

Eficacia del Agua, *Hipoclorito Sódico (NaOCl)* de Blanqueador, y el *Ácido Peroxiacético (PAA)* en Erradicar el *Salmonella Typhimurium* de la Superficie de los Tomates

Jonathan Howarth Ph.D y Tina Rodrigues BS
Enviro Tech Chemical Services
Modesto, CA 95258

Historial

La contaminación de los tomates por la bacteria *Salmonella* ha tenido un impacto devastador en la industria. Los restaurantes de comida rápida y supermercados suspendieron temporalmente el servir y vender de este popular y nutritivo producto a sus clientes y familia. Esto nos llevo a considerar si existe una simple disposición de salvaguardar tanto para el consumidor como el productor que podría mejorar las practicas actuales utilizadas para eliminar o reducir los riesgos infecciosos. Un simple experimento fue ideado: Las superficies de tomates maduros comprados del supermercado (los únicos disponibles en el supermercado local) se inocularos con un cultura de *Salmonella* del laboratorio fueron roseados por esta suspensión permitiéndoles que se secan. A continuación, los tomates se enjugaron con cualquiera de las siguientes (1) agua pura de la ciudad, (2) una solución de hipoclorito de sódico de blanqueador, o (3) una solución de ácido peroxiacético. La cantidad de bacteria *Salmonella* viable enjuagada de la superficie de los tomates se midió por el forro de las soluciones perspectivas. Reconociendo que no es la cantidad de bacteria en el enjuague lo que plantea una amenaza para el público, sino la cantidad de bacteria aun residente en la superficie del tomate que es critica, las superficies fueron limpiadas de la bacterias para después de cada enjuague determinar la eficacia.

Los tomates fueron expuestos a cada programa de lavado con tiempos diferentes de contacto. El contacto por un-minuto fue utilizado para simular la exposición de los tomates al roció sobre una cinta transportadora, o para simular la cantidad de tiempo que un consumidor toma para lavar sus productos en la cocina. El contacto de cinco-minutos fue empleado para simular la cantidad de tiempo que los tomates serian expuestos en el proceso de un típico hydrocooler.

Materiales y Métodos

a) Un-Minuto Estudio Tiempo de Contacto

Bacteria *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028, MicroBioLogics, St. Cloud, MN) fueron cultivadas en caldo nutriente (Sigma, St. Louis, MS) por incubación durante dos días a 35 °C. La bacteria fue separada de los nutrientes de caldo por centrifugación y re suspendida en 150 ml de agua pura contenida en una botella de aerosol. La determinación de la cantidad de bacteria *Salmonella* en la suspensión se realizo a través

de técnicas comunes en placas, (descrito mas adelante) pero resulto ser Demasiado Numerosas –Para-Contar (TNTC).

Los tomates utilizados en el estudio fueron maduros-de-viña y fueron los únicos disponibles en el supermercado local debido a la falta de ronda de tintos y las variedades Roma. Cada uno alrededor de 7.5 pulgadas de circunferencia con una superficie de aproximadamente 18 pulgadas cuadradas. Treinta y cinco tomates fueron uniformemente separados en papel de aluminio. Sosteniendo la botella de aerosol aproximadamente 6 pulgadas de los tomates, las superficies fueron roscadas por un rocío fino de la suspensión de *Salmonella*. La atención se tomo para garantizar que los tomates fueran cubiertos uniformemente. Los tomates se dejaron secar tras una noche, después de lo cual una segunda y tercera inoculación de *Salmonella* se aplico.

Cuando los tomates se secaron, fueron ordenados al azar en tres grupos de diez. Cada grupo de diez tomates fue colocado en una bolsa de un galón de Ziploc con una de las siguientes soluciones de enjuague:

- (1) 500 ml de agua de la ciudad de Modesto (control)
- (2) 500 ml de agua de la ciudad de Modesto conteniendo 40 ppm (como Cl_2) Hipoclorito Sódico de Blanqueador.
- (3) 500 ml de agua de la ciudad de Modesto conteniendo 40 ppm de Ácido Peroxiacético (PAA) de BioSide HS15%[®].

