

**Cuantificación de hongos, coliformes totales e
investigación de *Salmonella* spp. en tres
condimentos utilizados en elaboración de
chorizos en la planta de cárnicos de
Zamorano**

Lorena Carolina Garay Salvador

Honduras
Diciembre, 2002

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

**Cuantificación de hongos, coliformes totales e
investigación de *Salmonella* spp. en tres
condimentos utilizados en elaboración de
chorizos en la planta de cárnicos de
Zamorano**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura.

presentado por

Lorena Carolina Garay Salvador

Honduras
Diciembre, 2002

La autora concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de el autor.

Lorena Garay

Honduras
Diciembre, 2002

Cuantificación de hongos, coliformes totales e investigación de *Salmonella* spp. en tres condimentos utilizados en elaboración de chorizos en la planta de cárnicos de Zamorano

presentado por

Lorena Carolina Garay Salvador

Aprobada:

Elsa Barrientos, M. Sc.
Asesor Principal

Claudia García, Ph.D.
Coordinadora de la Carrera
Agroindustria

Rómmel Benavides, Lic.
Asesor

Antonio Flores, Ph.D.
Decano Académico

Claudia García, Ph. D.
Coordinadora PIA

Mario Contreras, Ph. D.
Director General

DEDICATORIA

A Dios, la luz que guía mi camino.

A mis padres Francisco Garay y Lilian de Garay.

A mis hermanos: Francisco y Mónica.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

A mis asesores Elsa Barrientos y Rómmel Benavides, por su tiempo invertido y su gran ayuda.

A Raúl Espinal, Aurelio Revilla, Claudia García y Cástula Cerrato por sus consejos oportunos y concretos.

A José Parada por su apoyo incondicional y todos los momentos compartidos.

A Rodolfo Pacheco por todos sus consejos y apoyo.

Al Personal de la Planta de Cárnicos por su colaboración y paciencia.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco al Instituto Salvadoreño de Formación Profesional (INSAFORP), al Banco Agrícola Comercial de El Salvador y a Zamorano, por el financiamiento otorgado para mis estudios en el Programa de Agrónomo.

Agradezco a la Cancillería de El Salvador por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios en el Programa de Ingeniería Agronómica.

Agradezco a mis padres, abuelos, tíos, primos y miembros de mi comunidad por su apoyo, cariño y por contribuir con el financiamiento de todos mis estudios.

RESUMEN

Garay, Lorena. 2002. Cuantificación de hongos, coliformes totales e investigación de *Salmonella* spp. en tres condimentos utilizados en elaboración de chorizos en la planta de cárnicos de Zamorano. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 29 p.

En los productos cárnicos procesados se utilizan los condimentos para dar sabor, acentuar el color, impartir aroma, pungencia y dar efectos antioxidantes. Sin embargo, algunos microorganismos provenientes de aditivos y especies pueden causar enfermedades si se encuentran en cantidades arriba de los límites establecidos. El objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento de hongos, coliformes totales y *Salmonella* spp. en comino molido, pimienta negra en polvo y cebolla en polvo, utilizados en la elaboración de chorizo en la planta de cárnicos de Zamorano. Dicho estudio se realizó en el laboratorio de microbiología de alimentos en del Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano. Los análisis de las muestras se realizaron a los cero, siete y catorce días. Se usó un sistema de bloques completamente al azar con tres repeticiones por condimento en cada fecha. Se determinó la cantidad de microorganismos al momento del ingreso y su incremento durante el tiempo, bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad. Con un grado de confianza de 95% no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de hongos y coliformes totales presentes en los tres condimentos, desde el momento de su ingreso hasta el último día de consumo. No se detectó presencia de *Salmonella* spp. en ninguno de los condimentos durante todo el tiempo del estudio. La humedad y temperatura a la cual permanecen almacenados, no contribuyen al crecimiento de los microorganismos. Todos los análisis realizados indican que los tres condimentos presentaron niveles muy por debajo de los límites y cumplen con las normas de calidad y aceptación establecidas. Se recomienda realizar periódicamente análisis microbiológicos de las materias primas que ingresan a la planta y solicitar certificados al proveedor, para asegurar que son de buena calidad.

Palabras clave: Alimentos, calidad, microorganismos, recuento total.

NOTA DE PRENSA

ZAMORANO REALIZA ANALISIS MICROBIOLÓGICOS A SUS MATERIAS PRIMAS

Zamorano conoce la importancia de obtener productos aptos para el consumo humano, por eso durante el mes de septiembre del presente año se realizaron análisis microbiológicos a los principales condimentos (comino molido, pimienta negra en polvo, cebolla en polvo) utilizados en la elaboración de productos cárnicos.

Dicho estudio se realizó en el Centro de Evaluación de Alimentos con el objetivo de determinar si estos ingredientes fueron elaborados siguiendo las normas de higiene y si son aptos para su uso.

Los análisis midieron la cantidad de coliformes totales y hongos, microorganismos que en grandes cantidades pueden causar enfermedades y deterioro de los alimentos, también se determinó la presencia de *Salmonella*, bacteria causante de infecciones intestinales y en algunos casos de muerte.

Se analizó un lote de condimentos desde su ingreso a la planta, hasta su último día de consumo. Los resultados obtenidos demostraron que la cantidad de microorganismos presente en los tres condimentos estaba dentro de las normas establecidas, y no hubo presencia de *Salmonella* spp. Con estos resultados se puede asegurar que los condimentos utilizados ingresaron a la planta en buen estado y se mantuvieron así durante el tiempo que permanecieron en ella.

Este estudio contribuirá a que Zamorano continúe asegurando la calidad de sus productos a través de la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura desde el ingreso de sus materias primas, hasta sus productos terminados.

Lic. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a Patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de Prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Indice de Cuadros.....	xi
	Indice de Anexos.....	xii
1.	INTRODUCCION	1
1.1	ANTECEDENTES.....	1
1.2	DEFINICION DEL PROBLEMA.....	2
1.3	JUSTIFICACION DEL ESTUDIO.....	3
1.4	LIMITES DEL ESTUDIO.....	3
1.5	OBJETIVOS.....	3
2.	REVISION DE LITERATURA	4
2.1	GENERALIDADES DE LOS CONDIMENTOS.....	4
2.2	ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS.....	4
2.3	MICROORGANISMOS RELACIONADOS A CONDIMENTOS.....	5
2.3.1	<i>Salmonella</i> spp.....	5
2.3.2	Hongos.....	6
2.3.3	Coliformes.....	6
2.4	IRRADIACION DE LOS ALIMENTOS.....	7
2.5	BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA.....	7
2.6	SISTEMA DE ANALISIS DE PELIGROS Y PUNTOS CRITICOS DE CONTROL (APPCC).....	8

