de *Salmonella* en alimentos aplicada sigue la NTE INEN 1529-15:2009 (NTE INEN, 2009), y se describe un esquema general que consiste en las siguientes etapas:

1. Pre-enriquecimiento: la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que tiene como función restaurar aquellas células lesionadas.
2. Enriquecimiento selectivo: su propósito es aumentar las poblaciones de *Salmonella* e impedir el crecimiento de otros organismos presentes en la muestra.
3. Siembra en placa en medios selectivos sólidos: se utilizan medios selectivos y diferenciales que permitan visualizar aquellas colonias que presentan aspecto característico y se las considera como *Salmonella* presuntiva.
4. Identificación bioquímica y serológica: se realiza un subcultivo de las colonias de *Salmonella* presuntiva que se someten a pruebas bioquímicas y serológicas con el objetivo de confirmar su identificación como miembros del género *Salmonella*.

Este método es no cuantitativo y solo es aplicable para determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* en los alimentos. En la **Figura 3** se describe el proceso de análisis efectuado para la determinación de *Salmonella* en las fresas pre y post desinfección.

Figura 3

Esquema para la determinación de Salmonella. Elaborado por el autor, 2024.



2.6 Cálculos

- Cálculo de UFC/g

$$\text{Recuento en UFC/g} = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1(n_2)) d}$$

Donde:

$\sum c$ = sumatoria de colonias en las placas escogidas

V= volumen en mililitros del inóculo sembrado en cada placa

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada

n_2 = número de placas contadas en la segunda dilución seleccionada

d= dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos

- Determinación de efectividad de desinfectantes

Se realizó mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\text{Efectividad (\%)} = \frac{\text{número de células sobrevivientes (UFC/g)} \times 100}{\text{cuenta viable inicial (UFC/g)}} - 100$$

Los porcentajes de efectividad de los desinfectantes y del vinagre a concentraciones de 2,5 % y 5 % fueron comparados mediante el análisis estadístico.

2.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente en el programa Excel versión 2019 desarrollado por Microsoft. Las diferencias significativas entre las poblaciones de

bacterias antes y después de cada tratamiento y los porcentajes de efectividad de cada tratamiento se determinaron mediante la Prueba T para medias de muestras emparejadas con una significancia del 0,05%.

Resultados y Discusión

En el presente estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de diferentes soluciones desinfectantes en fresas. Se comparó el vinagre en concentraciones de ácido acético al 2,5% (V1) y 5% (V2), con desinfectantes comerciales a base de ácido cítrico (D1) y ácido hipocloroso (D2). Se realizaron análisis microbiológicos antes y después de cada desinfección, por duplicado, utilizando fresas adquiridas de dos supermercados: (M1) de supermercado 1 y (M2) de supermercado 2. El muestreo y análisis se efectuaron durante un período de cinco días consecutivos.

Se midió la temperatura y pH del agua potable utilizada en el proceso de desinfección de las fresas, siendo 20°C y 7,6 respectivamente.

3.1 Análisis microbiológico de M1

Los resultados del análisis microbiológico pre-desinfección mostraron la presencia aerobios mesófilos y coliformes totales en fresas expandidas en los supermercados, que se compararon con resultados microbiológicos post-desinfección. Así también, se observa el porcentaje de efectividad de cada tratamiento (**Tabla 2**).

Tabla 2

Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección y porcentaje de efectividad de desinfectantes de M1

Aerobios mesófilos					
	Pre-desinfección	Post-desinfección	(<i>p</i> < 0,05)	% efectividad	(<i>p</i> < 0,05)
V1	1,80x10 ⁵ UFC/g	5,50x10 ¹ UFC/g	0,005	99,97	0,0003
V2		3,50x10 ¹ UFC/g	0,005	99,98	0,0002
D1		5,80x10 ¹ UFC/g	0,005	99,97	0,0003
D2		9,90x10 ³ UFC/g	0,006	94,55	0,06**
Promedio	1,80x10 ⁵ UFC/g	2,5x10 ³ UFC/g			
<i>E. coli</i> coliformes					
V1	4,10x10 ⁴ UFC/g	5,0x10 ¹ UFC/g	0,039	99,88	0,001
V2		3,50x10 ¹ UFC/g	0,039	99,91	0,0009
D1		8,50x10 ¹ UFC/g	0,04	99,79	0,002
D2		1,70X10 ⁴ UFC/g	0,053**	59,76	0,40**
Promedio	4,10x10 ⁴ UFC/g	4,2X10 ³ UFC/g			
<i>Salmonella</i>					
V1	Ausencia/25g	Ausencia/25g	-		-
V2			-		-
D1			-		-

D2			-	-
----	--	--	---	---

*V1= ácido acético al 2.5%; V2= ácido acético al 5%; D1= desinfectante comercial a base de ácido cítrico; D2= ácido hipocloroso. Los datos son el promedio de dos repeticiones. **No existen diferencias significativas ($P > 0,05$).

Como se observa, el tratamiento con V2 logró una reducción significativa ($p < 0,05$), de hasta 3,5 logaritmos en la carga microbiana para aerobios mesófilos, desde $1,80 \times 10^5$ UFC/g antes de la desinfección hasta $5,50 \times 10^1$ UFC/g después del tratamiento. Además, se observó una reducción de tres logaritmos en la carga microbiana para coliformes totales, de $4,10 \times 10^4$ UFC/g antes de la desinfección a $3,50 \times 10^1$ UFC/g después del tratamiento. La efectividad alcanzada fue del 99,98% para aerobios mesófilos y 99,91% para coliformes totales. Asimismo, los tratamientos con V1 y D1 también mostraron una diferencia significativa ($p < 0,05$), en la reducción microbiana.