Los tomates fueron suavemente caídos en la solución de enjuague exactamente un minuto, tras lo cual fueron retirados. La solución fue inmediatamente procesada por un técnico de la microbiología que no tenia conocimiento de su identidad. Cada solución de enjuague fue chapada en 3M *Enterobacteriace* petrifilms a 10^0 y 10^2 de amortiguadores de Butterfield.

Cada conjunto de diez tomates húmedos fueron asignados a otro técnico de microbiología lo cual desconocía la solución de lavado que fue utilizada en el conjunto de los tomates. El técnico se encargo de seleccionar cinco tomates del grupo de diez para limpiar la superficie con cotonetes de 3M. Utilizando guantes en las manos para sostener el tomate, el técnico limpio la mitad de la superficie del tomate aún húmedo con un cotonete Q-tip. Ninguna área de la superficie del tomate tuvo contacto mas de una vez con el cotonete, que fue girado ligeramente al ser limpiada para la distribución uniforme de las bacterias sobre el algodón humedecido. Esto fue seguido por la agitación en el toruno del algodón empapado en 1 ml de caldo nutriente que viene con el cotonete con el fin de desalojar las bacterias de la toruno en la fase acuosa. Otro cotonete se utilizó para limpiar la otra mitad del tomate usando la misma técnica. Por lo tanto dos cotonetes limpios fueron utilizados en cada tomate. El caldo de nutrientes que contiene las bacterias viables limpiadas de los tomates fue posteriormente diluido en serie (10^0 and 10^2) utilizando el tapón Butterfield, y fue chapado en 3M *Enterobacteriace* petrifilms.

b) Estudio de Cinco-Minutos Tiempo de Contacto

La prueba se repitió para simular el tiempo de exposición y temperatura de las soluciones de enjuague utilizadas en el típico procesamiento de tomates hydrocooler. Seleccionando cinco minutos de tiempo de contacto. Este ensayo se realizó en un día, con una nueva cultura de *Salmonella Typhimurim* y con un conjunto de tomates maduros nuevos recién comprados. El único otro cambio que se utilizó fue la temperatura del agua de enjuague que se utilizó en las soluciones a 40° F de refrigeración.

Discusión y Resultados

Calidad Microbiológica de las Aguas de Enjuague

Los resultados de la medición de la viabilidad de las bacterias *Salmonella* se lavan en la fase acuosa que tiene importantes ramificaciones en las operaciones comerciales que lavar y enjuagar el agua reciclada y reutilizada. Cuanto más eficaz sea un producto químico en la fase acuosa del programa de erradicación bacterias, será menos probable que los tomates enjuagados se recontaminen por redes de contaminación de bacterias viables presentes en el agua reciclada.

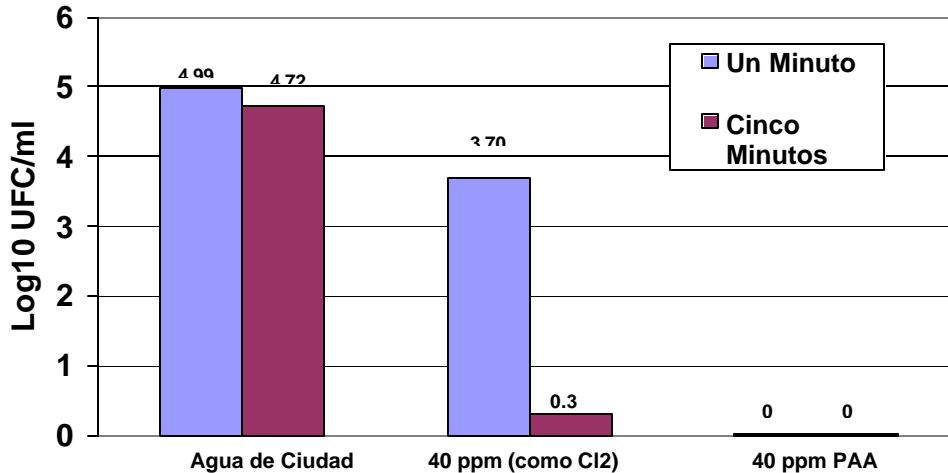
Cuadro I registros de \log_{10} UFC/ml de la bacteria *Salmonella* en 500 ml de agua utilizada para enjuagar los diez tomates cuya superficie fue inoculada con *Salmonella*. Los datos correspondientes a ambos estudios de un-minuto y cinco-minutos son presentados.