3.	MATERIALES Y METODOS	10
3.1	UBICACION DEL ESTUDIO.....	10
3.2	EQUIPO Y MATERIALES DE LABORATORIO.....	10
3.3	CONDIMENTOS ANALIZADOS.....	11
3.4	VARIABLES MEDIDAS.....	11
3.5	METODOS.....	11
3.5.1	Cómputos estándares en placa.....	11
3.5.2	Aislamiento de <i>Salmonella</i> spp.....	11
3.6	TOMA DE MUESTRAS.....	12
3.7	DISEÑO ESTADISTICO.....	12
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	14
4.1	COMPUTOS ESTANDARES POR PLACA.....	14
4.1.1	Comino molido.....	14
4.1.2	Pimienta negra en polvo.....	15
4.1.3	Cebolla en polvo.....	15
4.1.4	Identificación de mohos.....	16
4.2	AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE SALMONELLA.....	17
5.	CONCLUSIONES	18
6.	RECOMENDACIONES	19
7.	BIBLIOGRAFÍA	20
8.	ANEXOS	22

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Límites permitidos de microorganismos.....	12
2.	Forma en que se evaluó el lote de condimentos.....	12
3.	Cantidad promedio de microorganismos presentes en lote de comino molido durante su almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.....	14
4.	Cantidad promedio de microorganismos presentes en lote de pimienta negra durante su almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.....	15
5.	Cantidad promedio de microorganismos presentes en lote de cebolla en polvo durante su almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.....	16
6.	Resultado de <i>Salmonella</i> spp.....	17

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1.	Procedimiento para los cálculos estándar en placa para la enumeración de microorganismos.....	23
2.	Esquema de diluciones y número de placas utilizadas para los recuentos de coliformes totales y hongos.....	24
3.	Procedimiento para el aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i> spp.....	25
4.	UFC/g de microorganismos presentes en comino molido al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.....	26
5.	UFC/g de microorganismos presentes en pimienta negra en polvo al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.....	27
6.	UFC/g de microorganismos presentes en cebolla en polvo al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.....	28
7.	Costo de pruebas microbiológicas.....	29

1. INTRODUCCION

En la elaboración de productos cárnicos como embutidos se utilizan ingredientes importantes como son los condimentos. Para obtener un producto final de calidad, no solo es necesario tener un control de calidad sobre el proceso de elaboración, sino que también es necesario utilizar ingredientes y materias primas que cumplan con requisitos establecidos.

Los condimentos son utilizados para dar sabor (comino), acentuar el color (paprika, achiote), impartir aroma (clavo de olor, canela) o pungencia (pimienta negra, pimienta roja) y dar efectos antioxidantes (orégano, canela, clavos). Algunos condimentos poseen propiedades antimicrobianas, las cuales se encuentran en la fracción de aceites esenciales del condimento. Entre ellos están: ajo, cebolla, canela, clavo de olor, orégano y la semilla de mostaza (Guarino y Gray, 1992).

Los condimentos pueden ser portadores de microorganismos patógenos desde su cultivo, cosecha, procesamiento y durante su almacenamiento, siendo una fuente muy importante en la contaminación de alimentos cuando se usan como ingredientes. Entre la flora bacteriana se encuentran los géneros de *Escherichia*, *Bacillus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* y *Clostridium*, este último en menores cantidades. Los mohos también son contaminantes comunes, las levaduras son menos frecuentes (Teuben y Barrientos, 2002).

1.1 ANTECEDENTES

La planta de cárnicos de Zamorano es un lugar de enseñanza práctica para los estudiantes, y una empresa que se dedica a la comercialización de una amplia variedad de productos cárnicos, ya sean productos cocidos, semi cocidos o crudos y que busca un mejoramiento e innovación en la calidad de sus productos.

En el laboratorio de microbiología del Centro de Evaluación de Alimentos (CEA) durante el mes de diciembre del 2001 se realizaron análisis microbiológicos de productos terminados los cuales fueron: mortadela, chorizo español, jamón de cerdo, carne molida de res, salami y jamón virginia. Los análisis de cada producto incluyeron el cómputo de coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus*. Los resultados indicaron que los productos cumplían las normas establecidas a excepción de la carne cruda molida de res.

En otro análisis posterior se comprobó que algunos de los equipos presentaban un alto número de coliformes totales y de mesófilos aerobios. En la sala de procesamiento, sacrificio y salón de enseñanza también se encontraron niveles arriba de lo aceptable en el cómputo de mesófilos aerobios y coliformes totales, en especial el salón de enseñanza principalmente porque no se cumple con la sección de diseño de las instalaciones como parte de las Buenas Prácticas de Manufactura en lo que corresponde al techo, el cual es inadecuado ya que permite la entrada de roedores e insectos, y también el salón es donde transitan estudiantes, empleados y visitantes (Barrientos, 2002)¹.

Actualmente no se realiza el monitoreo microbiológico de producto terminado, ni de materias primas, para determinar si cumplen con las normas establecidas.

Los condimentos que son utilizados en la planta de cárnicos, para la elaboración de sus productos, provienen de la casa productora Especies la Buena Cocina, la cual vende sus productos al por mayor y detalle. Generalmente la Planta de Cárnicos realiza pedidos de condimentos cada 15 días, de acuerdo a las necesidades de materias primas que tengan.

Los condimentos ingresan al departamento de suministros de Zamorano, donde están dos o tres días en lo que se hace el papeleo y transferencia a la planta. Actualmente las condiciones de la bodega de suministros no son las adecuadas para el almacenamiento de materias primas alimenticias, ya que se encuentra llena de polvo y no hay un lugar exclusivo para ellas.

1.2 DEFINICION DEL PROBLEMA

En la sección de control de materias primas y productos terminados como parte de las BPM, se carece de información sobre especificaciones de ingredientes como los condimentos, ya que no hay un programa de verificación y control o programas de certificación que controlen las materias primas que ingresan como los condimentos.

No se cuenta con datos sobre la calidad microbiológica de los condimentos utilizados como ingredientes ya que no se han realizado análisis microbiológicos de ellos en la Zamoempresa, y la casa comercial que los fabrica y distribuye no proporciona esa información.

Además, en la planta no hay un lugar adecuado para el almacenamiento exclusivo de materias primas como los condimentos y debido a éstas condiciones se encuentran expuestos a la contaminación por microorganismos que estén en el ambiente e instalaciones.

1. Elsa Barrientos, 2002. Análisis microbiológicos realizados en la Planta de Cárnicos de Zamorano. Comunicación Personal. Encargada del Laboratorio de Microbiología, Zamorano. Honduras.

1.3 JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

Actualmente en la planta de cárnicos no se cuenta con sistemas de control de calidad de materias primas como son los aditivos y condimentos.

Son muchos los microorganismos que causan enfermedades transmitidas por alimentos, los cuales pueden provenir de los condimentos y especies, siendo necesario realizar análisis que garanticen su inocuidad.