Por otro lado, el tratamiento con D2 presentó una reducción significativa en la carga de aerobios mesófilos, pero no fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para coliformes totales. La reducción observada fue de un logaritmo, disminuyendo la carga microbiana de $4,10 \times 10^4$ UFC/g antes de la desinfección a $1,70 \times 10^4$ UFC/g después del tratamiento y la efectividad alcanzada fue sólo del 59,75%. La reducción de la carga microbiana de aerobios mesófilos se resume en la (Figura 4) y de *E. coli*/coliformes totales en la (Figura 5).

Figura 4

Recuento bacteriano pre y post desinfección de aerobios mesófilos de M1

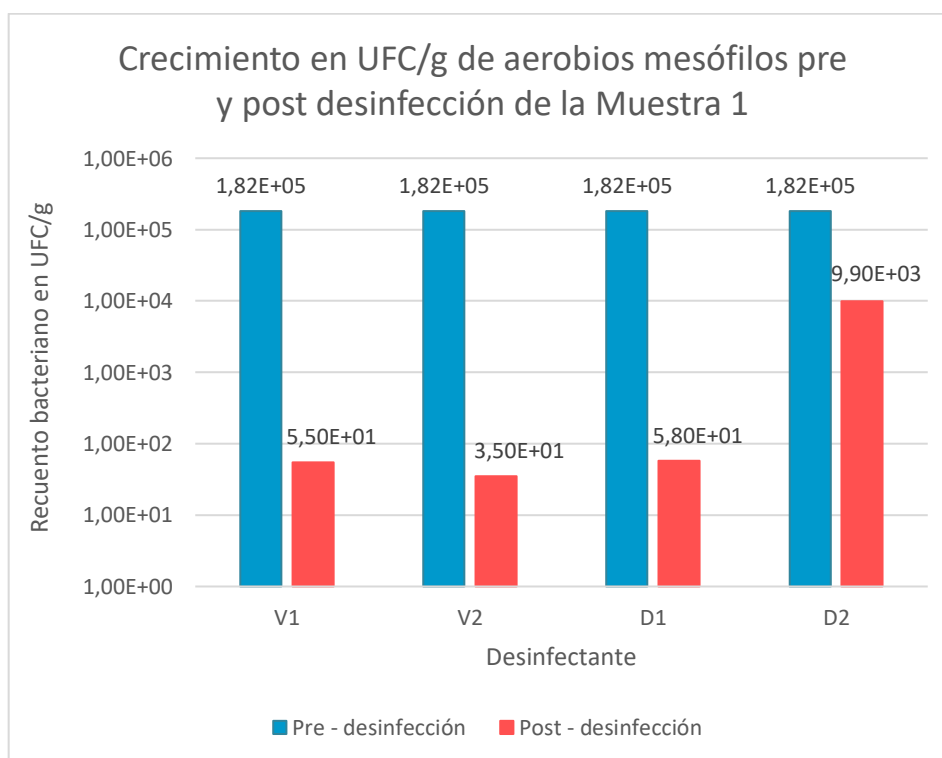
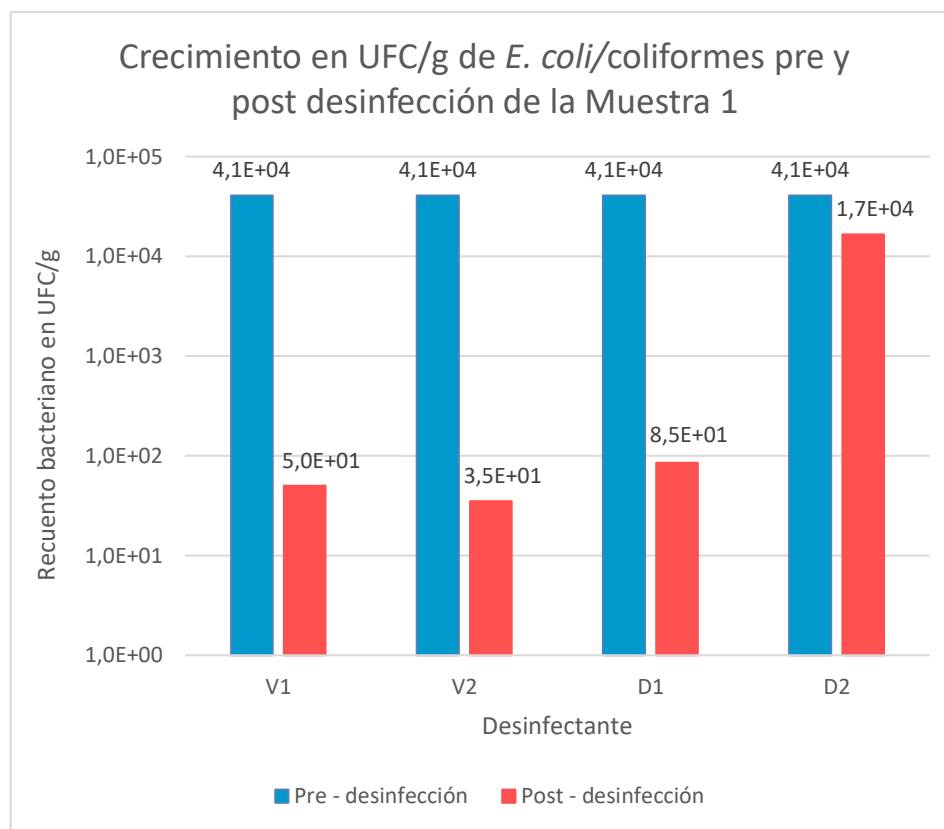


Figura 5

Recuento bacteriano pre y post desinfección de *E. coli*/coliformes de M1



3.2 Análisis microbiológico de M2

Los resultados del análisis microbiológico pre-desinfección mostraron la presencia aerobios mesófilos y coliformes totales en las fresas M2 expandidas en los supermercados, que se compararon con resultados microbiológicos post-desinfección (Tabla 3).

Tabla 3

Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección y porcentaje de efectividad de desinfectantes de M2.

