

Artículo científico**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHUGA (*LACTUCA SATIVA* L.) PROCESADA POR LA TÉCNICA DE IV GAMA.**

Yoania Ríos Rocafull¹, Marisel Ortega García¹, Luis Sáez Tonacca², Janet Rodríguez Sánchez¹, Yarelis Ortiz Núñez¹ y Yanisbell Sánchez Rodríguez¹.

RESUMEN

Las hortalizas de IV gama constituyen un alimento de calidad, fresco y listo para el consumo. En Cuba esta técnica, aunque puede tener una alta demanda en la producción local de alimentos, no se encuentra muy explotada. Uno de los aspectos más importantes para su correcta implementación es mantener la calidad microbiológica. En el presente estudio se procesaron plantas de lechuga procedentes de un mercado agropecuario y se mantuvieron durante siete días entre 4-6 °C de temperatura. Se evaluó, con el Método de Diluciones Seriadas, la concentración de bacterias mesófilas aerobias, coliformes fecales y *Salmonella* después del procesamiento y a los tres, cinco y siete días de conservación y se clasificaron los aislados con mayor abundancia por su respuesta a la tinción de Gram. Además, se caracterizó la apariencia de la hortaliza procesada. A los tres días de conservación todos los tratamientos garantizaron una concentración microbiana inferior a 10⁶ UFC g.tejido⁻¹, sin presencia de coliformes fecales y *Salmonella*. A los cinco días solamente aquellos donde se combinó en el lavado y desinfección agua y Alcamax e hipoclorito de sodio y ácido acético mantuvieron esta característica, aunque en el último caso se afectó la apariencia de la hortaliza. En los microorganismos purificados (17 aislados) predominaron los bacilos Gram positivos. Los resultados demostraron la posibilidad de disminuir la carga microbiana en la obtención de lechuga de IV gama con el empleo de sustancias químicas y con ello, la posibilidad de implementar esta técnica de procesamiento en Cuba.

Palabras clave: calidad microbiológica, hortalizas, procesamiento mínimo

Evaluation of microbiological quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) processed by IV Gama technique.

ABSTRACT

IV gama vegetables are a food of quality, fresh and ready to eat. In Cuba, this technique, that can have a big acceptance in the local production of food, it is not much exploited. One of the most important aspects for their correct implementation is to maintain the microbiological quality. In the present study were processed lettuce plants of the markets and they were maintained during seven days between 4-6 °C of temperature. It was evaluated by Serial Dilution Methods the concentration of aerobic mesophyll bacteria,

¹DraC. Yoania Ríos Rocafull. ORCID iD: 0000-0003-1774-0868. Investigador auxiliar y jefe del Departamento de Recursos Microbianos y Productos Bioactivos del Instituto de Investigaciones en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). MINAG. Calle 188 no. 38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas, Boyeros. La Habana, Cuba. E-mail: dpagrobiotec@inifat.co.cu, ²Departamento de Gestión Agraria, Facultad Tecnológica de la Universidad de Santiago de Chile. Av. Ecuador 3769, Santiago, Chile. Email: luis.saez@usach.cl.

fecal coliforms and *Salmonella* after the process and also to three, five and seven days and the isolated with more abundance were classified by their response to Gram stain. Also, the appearance of the processed vegetable was characterized. To the three days of conservation all the treatments guaranteed an inferior microbial concentration to the 10^6 UFC g tissue⁻¹, without presence of fecal coliforms neither *Salmonella*. To the five days only it with the combination in the washed and disinfection of common water and Alcamax and sodium hypochlorite and acetic acid maintained this characteristic, although in the last case the appearance of the vegetable was affected. In the purified microorganisms (17 isolated) prevailed the bacillus Gram positive. These results demonstrated the possibility to diminish the microbial charge to obtain the lettuce of IV gama with the employment of chemical substances and with it the possibility to implement this technique in Cuba.