1.4 LIMITES DEL ESTUDIO

Ya que en el laboratorio se cuenta con poco material disponible para realizar los análisis de investigación de patógenos específicos a través de métodos convencionales y la mayoría de ellos toma de tres a cinco días, sólo se evaluaron los tres condimentos que más se utilizan en la elaboración de los diferentes chorizos (campeño, criollo y de desayuno).

No se realizó análisis de *Escherichia coli*, ya que no se cuenta con los recursos económicos y equipo necesario.

1.5 OBJETIVOS

Objetivo General:

Cuantificar hongos, coliformes totales e investigar presencia de *Salmonella* spp. en: pimienta negra en polvo, cebolla en polvo y comino molido, utilizados en elaboración de chorizo en la planta de cárnicos de Zamorano, en un período de catorce días.

Objetivos Específicos:

- Realizar análisis para la cuantificación de coliformes totales, hongos y aislamiento de *Salmonella* spp., en los condimentos, antes de ser usados y en el período de consumo.
- Determinar si las condiciones de temperatura y humedad del lugar donde permanecen los condimentos, contribuyen al desarrollo de microorganismos durante el tiempo de su consumo.
- Determinar si los tres condimentos cumplen con las normas de calidad y aceptación establecidas.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES DE LOS CONDIMENTOS

Algunos condimentos poseen propiedades antimicrobianas, las cuales se encuentra en la fracción de aceites esenciales del condimento. Entre ellos están: el ajo, cebolla, canela, clavo de olor, orégano y la semilla de mostaza; otros como el comino, sirven para acentuar el aroma y el sabor, y algunos dan pungencia como el caso de la pimienta negra, esta última frecuentemente presenta altos niveles de contaminación microbiana debido a un mal procesamiento y a un almacenamiento inadecuado (Teuben y Barrientos, 2002).

De acuerdo a Guriano y Gray (1992), la cebolla presenta propiedades antimicrobianas debido al sulfuro que posee. Otras especies como clavos, canela y orégano, tienen poder antioxidante debido a la presencia de aldehído cinámico y eugenol en los aceites esenciales.

Generalmente se asume que los condimentos no contribuyen en un grado significativo con la actividad antimicrobiana en un producto alimentario en las cantidades que se usan como ingredientes para dar sabor, pero si pueden ser una fuente potencial de contaminación de dicho producto.

Según Teuben y Barrientos (2002), dentro de los métodos para reducir la carga microbiana se encuentran:

1. Extensiva limpieza de los condimentos para reducir la carga microbiana.
2. Fumigación con óxido de etileno y óxido de propileno.
3. Irradiación con rayos gamma.

2.2 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), son originadas por la ingestión de alimentos o agua que contienen distintos agentes patógenos que afectan la salud del consumidor en forma individual o colectiva. Los alimentos son contaminados con microorganismos, toxinas producidas por ellos, agentes químicos (plaguicidas, metales, aditivos), o por sustancias tóxicas normalmente contenidas en los alimentos. La ocurrencia de éstas enfermedades son indicadores directos de la calidad de los alimentos. Con la globalización, cambios en los estilos de vida de los consumidores y las preferencias alimentarias, se han producido cambios en la formulación, manufactura y distribución de alimentos con el propósito de disminuir estas enfermedades (OPS, 1996).

De acuerdo a Miller (1998), la intoxicación se presenta cuando el microorganismo patógeno se multiplica liberando una toxina que al ser ingerida produce la enfermedad y los síntomas se observan en pocas horas. En cambio, la infección se presenta cuando se ingiere el microorganismo causando la enfermedad, y la aparición de los síntomas ocurre de horas a días después de su ingestión.

Según la Organización Panamericana de la Salud (2001), los microorganismos a nivel mundial más importantes descubiertos como causantes de ETAs son: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campilobacter*, *Clostridium jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *Vibrio vulnificus*, y estiman que en Latinoamérica desde el año 98 hasta el 2001 se produjeron 1,981 brotes afectando a 64, 428 personas y causando 64 muertes, mientras que el número de casos en los Estados Unidos son de 6.5 a 80 millones al año.

2.3 MICROORGANISMOS RELACIONADOS A CONDIMENTOS

2.3.1 *Salmonella* spp.

Es un bacilo gram-negativo, no esporulado que pertenece a la familia de las enterobacterias, y generalmente se mueve por flagelos periféricos. Su temperatura óptima es de 37°C, y con un pH de 7 a 8. Existen tres especies: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella enteritidis*, dentro de ésta última especie se distinguen más de 2000 serotipos (Jawetz, *et al*, 1992).

La *Salmonella* es una bacteria intestinal que vive en los animales de sangre caliente o fría y en algunos casos en el hombre, es diseminada al medio a través de las heces. Puede vivir por un tiempo variable dependiendo de las condiciones de temperatura, pH y humedad del ambiente (Brock, 1997).

Según Bryan (1998), la aparición de ésta bacteria en los alimentos es debida a una mala manipulación de los mismos y la contaminación resulta muy fácil si no se cumple con las medidas higiénicas necesarias. Esto es de suma importancia en personas asintomáticas, portadoras de la bacteria, que trabajan en la preparación de alimentos.

Los alimentos asociados con esta bacteria son: carnes crudas, mariscos, huevos, coco, cacao, chocolate, condimentos como la pimienta negra y las ensaladas (Miller, 1998).

Durante el año de 1981 en Holanda, 700 personas resultaron afectadas por *Salmonella indiana* encontrada en ensaladas de restaurantes; y en 1988 en Alemania, 81 personas resultaron enfermas por *Salmonella* encontrada en la Pimienta (Mortimore y Wallace, 1996).

Prats (2001), describe las enfermedades más comunes causadas por esta bacteria de la siguiente manera:

Gastroenteritis. Normalmente se le denomina Salmoneliosis y es producida por dos serotipos: *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, el período de incubación de la bacteria es de 3 a 72 horas. Los síntomas de ésta enfermedad son: náuseas, vómito, dolores abdominales, fiebre y diarreas que aparecen de manera repentina. Todos estos síntomas pueden ir acompañados de dolor de cabeza y escalofríos.

Septicemia. La mayor causante de ésta enfermedad es *S. choleraesuis*, y su mortalidad es del 5 al 20%. Se caracteriza por fiebre alta remitente y se localiza en cualquier parte de el cuerpo produciendo abscesos en regiones pélvicas y perineal, colecistitis, artritis, meningitis y neumonía.

Fiebre entérica. El único reservorio es el hombre y el ejemplo más común es la fiebre tifoidea causada por *S. typhi*, posee un periodo de incubación de 7 a 14 días y su recuperación es muy larga. Los síntomas son: dolor de cabeza, náuseas y fiebre. Durante la primera semana el paciente permanece en cama, aparecen unas manchas rosáceas en la piel y las temperaturas altas se mantienen llegando en algunos casos a causar un estado de delirio.

