

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE DESINFECCIÓN
PARA HORTALIZAS QUE SE CONSUMEN EN CRUDO”**

PRESENTADO POR:

MARÍA ANTONIETA CAMPOS DURÁN
WENDY AYMETH MANZANO POLÍO

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERA DE ALIMENTOS

CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE DE 2007

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA :

Dra. María Isabel Rodríguez

SECRETARIA GENERAL:

Licda. Alicia Margarita Rivas de Recinos

FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA

DECANO :

Ing. Mario Roberto Nieto Lovo

SECRETARIO :

Ing. Oscar Eduardo Marroquín Hernández

ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

DIRECTOR :

Ing. Fernando Teodoro Ramírez Zelaya

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

Trabajo de Graduación previo a la opción al Grado de:
INGENIERA DE ALIMENTOS

Título :

**“EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE DESINFECCIÓN PARA HORTALIZAS
QUE SE CONSUMEN EN CRUDO”**

Presentado por :

MARÍA ANTONIETA CAMPOS DURÁN
WENDY AYMETH MANZANO POLÍO

Trabajo de graduación aprobado por:

DOCENTES DIRECTORES :

Lic. Xochil María Godoy de Villatoro
MSc. Coralia González de Díaz
Lic. Ana Isabel Pereira de Ruiz

San Salvador, Octubre de 2007

Trabajo de Graduación Aprobado por:

Docentes Directores:

Lic. Xochil María Godoy de Villatoro

MSc. Coralia González de Díaz

Lic. Ana Isabel Pereira de Ruiz

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta etapa de nuestra preparación académica, debemos agradecer a:

A Dios Todopoderoso, por brindarnos la sabiduría y fortaleza para enfrentar todos los retos y finalmente triunfar.

¡Gracias sean dadas a Dios por su don inefable! (2 Co 9,15)

A nuestros padres, por la paciencia, el amor, la dedicación y los consejos durante estos años.

Escucha, hijo mío, la instrucción de tu padre y no desprecies la lección de tu madre". (Prov. 1,8)

A nuestros hermanos y demás familia, por el apoyo, las palabras de aliento y ánimo, por fomentarnos el deseo de continuar luchando por nuestros sueños.

A los docentes de la Escuela de Ingeniería Química y del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, quienes estuvieron a cargo de nuestra formación académica, por transferirnos sus conocimientos y su experiencia.

A nuestras asesoras, por la paciencia y el esfuerzo durante el desarrollo de nuestro trabajo de graduación.

A CENSALUD, por darnos la oportunidad de aportar a los esfuerzos por impulsar la ciencia y la investigación dentro de la Universidad.

A nuestros amigos y compañeros, Gilma, Laura y Fernando, por haber compartido esta experiencia académica, porque este triunfo es compartido, sin ustedes talvez nos hubiésemos perdido en el camino.

A las Autoridades Universitarias y Personal Administrativo, que fueron parte fundamental de éste y muchos proyectos que desarrollamos durante nuestra estancia en la Universidad.

Al Ing. Herbert Rico, por su comprensión y apoyo durante el desarrollo de nuestro trabajo de investigación y permitirnos aprender a equilibrar el crecimiento profesional y la formación académica.

A todos nuestros amigos, que desde sus lugares, cercanos o lejanos, nos han brindado su apoyo, amistad, confianza y cariño, quienes estuvieron ahí para ayudarnos y darnos ánimo cuando más lo necesitamos.

Ma. Antonieta y Wendy

DEDICATORIA

A **Dios Padre**, quien es el pilar sobre el cual se fundamenta mi vida, por darme la gracia de culminar con éxito mi carrera universitaria y al Espíritu Santo, por darme la Sabiduría para afrontar cada una de las dificultades que se me presentaron durante este recorrido.

A mis amados Padres: **Marcial y Juanita de Campos**, por brindarme su amor y apoyo incondicional en cada una de las etapas de mi vida y también por motivarme a estudiar la carrera de Ingeniería de Alimentos. Los amo mucho papitos, que Dios les bendiga abundantemente y les conceda las peticiones de su corazón.

A mi segunda madre: **Gloria Isabel Durán (Mami Chavelita)**, por ser para mí ese ángel protector que me ha proporcionado desde mis primeros años de vida amor, cuidados y atención, no tengo como expresarle mi profunda gratitud por ser también parte fundamental de este triunfo académico.

A mi hermanita **Marcela Natalia**, por apoyarme en cada proyecto emprendido. Gracias hermanita por tu amor y cuidados.

A **Luis Alberto Franco**, por ser mi mentor durante el transcurso de la carrera. Gracias por brindarme tu amor, comprensión y apoyo incondicional desde el inicio de nuestra amistad.

A mis **tíos, primos y sobrinos**, por todo el amor expresado y por sus oraciones para que pudiera llegar hasta este momento.

A **Wendy Aymeth**, por ser mi compañera de trabajo durante esta investigación. Gracias por la paciencia, el cariño y el apoyo que me brindaste para la realización de este esfuerzo.

A mis amigos y compañeros de estudio: **Gilma, Laura, Fernando**, por acogerme en el grupo, por estar presentes en las alegrías y pruebas presentadas en los últimos años de la carrera, pero sobre todo, por que juntos luchamos hasta el final.

A mis **Docentes Directoras** del trabajo de graduación, por brindarme los conocimientos así como los lineamientos necesarios para preparar la investigación. Sin su apoyo y comprensión no hubiese sido posible culminar este proyecto.

A todos aquellos que durante la realización de mi carrera, me brindaron su confianza, palabras de fortaleza, así como comprensión y apoyo para alcanzar mis metas, especialmente: Ing. Herbert Rico, Lic. Maritza de Barrientos e Ing. Onán Sánchez. A todos muchas gracias.

"Te exaltaré, mi Dios, mi Rey, y bendeciré tu nombre eternamente y para siempre. Cada día te bendeciré y alabaré tu nombre eternamente y para siempre". Salmo 145:1-2

Ma. Antonieta Campos Durán

DEDICATORIA

“El que ama la instrucción, ama la ciencia...” (Prov. 12, 1)

Este esfuerzo y logro académico se lo dedico a:

Dios todopoderoso, porque no hay camino que deba recorrer sin que Él sea mi guía y no hay triunfo que pueda alcanzar sin que Él sea el artífice.

“Si Dios no construye la casa, en vano se afanan los constructores”. (Sal 127,1)

Mis Padres, **Daniel Roger y María Gladis**, por enseñarme a ser quien soy, por que alcanzar este triunfo es retribuir parte de lo que a través de mi vida me han brindado, porque es parte de la cosecha de lo que en mí han sembrado.

“Con todo tu corazón honra a tu padre, y no olvides los dolores de tu madre. Recuerda que de ellos has nacido, ¿cómo les pagarás lo que contigo han hecho? (Eclesiástico, 7,27-28).

Mis hermanos, **Itza y Roger**, porque con su ejemplo he aprendido. Este triunfo también es un triunfo de ustedes.

Mis sobrinos, **Daniel, Melissa y Kathya**, por que son una motivación para seguir superándome y mi más grande alegría.

A mis amigos:

Laura y Silvana, por que además de brindarme la más grande y honesta amistad, han sido mis hermanas, su familia ha sido mi familia y su casa ha sido mi hogar en esta ciudad.

Antonieta y su familia, por la paciencia, las oraciones y por el resguardo durante todo el tiempo que estuvimos en batalla.

Gilma y Fernando, porque luchamos juntos y llegamos hasta al final de este camino. Son parte de este logro.

Aquellos que han sido parte de este recorrido, que han aportado para que hoy alcance este sueño, los que estuvieron desde el principio y los que han estado al final, los que me dieron ánimos para continuar y que hoy celebran conmigo, los que me han brindado su amistad verdadera, su confianza y su cariño, cerca o en la distancia: Luis, Carlos, Cristian, Guillermo, Gerson, Edwin, Emanuel, Ing. Herbert, Ing. Onán, Isabel y Lidia).

El amigo fiel es seguro refugio, el que le encuentra ha encontrado un tesoro. El amigo fiel no tiene precio, no hay peso que mida su valor (Eclesiástico, 6, 14 -15)

A todos los que me han ayudado y apoyado durante mis años en la Universidad, mi segunda casa: Miriam Reyes por brindarme un techo y un hogar; mis profesores, porque de todos recibí enseñanzas y ejemplo para mi vida personal y profesional, mis asesoras de tesis por su paciencia, y el personal administrativo que me brindó su confianza (en especial a Niña Teresita, Lupita, Heidy y Niña Estelita).

“Doy gracias a mi Dios cada vez q me acuerdo de ustedes” (Filip. 1, 3)

Wendy Aymeth Manzano Poío

RESUMEN

La investigación tuvo como finalidad evaluar métodos de desinfección para hortalizas se consumen en crudo, por lo que el estudio se enfocó primeramente en evaluar por medio de análisis microbiológico la efectividad de los métodos de desinfección para hortalizas comercializados actualmente en el mercado nacional y partiendo de los resultados obtenidos se evaluaron métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químicos a diferentes concentraciones y tiempos de acción.

Para el desarrollo de la fase experimental de la investigación se tomó como punto de muestreo el mercado de mayoreo la Tiendona y para evaluar la efectividad de los métodos de desinfección se realizaron análisis microbiológicos para determinar la reducción o inhibición de microorganismos tales como: Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella*.

Tomando los resultados de los análisis microbiológicos así como los límites permisibles para el uso de métodos químicos de desinfección, según las fuentes bibliográficas consultadas, se procedió a determinar los métodos adecuados para desinfectar las hortalizas objeto de análisis en la investigación.

Finalmente se estableció que el método de desinfección que presenta mayor efectividad ante la reducción de la carga bacteriana, tanto de coliformes totales, fecales así como *E. coli*, a un tiempo de acción de 15 minutos es el tratamiento aplicando un lavado previo a las hortalizas con una solución detergente al 5 % p/v y posteriormente una solución de Hipoclorito de Sodio de 169 ppm, realizando esta dilución de acuerdo a las recomendaciones presentadas en la viñeta del producto, así mismo el método no químico de desinfección que presenta esta misma efectividad es una solución de orégano a concentración de 10 %p/v a un tiempo de acción de 15 minutos y en relación a la inhibición en el crecimiento de células viables de *Salmonella* el método químico no convencional que inhibe el crecimiento de células viables de *Salmonella* es el ácido acético (vinagre) al 4% v/v.