Key words: microbial quality, vegetables, minimum process

INTRODUCCIÓN

Como consecuencia del ritmo de vida y los hábitos de alimentación de la población en los últimos años ha aumentado a nivel internacional la demanda de productos frescos y saludables (Matiacevich *et al.*, 2016), donde se insertan los denominados de IV gama. Los productos de cuarta gama (IV gama) o mínimamente procesados (MPF), incluyen a frutas y hortalizas frescas con un mínimo proceso previo al envasado, ya sea lavado, pelado y/o troceado y desinfección del material. Este alimento se mantiene listo para el consumo en condiciones de refrigeración (Sánchez *et al.*, 2018), con una vida útil mayor que los productos frescos sin procesar (Matiacevich *et al.*, 2016).

Entre las ventajas que proporcionan las hortalizas de IV gama, destacan la rapidez y ahorro de tiempo en la preparación de ensaladas, la uniformidad en la calidad del alimento, la posibilidad de ofrecer productos frescos y saludables durante todo el año y la facilidad de almacenamiento, debido al formato de presentación en porciones (Sáez *et al.*, 2019). Como principal desventaja se encuentra un mayor riesgo microbiológico, al no contar con un sistema de esterilización-pasteurización (Matiacevich *et al.*, 2016); además de que la misma manipulación incrementa la posibilidad de

contaminación con microorganismos, incluyendo especies patógenas para el hombre (Diezma, 2016).

Para minimizar el riesgo de consumo de alimentos de IV gama se utilizan diferentes herramientas que mejoran su calidad microbiológica. Dentro de ellas se incluyen compuestos químicos como el hipoclorito de sodio y de calcio, el ozono, el agua electrolizada, las radiaciones ionizantes, así como agentes antimicrobianos, bacterocinas y ácidos orgánicos. Sin embargo, estos métodos químicos a pesar de ser atractivos por su bajo costo, en algunos casos son corrosivos y generan sustancias tóxicas (Aguayo *et al.*, 2017). Es por ello que se han validado también otras alternativas como los envases activos, envases con nano-compuestos, la luz pulsada, altas presiones hidrostáticas, el plasma frío (Sánchez *et al.*, 2018) y las películas o recubrimientos comestibles. Estas últimas además de biodegradables, se pueden combinar con sustancias antimicrobianas elevando así su efectividad (Matiacevich *et al.*, 2016).

En Cuba los vegetales IV gama podrían ser de interés particularmente en la producción local de alimentos, para poner a disposición de la población productos de calidad y de fácil manipulación para el consumo directo, ya que

puede ser aplicada tanto en unidades cercanas al campo y centros de acopio como en pequeñas instalaciones de producción, debido a que es una técnica relativamente sencilla (García *et al.*, 2008). Sin embargo, para lograr que tenga una buena aceptación se debe garantizar la calidad microbiológica del alimento, basada en la presencia de una baja concentración de bacterias mesófilas aerobias y la ausencia de patógenos.

Esta opción se encuentra muy poco explotada actualmente, lo que justifica que se realicen investigaciones donde se demuestre la posibilidad de utilizar esta técnica en las condiciones del país. En concordancia con ello, se realizó el presente estudio, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes compuestos químicos en la calidad microbiológica de lechuga mínimamente procesada.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT). Se utilizaron plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) procedentes del mercado agropecuario de

Santiago de las Vegas, municipio Boyeros, provincia de La Habana, Cuba. Una vez en el laboratorio, se retiraron las partículas de tierra adheridas a la planta mediante un lavado con agua común y se separaron las hojas. Seguidamente se realizó el lavado con las sustancias descritas en la Tabla 1, se cortaron con un cuchillo las hojas de lechuga, se desinfectó el vegetal con diferentes compuestos en dependencia del tratamiento y se estiló, para después empacar 5 g de hojas de lechuga procesada y conservar estas entre 4-6 °C de temperatura (Figura 1). El producto Alcamax que se utilizó como parte de los tratamientos de desinfección se obtuvo a partir de la electrolisis de K_2CO_3 (se compone de KOH).