2.3.2 Hongos

De acuerdo a Guarino y Gray (1992), la presencia de levaduras en los condimentos es poca, y entre los mohos encontrados frecuentemente están: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Penicillium*.

Aspergillus. Son hongos filamentosos que crecen con facilidad y rapidez, la mayoría de las cepas patógenas son termofílicas y crecen a 37°C; son hongos saprófitos capaces de colonizar y degradar numerosos sustratos como papel, pinturas o alimentos, y también pueden contaminar por medio de la producción de micotoxinas. Dentro de los factores que influyen el crecimiento de estos patógenos se encuentra la alta humedad, temperatura y condiciones de aerobiosis (Anival, 2001).

A. niger forma colonias color negro, mientras que las de *A. flavus* son verde amarillento. Ambas colonizan cavidades orgánicas y tejidos, su diseminación es sistémica y se comportan como patógenos oportunistas en pacientes con bajo nivel inmunológico (Arora, et al, 1992).

Penicillium. Son hongos bastante resistentes a la falta de humedad, se desarrollan a temperaturas entre 15 y 30°C, dañan muchos alimentos y hay especies que poseen micotoxinas que provocan intoxicaciones en algunos casos graves, y especies causantes de alergias y micosis (Jay, 1996).

2.3.3 Coliformes

Son bacterias de la familia Enterobacteriaceae, son aeróbios, anaerobios facultativos, gram-negativo, bacilos, no forman esporas y fermentan la lactosa, produciendo gas en 48 horas y a 35°C; se encuentran comúnmente en el tracto intestinal humano, en el agua, tierra y material de plantas (Teuben y Barrientos, 2002).

El nivel de coliformes totales es el criterio oficial en la calidad del agua y son un indicador confiable de condiciones no sanitarias en los alimentos, incluyendo los condimentos y especias (Bryan, 1998).

2.4 IRRADIACION DE LOS ALIMENTOS

La tecnología de irradiación está despertando el interés de muchos gobiernos preocupados por las grandes pérdidas de alimentos como consecuencia de la infestación, contaminación y descomposición de los mismos. Como fuentes de irradiación pueden utilizarse rayos gamma, rayos x y electrones (Programa conjunto FAO/ OMS, 2000).

Muchos países utilizan éste proceso con fines comerciales en más de 40 alimentos, que abarcan condimentos, granos, carne de pollo deshuesado, frutas y legumbres. Esta nueva tecnología se está aplicando para irradiar especias y condimentos en: Argentina, Brasil, Dinamarca, Estados Unidos, Finlandia, Francia, Hungría, Israel, Noruega y Yugoslavia (Liceaga, 2002).

El proceso consiste en suministrar una cantidad controlada de energía, proveniente de un campo de radiación ionizante y durante un tiempo determinado al alimento, ya sea enlatado o a granel. La irradiación puede impedir la división de las células vivas, como son las bacterias, hongos y otros microorganismos que degradan los alimentos, al cambiar sus estructuras moleculares y no puede aumentar el nivel de radioactividad natural de los alimentos, independientemente del tiempo de exposición o la dosis. Además, es recomendable solo irradiar alimentos cuya calidad higiénica sea buena, ya que, al igual que los otros métodos de tratamiento de alimentos puede que no destruyan totalmente las toxinas y virus que se hayan formado previamente (Liceaga, 2002).

El Codex Alimentarius (2000), establece que la irradiación de alimentos debe ser usada como una tecnología que ayude a alcanzar ciertos objetivos de higiene, pero no debe sustituir las otras prácticas de fabricación adecuadas.

2.5 BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA

Las Buenas Prácticas de Manufactura son un conjunto de normas establecidas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación de manera conjunta con la Organización Mundial Para la Salud, para garantizar la inocuidad de los alimentos.

De acuerdo con el Programa conjunto FAO/OMS (2000), en su suplemento 1B del Codex Alimentarius, ha establecido requisitos generales que se deben cumplir para la higiene de alimentos, los cuales se describen de la siguiente manera:

Producción Primaria.

Se deben evitar zonas donde el medio ambiente pueda ser una amenaza para la inocuidad de los alimentos, así como controlar los contaminantes, plagas y enfermedades que se puedan encontrar alrededor.

Instalaciones.

Deben permitir que las labores de mantenimiento, limpieza y desinfección se realicen de manera adecuada, tratando de reducir al mínimo la contaminación por el aire; también se deben controlar los factores de temperatura y humedad de acuerdo al producto que se este elaborando. Es importante, a la vez, que las superficies, equipos y materiales con que se trabaja, no sean tóxicos para el uso que se destinan.

Control de las operaciones.

Se deben formular, aplicar y dar seguimiento a sistemas de control de procesos que sean eficaces como el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC).

Higiene Personal.

Se debe asegurar que el personal que está en contacto directo o indirecto con los alimentos mantenga un grado apropiado de aseo personal y debe comportarse de una manera adecuada para evitar probabilidades de contaminar los productos.

Transporte.

Debe ser muy adecuado para cada tipo de alimento, ya que aun aplicando medidas adecuadas de control de la higiene en los procesos anteriores, pueden no llegar a su destino en buenas condiciones para su consumo.

Capacitación.

Todas las personas encargadas de la manipulación de alimentos y manejo de operaciones deben estar capacitadas de manera apropiada para el trabajo que van a desempeñar.

2.6 SISTEMA DE ANALISIS DE PELIGROS Y PUNTOS CRITICOS DE CONTROL (APPCC)

El sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control o APPCC fue desarrollado por la Administración para la Aeronáutica y el Espacio (NASA), los laboratorios del Ejercito de los Estados Unidos y la Compañía Pillsbury, quienes a inicios de los años 70 lo aplicaron a alimentos con requerimientos de “cero defectos” destinados a los programas de la NASA (Pearson y Dutson, 1996).

Corlett (1998), dice que el principal objetivo es garantizar la inocuidad de alimentos para el consumo humano, y, a diferencia de los métodos clásicos APPCC se anticipa a los

problemas, tratando de prevenirlos al máximo para que los alimentos cumplan con los estándares de calidad y mantener la salud del consumidor.

De acuerdo a Fung (1995), en éste sistema de control, los análisis de microorganismos patógenos juegan un papel muy importante ya que sirven para desarrollar evaluaciones de riesgo, hacer correcciones, verificar los procesos, chequear el producto, monitorear a los proveedores y determinar los puntos críticos de control.

Según Mortimore y Wallace (1996), y tomando como referencia de las normas establecidas por el programa conjunto de FAO/OMS, el sistema APPCC consta de siete principios:

1. Realizar análisis de peligros. Preparar una lista del proceso en las que puedan aparecer peligros significativos y escribir las medidas preventivas.
2. Identificar los puntos críticos de control (PCC) del proceso.
3. Establecer límites críticos para las medidas preventivas asociadas a cada PCC.
4. Establecer los criterios para la vigilancia de los PCC y a partir de esos resultados establecer el procedimiento para ajustar el proceso y mantener el control.
5. Establecer acciones correctoras a realizar cuando la vigilancia detecte una desviación fuera de un límite crítico.
6. Establecer un sistema eficaz de registro de datos que documente el APPCC.
7. Establecer un sistema para verificar que el sistema HACCP esta funcionando correctamente.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACION DEL ESTUDIO

Las muestras de los diferentes condimentos fueron recolectadas en la planta de cárnicos. Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología del Centro de Evaluación de Alimentos (CEA) en Zamorano.