Aerobios mesófilos					
	Pre-desinfección	Post-desinfección	($p < 0,05$)	% efectividad	($p < 0,05$)
V1	1,20x10 ⁵ UFC/g	2,21x10 ³ UFC/g	0,017	98,16	0,02
V2		2,30x10 ² UFC/g	0,017	99,81	0,002
D1		6,0x10 ³ UFC/g	0,019	95,04	0,05
D2		2,0x10 ⁴ UFC/g	0,013	83,33	0,17**
Promedio	1,20x10 ⁵ UFC/g	7,10x10 ³ UFC/g			
<i>E. coli</i>/coliformes					

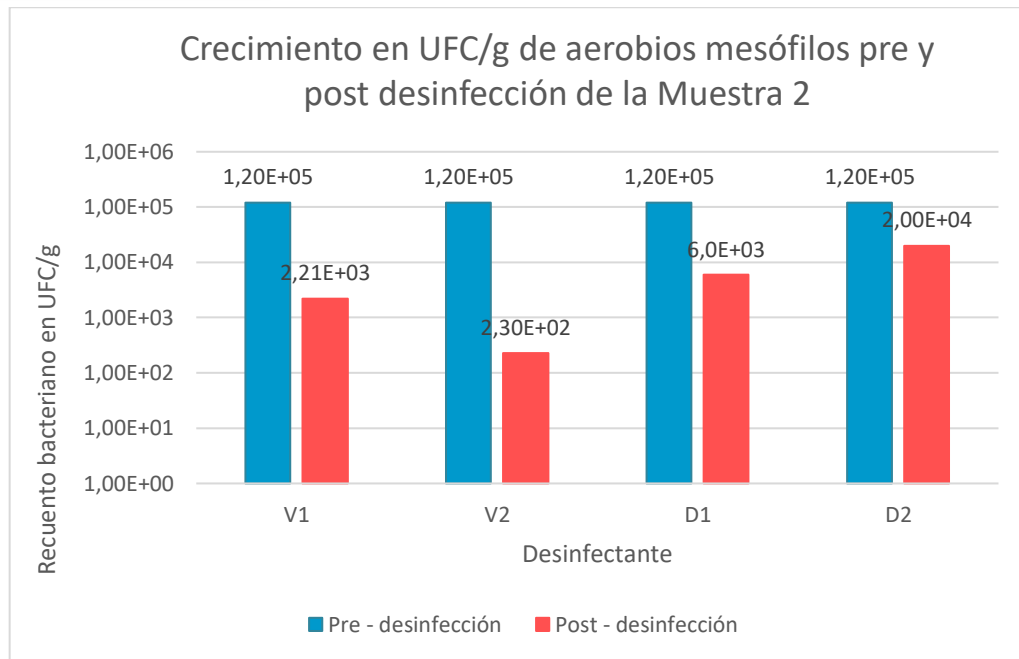
V1	3,0x10 ⁴ UFC/g	1,60x10 ³ UFC/g	0,011	94,67	0,053**
V2		4,50x10 ² UFC/g	0,01	98,50	0,015
D1		1,63x10 ³ UFC/g	0,012	94,57	0,054**
D2		4,0x10 ³ UFC/g	0,014	86,67	0,13**
Promedio	3,0x10 ⁴ UFC/g	1,92x10 ³ UFC/g			
Salmonella					
V1	Ausencia/25g	Ausencia/25g	-	-	
V2			-	-	
D1			-	-	
D2			-	-	

*V1= ácido acético al 2.5%; V2= ácido acético al 5%; D1= desinfectante comercial a base de ácido cítrico; D2= ácido hipocloroso. Los datos son el promedio de dos repeticiones.

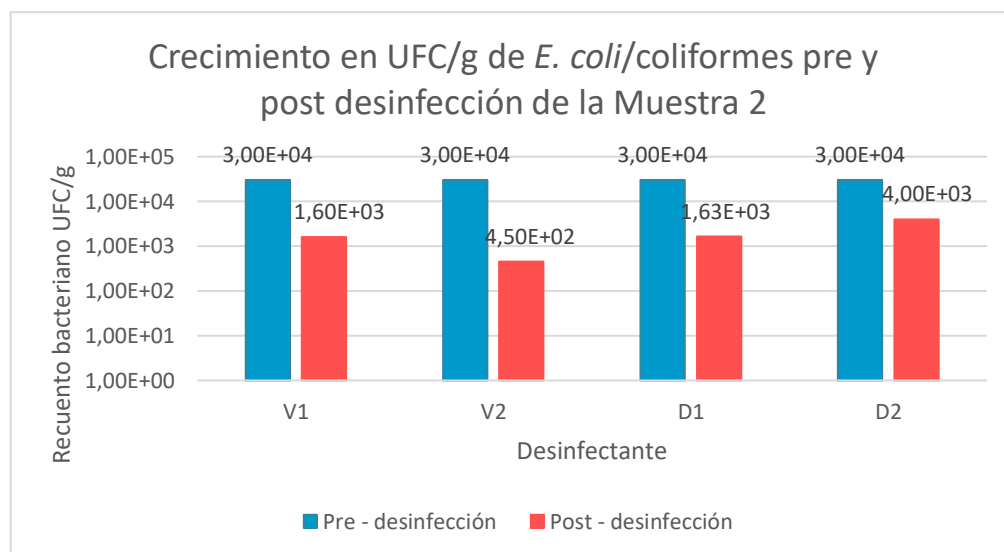
Como se observa, el tratamiento con V2 logró una reducción significativa ($p < 0,05$), de aproximadamente 2,7 logaritmos en la carga microbiana para aerobios mesófilos, desde $1,80 \times 10^5$ UFC/g antes de la desinfección hasta $2,30 \times 10^2$ UFC/g después del tratamiento. Además, se notó una reducción de 1,8 logaritmos en la carga microbiana para coliformes totales, disminuyendo de $3,0 \times 10^4$ UFC/g antes de la desinfección a $4,50 \times 10^2$ UFC/g después del tratamiento. La efectividad alcanzada fue del 99,81% para aerobios mesófilos y 98,50% para coliformes totales. Asimismo, los tratamientos con V1 y D1 también mostraron una diferencia significativa ($p < 0,05$), en la reducción microbiana de aerobios mesófilos y *E. coli*/coliformes totales. Sin embargo, el tratamiento con D2 presentó menor efectividad (83,33 y 86,67 %) en comparación con los otros tratamientos. La reducción de la carga microbiana de aerobios mesófilos se resume en la (Figura 6) y de *E. coli*/coliformes totales en la (Figura 7).