Las evaluaciones de la carga microbiana se realizaron antes del procesamiento, posterior a este y a los tres, cinco y siete días de almacenamiento. Se utilizaron para cada muestreo cinco bolsas por tratamiento. Se determinó la concentración de bacterias mesófilas aerobias, coliformes fecales y *Salmonella* por el Método de Diluciones Seriadas y posterior siembra en placas *Petri* (Madigan *et al.*, 2018).

Tabla 1. Tratamientos utilizados para el procesamiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) como hortaliza IV gama.

Tratamiento	Lavado	Desinfección
V1	Agua común	Sin desinfección
V2		Ácido acético 5%
V3		Hipoclorito de sodio 10 %
V4		Alcamax
V5	Hipoclorito de sodio 10 %	Ácido acético 5 %
V6		Sin desinfección
V7		Alcamax

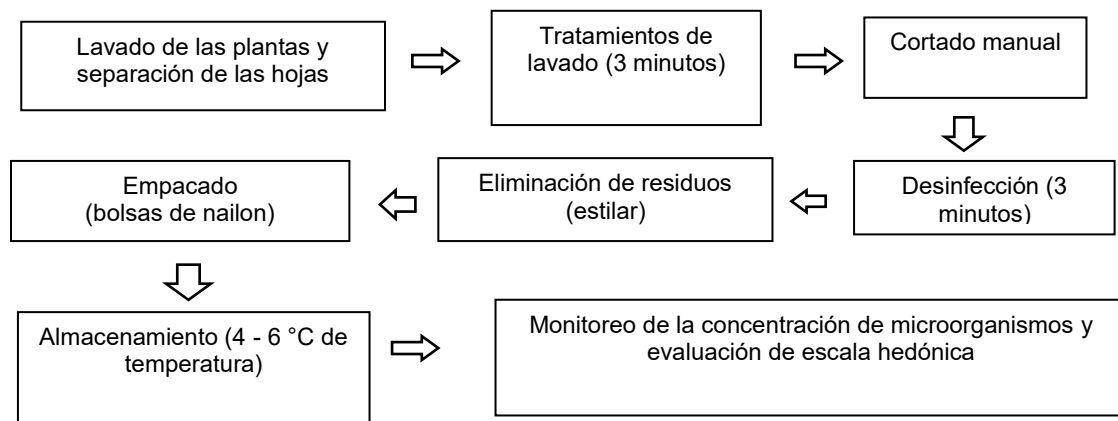


Figura 1. Protocolo experimental general utilizado en el estudio para la obtención de lechuga (*Lactuca sativa L.*) de IV gama.

En el caso de las bacterias aerobias la cuantificación se realizó en el medio de cultivo Agar Nutriente (BIOCEN, 2018), mientras que para los microorganismos patógenos se utilizó el medio de cultivo Agar Citrato de Simmons (BIOCEN, 2018). Los microorganismos cuya morfología de las colonias presentó una mayor frecuencia de aparición en cada tratamiento, se purificaron y se clasificaron en cuanto a su

respuesta a la Tinción de Gram (Madigan *et al.*, 2018).

Por último, se evaluó la apariencia de la lechuga a los tres y siete días de conservación, a partir de la observación del color, olor y la turgencia. Se aplicó la escala hedónica que se muestra en la Tabla 2, tomando como referencia las características del cultivo recién cosechado.

Tabla 2. Escala hedónica utilizada en la evaluación de la apariencia de la lechuga procesada.

Valor	Descripción
1	Muy desagradable
2	Desagradable
3	Ni agradable ni desagradable
4	Agradable
5	Muy agradable

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que después de realizar el primer lavado a las plantas de lechuga, para eliminar los restos de tierra adheridos a esta, la concentración de bacterias mesófilas aerobias fue de 10^6 UFC g de tejido fresco⁻¹. Sin embargo, inmediatamente después

de realizar el lavado, desinfección y empaque de la lechuga con los compuestos involucrados en cada tratamiento, se alcanzaron diferentes resultados para la concentración bacteriana en dependencia de la combinación utilizada. En los tratamientos V1, V3 y V4 (Agua + sin desinfección, Agua + Hipoclorito de sodio 10 % y

Agua + Alcamax, respectivamente) la concentración de bacterias se mantuvo en el orden de las 10^6 UFC g de tejido fresco⁻¹, en tanto en los tratamientos V2, V6 y V7 (Agua + Ácido acético 5 %, Hipoclorito de sodio 10 % + Agua e Hipoclorito de sodio 10 % + Alcamax,

respectivamente) descendió un orden, mientras que con la mezcla de Hipoclorito de sodio al 10 % + Ácido acético al 5 % (V5) el valor de la concentración disminuyó tres órdenes con respecto a las hojas de lechuga sin procesar (Figura 2).