3.2 EQUIPO Y MATERIALES DE LABORATORIO

Equipo

Autoclave

Balanza de precisión
Cámara de flujo laminar
Homogenizador de muestras (Stomacher)
Incubadoras, termómetros
Microscopios

Materiales

Bolsas estériles
Cristalería estéril (platos petri, pipetas, matraces, frascos de dilución)
Pinzas, cuchillos y cucharas
Agar Violeta Rojo Bilis (VRBA)
Agar Papa Dextrosa (PDA)
Agar *Salmonella-Shigella*
Agar Verde Brillante
Agar Nutriente
Agar MacConkey
Caldo Lactosado (pre-enriquecimiento no selectivo)
Caldo Selenito Cistina
Caldo Tetracionato
Solución diluyente (agua peptonada al 0.1%)
Sistema Api 20E
Antisueros
Reactivos

3.3 CONDIMENTOS ANALIZADOS

- Pimienta negra en polvo
- Cebolla en polvo
- Comino molido

3.4 VARIABLES MEDIDAS

- UFC/g de coliformes totales
- UFC/g de hongos
- Presencia de *Salmonella* spp.

3.5 METODOS

3.5.1 Cómputos estándares en placa

Los cómputos estándares en placas de coliformes totales, mohos/levaduras, se realizaron de acuerdo a la técnica de “Pour Plate” (vaciado en placa), descrito en el Compendio de métodos para el análisis microbiológico de alimentos (Anexo 1).

En el anexo 2, se detalla el esquema de diluciones que se efectuó.

3.5.2 Aislamiento de *Salmonella*

Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. y de acuerdo con Ratto (1982), se investigó la presencia de *Salmonella* spp. por medio de los métodos convencionales, aislando la bacteria en cultivos selectivos, identificando colonias presuntivas a través de pruebas bioquímicas, y confirmando el serotipo con antisueros específicos (Anexo 3).

Para saber si los condimentos cumplían las normas de calidad, los datos obtenidos se compararon con los datos de la División de Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública de Honduras, tomados como referencia de los límites establecidos por la Comisión Internacional sobre las Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (ICMSF), la cual ha establecido un límite aceptable de:

Cuadro 1. Límites permitidos de microorganismos.

Condimento	Hongos (UFC/g)	Coliformes Totales (UFC/g)	Salmonella spp.
Pimienta negra	10,000	10,000	Negativo en 25 g
Comino	10,000	10,000	Negativo en 25 g
Cebolla	10,000	10,000	Negativo en 25 g

3.6 TOMA DE MUESTRAS

Todas las muestras fueron tomadas dentro de la Planta de Cárnicos de Zamorano, los condimentos analizados se trasladaron directamente de la casa productora a la Planta de Cárnicos y las muestras fueron llevadas posteriormente al laboratorio para ser analizadas.

Cuadro 2. Forma en que se evaluó el lote de condimentos.

Día	Condimentos analizados	Análisis microbiológicos realizados a cada condimento	Otras variables medidas
0	Comino molido Cebolla en polvo Pimienta negra en polvo	Coliformes totales Hongos <i>Salmonella</i> spp.	Temperatura Humedad
7	Comino molido Cebolla en polvo Pimienta negra en polvo	Coliformes totales Hongos <i>Salmonella</i> spp.	Temperatura Humedad
14	Comino molido Cebolla en polvo Pimienta negra en polvo	Coliformes totales Hongos <i>Salmonella</i> spp.	Temperatura Humedad

3.7 DISEÑO ESTADÍSTICO

Población de inferencia

- **Condimentos.**

Unidad experimental

- Un lote de cada condimento.

VARIABLES MEDIDAS**Independientes**

- Comino molido
- Pimienta negra en polvo
- Cebolla en polvo
- Tiempo

Dependientes

- Coliformes totales
- Hongos
- *Salmonella* spp.
- Temperatura
- Humedad

DISEÑO EXPERIMENTAL UTILIZADO

- Diseño Completamente al Azar (DCA).
- Tres repeticiones por condimento y por fecha.
- Análisis de varianza, separación de medias SNK, $\alpha=0.05$.
- El análisis de la información se realizó con el programa “Statistical Analysis System” (SAS).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 COMPUTOS ESTANDARES POR PLACA

4.1.1 Comino molido

La cantidad de coliformes totales y hongos presente en comino molido al día de ingreso a la planta, esta por debajo de los límites establecidos, lo que indica que fueron elaborados adecuadamente y entraron a la planta sin contaminación.

Cuadro 3. Cantidad promedio de microorganismos presentes en el lote de comino molido durante su almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.

Día	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Media	
			Coliformes totales (UFC/g) ¹	Hongos (UFC/g) ²
0	26	70	1176 a	213 a
7	20	80	1000 a	297 a
14	20	80	1450 a	337 a

Valor de referencia: 1. 10,000 (UFC/g) 2. 10,000 (UFC/g)

Control de medios: negativo

Fuente: División de Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública de Honduras.

No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de coliformes totales y hongos presentes al ingreso del comino molido a la planta y durante los días que permaneció en ella. Esto indica que no hubo un crecimiento estadísticamente significativo de microorganismos durante el período de utilización del comino.

Las condiciones de temperatura y humedad a la cual permaneció el comino durante sus días de consumo, no contribuyeron al desarrollo de coliformes totales y hongos en el comino molido.

El comino molido ingresó a la planta de cárnicos sin contaminación y se mantuvo así durante los catorce días de su utilización, por lo que podemos asegurar que este ingrediente utilizado en la elaboración de chorizos y otros productos cárnicos fue de buena calidad.

4.1.2 Pimienta negra en polvo

Las pruebas estadísticas indican que la cantidad de coliformes totales y hongos presentes al día de ingreso de la pimienta negra en polvo a la planta está por debajo de los límites establecidos. De acuerdo con Teuben y Barrientos (2001), la pimienta generalmente presenta niveles elevados de microorganismos, debido a los pobres procesos de desinfección que en algunos lugares se realizan, por lo que se asevera que aunque no cuenta con certificados de calidad del proveedor, se están realizando procesos de desinfección adecuados.

Cuadro 4. Cantidad promedio de microorganismos presentes en el lote de pimienta negra en polvo durante el almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.