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PAGINA
INTRODUCCIÓN	
CAPÍTULO I: MARCO TEORICO	I
1.0 INOCUIDAD DE ALIMENTOS	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Definición de inocuidad de alimentos	1
1.2.1 <i>Definición según el Diccionario de La Real Academia de la Lengua Española</i>	1
1.2.2 <i>Definición según Codex Alimentarius</i>	2
1.2.3 <i>Definición según la UNE- ISO 22000</i>	2
1.3 Diferencias en la Traducción del Término inocuidad	3
1.4 Calidad de los alimentos	3
1.5 Importancia de la inocuidad de alimentos	5
2.0 HORTALIZAS	6
2.1 Definición y generalidades	6
2.1.1 <i>Definición Botánica de hortalizas</i>	6
2.1.2 <i>Definición Nutricional de Hortalizas</i>	6
2.1.3 <i>Clasificación de Hortalizas</i>	6
2.1.3.1 <i>Clasificación Botánica</i>	6
2.1.3.2 <i>Clasificación de acuerdo al clima</i>	7
2.1.4 <i>Generalidades de las hortalizas en estudio</i>	8
2.1.4.1 <i>Apio</i>	8
2.1.4.2 <i>Cilantro</i>	9
2.1.4.3 <i>Lechuga</i>	10
2.1.4.4 <i>Rábano</i>	11
2.2 Microbiología de Hortalizas	12
2.2.1 <i>Microorganismos en productos frescos</i>	13
2.3 Rutas de contaminación microbiológica de hortalizas	14
2.3.1 <i>El riesgo microbiológico en la producción y distribución de frutas y hortalizas</i>	14
2.3.1.1 <i>En la precosecha</i>	17
2.3.1.2 <i>Preparación para mercado</i>	20
3.0 MÉTODOS DE DESINFECCIÓN PARA HORTALIZAS	21

3.1	Generalidades de la desinfección de hortalizas.....	21
3.1.1	Definición de Desinfección	22
3.1.2	Definición de Desinfectante.....	23
3.2	Clasificación de los métodos de Desinfección para hortalizas...	23
3.2.1	Métodos Químicos de Desinfección	23
3.2.1.1	Halógenos y compuestos halogenados: Cloro	24
3.2.1.1.1	Consideraciones para el uso del Cloro	25
3.2.1.2	Halógenos y compuestos halogenados: Yodo.....	27
3.2.1.2.1	Yodóforos	28
3.2.1.3	Compuestos iónicos: Compuestos de amonio cuaternario (Quats) 28	
3.2.1.3.1	Solución de Cloruro de Benzalconio	29
3.2.1.4	Detergentes	30
3.2.1.4.1	Propiedades deseables	30
3.2.1.4.2	Clasificación de los detergentes	31
3.2.1.4.3	Formulación de detergentes	34
3.2.1.4.4	Factores que influyen en la eficacia de los detergentes 35	
3.2.2	Métodos No Químicos de Desinfección	37
3.2.2.1	Orégano	37
3.2.2.2	Vinagre	38
3.3	Límites permisibles para el uso de desinfectantes	39
3.3.1	Halógenos y compuestos halogenados: Cloro.....	39
3.3.2	Halógenos y compuestos halogenados: Yodo.....	40
3.3.3	Cloruro de Benzalconio.....	40
4.0	EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN.....	40
4.1	Fundamentos para la Determinación de Coliformes Totales, Fecales y <u>Escherichia coli</u>.....	42
4.1.1	Coliformes totales.....	42
4.1.2	Coliformes fecales.....	42
4.1.3	<u>Escherichia coli</u>	43
4.2	Estimación del número más probable (NMP).....	44
4.3	Fundamentos para la Determinación de <u>Salmonella</u>	48
4.3.1.1	Los Microorganismos	48
4.3.1.2	La Enfermedad.....	48
5.0	ANTECEDENTES RELACIONADOS CON EL TEMA DE INVESTIGACIÓN..	50
5.1	Generalidades.....	50
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN		
6.0	INVESTIGACIÓN DE CAMPO.....	52

6.1	Determinación del Universo.....	52
7.0	DISEÑO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA	52
7.1	Obtención de las muestras de hortalizas.....	52
7.2	Obtención de las muestras de desinfectantes.....	53
7.3	Metodología Analítica.....	53
	7.3.1 Límites microbiológicos permitidos.....	53
	7.3.2 Lugar de Trabajo.....	54
8.0	CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN.....	54
9.0	METODOLOGÍA DE ANÁLISIS PARA LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN	56
9.1	Recolección de las muestras.....	56
9.2	Preparación de la muestra.....	57
	9.2.1 Preparación de Dilución 10^{-1}	57
	9.2.2 Preparación de Dilución 10^{-2}	57
	9.2.3 Preparación de Dilución 10^{-3}	57
9.3	Determinación de Coliformes totales, fecales y <u>E. coli</u> por el método de determinación de Coliformes.....	57
	9.3.1 Ensayo de Presunción (Coliformes totales).....	57
	9.3.2 Parte II. Ensayo de Confirmación (Coliformes fecales)....	58
	9.3.3 Parte III. Prueba de E.coli.....	58
9.4	Determinación de <u>Salmonella</u>	58
	9.4.1 Enriquecimiento Selectivo.....	58
	9.4.2 Aislamiento.....	59
	9.4.3 Confirmación.....	59
	9.4.4 Interpretación de Resultados	60
 CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS		
10.0	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	61
10.1	Resultados de la Etapa I.....	62
	10.1.1 Análisis de Resultados Etapa I de la Evaluación de Métodos de Desinfección para Hortalizas. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales.....	71
10.2	Resultados de la Etapa II.....	75
10.3	Resultados de la Etapa III	76
	10.3.1 Resultados de la etapa III de la Evaluación de Métodos De Desinfección para hortalizas.....	89
11.0	OBSERVACIONES DE LAS ETAPA EXPERIMENTAL.....	92
	11.1 Observaciones de la Etapa I.....	92
	11.2 Observaciones de la Etapa II.....	92

11.3 Observaciones de la Etapa III.....	94
CONCLUSIONES.....	96
RECOMENDACIONES	98
BIBLIOGRAFÍA.....	100

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos mediante los cuales las frutas y hortalizas se pueden contaminar con microorganismos patógenos.....	17
Figura 2. Esquema del Ensayo para la Determinación de Coliformes Totales, Fecales y <u>E.coli</u> utilizando la estimación del Número más Probable con tres tubos.....	47
Figura 3. Fotografía de una célula típica de <u>Salmonella</u>	48

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de hortalizas para clima Templado	7
Tabla 2.	Clasificación de hortalizas para clima Frío.....	8
Tabla 3	Composición Química y valor nutricional de las Partes Comestibles del Apio (100 gramos de materia fresca).....	9
Tabla 4	Composición Química y valor nutricional de las Partes Comestibles del Cilantro (100 gramos de materia fresca).....	10
Tabla 5	Composición Química y valor nutricional de la lechuga (100 gramos de materia fresca).....	11
Tabla 6	Composición Química y valor nutricional del rábano (100 gramos de materia fresca).....	12
Tabla 7.	Patógenos aislados sobre frutas y hortalizas causantes de enfermedades de origen alimentario.....	16
Tabla 8.	Riesgos potenciales de contaminación microbiológica y medidas preventivas.....	19
Tabla 9.	Ventajas y Desventajas del uso del Cloro como Agente Desinfectante.....	27
Tabla 10.	Propiedades importantes de los componentes principales de las formulaciones de detergentes.....	36
Tabla 11.	Números más probables por 100 ml. Usando tres tubos sembrados cada uno con 10, 1,0 y 0,1 ml de muestra.....	46
Tabla 12.	Resultados de los análisis de la primera fase de la investigación.....	50
Tabla 13.	Límites permisibles de presencia de <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> en alimentos.....	54
Tabla 14.	Reacciones bioquímicas de <i>Salmonella sp.</i>	60
Tabla 15.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y <i>E. coli</i> . Prueba Presuntiva (Coliformes totales).....	63

Tabla 16.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y <u>E. coli</u> . Prueba Confirmativa (Coliformes fecales).....	65
Tabla 17.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y <u>E. coli</u> . Prueba de <u>E. coli</u>	67
Tabla 18.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación de presencia de <u>Salmonella</u> en de apio.....	69
Tabla 19.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación de presencia de <u>Salmonella</u> en cilantro.....	69
Tabla 20.	Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales para la Determinación de presencia de <u>Salmonella</u> en lechuga.....	70
Tabla 21.	Prueba Exploratoria para métodos comerciales la Determinación de presencia de <u>Salmonella</u> en rábano.....	70
Tabla 22.	Pruebas de Susceptibilidad de <u>E. coli</u> con Escala Mcfarland a 0,5 para estimación de efectividad de los métodos propuestos.....	75
Tabla 23.	Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y <u>E. coli</u> aplicando los métodos de desinfección.....	77
Tabla 24.	Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y <u>E. coli</u>	80
Tabla 25.	Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y <u>E. coli</u>	83
Tabla 26.	Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Confirmación de presencia de <u>E. coli</u> en Medio de cultivo diferencial Eosina Azul de Metileno (EMB).....	86

Tabla 27. Resultados de Etapa III de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Ensayo final aplicando métodos propuestos. Determinación de presencia de <u>Salmonella</u> en 25 g muestra de cilantro.....	87
Tabla 28. Resultados de pruebas bioquímicas realizadas a colonias aisladas con características típicas de <u>Salmonella</u> incubadas en medio diferencial SS (<u>Salmonella</u> – <u>Shigella</u>).....	88

INDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Comportamiento de la carga bacteriana de coliformes totales para Apio (estimada en NMP/g), frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos..... 71
- Gráfico 2. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para Lechuga, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos..... 72
- Gráfico 3. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos..... 73
- Gráfico 4. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para rábano, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos..... 74
- Gráfico 5. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción..... 89
- Gráfico 6. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Fecales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción. 90
- Gráfico 7. Comportamiento de la carga bacteriana de *E. coli* (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción..... 91

INDICE DE ANEXOS

Anexo I.	Código Internacional de Prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas (CAC/RCP 53-2003).....	105
Anexo II.	Fotografías del muestreo realizado para la Fase experimental.....	131
Anexo III.	Resultados de los análisis para determinar concentración de Componentes activos de Desinfectantes.....	132
Anexo IV.	Resultado del análisis de agua potable realizado en Laboratorio Acreditado.....	133
Anexo V.	Fotografías de los procedimientos realizados en las diferentes etapas de la Fase experimental.....	134
Anexo VI.	Fotografías de los resultados obtenidos en las diferentes etapas de la Fase experimental.....	135
Anexo VII.	Procedimiento para la desinfección de hortalizas utilizando los métodos de desinfección propuestos.....	141

INTRODUCCIÓN

Las hortalizas actualmente juegan un papel trascendental en el equilibrio de una dieta balanceada, la cual debe de incluir la ingesta de cantidades considerables de este tipo de alimentos, debido a que presentan excelentes cualidades nutritivas y facilitan la eliminación de toxinas del organismo; sin embargo, en nuestro país no se aplican sistemas de gestión de calidad e inocuidad adecuados desde la siembra hasta la comercialización y consumo de este tipo de alimentos, tales como las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), etc., lo cual trae como consecuencia la contaminación de las hortalizas por microorganismos patógenos, tales como, *E. coli*, *Salmonella* y parásitos.