Figura 6

Recuento bacteriano pre y post desinfección de aerobios mesófilos de M2

**Figura 7**

Recuento bacteriano pre y post desinfección de E. coli/coliformes de M2



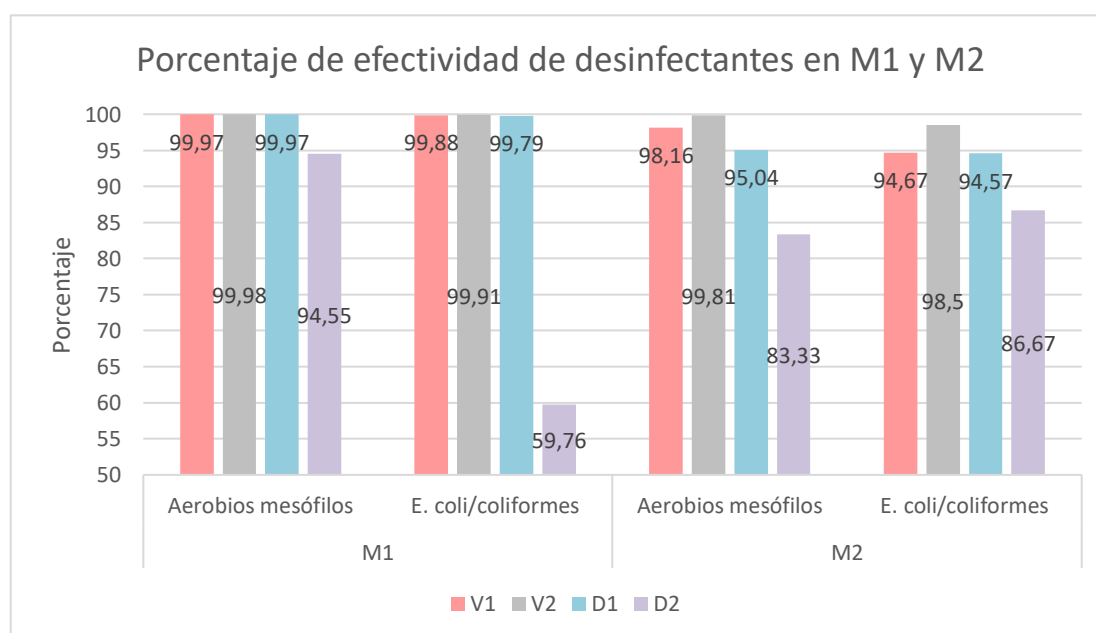
De manera general, la reducción de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y *E. coli*/coliformes en las muestras M1 y M2, reflejan la efectividad de los tratamientos. En este contexto, se observa que el tratamiento V2 es el más efectivo, seguido del tratamiento V1. Por su parte, los tratamientos D1 y D2 se ubican en las posiciones subsiguientes en términos de efectividad. Los resultados del tratamiento V1 y V2, mostraron valores de carga bacteriana de $3,50 \times 10^1$ UFC/g para aerobios mesófilos y

$5,50 \times 10^1$ UFC/g para *E.coli*/coliformes en la muestra M1, y $2,30 \times 10^2$ UFC/g y $2,21 \times 10^3$ UFC/G, respectivamente en la muestra M2., con una reducción de hasta 4 y 3 logaritmos.

Los 3 tratamientos aplicados (V1, V2 y D1) demostraron un porcentaje alto de efectividad tanto para M1 y M2. Se observa que el tratamiento V2 con una concentración de ácido acético al 5% alcanzó una efectividad significativa del 99,98% para aerobios mesófilos y del 99,91% para coliformes totales en la muestra M1; y 99,81% y 98,50% respectivamente en la muestra M2. A continuación, los tratamientos V1 (ácido acético al 2.5%) y D1 (desinfectante comercial a base de ácido cítrico) presentaron un porcentaje de efectividad similar entre 94,57% y 99,97% para aerobios mesófilos y coliformes totales en las muestras M1 y M2. Por otro lado, el tratamiento D2 (desinfectante comercial a base de ácido hipocloroso) logró una reducción no significativa de la carga microbiana de aerobios mesófilos para la muestra M1 y M2. Así también, el porcentaje de efectividad en coliformes totales fue de 59,76% demostrando una reducción mínima no significativa ($p > 0,05$) como se observa en la (Figura 8).

Figura 8

Porcentaje de efectividad de desinfectantes sobre Aerobios Mesófilos y E. Coli/coliformes en M1 y M2



En un estudio relacionado, Ortiz-Solá et al. (2020) evaluaron el uso de vinagre como desinfectante contra *L. monocytogenes* y *S. entérica*, utilizando concentraciones de ácido acético de 2,5 y 5%. Reportaron una carga inicial antes de la desinfección de

$2,6 \times 10^4$ UFC/g y $5,0 \times 10^4$ UFC/g para *L. monocytogenes* y *S. enterica*, respectivamente. Para el primer microorganismo reportado, la reducción bacteriana fue de $2,5 \times 10^2$ UFC/g al 2,5% de ácido acético y $6,3 \times 10^2$ UFC/g al 5%, lo que representó una reducción de 2 logaritmos con las dos concentraciones empleadas. Para *S. enterica*, la reducción fue $6,3 \times 10^2$ UFC/g al 2,5% y $7,9 \times 10^3$ UFC/g al 5%, lo que corresponde a reducciones de 2 y 3 logaritmos, respectivamente. La actividad antimicrobiana del ácido acético a una concentración de 5% demostró ser estadísticamente significativa ($p < 0,05$) y más efectiva que la concentración de ácido acético al 2,5%.