Día	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Media	
			Coliformes totales (UFC/g) ¹	Hongos (UFC/g) ²
0	26	70	<10 a	243 a
7	20	80	<10 a	416 a
14	20	80	<10 a	423 a

Valor de referencia: 1. 10,000 (UFC/g) 2. 10,000 (UFC/g)

Control de medios: negativo

Fuente: División de Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública de Honduras.

No existió diferencia estadísticamente significativa entre el promedio de coliformes totales en cada una de las distintas fechas (cuadro 4), lo que indica que no ha habido un crecimiento significativo de estos microorganismos durante el tiempo que permanecieron en la planta.

Se observó un incremento en el número de colonias de hongos a los 7 y 14 días, pero no fue estadísticamente significativo, lo que nos indica que los niveles de hongos se mantuvieron similares desde el ingreso de la pimienta a la planta, hasta su último día.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa, no contribuyeron al desarrollo de los microorganismos durante este período de tiempo, reafirmando que la pimienta negra en polvo entró a la planta sin contaminación y se mantuvo así durante todo su período de utilización.

4.1.3 Cebolla en polvo

Las cantidades de coliformes totales y hongos presentes al día de ingreso de la cebolla en polvo a la planta de cárnicos, se encuentran muy por debajo de los límites establecidos, indicando que su procesamiento fue adecuado y que ingresarán a la planta sin contaminación de hongos y coliformes totales.

Cuadro 5. Cantidad promedio de microorganismos presentes en el lote de cebolla en polvo durante el almacenamiento en la planta, con un grado de confianza de 95%.

Día	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Media	
			Coliformes totales (UFC/g) ¹	Hongos (UFC/g) ²
0	26	70	<10 a	57 a
7	20	80	<10 a	<10 a
14	20	80	<10 a	<10 a

Valor de referencia: 1. 10,000 (UFC/g) 2. 10,000 (UFC/g) Control de medios: negativo
Fuente: División de Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública de Honduras.

En los días 7 y 14 los niveles de coliformes totales se mantuvieron igual que al día de ingreso de la cebolla en polvo a la planta (cuadro 5). Se observó una disminución en los hongos, pero esta diferencia fue debida al azar, ya que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de colonias de hongos y coliformes totales durante todo el período que la cebolla permaneció en la planta.

Las condiciones de temperatura y humedad a la cual permaneció la cebolla en polvo en la planta no contribuyeron al crecimiento de coliformes totales y hongos, corroborando que la pimienta negra en polvo ingresó a la planta sin contaminación y se mantuvo así durante todo su período de utilización.

4.1.4 Identificación de mohos

La mayoría de los mohos encontrados tanto en comino molido, como en cebolla en polvo y pimienta negra en polvo, en cada una de las fechas y las repeticiones corresponden a los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*.

Las colonias de *Aspergillus niger* eran redondas, median de 10-15 mm, presentaban micelios negros y blancos y en la punta conidias color negro; *Aspergillus flavus*, eran colonias redondas, medianas, color verde claro y con un halo blanco y delgado alrededor.

Las colonias de *Penicillium* que se observaron, eran redondas, pequeñas, median de 3-5mm, su color era verde acua, y las colonias de *Rhizopus* eran blancas-grisáceas, grandes y con micelios muy ramificados.

4.2 AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE SALMONELLA

Tanto en pimienta negra, como en comino molido y cebolla en polvo, la presencia de *Salmonella* spp. resultó negativa, al día cero, siete y catorce (cuadro 6).

Cuadro 6. Resultado de *Salmonella* spp.

Día	Comino molido	Pimienta negra	Cebolla en polvo
0	Negativo	Negativo	Negativo
7	Negativo	Negativo	Negativo
14	Negativo	Negativo	Negativo

Fuente: División de Control de Alimentos, Ministerio de Salud Pública de Honduras.

Tres de las muestras resultaron positivas presuntivas al día siete y catorce, pero al identificarlas resultaron ser: *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter gergoviae*. Estas bacterias se encontraron después de abrir las bolsas en las que estaban los condimentos, lo que indica que estos microorganismos pudieron haber estado en el ambiente o en las manos de las personas que manipularon los condimentos.

Con estos resultados se puede asegurar que los condimentos ingresaron a la planta sin *Salmonella* y se mantuvieron igual en los días que permanecieron en ella.

5. CONCLUSIONES

- El comino molido, la pimienta negra en polvo y la cebolla en polvo, al momento de ingresar a la planta, presentaron cantidades de coliformes totales y hongos, por debajo de los límites aceptables y no hubo crecimiento significativo de los mismos durante su permanencia.
- No se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en ninguno de los tres condimentos al momento de ingresar a la planta, ni hubo contaminación durante el periodo que permanecieron en ella.
- Las condiciones de temperatura y humedad a la cual permanecieron los condimentos no contribuyeron al crecimiento de microorganismos.
- El comino molido, la pimienta negra en polvo y la cebolla en polvo, cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos.

6. RECOMENDACIONES

- Solicitar a los proveedores certificados que garanticen la inocuidad de sus materias primas.
- Realizar periódicamente análisis microbiológicos de las materias primas que ingresan a la planta, para asegurarnos que son de buena calidad.
- Almacenar los condimentos dentro de la planta de cárnicos en un lugar exclusivo para aditivos y especies para evitar que los microorganismos se multipliquen durante el tiempo que permanecen en ella.
- Realizar el aislamiento e investigación de hongos para determinar si son micotoxigénicos.
- Implementar las Buenas Prácticas de Manufactura en materias primas como los ingredientes, desde el momento de ingreso, su almacenamiento y utilización.
- Tener un lugar limpio y seco dentro de la bodega de suministros de Zamorano que sea exclusivo para el almacenamiento de materias primas alimentarias.

7. BIBLIOGRAFIA

- Anival, D. 2001. Características generales de *Aspergillus* sp. (en línea). Consultado el 10 de septiembre 2002. Disponible en: <http://www.danival.org/fungi/sp/aspergillus>
- Arora, D.; Mukerji, K.; Marth, E. 1992. Handbook of Applied Micology. Ed. M. Dakker. Vol:3 Foods and Feeds. USA. 621 p.
- Brock, T. 1997. Biology of Microorganism. United States. 737 p.
- Bryan, A. 1998. Bacteriología. CECSA. México. 595 p.
- Corlett, J. 1998. HACCP User's Manual. Maryland, US. Aspen Publishers Inc. 515 p.
- Fung, D. 1995. What's hended in rapid detection of foodborne pathogens. Food Technology. Estados Unidos. 49(6):64-67.
- Guarino, P.; Gray, R. 1992. Species. In Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Ed. C. Vanderzant y D. Splittstoesser. Public Health Association Inc. (APHA). P. 961-970.
- Jay, J. 1996. Modern Food Microbiology. Fifth Edition. Ed. Cahpman & Hall. USA. 661 p.
- Jawetz, A.; Melnick, L.; Adelberg, R. 1992. Microbiología Medica. Edit. El Manual Moderno. 14 ed. México D.F. 700 p.
- Liceaga, C. 2002. Irradiador Gamma México. (en línea). Consultado 16 de agosto 2002. Disponible en: http://www.inin.mx/inin/dinvtx/irradiador_gamma.htm
- Miller, J. J. 1998. Food Safety. Minesota. US. Eagan press. 443 p.
- Mortimore, S.; Wallace, C. 1996. HACCP: Enfoque práctico. Zaragoza, España. Ed Acribia. 291 p.
- OPS/OMS. 2001. Situacion de brotes de ETA en las Americas. (en línea). Consultado 15 de julio 2002. Disponible en: [http://www. Inppaz.org.ar/](http://www.Inppaz.org.ar/)