Los microorganismos antes mencionados han sido identificados en las hortalizas que se comercializan actualmente en El Salvador y que se consumen crudas en diferentes tipos de ensaladas, lo cual ha motivado a la ejecución de una investigación que tenga como finalidad la evaluación y aplicación de métodos de desinfección adecuados a cada una de las hortalizas en estudio, de tal forma que la puesta en práctica de estos métodos permitan a la población el consumo de alimentos inocuos.

En este sentido y las propuestas de métodos de desinfección planteadas en esta investigación, actuarán como medidas correctivas frente a la problemática de contaminación microbiológica presentada en las hortalizas en estudio, hasta que se logre sensibilizar a la población sobre la importancia de producir y consumir alimentos inocuos y de calidad.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.0 INOCUIDAD DE ALIMENTOS

1.1 Generalidades

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que, junto con las nutricionales, las organolépticas y las comerciales, componen la calidad de los alimentos.

Hay numerosos peligros de naturaleza física, química o microbiológica que pueden provocar la pérdida de la inocuidad. Dada la fuerte relación que existe entre este aspecto y la salud de los consumidores, su cuidado adquiere importancia fundamental.

La inocuidad de los alimentos es un elemento fundamental de la salud pública y un factor determinante del comercio de alimentos. Involucra a varias personas interesadas, entre ellos los productores primarios, los manipuladores de alimentos, los elaboradores y los comerciantes, a lo largo de toda la cadena alimenticia, los servicios oficiales de control de alimentos y los consumidores.

1.2 Definición de inocuidad de alimentos

1.2.1 Definición según el Diccionario de La Real Academia de la Lengua Española

La inocuidad es definida por la Real Academia de la Lengua Española como el carácter de ser inocuo, o sea que no causa daño.

Con excepción de alimentos específicos que poseen componentes que pueden causar una reacción alérgica en personas sensibles, los alimentos por si solos no causan daño. El daño a la salud es causado por agentes que pueden estar presentes en dicho producto. Esos agentes pueden ser biológicos (bacterias patógenas, parásitos, ciertos virus etc.), químicos

(residuos de agroquímicos tóxicos, antibióticos, metales pesados etc.) o físicos (objetos duros o punzocortantes).

1.2.2 Definición según Codex Alimentarius

La comisión Codex Alimentarius en el Código Internacional de Prácticas Recomendado - Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP 1-1969, Rev 4, 2003), define el término Inocuidad de los alimentos como la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

El término Inocuidad de Alimentos, de acuerdo a la definición del Codex Alimentarius, comprendería el nivel máximo de peligro microbiológico, químico o físico en los alimentos, considerado aceptable para la protección del consumidor, cuando estos alimentos se consumen de acuerdo al uso previsto.

1.2.3 Definición según la UNE- ISO 22000

En la Norma Española UNE-EN ISO 22000 “Sistemas de gestión de la inocuidad de alimentos. Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria”, se define el término inocuidad de alimentos de la siguiente forma: “concepto que implica que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se prepara y/o consumen de acuerdo con el uso previsto”. Este concepto fue adaptado tomando como base Textos básicos sobre higiene de los alimentos del Codex Alimentarius.

De acuerdo a esta definición, la inocuidad de alimentos es relativa a la ocurrencia de peligros relacionados con la inocuidad de los alimentos y no incluye otros aspectos relativos a la salud humana, por ejemplo: la desnutrición.

1.3 Diferencias en la Traducción del Término inocuidad

Varios conceptos sobre inocuidad de alimentos fueron desarrollados en países de habla Inglesa, y la traducción de esos términos al idioma español presentó confusiones. El mismo término inocuidad se traduce frecuentemente del inglés como seguridad. Sin embargo la Seguridad Alimentaria es la disciplina que estudia el aseguramiento de una provisión alimentaria para una población, mientras que la inocuidad, como se ha mencionado, es el carácter de inocuo o no dañino en un alimento

Una de las confusiones de traducción de más relevancia fue el término usado para referirse a los agentes causantes de daño a la salud.

En inglés el término correcto es hazard, y al traducirse al español se ha usado la palabra riesgo. Esto ha traído confusión, ya que la definición de riesgo es “la contingencia de un daño” y contingencia es la “posibilidad de que una cosa suceda o no suceda” (Diccionario de la Lengua Española). Por lo tanto, el riesgo asociado a un alimento es la probabilidad de que una persona enferme después de consumir dicho alimento.

Para evitar esa confusión, la Comisión del Codex Alimentarius sugirió que estos agentes sean llamados peligros. De acuerdo con el diccionario la definición de peligro es la “inminencia de que suceda un mal.” A pesar de que desde el punto de vista semántico el término peligro no refleja con exactitud el uso que se le da por los especialistas en inocuidad, sí evita la confusión de términos que puede llevar a un entendimiento equivocado de los procedimientos necesarios para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos.

1.4 Calidad de los alimentos

La calidad es definida por la Organización Internacional de Normalización (ISO) como “la totalidad de atributos y características de un producto o servicio basadas en su capacidad para satisfacer necesidades declaradas o implicadas.”

Esta organización indica que la calidad no debe ser confundida con el grado de excelencia, la cual es un resultado de los esfuerzos para mejorar las características del producto o servicio (ISO, 1994).

Llevando esta definición a la práctica en la producción de alimentos, un alimento de buena calidad debe cumplir con características nutricionales, de estabilidad y de inocuidad que sean típicas del producto que se está obteniendo o procesando. Un alimento de buena calidad debe ser:

- a) Nutritivo: el aporte de nutrientes varía según el producto
- b) Idóneo: su naturaleza y composición deben corresponder a aquellas que le son propias
- c) Fresco: carente de deterioro
- d) Sensorialmente aceptable
- e) Inocuo

Un problema que con frecuencia se presenta en la industria de alimentos al aplicar conceptos es el de la calidad y la inocuidad. A pesar de que la calidad incluiría la inocuidad, en la práctica los procedimientos que se siguen para el manejo de la inocuidad difieren considerablemente de aquellos que se siguen para el manejo de los otros componentes de la calidad, como es la estabilidad (vida de anaquel) y la aceptabilidad.

En el manejo de la calidad se siguen esencialmente procedimientos para:

- Establecer la identidad del producto, la cual puede ser establecida arbitrariamente o según un acuerdo con el comprador
- Ajustar un proceso para que dicha identidad o calidad se mantenga
- Verificar que se mantiene dicha calidad.

El proceso de manejo de la calidad involucra el uso de indicadores para asegurar que cada lote de producción se ajusta a las características requeridas. En la industria de alimentos esto se cumple principalmente mediante auditorias y mediante programas de muestreo y análisis del producto.

1.5 Importancia de la inocuidad de alimentos

La inocuidad de los alimentos es sumamente importante ya que impacta tanto la economía como la salud pública.

La falta de inocuidad en la producción y manipulación de alimentos es uno de los factores que da origen a la proliferación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), las cuales han ocasionado graves repercusiones en la salud e inclusive la muerte de una cantidad significativa de personas a nivel mundial.

Los problemas de inocuidad pueden también afectar la economía de los países latinoamericanos, dado que en la mayoría de estos las exportaciones de productos agrícolas, principalmente frutas y hortalizas, constituyen una parte importante de sus ingresos.

Por lo anteriormente descrito es importante enfatizar que el manejo de la inocuidad de los alimentos es un proceso igualmente importante que el manejo de la calidad de los mismos. Usualmente, se realiza a base de la aplicación de programas donde se integra:

- La higiene, mediante la aplicación de buenas prácticas agrícolas y/o buenas prácticas de manufactura
- La estandarización de procedimientos mediante la escritura de procedimientos operativos estándar de saneamiento
- El control de los peligros. El control puede consistir, dependiendo de la medida de control que se use, en reducir, prevenir o eliminar los peligros

Cuando en la cadena alimentaria se ha identificado un peligro que necesita ser controlado y se tiene una medida de control para dicho peligro, es posible la aplicación de sistemas de aseguramiento de la calidad muy conocidos como: Buenas prácticas agrícolas (BPA) (Ver Anexo I), Buenas Prácticas de

Manufactura (BPM), Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).

Actualmente la aplicación de sistemas de aseguramiento de la inocuidad en un elemento de competitividad y reconocimiento por parte de los compradores internacionales, los cuales cada vez son exigentes en cuanto al cumplimiento de requisitos y estándares de calidad e inocuidad.

2.0 HORTALIZAS

2.1 Definición y generalidades

2.1.1 Definición Botánica de hortalizas

Son todas aquellas plantas producidas en la huerta, de las cuales una o más partes son utilizadas como alimento en su forma natural, cocidas o tratadas por otros procedimientos.

2.1.2 Definición Nutricional de Hortalizas

Planta herbácea que puede ser anual o perenne, utilizada en la alimentación humana sin sufrir transformación importante, con bajos niveles de calorías, pero con altos contenidos de vitaminas y minerales, de agua por lo cual son muy perecederas.

2.1.3 Clasificación de Hortalizas

2.1.3.1 Clasificación Botánica

- Verdura: Cuando son utilizadas las partes verdes: yemas, tallos y hojas.
- Legumbres: Cuando se utiliza el fruto o la semilla.
- Raíces Tubérculos y rizomas: Cuando se utilizan las partes subterránea.

