

## Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) deshidratados

S.R. FUSELLI<sup>1</sup>\*, B. FILSINGER<sup>2</sup>, R. FRITZ<sup>1</sup>, M.I. YEANNES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3.350 (7600) Mar del Plata. <sup>2</sup>INTI-CEMSUR CITEP. Mar del Plata. Argentina.

\*Correspondencia. E-mail: [alvarami@copetel.com.ar](mailto:alvarami@copetel.com.ar)

### RESUMEN

En este trabajo se efectuó un estudio microbiológico durante la deshidratación y el almacenamiento de ajo (*Allium sativum* L.) y de cebolla (*Allium cepa* L.). Al ajo se le efectuó un proceso de escaldado y a la cebolla un salmuereado previo a la deshidratación. En las materias primas los recuentos promedio expresados en UFC/g fueron: bacterias aerobias mesófilas entre  $1,2 \times 10^2$  y  $1,6 \times 10^3$ , mohos y levaduras entre 60 y  $1,6 \times 10^3$ , *Lactobacillus* spp. y *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* entre 10 y 50. Se identificaron: *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* y levaduras en ajo; *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* y levaduras en dos tipos de cebolla. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* sólo se detectó en un tipo de cebolla. En ajos deshidratados y durante el almacenamiento se hallaron *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* y levaduras mientras que los mismos con escaldado no presentaron desarrollo. *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Monilia* spp. y *Lactobacillus brevis* se identificaron en los dos tipos de cebolla deshidratadas. Con la incorporación del salmuereado la microflora se redujo significativamente hallándose solamente *Penicillium* spp. La utilización de barreras adicionales de control microbiano tales como escaldado y salmuereado produce un aporte importante a la estabilidad microbiológica de los productos.

**Palabras clave:** ajo, cebolla, deshidratado

### SUMMARY

**Microbiological study of garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) dehydrated.** A microbiological study during the process and the storage of garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) dehydrated, with the additional barriers of blanching or brine immersion, was made. In all raw materials the average counts of aerobic mesophilic bacteria expressed in CFU/g ranged from  $1.2 \times 10^2$  to  $1.6 \times 10^3$ , molds and yeasts from 60 to  $1.6 \times 10^3$ , *Lactobacillus* spp. and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* between 10 and 50. Microorganisms identified were *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and yeasts in garlic; *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* and yeasts in both types of onions. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* was detected in only kind of onion. In dehydrated garlic storage, *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* and yeasts were detected. In garlic, when a blanching step was carried out no microflora was detected. *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Monilia* spp. and *Lactobacillus brevis* were identified in both types of dehydrated onions. When brine immersion was included the microflora detected was significantly lower and only *Penicillium* spp. were found. The use of additional barriers such as blanching or brine immersion produces an important effect on the microbiological stability in these products.

**Key words:** garlic, onion, dehydrated

### INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos deshidratados se ha incrementado notoriamente en los últimos años debido a la practicidad y disponibilidad continua que el empleo de los mismos proporciona.

La deshidratación de ajo y cebolla se practica como método de conservación para obtener productos que se utilizan como ingrediente o condimento para uso doméstico y como componente de muchos alimentos procesados (salsas, sopas, mayonesa y aderezos) (27).

La calidad microbiológica de los productos deshidratados depende fundamentalmente de la contaminación inicial proveniente del material fresco, del método de deshidratación y condiciones operativas empleadas y de los tratamientos especiales efectuados en el producto antes y después del secado. De acuerdo a esta suma

de factores no es probable hallar una considerable carga microbiana en los productos deshidratados (22).

La contaminación de las materias primas, si existiera, se transmitirá obviamente a aquellos alimentos procesados a los cuales la cebolla y el ajo se adicionan como ingrediente, constituyendo un peligro para el consumidor en el caso de tratarse de especies patógenas. Si bien durante el proceso de secado se puede producir una reducción considerable del número de células viables de muchas especies microbiológicas, existen otras que son altamente resistentes a la desecación y capaces de sobrevivir, aportando un importante grado de contaminación al producto final (4). En general son muy resistentes las esporas bacterianas y fúngicas, algunos micrococcos y las micobacterias (6). Por otro lado, es importante tener en cuenta que la preservación de alimentos está basada en la prevención del desarrollo de microorganismos alterantes y patógenos a través de factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos. Debido a esta razón la mayoría de las técnicas de preservación (calentamiento, temperatura reducida, reducción de la  $a_w$ , decrecimiento del  $O_2$ , etc.) interfieren con los mecanismos homeostáticos que operan en las células vegetativas y esporas microbianas. La estabilidad interna media (en la composición y volumen de los fluidos) es vital para la supervivencia y crecimiento (24).