OPS. 1996. Enfermedades Transmitidas por alimentos (ETAs). Buenos Aires, Argentina. (en línea). Consultado 14 de julio 2002. Disponible en: <http://www.ops.org.uy/pdf/etas.pdf>

Prats, G. 2001. Aspectos Practicos para el Laboratorio de Microbiologia. (en linea). Consultado 9 de septiembre 2002. Disponible en: http://www.seimic.org/control/revi_Bacte/pdf/Rsalmonella.pdf

Pearson, A; Dutson, T. 1996. HACCP in Meat. Poultry and Fish Processing. Greax Britain. Blackie A. & P. 393 p.

Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarías. 2000. Codex Alimentarius. Volumen 1 A. 2da. ed. Roma. 400 p.

Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarías. 1998. Codex Alimentarius. Suplemento al Volumen 1 B. 2da. ed. Roma. 55p.

Ratto, M.A. 1982. Examen microbiológico de carnes y productos cárnicos. Lima, Perú. Universidad Nacional Superior de San Marcos. 35 p.

Teuben, J.; Barrientos, E. 2002. Manual de laboratorio de microbiologia de alimentos. Escue la Agricola Panamericana, Zamorano. Honduras. 119 p.

Vanderzant, C.; Splittstoesser, D. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ed. Washintong D.C. American Public Health Association Inc.(APHA). 1219 p.

—

8. ANEXOS

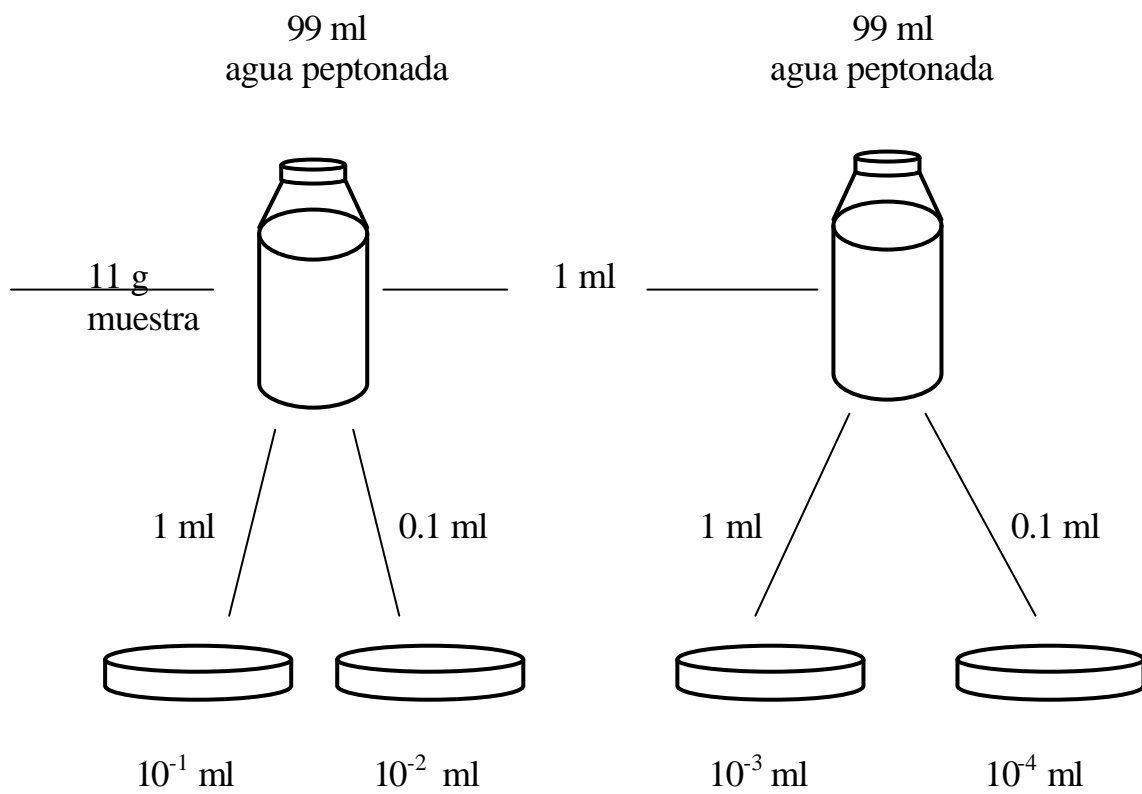
Anexo 1. Procedimiento para los cálculos estándar en placa para la enumeración de microorganismos.

1. Desinfectar el área de trabajo con fenol o formaldehído.
2. Derretir el medio de cultivo en baño de maría con agua destilada y mantenerlo a 45°C.
3. Ajustar la temperatura de agua de dilución entre 15 y 25°C.
4. Rotular los platos petri con el número de muestra, factor de dilución y la fecha.
5. Agitar la muestra en caso de tratarse de un producto líquido.
6. Desinfectar con alcohol al 70% el extremo del recipiente por donde va a ser abierto el producto.
7. Tomar 11 g de la muestra y mezclar con 99 ml de agua de dilución para obtener una dilución de 1:10.
8. Preparar el número de diluciones de tal manera que en un plato petri el número de colonias bacterianas este entre 25 y 250.
9. Transferir 1 ml y 0.01 ml respectivamente a cada una de las diluciones a los platos petri debidamente identificados utilizando una pipeta para cada dilución.
10. Agregar entre 15 y 20 ml del medio de cultivo a 45°C en cada plato. Para mesófilos aerobios y psicrófilos se debe utilizar el medio PCA (Plate Count Agar), para coliformes totales se requiere VRBA (Violet Red Bile Agar) y para hongos se utiliza PDA (Papa Dextrosa Agar).
11. Mezclar el medio de cultivo con la muestra en forma lenta con cinco movimientos rotativos en dirección a las agujas del reloj, cinco en sentido contrario, cinco en línea recta de izquierda a derecha y finalmente cinco en la forma que se inició el mezclado.
12. Dejar los platos en reposo hasta que los medios se solidifiquen. En el caso del VRBA se debe colocar otra capa de medio después de que la primera se solidifique para favorecer las condiciones anaerobias que requieren estos microorganismos.
13. Invertir los platos, excepto los de PDA, para evitar que el agua de condensación facilite el crecimiento de colonias esparcidas debido a la alta humedad.
14. Incubar a la temperatura requerida para cada tipo de microorganismos:
 - Para mesófilos aerobios totales: 35-37°C por 24-48 horas.
 - Para coliformes totales: 35°C por 24 horas.
 - Para hongos: T° ambiente por 2-5 días.
 - Para psicrófilos: 4°C por 4-5 días.