2.1.3.2 Clasificación de acuerdo al clima

Se presentan a continuación los distintos grupos en los que se puede dividir a las hortalizas de acuerdo a su adaptación climática:

a) Hortalizas de clima templado-cálido.

A continuación se presenta la Tabla 1., la cual contiene la clasificación de las hortalizas para clima templado.

Tabla 1. Clasificación de hortalizas para clima Templado

Nombre del Grupo	Descripción
Grupo A:	Se adaptan bien a 18-27 °C. No soportan las heladas. Maíz dulce, frijol, tomate, pimiento, güisquil, pepino, melón.
Grupo B:	Cultivos de largo período vegetativo que prospera sobre los 21° C. Sandía, camote, berenjena, chile picante.
Grupo C:	Especie tropical de crecimiento en zonas de alta humedad y temperatura. Mimbres.

b) Hortalizas de clima frío.

En la Tabla 2., se presenta la clasificación de las hortalizas para clima frío.

Tabla 2. Clasificación de hortalizas para clima Frío

Nombre del Grupo	Descripción
Grupo D:	Prefieren temperaturas mensuales promedio de 15 a 18° C. Intolerantes de 21 a 24° C y toleran heladas débiles. Espinaca, repollo, brócoli, rábano, repollito de bruselas, col y berro.
Grupo E:	Prefieren temperaturas entre 15 y 16° C. Intolerante de 21 a 24° C. Se daña cerca de la madurez por heladas. Coliflor, alcachofas, lechuga, arveja, papa blanca, apio, zanahoria, repollo morado, perejil y acelga.
Grupo F:	Adaptado bien a 13 a 19° C. Tolerantes a las heladas. Cebolla, espárrago, ajo, cebollines.

2.1.4 Generalidades de las hortalizas en estudio

2.1.4.1 Apio

Nombre científico: *Apium graveolens L.*

Descripción: Es una hortaliza de la que se aprovechan los tallos, las hojas, las raíces y las semillas. El apio es una hortaliza muy apreciada en la dieta humana, atribuida a sus múltiples beneficios y su alto valor nutritivo.

Valor Nutricional: En la tabla 3 se presenta la composición química así como el valor nutricional del apio

Tabla 3. Composición Química y valor nutricional de las Partes Comestibles del Apio (100 gramos de materia fresca).

Agua	94 g.
Ácido Ascórbico	9 mg
Energía	17 cal
Proteínas	0.9 g.
Grasa	0.1 g.
Carbohidratos	3.9 g.
Calcio	3.9 mg
Fósforo	28 mg
Hierro	0.3 mg
Sodio	126 mg
Potasio	341 mg
Vitamina "A"	241 IU
Tiamina	0.03 mg
Riboflavina	0.03 mg
Niacina	0.3 mg

Fuente: Carrillo R, C. (2002) "Evaluación de tres Densidades y dos arreglos espaciales en Producción Orgánica Hidropónica de Apio (*Apium Graveolens L.*)". Trabajo de Graduación para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de El Salvador, El Salvador.

2.1.4.2 Cilantro

Nombre científico: *Coriandrum sativum*

Descripción: El cilantro fresco se asemeja al perejil liso. Su fruto, de olor suave y sabor picante, contiene dos semillas que son la parte útil de la planta. Tienen un olor a almizcle y limón. Se le atribuyen propiedades de estimulante, antiséptico y antiespasmódico. Se comercializan en estado fresco o seco.

Valor Nutricional: En la tabla 4 se presenta la composición química así como el valor nutricional del cilantro

Tabla 4. Composición Química y valor nutricional de las Partes Comestibles del Cilantro (100 gramos de materia fresca).

Calorías	297,5 KCal
Grasas monoinsaturados	13,6 g
Grasas poliinsaturads	1,8 g
Proteínas	12,4 g
Colesterol	0,0 g
Calcio	708,6 mg
Grasas saturadas	1 g
Magnesio	330,2 mg
Fósforo	408,8 mg
Vitamina C	21 mg
Potasio	1.267 mg
Sodio	35,3 mg
Vitamina A	0,0 IU
Vitamina E	0,0 mg

Fuente: www.infoagro.com

2.1.4.3 Lechuga

Nombre científico: *Lactuca sativa*

Descripción: Una variedad muy conocida es la iceberg. Las hojas exteriores son verdes y crujientes, mientras que las interiores son amarillentas o blancas. Contiene menos elementos nutritivos que las otras variedades. Es rica en agua y tiene pocas calorías. Cuanto más verde, más vitaminas y minerales contiene. Tiene propiedades analgésicas, emolientes y calmantes.

Valor Nutricional: En la tabla 5 se presenta la composición química así como el valor nutricional de la lechuga.

Tabla 5. Composición Química y valor nutricional de la lechuga (100 gramos de materia fresca).

Carbohidratos	20.1 g
Proteínas	8.4 g
Grasas	1.3 g
Calcio	0.4 g
Fósforo	138.9 mg
Vitamina C	125.7 mg
Hierro	7.5 mg
Niacina	1.3 mg
Riboflavina	0.6 mg
Tiamina	0.3 mg
Vitamina A	1155 UI
Calorías	18 cal

Fuente: www.infoagro.com

2.1.4.4 Rábano

Nombre científico: *Raphanus sativus*

Descripción: Por lo general, los rábanos rojos son menos picantes que los negros y sus hojas son comestibles.

Existen dos formas de comercialización: en manojos con hojas; y limpios, es decir, sin hojas ni raíces. Los rábanos y rabanitos se transportan a las unidades de procesamiento en contenedores de plástico o remolques.

Valor Nutricional: En la tabla 6 se presenta la composición química así como el valor nutricional de la lechuga.

Tabla 6. Composición Química y valor nutricional del rábano (100 gramos de materia fresca).

Glúcidos	2.44 g
Prótidos	0.86 g
Vitamina A	30 UI
Vitamina B1	30 mg
Vitamina B2	20 mg
Vitamina C	24 mg
Calcio	37 mg
Fósforo	31 mg
Hierro	1 mg

Fuente: www.infoagro.com

2.2 Microbiología de Hortalizas

Existen una gran variedad de factores que contribuyen a la contaminación de frutas y hortalizas por microorganismos causantes de enfermedades a los humanos. Algunos de los factores que pudieran considerarse de riesgo en la calidad microbiológica de los productos frescos incluyen: el uso de agua de riego contaminada con heces fecales de humanos y animales; procesos inadecuados en los campo de cultivo; prácticas deficientes de desinfección; condiciones inapropiadas durante empaque; higiene deficiente de los trabajadores; y el mal manejo durante almacenamiento y transporte.

Aunado a esto, una vez que ocurre la contaminación, muchos microorganismos patógenos poseen la capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en frutas y hortalizas frescas. Algunos microorganismos son también capaces de sobrevivir a procesos de desinfección, e incluso de multiplicarse en el producto durante almacenamiento.

2.2.1 *Microorganismos en productos frescos*

Dentro de los microorganismos que pueden contaminar los productos frescos y causar enfermedades en los seres humanos, se pueden mencionar, esencialmente, tres tipos de organismos que pueden ser transportados por las frutas y hortalizas y que representan un peligro para la salud humana: virus (hepatitis A, por ejemplo), bacterias (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.* y otras) y parásitos (*Giardia spp.*, por ejemplo). Los hongos normalmente no representan un peligro en sí mismos, sino a través de las micotoxinas que producen. Para que esto ocurra, sin embargo, tiene que haber transcurrido el tiempo necesario para que se desarrolle. En un sistema bien manejado esto es poco probable que ocurra, pues normalmente es detectado y eliminado antes que llegue al consumidor. De todos estos organismos, las bacterias han sido responsables en la mayoría de los casos.

Los protozoarios como *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, y *Cyclospora cayetanesis* producen quistes, los que constituyen la fase resistente, y que es responsable de la transmisión del microorganismo.

Los quistes pueden permanecer en el medio ambiente por períodos de tiempo prolongados y permanecer viables o en condiciones óptimas para causar enfermedad. *C. parvum* causa gastroenteritis severa no tratable, y en individuos inmunodeficientes, la infección puede provocar una mortalidad de hasta 50%.

Al igual que los parásitos protozoarios, los virus no se multiplican en el ambiente. Sin embargo, pueden sobrevivir el tiempo suficiente para causar enfermedades. Dentro de los virus entéricos que pueden ser transmitidos mediante agua y alimentos contaminados se encuentran: virus hepatitis A, enterovirus (polio y Norwalk), adenovirus, rotavirus, astrovirus, entre otros. También se ha encontrado que los enterovirus y rotavirus pueden sobrevivir de 1 a 4 meses en hortalizas durante almacenamiento en refrigeración. El grupo de enterovirus es el grupo de virus más comúnmente detectado en aguas de desecho. Estos pueden causar un amplio rango de enfermedades

incluyendo desde infecciones respiratorias leves, hasta meningitis, parálisis o la muerte.

Entre las bacterias patógenas que han sido asociadas con el consumo de hortalizas frescas se pueden mencionar *Escherichia coli* enterotoxigénica, *E. coli* enterohemorrágica, especies de *Shigella*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campilobacter*, *Clostridium* y *Staphylococcus* entre otras. En general, todos los casos, a nivel mundial, de brotes de enfermedades han puesto en entredicho la inocuidad de las frutas y hortalizas. Esto ha ocasionado que instituciones de salud mundial estén en alerta para vigilar más de cerca la calidad microbiológica del producto de exportación, y tomar medidas para reducir riesgos de contaminación por microorganismos causantes de enfermedades en la población humana.

2.3 Rutas de contaminación microbiológica de hortalizas¹

2.3.1 El riesgo microbiológico en la producción y distribución de frutas y hortalizas

Las distintas etapas que un producto debe pasar desde la cosecha hasta el consumo tanto en fresco como procesado, proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae del campo. La presencia de materiales extraños dentro del envase o sobre el producto, tales como suciedades (tierra, deposiciones animales, grasas o aceites de maquinarias, cabellos humanos, etc.), insectos vivos o muertos, restos vegetales, de materiales de empaque, etc. es profundamente rechazada por los consumidores. Sin embargo, como normalmente se debe a descuidos o irresponsabilidades en la preparación o manipuleo, son fáciles de detectar y eliminar. Mucho más preocupante es la presencia de microorganismos perjudiciales para la salud, no visibles a simple vista ni

¹ Figuerola F., Rojas L. (1993), "Procesamiento de frutas y hortalizas mediante métodos artesanales y de pequeña escala"

detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa. Se ha demostrado que determinados patógenos tienen la capacidad de persistir sobre el producto lo suficiente como para constituir un peligro para el ser humano y de hecho se han reportado numerosos casos de enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas (Ver Tabla 7).