En el presente trabajo se efectuó un estudio microbiológico en los procesos y durante el almacenamiento de ajo (*Allium sativum* L.) y de cebolla (*Allium cepa* L.) de dos procedencias, deshidratados. El objetivo de este trabajo fue comparar los cambios en la flora microbiológica de estas dos especies de bulbo, sometidas al proceso de deshidratación aplicando barreras de tratamiento adicionales de escaldado o inmersión en salmuera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia Prima

Se partió de muestras de ajo (*Allium sativum* L.) provenientes del Valle del Río Colorado (Sur de la Provincia de Buenos Aires) y de muestras de cebolla (*Allium cepa* L.) de dos procedencias, una obtenida del Valle del Río Colorado y la otra del Partido de General Pueyrredón (Sudeste de la Provincia de Buenos Aires) ubicado a 700 km al norte del mencionado valle, Argentina.

### Proceso

Las materias primas fueron peladas, lavadas y cortadas. Con una parte de las mismas se efectuó solo el tratamiento de deshidratado y con la otra parte de las materias primas se efectuaron los siguientes procesos: El ajo, previo al deshidratado, fue sometido a una etapa de escaldado de 1 minuto de inmersión en agua a 100 °C. Los dos tipos de cebolla se sometieron a la etapa de salmuereado, consistente en su inmersión en una solución al 3% P/V de NaCl durante 10 minutos a temperatura ambiente ( $25 \pm 3$  °C). Estos productos fueron deshidratados de acuerdo a los valores de las variables de proceso determinadas por Filsinger y Yeannes (1998). El deshidratado se realizó en secadero de bandejas con temperaturas de secado de  $59 \pm 1$  °C. Los productos terminados se envasaron en frascos de vidrio con tapa de media rosca (250 g) y se almacenaron a temperatura ambiente ( $25 \pm 3$  °C) durante 1 año. El diagrama de flujo de los procesos efectuados se muestra en la Figura 1. Se tomaron muestras en todas las etapas de proceso para ambos tipos de productos y muestras mensuales durante 1 año de almacenamiento.

### Determinación de pH

Se preparó el homogenato de la muestra, practicando una dilución 1:2 y se efectuó la determinación del pH (21), con un pHmetro HI 9321 W Microprocessor pH meter (Hanna instruments).

### Análisis microbiológicos

Se efectuaron recuentos, aislamientos e identificación de la microflora típica: 10 g de muestra en 100 ml de solución salina con 0,1% de peptona (NaCl 0,85% P/V; peptona 0,1% P/V) (10) fue macerada en un homogenizador Stomacher 400 Circulator y luego diluida convenientemente.

Se realizaron los siguientes análisis microbiológicos por triplicado: recuentos de bacterias mesófilas aerobias en agar para recuento en placa incubado a  $30 \pm 1$  °C por 48 horas (10), mohos y levaduras en agar YGC (agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol) incubado a 20-24 °C por 5 días (10), coliformes totales en agar violeta rojo neutro bilis con adición de capa virgen incubado a 30-32 °C por 24 horas (10), *Pseudomonas* spp. en agar GSP (Agar selectivo para *Pseudomonas*-*Aeromonas* según Kielwein (base)) incubado a 25 °C por 3 días (18); formas vegetativas y esporas de *Clostridium* sulfito reductores en agar SPS (agar-sulfito-polimixina-sulfadiazina) incubado a 35 y  $45 \pm 1$  °C por 48 horas (20); recuento y aislamiento de *Lactobacillus* spp. en agar MRS (Agar para *Lactobacillus* según De Man, Rogosa y Sharpe) incubado en jarra de anaerobiosis a 30 °C por 5 días (2) y *Leuconostoc* spp. en YCL agar, que se preparó de acuerdo a la siguiente composición: lactosa 10 g, hidrolizado de caseína (ácida) 10 g, extracto de levadura 5 g, citrato de amonio 5 g, acetato de sodio 2 g,  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  0,05 g,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  0,2 g, Tween 80 1 ml, agar 15 g y agua destilada c.s.p. 1000 ml. Se incubó a 25 °C, 24 horas (15). Los resultados fueron expresados en UFC/g.