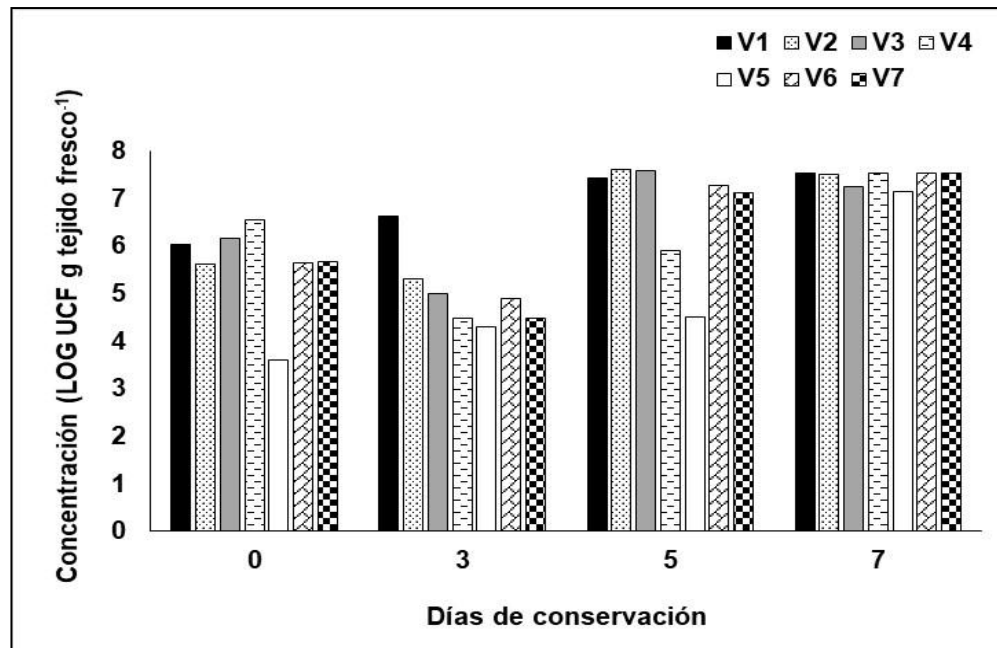


Figura 2. Concentración de microorganismos mesófilos aerobios en muestras de lechuga (*Lactuca sativa* L.). IV gama con diferentes tratamientos de lavado y desinfección.

(V1: Agua común, V2: Agua común + Ácido acético 5 %, V3: Agua común + Hipoclorito de sodio 10 %, V4: Agua común + Alcamax, V5: Hipoclorito de sodio 10 % + Ácido acético 5 %, V6: Hipoclorito de sodio 10 % + Agua común, V7: Hipoclorito de sodio 10 % + Alcamax).

Después de tres días de conservada la lechuga procesada entre 4-6 °C de temperatura, a excepción del lavado con agua común sin adición de desinfectantes (V1), el resto de las combinaciones utilizadas mantuvo la concentración de bacterias mesófilas aerobias inferior a las 10^6 UFC g de tejido fresco⁻¹, aunque se deben destacar los tratamientos V4 (Agua común + Alcamax), V5 (Hipoclorito de sodio 10 % + Ácido acético 5 %), V6 (Hipoclorito de sodio 10 % + Agua común) y V7 (Hipoclorito de sodio 10 % + Alcamax) donde se mantuvo dos órdenes por debajo, es decir, con un valor