La contaminación microbiana es un problema complejo para resolver (Figura 1). La única estrategia posible es prevenir la contaminación del alimento a lo largo de toda la cadena de producción y distribución, conjuntamente con la ejecución de determinados tratamientos sanitarios y el mantenimiento del producto en condiciones (particularmente temperatura) desfavorables para el desarrollo de los microorganismos. Este enfoque es conocido como «Enfoque de sistemas» («systems approach», Bracket, 1998) en donde las distintas etapas desde la producción hasta el consumo deben ser consideradas como parte de un sistema integrado y no separadas entre sí. Un aspecto importante es el registro y/o documentación de todas las acciones para poder montar un sistema de rastreabilidad que permita detectar los puntos débiles del sistema y establecer medidas (BPA) y de manufactura (BPM), son elementos claves que en muchos casos deben ser complementados con métodos objetivos como el HACCP (Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos) para la determinación de los puntos críticos en donde la seguridad alimentaria puede ser amenazada.

Tabla 7. Patógenos aislados sobre frutas y hortalizas causantes de enfermedades de origen alimentario.

Nombre del patógeno	Hortalizas causantes de enfermedades alimentarias
<u><i>Aeromonas spp.</i></u>	Brotes de alfalfa, espárrago, brócoli, coliflor, lechuga, pimiento.
<u><i>Bacillus cereus</i></u>	Brotes de distintas especies
<u><i>Escherichia coli</i> 0157:H7</u>	Repollo, apio, cilantro, lechuga(*), piña, sidra de manzanas(*), brotes de alfalfa(*)
<u><i>Listeria monocytogenes</i></u>	Repollo, pepino, repollo cortado(*), papa, rábanos, hongos comestibles (*), ensaladas(*), tomates y otras hortalizas
<u><i>Salmonella spp.</i></u>	Tomate(*), brotes de alfalfa("), sidra de manzanas(*), coliflor, apio, berenjena, pimiento, melón cantalupo(*), sandía(*), lechuga, rábanos y diversas hortalizas
<u><i>Clostridium botulinum</i></u>	Repollo cortado(*)
<u><i>Shigella spp.</i></u>	Perejil, hortalizas de hoja, lechuga cortada(*)
<u><i>Cryptosporidium spp.</i></u>	Sidra de manzana(*)
<u><i>Cyclospora spp.</i></u>	Frambuesa(*), albahaca(*), lechuga(*)
<i>Hepatitis A</i>	Lechuga(*), frutilla(*), frutilla congelada(*)

Fuente: Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. Del campo al mercado FAO, Roma, 2003

(*) Enfermedades reportadas. Adaptado de Brackett (1998) y Harris (1998).

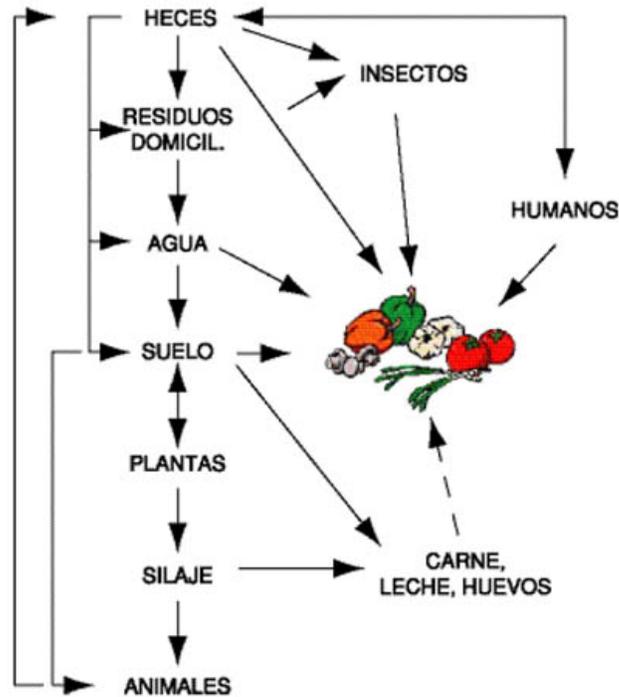


Figura 1. Mecanismos mediante los cuales las frutas y hortalizas se pueden contaminar con microorganismos patógenos (Adaptado de Harris, 1998).

En los siguientes apartados se describirá brevemente los principales puntos de la cadena de producción y distribución en donde existe riesgo de contaminaciones microbianas que puedan afectar la salud humana, las principales medidas preventivas que deben ser tomadas y recomendaciones que puedan servir de base para la redacción de manuales de BPA y BPM específicos para cada región y cultivo.

2.3.1.1 En la precosecha

Si bien algunos microorganismos peligrosos forman parte de la flora natural del suelo o del ambiente, la vía fecal o urinaria (humanos, animales de producción, domésticos o salvajes) es la principal fuente de contaminación y que llega a las frutas y hortalizas fundamentalmente a través del agua usada en riegos o lavados. La presencia de microorganismos en el agua de

superficie (ríos, arroyos, lagos) puede provenir del volcado de aguas servidas por parte de las poblaciones ribereñas ubicadas aguas arriba. Las napas subterráneas tampoco son garantía de inocuidad ya que muchas veces son contaminadas por pozos ciegos, cámaras sépticas o depósitos de residuos domiciliarios. En caso de disponerse solamente de aguas con algún grado de contaminación, se ha demostrado que el riego por goteo enterrado (no en superficie) es el aconsejable evitando mojar el follaje o partes comestibles.

El uso de estiércoles o residuos cloacales como enmiendas o fertilizantes orgánicos así como la presencia de animales en el lote de producción es otra fuente de contaminación. Los estiércoles deben ser compostados aeróbicamente permitiendo que la temperatura se eleve a 60-80 °C por al menos 15 días. Las pilas estáticas y el compostaje con lombrices no otorgan garantías de que los microorganismos sean eliminados. Las aguas servidas y residuos municipales sólo deberían usarse si se dispone de un método efectivo de esterilización.

La producción frutihortícola es altamente demandante de mano de obra, y las condiciones higiénicas a las que los operarios y trabajadores rurales están expuestos constituyen otra posible fuente de contaminación. En primer lugar, normalmente los lotes de producción están alejados de los baños o instalaciones para el aseo personal. Además, cuando se contrata mano de obra migratoria, ésta se radica en el lugar en condiciones precarias hasta terminar el trabajo. Aparte de la instalación de baños portátiles, es necesario que toda persona que manipule alimentos comprenda la importancia de una estricta higiene personal (Ver tabla 8).

El tipo de producto también tiene influencia. Por ser más ácidas, las frutas tienden a ser colonizadas por hongos, mientras que en las hortalizas predominan las bacterias. Las plantas bajas o rastreras como la frutilla y hortalizas de hoja en general, están más expuestas a la contaminación por el suelo, agua de riego y animales que las de alto porte, por ejemplo árboles frutales. Por último, en los jugos celulares de muchas especies existen

compuestos con cierta acción antimicrobiana, como por ejemplo, ácidos orgánicos, aceites esenciales, pigmentos, fitoalexinas, etc. que le otorgan cierta protección.

Tabla 8. Riesgos potenciales de contaminación microbiológica y medidas preventivas.

Etapa	Riesgo	Prevención
Lote de producción	Contaminación fecal por animales	<ul style="list-style-type: none"> • Evitar el acceso de animales de producción, domésticos o salvajes
Fertilizantes	Bacterias patógenas en orgánicos	<ul style="list-style-type: none"> • Usar fertilizantes inorgánicos • Compostar adecuadamente
Riego	Patógenos	<ul style="list-style-type: none"> • Riego posicionado • Evaluación microbiológica de agua
Cosecha	Contaminación fecal Patógenos en contenedores y herramientas	<ul style="list-style-type: none"> • Higiene personal. • Instalaciones portátiles para el aseo. • Concientización • Limpieza y desinfección de herramientas y contenedores
Bodega de empaque	Contaminación fecal Contaminación por agua	<ul style="list-style-type: none"> • Higiene del personal y de Instalaciones sanitarias. Evitar el acceso de animales • Eliminar lugares de albergue de roedores • Métodos alternativos de preenfriado. • Usar agua potable. • Filtrado y clorado del agua recirculada. • Lavados múltiples
Almacenamiento y transporte	Desarrollo patógenos sobre el producto	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuada temperatura y humedad relativa. Especial cuidado de las condiciones dentro del envase. • Limpieza y desinfección de instalaciones. • Evitar reempaque. • Higiene personal.

Venta	Contaminación producto	<ul style="list-style-type: none"> • Higiene personal. • Evitar ingreso de animales. • Evitar fraccionar. Limpieza y desinfección de instalaciones y elementos de venta. • Eliminar basura
-------	------------------------	--

Fuente: Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. Del campo al mercado FAO, Roma, 2003

La cosecha, al igual que todas las operaciones en que el producto es manipulado, provee numerosas oportunidades para la contaminación a través de las lesiones que exponen los tejidos internos liberando látex y otros jugos vegetales sobre el resto, condición necesaria para que los microorganismos presentes en las manos y ropa de los operarios, herramientas de cosecha o envases tengan la oportunidad de establecerse. La contaminación en cualquier punto de la cadena se incrementa por un inadecuado manejo de las condiciones, particularmente temperatura, a la que el producto es expuesto hasta el consumo.

2.3.1.2 Preparación para mercado

Las consideraciones hechas en la sección anterior referidas a las lesiones en el producto e higiene de los operarios y equipamientos son también válidas aquí, con algunas recomendaciones adicionales:

- a) En una bodega de empaque o línea de procesamiento no se debe permitir trabajar a personas enfermas o con heridas abiertas. El personal en contacto con el producto debe usar redes protectoras de cabello y delantales o uniformes limpios. La ropa de calle y los efectos personales deben permanecer fuera del ambiente en que se procesa el alimento. Tampoco se debe permitir comer o beber allí. Los operarios deben lavarse las manos al iniciar la labor diaria y cada vez que reingresen a la línea de trabajo, particularmente luego de ir al baño.