Los resultados obtenidos en este estudio son comparables con los reportados por (Medina et al., 2007), quienes inocularon *S. enterica*, *S. sonnei*, y *E. coli* en agar nutritivo con una población inicial de 10^5 UFC/mL y utilizaron vinagre blanco con concentración de ácido acético al 5%. Se observó una reducción de *S. enterica* por debajo de los límites de detección y la eliminando a la mayoría de células de *E. coli*.

Además, (Chang & Fang, 2007), inocularon *E. coli* O157:H7 en lechuga, logrando niveles de entre 10^4 y 10^7 UFC/g, luego fueron sometidas a soluciones de tratamiento con vinagre a diferentes concentraciones. Se observó que el tratamiento de lechuga inoculada (10^7 UFC/g) con vinagre comercial de arroz, que contiene ácido acético al 5% (pH 3,0) durante 5 min redujo la población bacteriana en 3 logaritmos. Mientras que, en la lechuga en la que se desarrolló una población bacteriana de 10^4 UFC/g, la población disminuyó hasta niveles indetectables. Por lo que el vinagre con concentración de ácido acético al 5%, reduce de manera significativa la carga microbiana, incluso hasta niveles indetectables.

A diferencia del vinagre, la disminución de la carga bacteriana con ácido cítrico es menor. En la muestra M1, se observa una carga microbiana final de $5,8 \times 10^1$ para aerobios mesófilos y $8,50 \times 10^1$ en la determinación de *E. coli*/coliformes. Mientras que, en la muestra M2, la disminución microbiana fue de hasta $6,0 \times 10^3$ y $1,63 \times 10^3$ respectivamente. Estos resultados corresponden a una reducción de hasta 4 y 2 logaritmos para aerobios mesófilos y de 3 y 1 logaritmos para *E. coli*/coliformes.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos por (Sagong et al., 2011), quienes evaluaron la eficacia de ácido cítrico como desinfectante en la lechuga. En su estudio, se reportó un recuento inicial de *E. coli* de $2,3 \times 10^8$ UFC/mL, que al ser tratado con ácido cítrico al 2% durante 5 minutos, se redujo a $1,9 \times 10^7$ UFC/mL. De manera similar, (Rubinstein et al., 2013) concluyeron que la desinfección de hojas de espinaca con ácido cítrico al 2% redujo al menos 2 logaritmos la población de aerobios mesófilos $2,3 \times 10^3$

UFC/g. Además, la investigación realizada por Chen et al. (2017), la desinfección de manzanas inmersas en una solución desinfectante a base de ácido cítrico por 5 minutos produjo una reducción de 1 logaritmo en la carga bacteriana disminuyendo de $4,0 \times 10^3$ a $1,3 \times 10^2$ UFC/g.

Sin embargo, la solución desinfectante a base de ácido hipocloroso muestra una reducida actividad antimicrobiana con diferencias no significativas ($p < 0,05$) entre la población bacteriana antes y después de la desinfección. La muestra M1 presenta una carga bacteriana final de $9,9 \times 10^3$ UFC/g para aerobios mesófilos, y $1,70 \times 10^4$ UFC/g para *E. coli*/coliformes, observándose una reducción de máxima de 2 logaritmos. Mientras que, para la muestra M2, se observa una disminución de 2×10^4 UFC/g y $4,0 \times 10^3$ UFC/g respectivamente, con una reducción de 1 logaritmo en Aerobios mesófilos y *E.coli*/coliformes. Resultados que se asemejan a los obtenidos en el estudio realizado por (C. Zhang et al., 2016), quienes evaluaron la efectividad del ácido hipocloroso en hojas de cilantro, obteniendo una carga inicial de 10^7 UFC/g de aerobios mesófilos, reduciéndose en 3 logaritmos (10^4 UFC/g) tras 5 minutos de tratamiento. De manera similar, (Ventura, 2022), determinaron la efectividad del ácido hipocloroso contra *Salmonella enterica* en fresas, en donde la carga inicial fue de 10^7 y luego de aplicar el tratamiento desinfectante a base de ácido hipocloroso tras 5 minutos de inmersión, produjo una reducción de menos de 2 logaritmos.

Pese a no observar crecimiento de *Salmonella spp.* en las muestras analizadas, algunos autores mencionan al vinagre como un desinfectante eficaz contra estas bacterias patógenas.

Los ácidos orgánicos son considerados como agentes antimicrobianos debido a su alta capacidad de disminuir el pH del medio, el cual daña la pared celular alterando el transporte y permeabilidad de la membrana plasmática microbiana, e inhibe reacciones enzimáticas. Su capacidad no se ve limitada, ya que pueden persistir en las superficies durante un largo periodo de tiempo. Por lo que, el ácido acético y cítrico se utilizan habitualmente en el lavado de frutas y verduras. La diferencia entra ambos radica en que, la capacidad del ácido acético es mayor debido a que presenta un pH más bajo, menor a tres. Mientras que, el ácido cítrico presenta un pH menor a cinco (Ortiz-Solà et al., 2020).