de 10^4 UFC g de tejido fresco⁻¹. Al finalizar el periodo de almacenamiento los valores de concentración llegaron a las 10^7 UFC g de tejido fresco⁻¹ para todas las variantes de lavado + desinfección. No obstante, resaltaron los resultados de los tratamientos V4 (Agua común + Alcamax) y V5 (Hipoclorito de sodio 10 % + Ácido acético 5 %), únicos que a los cinco días de almacenamiento mantuvieron la concentración de bacterias mesófilas aerobias inferior a las 10^6 UFC g de material vegetal⁻¹. Estas dos alternativas podrían ser de interés para otras investigaciones que permitan modelar

una tecnología para la obtención de lechuga de IV gama en el país.

Durante todo el estudio no se observó la presencia de coliformes fecales ni *Salmonella*, ni siquiera después del lavado inicial para eliminar las partículas de tierra adheridas al vegetal. Ello indica que se realizó un manejo adecuado del cultivo en las condiciones de producción y que se utilizó una materia orgánica que cumple las normas de elaboración establecidas que garantizó la no contaminación de la hortaliza con organismos patógenos durante su ciclo de cultivo. También evidencia que el agua de riego y de manipulación del vegetal durante el procesamiento para el empaque presentaba buena calidad microbiológica.

Ramos *et al.* (2013) utilizaron como indicador de calidad sanitaria la presencia en los alimentos de una concentración de bacterias mesófilas aerobias inferior a 10^6 UFC g de tejido fresco⁻¹. Si se considera este mismo criterio todos los tratamientos de lavado/desinfección, a excepción de V1 (solamente agua común), garantizaron una adecuada calidad microbiológica para la lechuga mínimamente procesada tres días después de almacenamiento, aunque a los siete días de conservación ninguno aseguró el cumplimiento de este requisito microbiológico. A partir de estos resultados se recomienda no almacenar la hortaliza por más de cinco días, periodo de tiempo suficiente para la obtención de hortalizas mediante esta tecnología (Sánchez *et al.*, 2018). En otros estudios donde la lechuga fue tratada con ácidos orgánicos la concentración de hongos y levaduras fue del orden de 10^8 UFC g de tejido⁻¹ y la de bacterias aerobias de 10^7 UFC g de tejido⁻¹ (Rodríguez *et al.*, 2018). En la investigación que aquí se presenta, la incorporación del ácido acético al 5 % permitió obtener mejores resultados, ya que no se contabilizaron hongos y levaduras y la

concentración de bacterias alcanzó las 10^7 UFC g de tejido⁻¹ después de siete días de almacenamiento. Las diferencias entre ambos estudios puede asociarse a diferencias en los cultivares, la cosecha, la temperatura de procesamiento, el tipo de embalaje, el pH del agua de enjuague, la carga microbiana inicial, entre otros aspectos (del Carmen *et al.*, 2015).

En las investigaciones de Benicardino *et al.* (2018) la concentración de bacterias mesófilas aerobias en lechuga de IV gama aumentó con almacenamiento 10^2 veces desde inicio y hasta siete días de la conservación. Con el protocolo que se utilizó en el presente estudio, aunque también se incrementó la concentración bacteriana con respecto al muestreo que se realizó a los tres días, si se compara el valor del indicador al inicio y al finalizar el experimento, la diferencia es solamente de un orden, resultado alentador teniendo en cuenta las condiciones de humedad de Cuba que favorecen el deterioro de los vegetales aun en condiciones de refrigeración.

En cuanto al tipo de bacterias presentes en la lechuga después de ser procesada, se constató que las colonias pertenecían tanto a bacterias Gram positivas como Gram negativas, aunque se destacaron las primeras por el número de aislados purificados. El predominio de las bacterias Gram positivas (82,3 % del total de microorganismos) sobre las Gram negativas (17,6 %) puede asociarse a que las primeras presentan estructuras de resistencia como las esporas (Madigan *et al.*, 2018) que les permiten sobrevivir en condiciones ambientales adversas, por lo que sus células se mantienen viables después de los tratamientos de lavado y desinfección. Ello explica también el incremento en la carga microbiana durante la conservación independientemente del tratamiento utilizado, ya que las esporas pueden originar nuevamente una célula vegetativa que se multiplica

umentando el número de UFC en el tiempo. El tratamiento V3 (Agua + Hipoclorito de sodio al 10 %) presentó el doble de los morfotipos bacterianos con respecto a las otras variantes (Tabla 3), por lo que desde el punto de vista

microbiológico no se recomienda su empleo en la obtención de esta hortaliza de IV gama en condiciones similares a las utilizadas en el estudio.