### Identificación y caracterización

Los mohos fueron identificados por el aspecto de las colonias y observación microscópica (28).

Los tests de identificación para *Lactobacillus* spp. fueron: coloración de Gram, actividad de catalasa y oxidasa, movilidad, crecimiento en agar MRS en anaerobiosis a 15, 37 y 45 °C (10). Los microorganismos identificados como *Lactobacillus* spp. fueron caracterizados por la utilización de azúcares de acuerdo al test API 50 CH kits a 37 °C (API System, BioMérieux S.A., Marcy l'Etoile, FR).

La identificación de *Leuconostoc* spp. se llevó a cabo por: coloración de Gram, actividad de catalasa, movilidad, reducción de nitratos (10), hidrólisis de la esculina y de la arginina (9), test del indol (14), crecimiento a pH 4,8 y por su habilidad de producir ácidos de carbohidratos (8).

#### **Mantenimiento de cepas**

Las cepas del género *Lactobacillus* fueron inoculadas en agar MRS, incubado en anaerobiosis a 37 °C por 5 días y conservado a 5 °C (13).

Las cepas del género *Leuconostoc* fueron inoculadas en un medio con leche reconstituida, esterilizada, al 10% (P/V) y enriquecida con 0,3% (P/V) de extracto de levadura; incubado a 37 °C por 48 horas y conservado a -20 °C (8). Los mohos y levaduras se inocularon en el medio sintético de Czapek, incubado a 20-24 °C por 5 días (28) y se conservaron a 5 °C.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la tabla 1 se observan los resultados de los recuentos microbiológicos de las diferentes materias primas empleadas en el proceso. En ninguna de las materias primas investigadas se detectó presencia de coliformes totales, *Clostridium* sulfito reductores y *Pseudomonas* spp. Se identificaron los siguientes géneros y especies de microorganismos: *Penicillium*, *Monilia*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* subesp. *mesenteroides* y levaduras en ajo; *Mucor*, *Penicillium*, *Monilia*, *Lactobacillus brevis*, y levaduras en los dos tipos de cebolla. *Leuconostoc mesenteroides* subesp. *mesenteroides* sólo fue hallado en cebolla del Partido de General Pueyrredón (Pcia. de Buenos Aires). Esta especie se encuentra frecuentemente en productos vegetales constituyendo la flora propia de muchos de ellos. En bulbos de ajo sanos y sin daños se obtuvieron valores de 25.000 *Leuconostoc mesenteroides*/g en cultivo puro (11). En dicho producto la presencia de hongos también fue hallada por otros autores en condiciones de almacenamiento. *Penicillium* spp., *Helminthosporium allii*, *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. y *Aspergillus niger* pueden infectar los bulbos a través de lesiones producidas durante la cosecha, el manejo o la comercialización (1).

En cebolla la presencia de estos microorganismos no coincide totalmente con los resultados obtenidos por otros autores. Lyons *et al.* (1996) encontraron que la mayor causa de deterioro de las cebollas es causada por podredumbres originadas por *Pseudomonas gladioli* pv. *alliiicola* y *Botrytis allii*. Ambos patógenos son diseminados durante el crecimiento de las semillas pero las enfermedades se producen en el bulbo almacenado. Por otro lado, las podredumbres de cebolla en almacenamiento fueron considerados como un problema importante en el cual un número de diferentes patógenos puede estar implicado, siendo *Pseudomonas gladioli* pv. *alliiicola* uno de los predominantes. También fueron observadas incidencia de otras bacterias e infección con hongos particularmente *Aspergillus* spp. en la superficie (3).

Los valores de pH para el ajo y su producto deshidratado fueron 4 y 4,5, respectivamente. Con ajo sometido al proceso de deshidratado descrito, sin escaldado, los resultados mostraron un notable descenso de la carga de bacterias mesófilas aerobias y la de mohos y levaduras durante el proceso. El producto presentó la siguiente flora residual al finalizar el proceso de deshidratación y durante el año de almacenamiento: *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* y levaduras. En ajo (*Allium sativum* L.) el deterioro causado por *Penicillium* spp. produce la podredumbre mohosa azul que es la causa principal de pérdidas durante el almacenamiento (1).