Cuadro I: \log_{10} UFC/ml Bacterias de *Salmonella* en las Respectivas Aguas de Enjuague

	\log_{10} UFC/ml (Un Minuto)	\log_{10} UFC/ml (Cinco Minutos)
Agua de Ciudad (control)	4.99	4.72
40 ppm (como Cl_2) NaOCl	3.70	0.3
40 ppm PAA	0	0

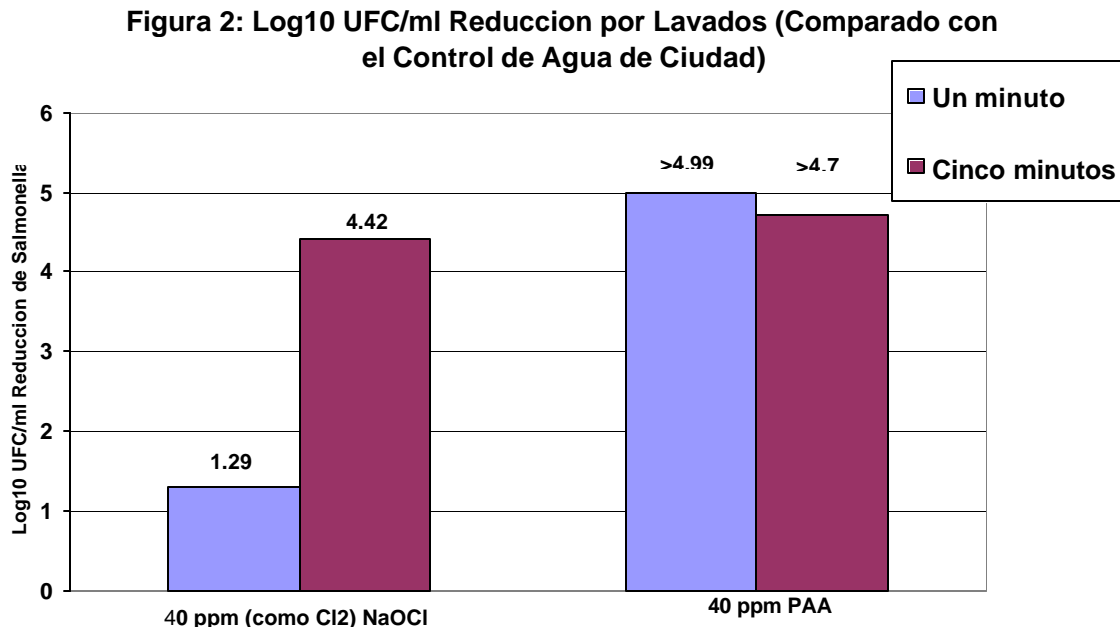
La Figura 1 es una representación gráfica de los datos reportado en el Cuadro I.

Figura 1: Log10 UFC/ml Bacterias Viables de *Salmonella* en la Agua de Enjuague



Se puede observar que tanto en el plano de un minuto y cinco minutos de contacto, el PAA tiene un impacto dramático en la bacteria Salmonella después del lavado en la fase acuosa, como cero sobrevivientes detectados en las colonias. (Nota: La gráfica solo muestra el PAA en la figura 1 es una extrapolación de los efectos de la comparación solamente, ya que el log10 de cero no se puede calcular.) Hipoclorito de Sódico, por otro lado, tiene un impacto relativamente menor sobre la bacteria Salmonella en el de un - minuto de contacto, pero mejora cuando el tiempo de contacto se extiende a cinco minutos.

Figura 2 expresa los datos de la Figura 1 en términos de \log_{10} CFU/ml de reducción para los dos programas de tratamiento químico, *comparado al agua de ciudad sin control de enjuague*.