Tabla 3. Número de colonias correspondientes a microorganismos Gram positivos y Gram negativos por cada tratamiento.

Tratamiento	Composición (lavado+desinfección)	Cantidad de colonias purificadas	Tinción de Gram	
			Gram positivos	Gram negativos
	Sin tratamiento	3	2	1
V1	Agua común+sin desinfección	2	1	1
V2	Agua común+Ácido acético 5%	1	1	-
V3	Agua+Hipoclorito de sodio 10%	4	4	-
V4	Agua+Alcamax	2	2	-
V5	Hipoclorito de sodio 10%+Ácido acético 5%	2	1	1
V6	Hipoclorito de sodio 10%+Agua común	2	2	-
V7	Hipoclorito de sodio 10%+Alcamax	1	1	-
	TOTAL	17	14	3

Para medir la acción del método de desinfección en la obtención de hortalizas de IV gama uno de los indicadores utilizados es la reducción de la carga microbiana. En el caso de las frutas y hortalizas se describe el uso de tratamientos físicos como calor y radiaciones o como en el presente estudio, de desinfectantes superficiales donde sobresalen compuestos como el hipoclorito de sodio, el que ha sido ampliamente utilizado como agente desinfectante debido principalmente a su eficacia y razones económicas. Sin embargo, también se ha demostrado que no siempre garantiza la eliminación de los microorganismos (Aguayo *et al.*, 2017). Esta pudo ser la razón por la cual en los tratamientos V3, V6 y V7, donde se utilizó este compuesto en la etapa de lavado o en la desinfección, no se alcanzaron los mismos resultados que con el tratamiento V5 (Hipoclorito

de sodio 10 % + Ácido acético 5 %), el que se destacó por mantener la carga microbiana en el orden de las 10^3 UFC g tejido fresco⁻¹ a los cinco días de conservación. Sin embargo, este último tratamiento es más caro que los restantes.

Estudios realizados particularmente con lechuga, demostraron que tanto el agua desionizada como el ácido peroxiacético reducen la concentración de microorganismos (Aguayo *et al.*, 2017), aspecto que coincide con los resultados alcanzados y que ratifica la efectividad de estos compuestos para obtener lechuga IV gama en Cuba. También se ha demostrado en otras investigaciones que las soluciones de cloro en concentraciones de entre 50- 200 ppm disminuyen en dos órdenes la concentración de los microorganismos, mientras que soluciones de ácido acético al 5 % permiten obtener tres órdenes menos de concentración de

bacterias mesófilas y de patógenos como *Escherichia coli* (Garmendia y Vero, 2006). En el caso del presente estudio, además de disminuir en un orden la concentración al utilizar estas sustancias como parte de los tratamientos de lavado y desinfección (tratamientos V2 y V3), se demostró que al combinar el hipoclorito de sodio y el ácido acético se obtienen mejores resultados (V5), ya que se reduce la concentración bacteriana en tres órdenes.

Aunque se logró que las muestras de lechuga procesadas presentaran a los tres días una carga microbiana adecuada para su consumo, se comprobó que el procesamiento modificó la apariencia del vegetal incluso después de dos días de conservación en condiciones de refrigeración, según los resultados de la evaluación sensorial realizada (Tabla 4).

Tabla 4. Evaluación de la apariencia de las muestras de lechuga (*Lactuca sativa L.*) procesadas como hortaliza de IV gama después de refrigeradas (4-6 °C de temperatura).