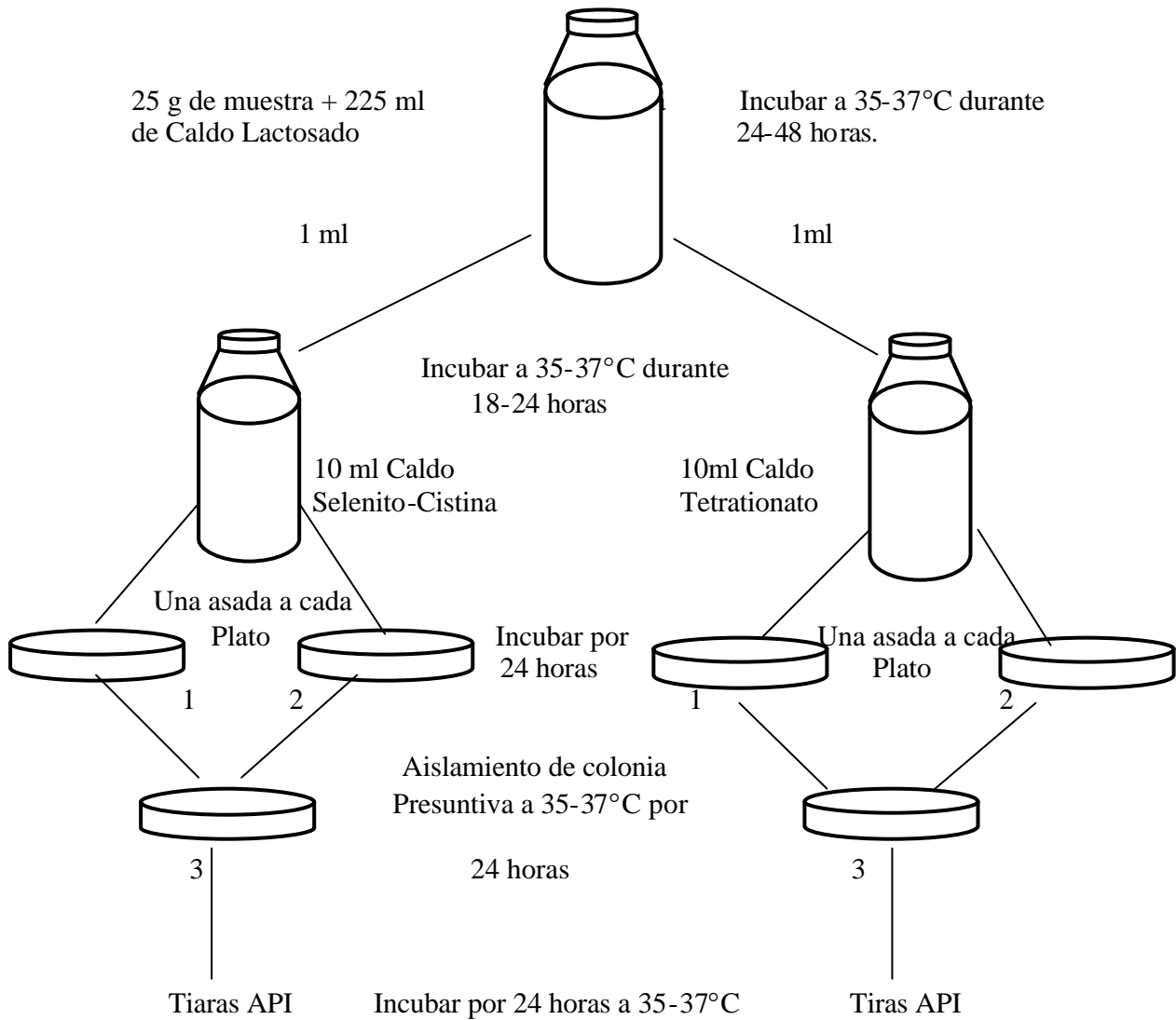
Se debe de realizar siempre un control del medio de cultivo (placa petri solamente con el cultivo) y un control de agua de dilución (placa petri con medio de cultivo y agua de dilución).

Fuente: Vanderzant y Splittstoesser, 1992

Anexo 2. Esquema de diluciones y número de placas utilizadas para los recuentos de coliformes totales y hongos.



Anexo 3. Procedimiento para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.



1. Agar *Salmonella* – *Shigella*
2. Agar Verde Brillante
3. Agar Nutriente

Después de incubadas las tiras API, a las 24 horas se procede a leer las pruebas bioquímicas para la identificación de la bacteria.

Fuente: Ratto, 1982.

Anexo 4. UFC/g de microorganismos presentes en lote de comino molido al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.

Comino molido			
Día	Repetición	Coliformes UFC/g	Mohos/Levaduras UFC/g
	1	1200	300
0	2	1210	100
21/09/02	3	1119	240
	1	1200	330
7	2	430	180
28/09/02	3	1370	380
	1	1830	370
14	2	520	310
05/10/02	3	2000	330

Anexo 5. UFC/g de microorganismos presentes en lote de pimienta negra en polvo al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.

Pimienta negra en polvo			
Día	Repetición	Coliformes UFC/g	Mohos/Levaduras UFC/g
	1	<10	420
0	2	<10	310
21/09/02	3	<10	<10
	1	<10	470
7	2	<10	410
28/09/02	3	<10	370
	1	<10	490
14	2	<10	380
05/10/02	3	<10	400

Anexo 6. UFC/g de microorganismos presentes en lote de cebolla en polvo al día cero, siete y catorce, con tres repeticiones por fecha.

Cebolla en polvo			
Día	Repetición	Coliformes UFC/g	Mohos/Levaduras UFC/g
	1	<10	<10
0	2	<10	<10
21/09/02	3	<10	170
	1	<10	<10
7	2	<10	<10
28/09/02	3	<10	<10
	1	<10	<10
14	2	<10	<10
05/10/02	3	<10	<10

Anexo 7. Costo de pruebas microbiológicas

Análisis	# de placas/semana	Costo/placa	# total de placas	Costo total Lps.
Mohos y levaduras	36	5	108	540
Coliformes totales	36	5	108	540
<i>Salmonella</i> spp.	9	50	27	1350
Total				2430

En caso de que alguna placa sea positiva presuntiva por *Salmonella* spp., se tendrán que usar las tiras Api 20E para determinar su especie y c/tira tiene un costo de Lps. 75

Este presupuesto está con base a tres tomas de muestra, en diferentes fechas y con tres repeticiones por fecha.