Como evidencia por el \log_{10} CFU/ml para el control del agua de la ciudad, los datos de la Figura 1 y 2 muestra las cantidades considerables de bacterias viables de *Salmonella* se puede lavar de la superficie de los tomates con un simple enjuague de agua que no contenga productos químicos desinfectantes. Cuando el agua de enjuague contiene NaOCl o PAA, la cantidad de bacterias viables en la fase acuosa es apreciablemente menor. En el tracto de un-minuto, en comparación con el control del agua de la ciudad, el tratamiento NaOCl ha permitido una reducción \log_{10} de 1.29 CFU/ml, que corresponde a una reducción del 94.9% en la fase acuosa de bacteria *Salmonella*, mientras que el tratamiento PAA erradico totalmente la fase acuosa de bacteria. Lo que representa una reducción del 100%. Lo mismo puede decirse del tratamiento PAA de cinco-minutos de enjuague, donde el NaOCl desempeño mucho mayor y tuvo una reducción \log_{10} de 4.42 CFU/ml, que corresponde a un 99.996% de reducción de *Salmonella* en la fase acuosa.

Calidad Microbiológica de los Tomates Enjuagados

Es evidente que no es la cantidad de bacteria en la solución de enjuague lo que amenaza al público; sino la cantidad de bacteria aun presente en la superficie del tomate después de los respectivos enjuagues lo que presenta un problema a la salud pública. Por lo tanto, después de los respectivos enjuagues, las superficies de los tomates fueron limpiadas

utilizando con el fin de determinar la eficacia relativa de cada lavado/programa de desinfección.

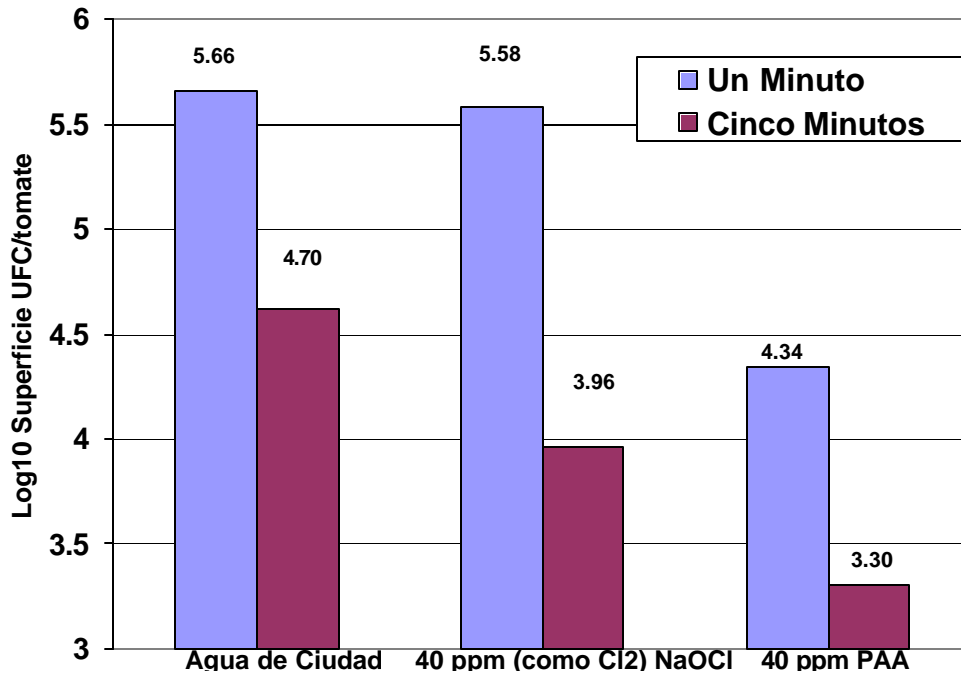
Cuadro II demuestra el \log_{10} CFU/de la bacteria *Salmonella* que permanece en la superficie del tomate después del tratamiento respectivo de enjuague a un-minuto y cinco-minutos. Los números en paréntesis representan la desviación estándar de un conjunto de datos que consisten de cinco cotonetes seleccionados al azar que fueron utilizados para limpiar los tomates ya enjuagados.

Cuadro II: \log_{10} CFU/bacteria de *Salmonella* aun presente en la superficie posterior a los Respectivos Enjuagues

	Mean \log_{10} CFU/tomate (Un minuto) (\pm desviación estándar)	Mean \log_{10} CFU/tomate (Cinco minutos) (\pm desviación estándar)
Agua de Ciudad (control)	5.66 (± 0.11)	4.70 (± 0.25)
40 ppm (como Cl_2) NaOCl	5.58 (± 0.17)	3.96 (± 0.74)
40 ppm PAA	4.34 (± 1.27)	3.30 (± 1.39)

Figura 3 en una representación grafica de los datos enseñados en el Cuadro III en términos de reducción de *Salmonella* del \log_{10} UFC/tomate.