TRATAMIENTO		3 días				7 días			
		Color	Olor	Turgencia	Apariencia	Color	Olor	Turgencia	Apariencia
V1	Agua+sin desinfección	4	4	4	4,0	3	2	2	2,3
V2	Agua+ácido acético	2	2	2	2,0	2	2	2	2,0
V3	Agua+hipoclorito de sodio	4	4	4	4,0	4	4	4	4,0
V4	Agua +Alcamax	5	4	4	4,3	4	4	4	4,0
V5	Hipoclorito de sodio+ácido acético	2	2	2	2,0	2	2	2	2,0
V6	Hipoclorito de sodio	4	4	2	3,3	4	2	2	2,7
V7	Hipoclorito de sodio+Alcamax	4	4	2	3,3	4	2	1	2,3
PROMEDIO		3,6	3,4	2,9		3,3	2,6	2,4	

Dentro de los indicadores que se evaluaron el que más se afectó a los tres días de conservación fue la turgencia y las variantes de procesamiento que provocaron el mayor daño fueron V2 (Agua + Ácido acético 5 %) y V5 (Hipoclorito de sodio + Ácido acético 5 %), mientras que los mejores resultados se alcanzaron con los tratamientos V1 (Agua + sin desinfección), V3 (Agua + Hipoclorito de sodio 10 %) y V4 (Agua + Alcamax). A los siete días de refrigeradas las muestras se modificó la apariencia de la hortaliza en la mayoría de los

tratamientos y se afectó no solo la turgencia, sino también el olor. Se destacaron por sus resultados positivos solamente las variantes V3 (Agua + Hipoclorito de sodio 10 %) y V4 (Agua + Alcamax).

Según Matiacevich *et al.* (2016) aunque los productos IV gama pueden tener una vida útil de hasta 21 días no están exentos de deteriorarse, no solo por la acción de los microorganismos, sino también por la producción de etileno, respiración, formación de compuestos volátiles y no volátiles, acción de enzimas, pérdida de

nutrientes, entre otras causas. Este deterioro provoca alteraciones en el color, mayor flacidez, pérdida del valor nutritivo del alimento y pardeamientos oxidativos (Diezma, 2016), aspectos que se evidenciaron en las muestras de lechuga mínimamente procesada durante su almacenamiento en la investigación que aquí se discute. También se enfatiza en que la higiene no puede comprometer la calidad organoléptica del producto (Diezma, 2016), por lo que no basta con disminuir la carga microbiana, sino que los tratamientos utilizados no pueden alterar las propiedades químicas y físicas del vegetal (Sánchez *et al.*, 2018) para ser considerados como factibles para usar como parte de un protocolo de obtención de hortalizas de IV gama. Por lo tanto, aunque el tratamiento V5 (Hipoclorito de sodio 10 % + Ácido acético 5 %) se destacó por sus resultados microbiológicos, no sería recomendable para continuar con otras investigaciones debido a la afectación que provocó en la apariencia del alimento. Tampoco sería factible utilizar el tratamiento V3 (Agua + Hipoclorito de sodio 10 %) ya que, aunque tiene buena apariencia la hortaliza y se disminuye en un orden la concentración bacteriana a los tres días de almacenamiento, fue el que mostró la mayor diversidad de microorganismos en la Tinción de Gram, por lo que desde el punto de vista microbiológico es el menos seguro. Sería más conveniente el uso del tratamiento V4 (Agua + Alcamax), ya que mantuvo las características de color, olor u turgencia de la hortaliza estable durante su conservación en condiciones de refrigeración y controló la población microbiana asociada a las hojas de lechuga procesadas manteniéndola por debajo de las 10^6 UFC tejido fresco⁻¹ hasta los cinco días de almacenamiento. Aunque la investigación demostró las potencialidades del agua electrolizada (producto Alcamax) para la obtención de lechuga de IV

gama bajo las condiciones de Cuba, sería conveniente realizar otros estudios donde compuestos de fácil acceso y manipulación para los productores como el hipoclorito de sodio y el ácido acético se reevalúen modificando sus concentraciones y el tiempo de exposición, e incluso se incluyan otras alternativas como el recubrimiento o el empaque con una atmósfera modificada (García *et al.*, 2008), con el objetivo de aumentar el tiempo de vida útil de la hortaliza de IV gama y de realizar una propuesta final efectiva y de fácil implementación.