Mientras que, el desinfectante a base de cloro, el ácido hipocloroso, mediante reacciones de oxidación y disminución del pH intracelular alteran el metabolismo bacteriano, se genera debido a la inactivación y daño de proteínas y lípidos, produciendo

la muerte celular. La razón de la reducida efectividad de este desinfectante podría deberse a distintos factores, como la presencia de materia orgánica interferente restante de la destrucción o daño físico de las bacterias, como es el caso de los exopolisacáridos, son polímeros biológicos secretados por las bacterias, involucrados en la formación de biofilms que brindan protección a los microorganismos frente a factores adversos como el pH, temperatura, procesos de desinfección, etc. Además, la estabilidad limitada especialmente en soluciones diluidas, el pH de la solución fuera del rango óptimo 5,5, entre otras (H. Zhang et al., 2020).

Conclusiones

Basado en los resultados del análisis microbiológico de fresas antes y después de la desinfección, se observó una notable efectividad en la reducción de la carga microbiana luego de aplicar los distintos tratamientos desinfectantes.

Se demostró que la carga microbiana en UFC/g después de los tratamientos empleados cumple con los parámetros microbiológicos permitidos para Frutas y Hortalizas semiprocesadas (desinfectadas), de acuerdo con la Norma NTS N° 071 MINSA/DIGESA-V (**Anexo 1 y 2**).

Tabla 4

Unidades formadoras de colonias en fresas pre y post desinfección

Aerobios mesófilos								
	Muestra M1		Muestra M2		Parámetros microbiológicos MINSA			
	Pre-desinfección	Post-desinfección n	Pre-desinfección n	Post-desinfección	Pre-desinfección n		Post-desinfección n	
					m	M	m	M
V1	1,80x10 ⁵	5,50x10 ¹	1,20x10 ⁵	2,21x10 ³	-	-	10 ⁴	10 ⁶
V2		3,50x10 ¹		2,30x10 ²				
D1		5,80x10 ¹		6,0x10 ³				
D2		9,90x10 ³		2,0x10 ⁴				
E. colilcoliformes								
V1	4,10x10 ⁴	5,0x10	3,0x10 ⁴	1,60x10 ³	10 ²	10 ³	10	10 ²
V2		3,50x10 ¹		4,50x10 ²				
D1		8,50x10 ¹		1,63x10 ³				
D2		1,70x10 ⁴		4,0x10 ³				
Salmonella								
V1	Ausencia/25g		Ausencia/25g		Ausencia/25g			
V2								
D1								
D2								

Estos resultados indican que el uso de ácido acético al 5% (V2) es una opción efectiva para la desinfección de fresas, mostrando una significativa reducción en la carga microbiana, especialmente para aerobios mesófilos y coliformes totales, en comparación con otros tratamientos evaluados.

Además, se demostró que la efectividad de los cuatro métodos de desinfección probados en esta investigación está influenciada por la concentración del agente, el tiempo de exposición y la superficie del producto alimenticio, ya que mientras más compleja es la superficie en términos de porosidad y rugosidad, la inactivación parece ser más complicada y reducida.

Referencias

- 3M. (2015). Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes. Guía de interpretación. Estados Unidos.
<https://multimedia.3m.com/mws/media/1624098O/3m-petrifimplacas-e-coli-ec-guia-de-interpretacion.pdf>
- 3M. (2021). Placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios AC. Guía de interpretación. Estados Unidos.
- Alegbeleye, O. O., Singleton, I., & Sant'Ana, A. S. (2018). Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review. *Food Microbiology*, 73, 177-208. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.003>
- Argyropoulou, O. D., Goules, A. V., Boutzios, G., Tsirogianni, A., Sfontouris, C., Manoussakis, M. N., Vlachoyiannopoulos, P. G., Tzioufas, A. G., & Kapsogeorgou, E. K. (2021). Occurrence and Antigenic Specificity of Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies (P-ANCA) in Systemic Autoimmune Diseases. *Cells*, 10(8), Article 8.
<https://doi.org/10.3390/cells10082128>
- Arias Flores, A. I. (2019). Evaluación a nivel laboratorio, de la acción desinfectante y desengrasante del vinagre sintético blanco al 4%, con vida de anaquel caducada, como sustituto a productos químicos comunes [Other, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://biblioteca.ingenieria.usac.edu.gt/>
- Balali, G. I., Yar, D. D., Afua Dela, V. G., & Adjei-Kusi, P. (2020). Microbial Contamination, an Increasing Threat to the Consumption of Fresh Fruits and Vegetables in Today's World. *International Journal of Microbiology*, 2020, e3029295. <https://doi.org/10.1155/2020/3029295>
- Betelgeux. (s. f.). DESINFECTANTES UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia.
- Bovi, G. G., Fröhling, A., Pathak, N., Valdramidis, V. P., & Schlüter, O. (2019). Safety Control of Whole Berries by Cold Atmospheric Pressure Plasma Processing: A Review. *Journal of Food Protection*, 82(7), 1233-1243.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-606>

- Cáceres Espitia, J. J., Caycedo Lozano, L., & Trujillo Suárez, D. M. (2022). Efecto bactericida del ácido acético presente en el vinagre, una alternativa a desinfectantes sintéticos o químicos. Revisión sistemática. *Revista Boletín Redipe*, 11(1), 440-451. <https://doi.org/10.36260/rbr.v11i1.1653>
- Chang, J., & Fang, T. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 24(7-8), 745-751. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.03.005>
- Chávez, C., Doukh, N., & Pazmiño, D. (2015). Puntos críticos en el manejo de alimentos en los hogares de la provincia de Imbabura (1). 1, Article 1.
- Chen, X., & Hung, Y.-C. (2017). Effects of organic load, sanitizer pH and initial chlorine concentration of chlorine-based sanitizers on chlorine demand of fresh produce wash waters. *Food Control*, 77, 96-101. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.026>
- Córdova, R., & Escandón, M. (2018). Marketing Relacional y Dirección Comercial “Estrategia de Éxito”. Caso Industria de Supermercados en Cuenca. Universidad del Azuay.
- EliUz, E. (2020). Antimicrobial activity of citric acid against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* as a sanitizer agent. *Eurasian Journal of Forest Science*, 8(3), 295-301. <https://doi.org/10.31195/ejejfs.787021>
- Erkmen, O. (2021). *Microbiological Analysis of Foods and Food Processing Environments*. Academic Press.
- Eryilmaz, M., & Palabiyik, I. (2013). Hypochlorous Acid—Analytical Methods and Antimicrobial Activity. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(1), 123-126. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.20>
- FDA. (1992). Citric Acid (p. 122). Food and Drug Administration.
- FDA. (2001). Code of Federal Regulations (21).
- FDA. The Food and Drug Administration. (2020). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. United States. <https://www.fda.gov/food/laboratory->

methodsfood/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli- and-coliform-bacteria