Figura 3: Log10 Superficie de *Salmonella* restante UFC/tomate despues de cada lavado



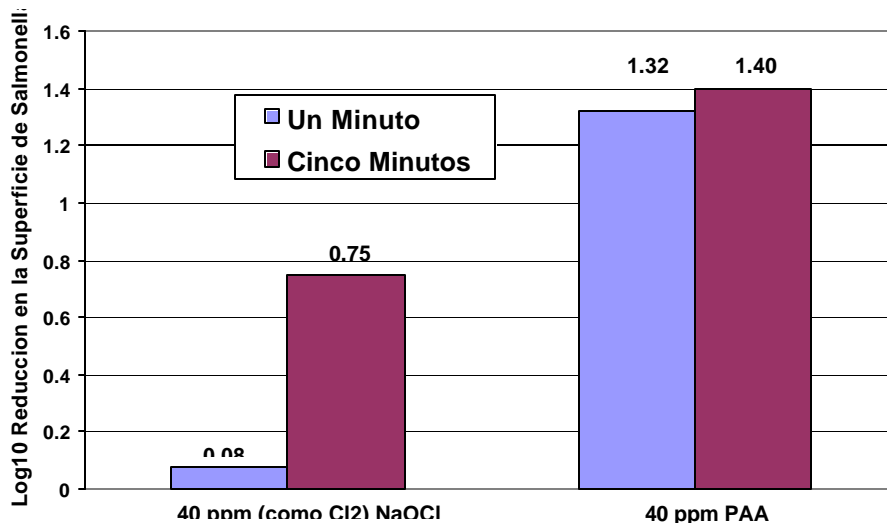
Cuadro III reporta los datos del Cuadro II y la Figura II en términos de \log_{10} muestra ;a reducción en la superficie asociado a la bacteria *Salmonella* bacteria en comparación con la cantidad eliminada por el enjuague de control de la agua de ciudad. Las cifras en paréntesis expresan los resultados en términos de porcentaje la reducción asociada de bacterias en la superficie por encima de lo que se logró con sólo el enjuague de control del agua de ciudad.

Cuadro III: Log₁₀ y % en la Reducción de Bacterias *Salmonella* para NaOCl ya las Soluciones PAA comparadas con el Enjuague de Agua de Ciudad

	Un Minuto	Cinco Minutos
	El Medio de Reducción Log ₁₀ CFU/tomate (% Reducción vs. Enjuague de agua de Ciudad)	El Medio de Reducción Log ₁₀ CFU/tomate (% de Reducción vs. Enjuague de agua de ciudad)
40 ppm (como Cl ₂) NaOCl	0.08 (16.8%)	0.75 (81.8%)
40 ppm PAA	1.27 (94.6%)	1.40 (95.9%)

Figura 4 representa los datos del Cuadro III en términos de medida log₁₀ de la reducción de *Salmonella* CFU/tomate.

Figure 4: Log₁₀ Reducción de *Salmonella* en la superficie Comparado con el Lavado de Control de Agua de Ciudad UFC/tomate



Se puede observar que al enjuagar los tomates con la solución 40ppm NaOCl por un minuto ofrece sólo un 0.08 adicional 1 log₁₀UFC/tomate de reducción en la superficie asociada a *Salmonella* en comparación con el lavado en agua los tomates solamente. Cuando se muestra en términos de la reducción % , en comparación con el agua de lavado por si solo, esto equivale a solo el 16.8%. Las solución de 40ppm NaOCl funciona mejor cuando el tiempo de contacto se extiende a 5 minutos, alcanzando un log₁₀ 0.75 CFU/tomate de reducción en la superficie asociada al *Salmonella* en

comparación al enjuague con agua de ciudad. Esto corresponde a un 81.8% mayor en comparación con la reducción de los tomates de lavado en agua solamente.