Por otro lado, *Botrytis allii* que es el patógeno que causa la podredumbre mohosa gris en cebolla también puede atacar el ajo en almacenamiento, produciendo la podredumbre del cuello (26). En nuestros estudios este microorganismo no fue hallado en la materia prima, ni en el producto terminado. El ajo deshidratado que fue sometido al proceso de escaldado no presentó desarrollo de microflora en las etapas posteriores a este proceso. Los resultados, que se muestran en la Figura 2, indican que el blanqueado puede ser usado como un tratamiento antimicrobiano, siendo ello coincidente con lo observado en tratamientos de blanqueado de vegetales realizados con el objetivo de controlar *Listeria monocytogenes* (17) o en tratamientos para mejorar propiedades sensoriales en los cuales se observó además un descenso de entero-bacterias y bacterias aerobias mesofílicas totales (16).

Los valores de pH hallados en los dos tipos de cebolla fueron 6 y 5,5 para las materias primas (procedentes del Valle del Río Colorado y del Partido de General Pueyrredón) respectivamente, no variando en los productos después de la deshidratación. En las Figuras 3 y 4 se puede observar que las cargas

microbianas iniciales de ambas fueron diferentes tanto en los recuentos de bacterias mesófilas totales, como en los recuentos de mohos y levaduras. Luego del deshidratado se obtuvo la siguiente flora residual: *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Monilia* spp., *Lactobacillus brevis* para ambas procedencias. *Leuco-nostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* sólo se halló en la cebolla del Partido de General Pueyrredón.

En las mismas figuras se puede observar que la incorporación de la etapa de salmuereado previo al deshidratado, produjo una reducción de la flora microbiológica detectándose un 1% de los valores iniciales de recuento de bacterias mesófilas aerobias (16 UFC/g) y mohos y levaduras (14 UFC/g) en la cebolla del Valle de Río Colorado y un 10% de la misma microflora respecto de los valores iniciales en la cebolla de Gral. Pueyrredón (Bacterias mesófilas aerobias: 12 UFC/g y mohos y levaduras: 18 UFC/g). En este caso solo se identificó *Penicillium* spp. Pruthi (1980) y otros autores sugieren que, a diferencia de otros tratamientos, la aplicación del salmuereado puede reducir los recuentos bacterianos sin afectar adversamente el sabor. Por otro lado, en productos vegetales fermentados el salmuereado tiene una gran incidencia en el control de la microflora. Las mejores condiciones de fermentación y crecimiento de bacterias lácticas en aceitunas se produce a 25 °C y con 6% de NaCl siendo además esta concentración de NaCl, apta para el control de la microflora indeseable (25).

Durante los 12 meses de almacenamiento en ninguno de los productos se observó desarrollo significativo de microorganismos. En ajo sin escaldado solo desarrolló una colonia de *Lactobacillus* sp. y dos colonias de mohos a partir del sexto mes de almacenamiento. En el ajo escaldado y deshidratado no hubo desarrollo microbiano.

En los dos tipos de cebolla se observaron resultados similares durante el almacenamiento. Los recuentos máximos de mohos y levaduras no superaron las 20 UFC/g y las bacterias mesófilas aerobias no superaron las 15 UFC/g. No se detectaron *Lactobacillus* spp. ni *Leuco-nostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* durante el almacenamiento.

El tipo de microflora residual en los dos productos, aplicando solamente el proceso de deshidratado resultó semejante. Al aplicar el tratamiento adicional de blanqueado (en el ajo) o el tratamiento de salmuereado (en cebollas), también se produjeron efectos similares y la carga microbiana en ambos productos fue prácticamente nula. Los productos con tratamientos de blanqueado o salmuereado previos a los procesos de deshidratación resultaron de una calidad microbiológica aceptable con una considerable mejora en el color, sabor y olor. Esto último es coincidente con lo observado por otros autores que demostraron que vegetales deshidratados presentaron una notable mejora en el color, textura y contenido de flavonoides (5, 12).