- Feliziani, E., Lichter, A., Smilanick, J. L., & Ippolito, A. (2016). Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 53-69. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.016>
- Fernandez, S., Bu, J., Chavez, V., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433
- Garcés Venegas, A. G. (2015). La cadena de comercialización y su impacto en la rentabilidad de los pequeños productores de fresa de la provincia de Tungurahua. [bachelorThesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Contabilidad y Auditoría. Carrera de Economía.]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/18274>
- García-Robles, J., Medina -Rodriguez, L., Mercado Ruiza, J., & Báez Sañudo, R. (2017). *EVALUACIÓN DE DESINFECTANTES PARA EL CONTROL DE MICROORGANISMOS EN FRUTAS Y VERDURAS*. 18(1), 9-22.
- Garmendia, G., & Vero, S. (2006). *Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas*. 197, 18-27.
- Gómez-López, V. M. (Ed.). (2012). Decontamination of fresh and minimally processed produce. Blackwell Pub.
- Harris, L. J., & Mitcham, E. (2007). *Strawberries: Safe Methods to Store, Preserve, and Enjoy*. University of California, Agriculture and Natural Resources.
- Ho, C. W., Lazim, A. M., Fazry, S., Zaki, U. K. H. H., & Lim, S. J. (2017). Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food Chemistry*, 221, 1621-1630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.128>
- Kamala, K., & Kumar, V. P. (2018). Food Products and Food Contamination. En *Microbial Contamination and Food Degradation* (pp. 1-19). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811515-2.00001-9>

- Kessel Domini, A. (2012). Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), a través de métodos biotecnológicos. *Cultivos Tropicales*, 33(3), Article 3.
- Khadre, M. A., Yousef, A. E., & Kim, J. -G. (2001). Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. *Journal of Food Science*, 66(9), 1242-1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.x>
- Kitis, M. (2004). Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review. *Environment International*, 30(1), 47-55. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8)
- Kopper, G., Gloria, C., Schneider, S., Dominguez, W., & Gutierrez, G. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico.
- Kusstascher, P., Cernava, T., Abdelfattah, A., Gokul, J., Korsten, L., & Berg, G. (2020). Microbiome approaches provide the key to biologically control postharvest pathogens and storability of fruits and vegetables. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(7), fiae119. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae119>
- Lafarga, T., Colás-Medà, P., Abadías, M., Aguiló-Aguayo, I., Bobo, G., & Viñas, I. (2019). Strategies to reduce microbial risk and improve quality of fresh and processed strawberries: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 197-212. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.12.012>
- León, J., Ortiz, J., Astudillo, D., Astudillo, G., Donoso, S., León, J., Ortiz, J., Astudillo, D., Astudillo, G., & Donoso, S. (2023). Control microbiológico de alimentos en la vía pública en Cuenca, Ecuador. *Revista chilena de nutrición*, 50(3), 261-270. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182023000300261>
- Medina, E., Romero, C., Brenes, M., & De Castro, A. (2007). Antimicrobial Activity of Olive Oil, Vinegar, and Various Beverages against Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 70(5), 1194-1199. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.5.1194>
- Mostafidi, M., Sanjabi, M. R., Shirkhan, F., & Zahedi, M. T. (2020). A review of recent trends in the development of the microbial safety of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 321-332. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.009>
- Mritunjay, S., & Kumar, V. (2015). Fresh Farm Produce as a Source of Pathogens: A

Review. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 9, 59-70.

<https://doi.org/10.3923/rjet.2015.59.70>

Ministerio de Salud Pública. (2022). ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR AGUA Y ALIMENTOS OTRAS INTOXICACIONES ALIMENTARIAS (SE 02-22; p. 5). Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Pública.

Muncan, J., Anantawittayanon, S., Furuta, T., Kaneko, T., & Tsenkova, R. (2022). Aquaphotomics monitoring of strawberry fruit during cold storage – A comparison of two cooling systems. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1058173>

Muñoz-Castellanos, L. N., Borrego-Loya, A., Villalba-Bejarano, C. V., González-Escobedo, R., Orduño-Cruz, N., Villezcas-Villegas, G. P., Rodríguez-Roque, M. J., Avila-Quezada, G. D., & Vargas-Arispuro, I. (2021). Chlorine and its importance in the inactivation of bacteria, can it inactivate viruses? *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(4). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2021-4>

NTE INEN. (1994). NTE INEN 1750:1994 Hortalizas y Frutas Frescas. Muestreo (1). Instituto Ecuatoriano de Normalización.

NTE INEN. (2009). Control Microbiológico de los Alimentos. Salmonella. Método de detección. NTE INEN 1529-15:2009 (1). Instituto Ecuatoriano de Normalización.

OIRSA. (2020). Guía para uso de cloro en desinfección de frutas y hortalizas de consumo fresco, equipos y superficies en establecimientos.