Por contraste los resultados de la solución de enjuague 40ppm PAA. En el contacto de un-minuto, el PAA rinde un 1.32 adicional \log_{10} UFC/tomate de reducción en la superficie asociada al *Salmonella*, en comparación con los tomates de lavado de agua solamente. Cuando se representan en términos de porcentaje de reducción, en comparación con el lavado de agua por si sola, ascienden a 94.6%. El desempeño de la solución de enjuague PAA 40ppm es esencialmente el mismo en el contacto de cinco-minutos como lo fue en el de un-minuto.

La diferencia del rendimiento entre la solución de Blanqueador NaOCl y el PAA tiene implicaciones importantes tanto en la cocina y en el procesamiento de los entornos comerciales. Por cierto, el enjuague PAA supera el Blanqueador NaOCl en contactos cortos de tiempo. Estos escenarios de corto tiempo, sin duda pueden representar los resultados para que el consumidor enjuague sus productos en la cocina, o el corto tiempo de contacto que típicamente sumergen los tomates en el agua o rociado sobre una transportadora comercial durante el procesamiento.

En un contacto más largo como cinco-minutos, los resultados se convergen en el PAA y Blanqueador NaOCl, con el PAA la erradicación del 95.9% más de la superficie asociada al *Salmonella*, y NaOCl elimina 81.8% más de la superficie asociada al *Salmonella* en comparación con el enjuague del agua de ciudad. En una cocina o ambiente comercial, es menos probable que el consumidor tenga paciencia o el tiempo para enjuagar los productos durante cinco minutos. Por lo tanto, las concentraciones de Blanqueador NaOCl tendrían que ser más fuertes, posiblemente hasta 200ppm como Cl_2 se tendrían que exigir para igualar la eficacia del BioSide HS 15% (PAA) en relación para mejorar la preocupación a la salud pública sobre la contaminación de *Salmonella*.

¿Cuánta Superficie-Asociada al *Salmonella* es eliminada con el simple lavado de Agua de la Ciudad?

Hasta ahora el debate se ha centrado en las mejoras del desempeño del NaOCl y las soluciones PAA en comparación al el enjuague de agua de la ciudad por si solo. Pero la pregunta sigue siendo:

¿Que tan bien elimina la superficie asociada al *Salmonella typhimurium* un simple enjuague de agua de ciudad?

Este número puede calcularse a partir de los datos ya presentados *viz.*

De la Tabla I, se puede observar que lavar diez tomates con 500ml de agua de ciudad por un minuto se obtiene un plato de conteo \log_{10} 4.99 UFC/ml en la fase acuosa. Entonces $10^{4.99}$ es 9.77×10^4 , multiplicando este número por 500 es igual a 4.88×10^7 Total UFC por diez tomates. Divida este numero por 10 para obtener 4.88×10^6 UFC de la bacteria *Salmonella* que fue enjuagada de cada tomate en la fase acuosa. Del Cuadro II, en el

intervalo de un-minuto, al limpiar el enjuagué de la superficie del tomate revelo tener un \log_{10} 5.66 UFC/tomate aun reside en la superficie después del enjuague. Entonces $10^{5.66}$ es 4.57×10^5 , añadiendo este numero a 4.88×10^6 (la cantidad de *Salmonella* lavada del de cada tomate) dando un rendimiento 5.34×10^6 total de la bacteria *Salmonella* por tomate. Utilizando la formula siguiente:

$$\begin{aligned} \text{\% por eliminación del lavado de agua} &= \frac{\text{Numero de } Salmonella \text{ eliminada por cada tomate por}}{\text{Total de Salmonella por Tomate}} \times 100 \\ &= \frac{4.88 \times 10^6}{5.34 \times 10^6} \times 100 \\ &= 91.4\% \end{aligned}$$

A primera apariencia, el agua por sí sola parece ser una forma eficaz de eliminar la superficie asociadas a las bacterias *Salmonella* del tomate, ya que el 91.4% se puede lavar en la fase acuosa de un-minuto de enjuague. Combinado con los datos de la Tabla II, lo cual informa que la media \log_{10} UFC de bacterias residente en la superficie del tomate después de los respectivos lavados, es posible calcular la eficiencia relativamente de la eliminación/erradicación de bacterias *Salmonella* de cada programa de enjuague de un minuto. Cuadro IV resume los resultados.