CONCLUSIONES

- ✓ Se puede obtener lechuga de IV gama bajo las condiciones de Cuba utilizando plantas procedentes de unidades productivas y el empleo de métodos sencillos como el agua electrolizada (producto Alcamax).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguayo, E.; Gómez, P. Y Artés, F. (2017). Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético. *Agrociencia Uruguay*, 21 (1): 7-14. ISSN: 1510-0839.
- Bencardino, D.; Vitali, L.A y Petrelli, D. (2018). Evaluación microbiológica de la lechuga iceberg lista para comer durante la vida útil y la efectividad de los métodos de lavado domésticos. *Italian Journal of Food Safety*. 7 (1): DOI: <https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6913>.
- BIOCEN (2013). Manual de Medios de Cultivo. La Habana. Centro Nacional de Biopreparados, BIOCEN. Disponible en: <http://www.biocen.cu>. Fecha de consulta: 22/1/2019.
- Del Carmen, S.; Gutiérrez, D.R. y Sgroppo, Y.S.C. (2015). Productos vegetales de IV

- gama. Aspectos generales. Simiente, 85 (1-2):1-12. ISSN: 0037-5403.
- Diezma, I.B. (2016). Control de Calidad de Productos de IV Gama. Simiente, 86 (3-4): 1-8. ISSN: 0037-5403.
- García, A.D. (2008). Aplicación de la técnica de IV gama para la elaboración de ensaladas. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 61(2): 4658-4666. ISSN (impresa): 0304-2847. ISSN (digital): 2248-7026.
- Garmendia, G. y Vero, S. (2006). Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. Horticultura, 197: 18-27. ISSN: 1132-2950.
- Madigan, M.T.; Bender, K.S.; Buckley, D.H.; Sattley, W.M. y Sthal, D.A. (2018). Brock Biology of Microorganisms. Fifteenth Edition. Global Edition, 1058 p. ISBN: 07-0-13-426192-8.
- Matiacevich, S.; Riquelme, N. y Arancibia, C. (2016). Perspectivas de las tecnologías aplicadas en productos IV-Gama. Contribuciones Científicas y Tecnológicas, 41: 48-55. ISSN: 0719 -8388.
- Ramos, B.; Miller, F.A.; Brandão, T.R.; Texeira, P. y Silva, C.L. (2013). Frutas y hortalizas frescas: una descripción general de las metodologías aplicadas para mejorar su calidad y seguridad. Innovadora Ciencia de Alimentos y Tecnologías Emergentes, 20: 1-15. En: Actas del I Congreso Universitario en Innovación y Sostenibilidad Alimentaria. ISBN: 978-84-16024-90-2.
- Rodríguez, D.; Ortega, R. y Piñeros, Y. (2018). Physicochemical, functional and microbiological properties of lettuce (*Lactuca sativa L.*) added with organic acids. Información Tecnológica, 29 (4): 21–30. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000400021>.
- Sáez, L.; Sepúlveda, C.; Díaz, C. y Palacios, J.L. (2019). Aceptabilidad de hortalizas de IV gama tratadas mediante diferentes protocolos de desinfección. Agrotecnia de Cuba, 43(1): 65 – 77 (enero – junio). ISSN: 2414 – 4673.
- Sánchez, C.; González, D.; Colina, C. y de Ancos, B. (2018). Métodos físicos no tradicionales de control microbiológico aplicables al proceso de elaboración de hortalizas de IV Gama. Agrociencia Uruguay, 22 (1):26-36. ISSN: 1510- 0839.

Fecha de recepción: 16 febrero 2021

Fecha de aceptación: 8 junio 2021

Agrotecnia de Cuba

ISSN impresa: 0568-3114

ISSN digital: 2414- 4673

<http://www.grupoagricoladecuba.gag.cu>