Oliveira, M., Rodrigues, C. M., & Teixeira, P. (2019). Microbiological quality of raw berries and their products: A focus on foodborne pathogens. *Heliyon*, 5(12), e02992. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02992>

OMS. (2015). Enfermedades de transmisión alimentaria. https://www.who.int/es/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_2

OMS & OPS. (2017). Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Ong, W. T. J., & Nyam, K. L. (2022). Strawberry Fruit Waste: Chemistry, Functionality and Technological Applications. En M. F. Ramadan & M. A. Farag (Eds.),

Mediterranean Fruits Bio-wastes: Chemistry, Functionality and Technological Applications (pp. 523-544). Springer International Publishing.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-84436-3_21

Ortiz-Solà, J., Abadias, M., Colàs-Medà, P., Sánchez, G., Bobo, G., & Viñas, I. (2020). Evaluation of a sanitizing washing step with different chemical disinfectants for the strawberry processing industry. *International Journal of Food Microbiology*, 334, 108810. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108810>

Pérez, É., Barrera, C., & Castello, M. (2017). Métodos para la desinfección en la industria alimentaria.

Ponce Navarro, A. (2022). *Inactivación de Listeria monocytogenes y Salmonella enterica en fresas mediante la aplicación de calentamiento óhmico*. Universidad Autónoma de Querétaro.

Rahman, M. M., Azad, M. O. K., Uddain, J., Adnan, M., Ali, M. C., Al-Mujahidy, S. M. J., Roni, M. Z. K., Rahman, M. S., Islam, M. J., Rahman, M. H., Choi, K. Y., & Naznin, M. T. (2021). Microbial Quality Assessment and Efficacy of Low-Cost Disinfectants on Fresh Fruits and Vegetables Collected from Urban Areas of Dhaka, Bangladesh. *Foods*, 10(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/foods10061325>

Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 373-386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>

Rubinstein, A. J., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. (2013). LAVADO Y DESINFECCIÓN DE ESPINACA (*Spinacia oleracea* L.): EVALUACIÓN DE DESINFECTANTES ALTERNATIVOS AL HIPOCLORITO DE SODIO. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(1), 71-79. Redalyc.

Sadiku, N. O. M., Ashaolu, J. T., & Musa, M. S. (2022). Food Contamination: A Primer | *International Journal of Advances in Scientific Research and Engineering (IJASRE)*, ISSN:2454-8006, DOI: 10.31695/IJASRE. Vol. 6 No 3. <https://doi.org/10.31695/IJASRE.2020.33736>

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and

Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512-531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>

Sagong, H.-G., Lee, S.-Y., Chang, P.-S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y.-J., & Kang, D.-H. (2011). Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.010>

Salgado-Escobar, I., Hernández-Rodríguez, G., Suárez-López, Y. del C., Mancera-Ugarte, M. J., Guerra-Ramírez, D., Salgado-Escobar, I., Hernández-Rodríguez, G., Suárez-López, Y. del C., Mancera-Ugarte, M. J., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Eficacia de métodos de desinfección y los efectos sobre las propiedades nutraceuticas en cilantro y fresa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(2), 327-337. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.1892>

Satitmunnaithum, J., Kitazawa, H., Arofathullah, N. A., Widiastuti, A., Kharisma, A. D., Yamane, K., Tanabata, S., & Sato, T. (2022). Microbial population size and strawberry fruit firmness after drop shock-induced mechanical damage. *Postharvest Biology and Technology*, 192, 112008. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112008>

Schiraldi, C., & De Rosa, M. (2016). Mesophilic Organisms. En E. Drioli & L. Giorno (Eds.), *Encyclopedia of Membranes* (pp. 1-2). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40872-4_1610-2

Severino, C. (2023). Eficiencia germicida y coeficiente de dilución del Ácido Hipocloroso in vitro frente a cepas bacterianas potencialmente frecuentes en la Industria Alimentaria. Universidad de Chile.

Steinka, I., & Kukulowicz, A. (2018). Identification and study of the behavior of *S. aureus* and *S. epidermidis* in fresh and frozen strawberries. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 17(1), 27-35. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2018.0535>

Universidad Pontificia Bolivariana. (2022). Cómo lavar y desinfectar los alimentos.

- Universidad Zaragoza. (2024). *Procedimientos de descontaminación y desinfección | Unidad de Prevención de Riesgos Laborales*.
- Urzúa, H. (2016). *MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS: Fundamentos y aplicaciones en ciencias de la salud*. MED PANAMERICANA.
- Van de Velde, F., Méndez, M., Piagentini, A., & Pirovani, M. (2019). Técnicas amigables con el medio ambiente para la descontaminación de frutas finas. 249-266.
- Ventura, P. (2022). Efecto conservador de la solución electrolizada de superoxidación (SES) con pH neutro en alimentos listos para su consumo: La fresa como modelo de estudio. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Wagner, F. S. (2002). Acetic Acid. En Kirk-Othmer (Ed.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (1.^a ed.). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/0471238961.0103052023010714.a01.pub2>
- Wood, B.J. (2014). *Microbiology of Fermented Foods*. Springer Verlag.
- Yemiş, F. (2020). Classification, Uses and Environmental Implications of Disinfectants. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 21(2), 179-192.
<https://doi.org/10.21743/pjaec/2020.12.20>
- Zhang, C., Cao, W., Hung, Y.-C., & Li, B. (2016). Disinfection effect of slightly acidic electrolyzed water on celery and cilantro. *Food Control*, 69, 147-152.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.039>
- Zhang, H., Yamamoto, E., Murphy, J., & Locas, A. (2020). Microbiological safety of ready-to-eat fresh-cut fruits and vegetables sold on the Canadian retail market. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108855.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108855>
- Zuberer, D. A., & Zibilske, L. M. (2021). 24 - Composting: The microbiological processing of organic wastes. En T. J. Gentry, J. J. Fuhrmann, & D. A. Zuberer (Eds.), *Principles and Applications of Soil Microbiology (Third Edition)* (pp. 655-679). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820202-9.00024-1>

Anexos

Anexo 1.

Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento)

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia / 25g	----

Anexo 2.

Frutas y hortalizas frescas semiprocadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o congeladas)

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g.	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10^4	10^6
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia / 25g	----