- b) En la preparación para mercado, sin embargo, la principal fuente de contaminación probablemente sea el agua, la que es esencial tanto para la limpieza de las instalaciones y envases, la higiene del personal así como en las operaciones de vaciado, lavado, hidrogenfriado además de ser el soporte de los agroquímicos, ceras y otros compuestos.

3.0 MÉTODOS DE DESINFECCIÓN PARA HORTALIZAS

3.1 Generalidades de la desinfección de hortalizas

La contaminación superficial de las hortalizas varia en número y tipo dependiendo del producto y del manejo previo y posterior a la cosecha, que dicho producto haya recibido, por lo que para asegurar la inocuidad de las hortalizas es necesario minimizar la contaminación de los productos con microorganismos patógenos que pueden afectar la salud de los consumidores.

Existen varios métodos para reducir la flora superficial de las hortalizas, sin embargo cada método tiene ventajas y desventajas dependiendo del producto y del proceso. En general los métodos utilizados se basan en procesos físico y/o químicos.

La conservación de alimentos tratados con aporte de bajas temperaturas o tratamiento térmico constituye la forma más efectiva y eficiente de reducir la contaminación en las industrias alimentarias. No obstante, se dan situaciones en que es preferible eliminar o destruir los microorganismos con agentes químicos, tanto por razones técnicas como de tipo económico.

Los métodos químicos involucran el uso de agentes químicos como desinfectantes superficiales. En general estos desinfectantes químicos se utilizan en soluciones acuosas, sin embargo existen algunos casos de desinfectantes gaseosos.

Las etiquetas, que amparan la venta de estos productos, no relacionan, necesariamente, todos los ingredientes, ni indican las limitaciones que puede presentar su uso. Por otro lado, ciertos organismos oficiales evalúan estas

formulaciones y dan el visto bueno a las que consideran aceptables, de acuerdo con unas condiciones específicas (U.S. Department of Agriculture, 1977).

Actualmente se está promoviendo el uso de métodos no químicos para la desinfección de hortalizas, lo cual permite el uso de diferentes sustancias generalmente de origen vegetal para la reducción de la flora microbiana presente en las hortalizas.

Los desinfectantes actualmente disponibles pueden reducir los contaminantes microbianos, pero no pueden eliminarlos por completo.

3.1.1 Definición de Desinfección

Se le denomina desinfección a la destrucción de microorganismos, mediante procedimientos o agentes físicos o químicos satisfactorios, “aplicados en superficies limpias” de forma que se reduzca el número de microorganismos que pueden causar infección u ocasionar otros efectos indeseables.(FDA, 1998)

Tomando como base la definición antes planteada se puede decir que desinfectar significa tratar los productos limpios mediante un proceso eficaz para destruir o reducir substancialmente las cantidades de microorganismos que implican un riesgo para la salud pública, así como otros microorganismos no deseados, sin afectar negativamente a la calidad del producto o su seguridad para el consumidor. (FDA,1998)

Actualmente en la industria alimenticia se utiliza el término sanitización usualmente cuando se tratan los productos, las áreas de producción y los equipos empleados en la elaboración de productos, con agentes químicos o físicos, con el propósito de reducir el contenido microbiano hasta niveles insignificantes.

Cuando se va a llevar a cabo un proceso de desinfección o sanitización, es necesario que toda la superficie a tratar se encuentre bien limpia, de lo

contrario, la presencia de materia orgánica e inorgánica puede inactivar el efecto de la sustancia química utilizada.

Generalmente la solución desinfectante o sanitizante se puede aplicar utilizando paños, cubriendo la superficie con la solución, por nebulización o por inmersión

3.1.2 Definición de Desinfectante

Se conocen con el nombre de desinfectantes a aquellos agentes químicos capaces de reducir, a niveles insignificantes, la tasa de patógenos y demás microorganismos. (FDA, 1998)

También se denominan productos depuradores o de saneamiento, cuando se aplican a los sistemas de abastecimiento de aguas (Johnson, 1975), al material y equipo de las fábricas de alimentos, en los mercados minoristas y en los establecimientos donde se expenden alimentos (U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1976a).

Los desinfectantes son más útiles en aquellas industrias alimentarias en las que la aplicación de calor o frío no es el procedimiento más adecuado para luchar contra la contaminación microbiana.

Los agentes desinfectantes y sustancias químicas no son eficaces si los patógenos se han introducido en el producto.

El empleo de agentes desinfectantes no debe sustituir la aplicación de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), sino utilizarse como una medida adicional para minimizar la probabilidad de riesgos microbiológicos en los productos frescos.

3.2 Clasificación de los métodos de Desinfección para hortalizas²

² International Commission on microbiological specifications for foods "ICMSF" (1980) "Ecología microbiana de los alimentos. Parte 1", Editorial Acribia, España.

3.2.1 Métodos Químicos de Desinfección

Los desinfectantes más utilizados en la actualidad para tratar hortalizas, según el grupo químico al que pertenecen incluyen:

- Halógenos: cloro, dióxido de cloro, yodo, bromo
- Compuestos iónicos: Fosfato Trisódico (FTS), Compuestos de amonio cuaternario (Quats), Ácidos Orgánicos.
- Oxígeno “activo”: peróxido de hidrógeno, ácido peracético, ozono
- Detergentes

A continuación se explican los agentes desinfectantes utilizados para el desarrollo de la investigación.

3.2.1.1 Halógenos y compuestos halogenados: Cloro

El cloro es uno de los desinfectantes más utilizado en la industria alimenticia. Se utiliza para el tratamiento del agua potable, de procesamiento y lavado, equipos y otras superficies. (Richardson et al., 1998).

El cloro es un germicida eficaz contra carga microbiana, su acción germicida depende de la concentración empleada, pH, temperatura, contenido de materia mineral y orgánica.

Algunos agentes de cloración son:

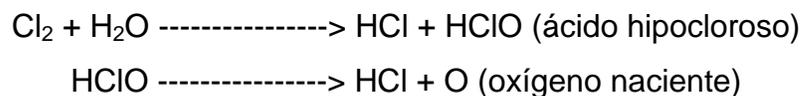
- Cloro gaseoso (Cl_2): barato, fácil aplicación, tóxico e irritante para la garganta, pulmones y piel, corrosivo en presencia de agua.
- Hipocloritos (NaClOH): fácil de aplicar, requiere pequeños volúmenes de agua, son inestables, elevan pH, acción germicida baja en presencia de materia orgánica.

→ Cloraminas: estables a temperatura elevada, poco poder germicida, acción germicida de larga duración, requiere largo tiempo de exposición.

La capacidad del cloro para destruir microorganismos depende de la cantidad de cloro residual libre, es decir, el cloro restante después de que reaccione con la material orgánica, en el agua (Gavin y Weddig, 1995).

El cloro reacciona con las impurezas del agua, como los minerales y sólidos orgánicos de los productos que se lavan. La cantidad de cloro que reacciona se denomina generalmente “demanda de cloro” del agua. Una vez satisfecha la demanda de cloro, hay un punto de inflexión en el que las posteriores adiciones de cloro existirán en forma de cloro residual libre. Las propiedades desinfectantes son proporcionadas únicamente por el cloro libre (Gavin y Weddig, 1995).

La muerte de los microorganismos por acción del cloro se debe en parte a la combinación directa del cloro con las proteínas de las membranas celulares y los enzimas. Así mismo en presencia de agua desprende oxígeno nascente (O) que oxida la materia orgánica:



Para la destrucción de coliformes, mohos, virus, bacteriofagos y esporas, exige un alto contenido de cloro residual libre. La presencia de proteínas disminuye su contenido residual por lo cual no es recomendable de emplear en productos con alto contenido de ellas.

3.2.1.1.1 Consideraciones para el uso del Cloro

Algunas consideraciones que deben tomarse en cuenta para el uso de soluciones de cloro como agentes desinfectantes para productos agrícolas frescos, son los siguientes:

- Los contenedores de metal y equipos de procesamiento pueden sufrir corrosión si el pH de la solución de cloro es demasiado bajo.
- Un pH de 6.0 –7.5 a 20° C (68° F) es adecuado, ya que hay suficiente ácido hipocloroso (HOCl) disponible para desinfectar el producto pero puede minimizarse la corrosión del equipo.
- El cloro se evapora cuando se eleva la temperatura de lavado
- El cloro pierde su eficacia cuando el agua de lavado contiene grandes cantidades de materia orgánica o cuando la solución se expone al aire, luz o metales. La cantidad de cloro libre puede monitorearse con unidades automatizadas o con kits comerciales.
- Debido a que el cloro puede provocar irritación cutánea después de una exposición prolongada, se recomienda el uso de equipo de protección.

Las soluciones de cloro contienen moléculas de HOCl (ácido hipocloroso) y sus iones H^+ y ^-OCl en equilibrio. De ellos, la forma no disociada del ácido HOCl es la forma que ejerce el efecto letal en los microorganismos. El equilibrio entre estas sustancias químicas se ve afectada por el pH. Los propios desinfectantes de cloro cambian el pH.

A medida que desciende el pH, el equilibrio favorece la forma letal del ácido (HOCl). Por tanto, el pH es un importante factor en el efecto desinfectante de las soluciones de cloro. No obstante, un pH bajo favorece las reacciones de corrosión del metal, por esta razón, el uso de estos niveles de pH es más dañino para el equipo.

El control de la temperatura debe formar parte de los Procedimientos Operativos Estándares de Sanitización para la preparación adecuada y el uso de este desinfectante. También debe monitorizarse el pH del agua – el rango óptimo es de 6.0 a 7.5.

Cuando los valores del pH se encuentran fuera de este rango óptimo, pueden ajustarse mediante la adición de ácidos orgánicos o inorgánicos para reducir el pH. Normalmente se inyecta cloro gaseoso en una corriente de agua que pasa

a través de un lecho de conchas de ostras trituradas u otro material alcalino que lleve el pH hasta casi el neutro. El agua pasa entonces al depósito de malla después de producido este ajuste del pH. Otros materiales alcalinos como el bicarbonato sódico o la lejía diluida (hidróxido) también pueden utilizarse para elevar el pH.

En la tabla 9, se presentan las ventajas y desventajas del uso del cloro como agente desinfectante.