Esto sugiere que estas barreras adicionales aumentan la efectividad del proceso y hacen un aporte importante a la estabilidad microbiológica de los productos. Durante el almacenamiento, en las condiciones de envasado efectuadas, la evaluación del tiempo de vida útil indicó que los productos se han mantenido microbiológicamente inalterables durante 1 año.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bertolini P, Tian S (1996) Low-temperature biology and pathogenicity of *Penicillium hirsutum* on garlic in storage. *Postharvest Biology and Technology* 7: 83-89.
2. De Man J, Rogosa M, Sharpe M (1960) A medium for cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* 23:130-135.
3. Davies J, Taylor J, Conway J (1996) Forecasting of bacterial (*Pseudomonas gladioli* pv. *alliiicola*) storage rots of bulb onions based on a pre-harvest rapid serological test. En: *Proceedings in Diagnostic in Crop Production Symposium*. University of Warwick, Coventry, UK. April 1-3.
4. Dielh J (1990) *Safety of irradiated foods*. Marcel Dekker, INC.
5. Ewald C, Fjellkner-Modig S, Johansson K, Sjöholm I, Akesson B (1999) Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chemistry* 64: 3231-235.
6. Frazier W C (1993) *Microbiología de los alimentos*. 4<sup>ta</sup> ed. Acribia. España.
7. Filsinger B, Yeannes M (1998) Informe de Deshidratado de Productos Hortícolas. Convenio CEMSUR-CITEP y Municipalidad de Villarino – Corfo Río Colorado. Mar del Plata, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.
8. Garvie E I (1986) *Leuconostoc* spp. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, and Holt G (Editors), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> ed Williams and Wilkins, Baltimore, USA, p. 1071-1075.
9. Gibbs B, Skinner F (1966) Identification methods for microbiologist. Academic Press Inc, London, p. 59-63.
10. ICMSF (1983) Métodos recomendados para el análisis microbiológico en alimentos. En: *Microorganismos de los alimentos I. Técnicas de análisis microbiológicos*, 2<sup>da</sup> ed. Editorial Acribia S A, Zaragoza, España, Vol. 1, p. 105-280.
11. ICMSF (1985) Verduras, hortalizas, frutas, frutos secos y sus productos. En: *Ecología microbiana de los alimentos*. Editorial Acribia S A, Zaragoza, España, Vol. 2, p. 613-651.
12. Song JY, Ank GH, Kim CJ (2003) Color, texture, nutrient contents, and sensory values of vegetable soybeans (*Glycine*

- max* (L.) Merrill) as affected by blanching. Food Chemistry 2: 123-127.
13. Kandler O, Weiss N (1986) Regular, nonsporing gram-positive rods. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, and Holt G (Editors), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2<sup>nd</sup> ed, Williams and Wilkins, Baltimore, USA. p. 1208-1235.
  14. Mac Faddin J (1990) Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, p. 6,14,19,29, 100-190.
  15. Mans de Marión M, Raffellini S, Fantuzzi L, González C (1995) Inhibitory effect of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* on *Pseudomonas fluorescens* in milk stored at low temperature. The Australian Journal of Dairy Technology 50:1-5.
  16. Mayer-Miebach E, Gartner U, Grobmann B, Wolf W, Spieb L (2003) Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready-to-use salads. Journal of Food Engineering 56: 215-217.
  17. Mazzotta A (2001) Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in vegetables: evaluation of blanching processes. Journal Food Protection 64: 385-387.
  18. Merck (1985) Manual de medios de cultivo. E. Merck, Darmstad, Alemania.
  19. Lyons N, Linfield C, Taylor J (1996) Pre-harvest detection of bacterial and fungal rots of stored onion bulbs. En: Proceedings in Diagnostic in Crop Production Symposium. University of Warwick, Coventry, UK April 1-3.
  20. Pascual Anderson M, Calderón y Pascual V (2000) En: Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Editorial Díaz de Santos SA, Madrid, España.
  21. Pearson D (1976) Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
  22. Pezzutti A, Matzkin M, Curzio O (1999) Calidad microbiológica en cebolla deshidratada. Aplicación de radiaciones ionizantes para reducir la contaminación. VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología en Alimentos Resumen 24-05. Bahía Blanca, Argentina.
  23. Pruthi J (1980) Spices and condiments, chemistry micro-biology and technology. Adv. Food Res. (Suppl. 4): S 198.
  24. Tapia de Daza M, Alzamora S, Welti Chanes J (1996) Combination of preservation factors applied to minimal processing of foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: 629-659.
  25. Tassou C, Panagou E, Katsabokakis K (2002) Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. Food Microbiology 19: 605-615.
  26. Tian S, Bertolini P (1995) Effects of low temperature on mycelial growth and spore germination of *Botrytis allii* in culture and on its pathogenicity to stored garlic bulbs. Plant Pathology 44: 1008-1015.
  27. Van Arsdel B, Copley M, Morgan A (1973) En: Food dehydration. Practices and applications, Vol. 2, 2<sup>nd</sup> ed, A VI Publishing, Wesport, CT.
  28. Zapater R (1965) Atlas de diagnóstico micológico. 2<sup>da</sup> ed El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 06/11/03 – Aceptado: 06/09/04