Cuadro IV: Eliminación/Erradicación Relativa de *Salmonella* eficacia respectiva a los enjuagues de Un Minuto

	Agua de Ciudad	40 ppm (como Cl_2) NaOCl	40 ppm PAA
% Eliminación/Erradicación de la superficie del tomate	91.4	92.9	99.6

Conclusiones

- Por los dos tiempos de contacto un-minuto y cinco-minutos, una so solución lución de 40 ppm de PAA es en gran medida más eficaz que la solución de 40 ppm NaOCl en remover y erradicar las bacterias *Salmonella* de la superficie de los tomates contaminados.
- A un-minuto de enjuague los tomates contaminados en agua de ciudad de agua sin contener ningún químico desinfectante no desaloja mas de 91.4% de bacteria de la superficie en la fase acuosa. El enjuague con un blanqueador de hipoclorito de sódico (40 ppm as Cl_2) en el mismo tiempo de contacto proporciona una mayor reducción del 16.8% en comparación al enjuague con agua de ciudad. En el enjuague de un-minuto en ácido peroxiacético (40 ppm como PAA) los efectos del 94.6% mayor en la reducción de la bacterias en comparación al enjuague en

agua de ciudad. Expresando estos resultados sobre una base absoluta, la eficacia relativa de por ciento en la erradicación y eliminación de las superficies asociadas a las bacterias *Salmonella* de los tomates son: agua de ciudad 91.4%; 40 ppm NaOCl (como Cl₂) blanqueador (92.9%); y 40 ppm PAA (99.6%).

- En un tiempo más largo de contacto como cinco minutos, los resultados del PAA y Blanqueador NaOCl convergen, con el PAA erradicando el 95.9% mas de la superficie asociada con *Salmonella*, y el NaOCl elimina el 81.8% mas de la superficie asociada con *Salmonella* que el enjuague con agua de ciudad por si sola. En el ambiente en una cocina, es menos probable que el consumidor tenga la paciencia para enjuagar sus productos durante cinco minutos, por lo tanto, las concentraciones de Blanqueador NaOCl tendrían que ser mas fuertes, posiblemente hasta 200ppm como Cl₂ se tendrían que exigir para igualar la eficacia del BioSide HS 15% (PAA).
- Los resultados fuertemente muestran la necesidad del PAA a ser utilizado por un consumidor o producto comercial para fines de seguridad alimentaria. A 40-80 ppm de la solución de enjuague PAA puede ser vendido en aerosol Listo-para-Usarse y ser aplicado a los productos antes de ser consumidos. En enjuague adicional no sería necesario porque en esta concentración tan baja, el PAA esta por debajo de ser detectado por olor o sabor. Además, no hay peligro por los productos que contiene o por toxicología referido a de dieta (en contraste al blanqueador de hipoclorito de sodio).
- Los resultados de las medidas de la viabilidad de las bacterias *Salmonella* lavadas en la fase acuosa tiene importantes ramificaciones en las operaciones de procedimiento donde el agua es lavable y enjuagable es reciclada y reutilizada. Entre mas eficiente sea el programa químico utilizado en la erradicación de la bacteria en la fase acuosa, menos probable será que los tomates enjuagados se recontaminen por rede posición de bacterias viables presentes en el agua reciclada. En el intervalo de un minuto, comparado al control de agua de ciudad, el tratamiento NaOCl logra un log₁₀ de reducción de 1.29 CFU/ml que corresponde a un 94.9% de reducción en la fase acuosa de la bacteria *Salmonella*, mientras que el tratamiento PAA erradicó totalmente la bacteria en la fase acuosa al 100% de reducción en mismo periodo de tiempo. La misma conclusión es valida para el tratamiento PAA de cinco minutos. NaOCl desempeño mucho mejor para el log₁₀ una reducción de 4.42 UFC/ml correspondiendo al 99.996% de reducción de *Salmonella* en la fase acuosa en los 5 minutos de exposición, lo cual es un marco de tiempo irrealista para los productos que puedan estar expuestos a un proceso antimicrobianos para el típico comercial o el consumidor basados en métodos de preparación.

7th de Julio 2008