Tabla 9. Ventajas y Desventajas del uso del Cloro como Agente Desinfectante

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Relativamente barato • Acción rápida • Amplia acción contra muchos microorganismos • Incoloro • Fácil Preparación y uso • Fácil determinar la concentración 	<ul style="list-style-type: none"> • Inestable durante el almacenamiento • Afectado por el contenido de materia orgánica(Pérdida de efecto germicida) • Los virus tienden a ser resistentes • Corrosivo • La eficacia desciende cuando aumenta el pH de la solución • Tóxico a altos niveles

Fuente: International Commission on microbiological specifications for foods "ICMSF" (1980)

3.2.1.2 Halógenos y compuestos halogenados: Yodo

Las soluciones de yodo son menos afectadas por el contenido de materia orgánica del agua de lavado que el cloro, sin embargo pueden teñir el equipo utilizado para manipular frutas y hortalizas y reaccionar con el almidón para formar un color azul-púrpura. Por esta razón, su aplicación en frutas y hortalizas se limita a los productos sin almidón.

- El yodo es más fácil de manejar que las soluciones de hipoclorito de sodio
- El yodo se inactiva menos que el cloro por sustancias orgánicas
- Estas soluciones protegen contra protozoos y sus formas quísticas

3.2.1.2.1 Yodóforos

Los compuestos yodóforos son agentes tensoactivos no iónicos, germicidas en medio ácido, que actúan sobre bacterias butíricas, tienen el inconveniente de ser corrosivos y puede impartir coloraciones y sabores no deseables.

Un yodóforo es una combinación de yodo y una sustancia solubilizante, formando así un complejo que libera lentamente yodo orgánico. El yodo penetra fácilmente en los microorganismos a través de sus membranas celulares, destruyendo las proteínas.

Algunas características de los compuestos yodóforos son:

- a) Son bactericidas de potencia intermedia
- b) Poseen actividad frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, pero tienen escasa actividad frente a micobacterias
- c) Son activos frente a virus con y sin envoltura
- d) Su actividad se reduce en presencia de sustancias alcalinas y materia orgánica
- e) Son corrosivos para los metales.

3.2.1.3 Compuestos iónicos: Compuestos de amonio cuaternario (Quats)

Los compuestos de amonio cuaternario representan una familia de compuestos antimicrobianos, considerados como agentes activos catiónicos potentes en cuanto a su actividad desinfectante, ya que son activos para eliminar bacterias gram positivas y gram negativas en menor grado.

Son generalmente incoloros o amarillentos, no irritantes y desodorantes. Por su estructura química a bajas temperaturas tienden a “gelarse” pero recuperan su estado líquido al calentarlos. También tienen una acción detergente y son solubles en agua y alcohol. Tienen como estructura básica el ión amonio (NH_4^+), la cual al ser modificada da lugar a diferentes generaciones.

Presentan algunas ventajas sobre otros desinfectantes, ya que no son corrosivos y son estables a altas temperaturas. Sin embargo su espectro de acción antimicrobiana es menor que la de los sanitizantes clorados. Son muy eficaces frente a hongos, levaduras y bacterias Gram positivas como Listeria monocytogenes, mientras que su acción es menor en Gram negativas como coliformes o Salmonella spp. Sin embargo debe tenerse en cuenta que la actividad antimicrobiana varía según el tipo de amonio cuaternario utilizado (Marriott, 1999).

El modo de acción antimicrobiana se puede resumir en una adsorción del compuesto en la superficie microbiana, una posterior difusión en el interior de la célula, unión a la membrana citoplasmática y ruptura de la misma con la liberación de contenido citoplasmático (Merianos, 1991)

Los compuestos de amonio cuaternario, son relativamente estables en presencia de materia orgánica. El rango de pH óptimo para acción antimicrobiana, es de 6-10. No son compatibles con detergentes aniónicos.

3.2.1.3.1 Solución de Cloruro de Benzalconio

De los compuestos de amonio cuaternario, el cloruro de benzalconio fue el primer compuesto de este tipo introducido en el mercado y es también denominado como cloruro de N-Alquil Dimetil Bencil Amonio, donde la cadena alquílica puede tener variaciones en la composición de número de carbonos. Las cadenas alquílicas de 12 y 14 Carbonos, son las que representan mayor poder antibacteriano.

El Cloruro de Benzalconio es utilizado como desinfectante y fungicida preparado en solución acuosa a diferentes proporciones.

La solución de cloruro de Benzalconio, es un líquido incoloro, transparente, con olor aromático y sabor amargo.

3.2.1.4 Detergentes

3.2.1.4.1 Propiedades deseables

Los detergentes han de poder eliminar muchos tipos de suciedad bajo circunstancias distintas; por lo tanto, la relación de propiedades exigidas a un buen detergente es grande. El detergente ideal debería:

- a) Ser fácilmente soluble en agua a la temperatura necesaria.
- b) No ser corrosivo para las superficies del equipo.
- c) Carecer de acción irritante sobre la piel y los ojos y no ser tóxico.
- d) Inodoro.
- e) Biodegradable; los detergentes han creado problemas al formar espuma en los sistemas de eliminación de efluentes, si bien actualmente han sido superados con el empleo de detergentes que son degradables por las bacterias del efluente.
- f) De empleo económico; el precio más bajo por unidad de volumen puede no corresponder necesariamente al que resulta de empleo más económico.
- g) Fácilmente arrastrables con agua; las soluciones de detergentes deben enjuagarse sencillamente, de forma que no queden restos adheridos a las superficies limpias.
- h) Estables durante los periodos de almacenamiento largos.
- i) Limpiadores efectivos de todo tipo de suciedad; debido al gran espectro de sustancias que deben eliminarse con los detergentes, tienen que poder:
 - Humedecer la superficie del material sucio, es decir, rebajar la tensión superficial del agua de forma que ésta pueda penetrar en la suciedad y eliminarla más fácilmente de la superficie a limpiar.

- Dispersar los materiales insolubles, que en otro caso formarían agregados, y mantenerlos en suspensión de forma que puedan ser arrastrados antes de que se redepositen en la superficie limpia.
- Disolver las suciedades solubles tanto orgánicas como inorgánicas; cuanto más rápida sea la solución mejor será el detergente.
- Emulsificar grasas y aceites, es decir, descomponerlos en glóbulos pequeños y dispersarlos de forma que permanezcan suspendidos en solución.
- Saponificar las grasas, esto es, convertirlas en jabones solubles.
- Secuestrar (es decir, ligar e inactivar) las sales de calcio y magnesio disueltas en las aguas duras, de forma que se evite su precipitación y no disminuya la eficacia de la limpieza. Ejemplo de esta precipitación es la formada al emplear jabón para lavar con agua dura. En esencia los detergentes tienen que poder ablandar el agua dura cuando sea necesario, si bien debe anticiparse que en las regiones de aguas duras han de instalarse sistemas de ablandamiento

Es de hacer notar que se espera que los detergentes posean propiedades bactericidas, si bien algunos las tienen en la práctica. Sin embargo, los detergentes eliminan físicamente un gran número de bacterias durante la limpieza lo que facilita la desinfección posterior. Puesto que, hasta ahora, ningún producto químico posee todas las propiedades citadas, deben mezclarse varios para obtener formulaciones equilibradas de detergentes, aptas para cada necesidad de limpieza específica.

3.2.1.4.2 Clasificación de los detergentes

Los detergentes pueden clasificarse como sigue:

a) *Álcalis inorgánicos, cáusticos y no cáusticos.*

El principal ingrediente de muchos detergentes es un álcali. El hidróxido sódico (sosa cáustica) es el más fuerte de los álcalis y además barato. Posee excelentes propiedades disolventes, es bactericida. Sin embargo, es muy corrosivo para los metales y en especial para el aluminio; debe tenerse gran cuidado al manipularlo pues puede producir graves quemaduras en la piel; por esta razón cuando se trabaja con este detergente, deben emplearse ropas y anteojos protectores y guantes de goma resistentes. Como todos los detergentes alcalinos el hidróxido sódico precipita las sales cálcicas y magnésicas insolubles del agua dura por lo que en cualquier formulación de estos detergentes deben añadirse secuestrantes a los limpiadores alcalinos.

Las principales propiedades de éste y de otros importantes ingredientes de este tipo de detergentes se muestran en la Tabla 10.

b) Ácidos inorgánicos y orgánicos.

Los ácidos se emplean poco en la industria alimentaria ya que son corrosivos en mayor o menor extensión, y carecen de versatilidad como agentes de limpieza; además muchos son peligrosos y pueden causar quemaduras graves por lo que deben usarse ropas protectoras.

Los ácidos orgánicos que poseen acción bacteriostática, son mucho más débiles que los inorgánicos y por lo tanto, más seguros durante su manejo. Entre los ácidos orgánicos que se incorporan a las fórmulas de detergentes se encuentran los siguientes: glucónico, hidroxiacético, cítrico y tartárico. Los detergentes ácidos generalmente llevan inhibidores de la corrosión y agentes humectantes y como tales pueden emplearse para eliminar los depósitos inorgánicos y la piedra de la leche y para el lavado de botellas.

c) Agentes de superficie activa: aniónicos, no-iónicos, catiónicos y anfotéricos.

Los agentes de superficie activa o surfactantes disminuyen la tensión superficial del agua para facilitar el mojado. El agente de superficie activa clásico es el jabón que está constituido corrientemente por sales potásicas o sódicas de los ácidos grasos, como el esteárico, palmítico y oleico. Los jabones son razonablemente eficaces con el agua blanda, pero su menor

solubilidad en agua fría supone un inconveniente; además los jabones forman precipitados con el calcio de las aguas duras originando depósitos insolubles. Por estas razones han sido sustituidos en gran parte por los detergentes sintéticos que son aniónicos, catiónicos, no iónicos, y anfotéricos, dependiendo de su carga eléctrica activa cuando están en solución.

Cuando predominan las cargas negativas el surfactante se clasifica como aniónico, si lo hacen las positivas como catiónico mientras que si no se disocian en solución se denominan no iónicos. Cuando la carga predominante varía, según que prevalezcan las condiciones ácidas o alcalinas, el surfactante se denomina anfotérico.

Actualmente se dispone de agentes de superficie activa que forman parte de fórmulas de detergentes. Los surfactantes son corrientemente excelentes agentes emulsionantes, tienen buenas propiedades humectantes y poder de penetración, no son corrosivos, ni irritantes y son arrastrados fácilmente por el agua. Además son muy soluble en agua fría, en gran parte no son afectados por el agua dura y muchos son estables en condiciones ácidas y alcalinas; dadas estas propiedades tan variadas no sorprende su amplia utilización en la actualidad. Mientras que la actividad bactericida de los detergentes aniónicos y no iónicos es escasa, la de los catiónicos hace que se empleen como desinfectantes y esterilizantes.

d) Agentes secuestrantes inorgánicos y orgánicos.

El agua verdaderamente blanda posee propiedades limpiadoras que van disminuyendo progresivamente a medida que cada vez se disuelven en ella más sales de calcio y magnesio; esto es, el agua se vuelve más dura lo que lleva a una mayor tendencia de las sales a precipitar y a formar escamas. Los agentes secuestrantes se adicionan a los detergentes para evitar la precipitación de las sales, aunque a la larga resulta mucho más barato ablandar el agua que añadir grandes concentraciones de secuestrantes a los detergentes. Obviamente, la cantidad de secuestrantes que se adicionan depende de la dureza del agua y de la fórmula general del detergente.

Como secuestrantes inorgánicos se emplean mucho los polifosfatos que, además, les proporcionan a los detergentes otras propiedades convenientes; muchos son buenos emulgentes, agentes disolventes y dispersantes y generalmente facilitan el enjuagado.

Los principales secuestrantes orgánicos, llamados también agentes quelantes, son el ácido etilendiaminotetra-acético (EDTA) y el ácido nitriloacético (NTA), sus sales sódicas y potásicas y las sales sódicas de los ácidos glucónico y heptónico. A pesar de su coste, se utilizan mucho en las fórmulas de detergentes líquidos debido a su gran solubilidad.

3.2.1.4.3 Formulación de detergentes

Las fórmulas modernas de detergentes son mezclas, cuidadosamente preparadas, de distintas sustancias químicas, cada una de las cuales contribuye a las propiedades buscadas en el detergente. Cada tipo de suciedad a eliminar y cada superficie a limpiar exigen, en condiciones ideales, un detergente distinto, pero en la práctica, con tres o cuatro fórmulas distintas puede ser suficiente.

En el comercio existen detergentes en polvo y líquidos. Los primeros tienen la ventaja de estar corrientemente más concentrados, es más difícil que se pierda material al preparar sus soluciones, pero éstas deben prepararse convenientemente. Posiblemente los líquidos se distribuyen y miden con más facilidad y exactitud, pero en la práctica se pierde bastante detergente concentrado debido a que se preparan soluciones demasiado fuertes.

Un agente de limpieza de tipo general debe contener sustancias alcalinas para disgregar la grasa, surfactantes para facilitar la humectación, la dispersión y el enjuagado y secuestrantes para estabilizar el magnesio y el calcio; el nivel de secuestrantes debe ajustarse cuidadosamente, de acuerdo con el grado de dureza del agua y con la concentración a utilizar. Sin embargo, la prueba final de la eficacia de cualquier detergente se mide por el grado de limpieza

alcanzado en la práctica, por el tiempo y por el esfuerzo y dinero necesarios para alcanzarlo.

3.2.1.4.4 Factores que influyen en la eficacia de los detergentes

La importancia de controlar la dureza del agua, ablandándola o adicionándole agentes secuestrantes ha sido ya mencionada, sin embargo, otros factores influyen también en la eficacia de los detergentes. Entre ellos deben citarse: concentración y temperatura de la solución de detergente, tiempo durante el que actúa y fuerza con que se aplica.

Todo detergente tiene una concentración mínima necesaria para una limpieza eficiente bajo una serie de circunstancias dadas (ver tabla 10); el aumentar la concentración por encima de ese mínimo, mejora el efecto limpiador, pero con unos rendimientos cada vez menores y con unos costes cada vez mayores, por lo que hay una concentración óptima que debe buscarse en condiciones comerciales.

Tabla 10. Propiedades importantes de los componentes principales de las formulaciones de detergentes

Detergente		Poder humectante	Poder dispersante	Poder disolvente	Poder emulsificante	Poder saponificante	Poder secuestrante	Arrastre por agua	Corrosividad ^b	Poder bactericida
Clase	Componente									
Álcalis inorgánicos	Hidróxido sódico	1	1	4	1	4	0	1	0	4
	Metasilicato sódico	2	3	3	3	3	1	3	2	2
	Carbonato sódico	1	1	2	1	2	0	1	2	1
	Fosfato trisódico	2	3	2	3	3	2	3	1	2
Ácidos	Ácido sulfámico	1	1	3	1	1	3	1	0	3
	Ácido hidroxiaacético	1	1	2	1	1	3	2	2	2
Tensioactivos	Alquilbenceno sulfonato sódico	4	4	2	4	0	0	4	4	0
	Lauril sulfato sódico ^c	4	4	2	4	0	0	3	4	0
	Nonil-fenol etoxilato	4	4	2	4	0	0	2	4	0
	Dodecil-diaminoetil glicina	4	3	2	4	0	0	3	4	1
	Pirofosfato tetrasódico	1	2	2	2	2	3	3	4	1
Secuestrantes	Uipolifosfato sódico	1	3	3	2	1	3	2	4	0
	Hexametáfosfato sódico	1	3	1	2	1	3	3	4	0

^a 4 = Excelente; 3 = Bueno; 2 = Regular; 1 = Pobre; 0 = Sin actividad.

^b 0 en esta columna corresponde al producto más corrosivo; 4 equivale a no corrosivo.

^c Inestable en presencia de ácidos.

Fuente: International Commission on microbiological specifications for foods "ICMSF" (1980)

A medida que aumenta la temperatura, la velocidad de la reacción del detergente y la suciedad también lo hacen, lo mismo que la solubilidad de los productos solubles, todo lo cual se traduce en que la suciedad se elimina de las superficies más fácilmente.

3.2.2 Métodos No Químicos de Desinfección

A continuación se describen los métodos no químicos de desinfección, que se utilizarán en el desarrollo de la etapa experimental de la investigación.

3.2.2.1 Orégano

El orégano, (*Origanum vulgare*), es una herbácea perenne aromática del género *Origanum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Son las hojas de esta planta las que se utilizan como condimento tanto secas como frescas, aunque secas poseen mucho más sabor y aroma.

Origanum vulgare es una planta vivaz (que vive más de dos años), de tallo recto, que alcanza entre 30 y 80 centímetros y no es redondo sino, curiosamente, cuadrado, ramificado en la parte más alta, totalmente cubierto de pelusilla blanca. Posee un rizoma rastrero.

Las hojas brotan de dos en dos en cada nudo, enfrentadas, son enteras, ovaladas, acabadas en punta, también se recubren de pelusilla por ambas caras y su longitud es de hasta 4 centímetros. Poseen peciolo y aparecen cubiertas también de glándulas.

Las flores se disponen en verticilastros que forman espiguillas de hasta 3 centímetros; las flores son muy pequeñas (los pétalos no sobrepasan los 2 ó 3 milímetros de longitud), de color violeta rosado, rezuman unas gotitas de un líquido amarillento aromático. Florece en verano, de julio a octubre, y su fruto es un tetraquenio con cada parte ovoidea y lisa, es seco y globoso.

Los principios activos del orégano se encuentran en la esencia, ese líquido amarillo que se puede observar, con buena vista, en el interior de las flores y que también se localiza en las hojas. Se compone principalmente de aceites esenciales, resina y algún tanino; este último también abunda en los tallos (de ahí su sabor amargo).

La planta contiene ácidos fenólicos, cafeico, clorogénico, rosmarínico; flavonoides: derivados del apigenol, del luteolol, del diosmetol; ácido ursólico; sustancias tánicas y elementos minerales.

Sus propiedades han sido ampliamente estudiadas, siendo las más importantes su actividad antioxidante, antimicrobiana y, en estudios bastante primarios, antitumoral, también se la considera tónica y digestiva.

En la actualidad existe una gran demanda de los compuestos minerales y esenciales del orégano debido a sus conocidas propiedades antioxidantes, asociadas al carvacrol y el timol, fungicidas y bactericidas además de citotóxicas.

3.2.2.2 Vinagre

El vinagre es esencialmente una solución diluida de ácido acético hecho por fermentación, a la que se le agregan sales y extractos de otras materias. Estas sustancias adicionales, cuya naturaleza y cantidad exacta dependen sobre todo del ingrediente utilizado, dan al producto su cualidad distintiva. El azúcar es la base en la producción del vinagre. Cualquier solución diluida de un azúcar fermentable puede transformarse en vinagre en condiciones favorables. Muchos jugos de frutas se prestan para este fin si contienen en proporción apropiada azúcar y otras sustancias necesarias o deseables.

Todo vinagre se hace por dos procedimientos bioquímicos distintos y ambos son el resultado de la acción de microorganismos. El primer proceso es llevado a cabo por la acción de fermentos que transforman el azúcar en alcohol y en el gas bióxido de carbono. Esta es la fermentación alcohólica. El

segundo proceso resulta de la acción de un grupo amplio de aceto-bacterias que tienen el poder de combinar el oxígeno con el alcohol, para así formar ácido acético. Esta es la fermentación acética o acetificación.

El vinagre puede ser usado en muchas formas, tiene usos que van desde ser un ingrediente versátil de sus comidas, un agente medicinal, hasta un elemento de gran utilidad en la limpieza del hogar y los equipos utilizados en la industria de alimentos.

El vinagre como agente antibacterial, se utiliza en el hogar y a nivel industrial para eliminar bacterias que pueden ser dañinas a la salud, ya que evita el crecimiento de hongos, desinfecta los equipos que se utilizan para procesar alimentos y neutraliza los malos olores característicos de ciertos alimentos.

3.3 Límites permisibles para el uso de desinfectantes

A continuación se presentan los límites permisibles de uso de los desinfectantes químicos presentados en referencias bibliográficas:

3.3.1 Halógenos y compuestos halogenados: Cloro

El efecto de soluciones de hipoclorito sobre microorganismos en la superficie de hortaliza está bien documentado y en general se utiliza en concentraciones de de 50-200 ppm con un tiempo de contacto de 1-2 minutos (CFSAN/FDA, 2001).

Las máximas reducciones alcanzadas son de aproximadamente 2 órdenes, siendo en muchos casos similares a las alcanzadas por tratamiento con agua.

Los hipocloritos se encuentran implicados en una gran porción de los envenenamientos causados por los desinfectantes que han sido informados a los centros de control de envenenamientos en los Estados Unidos. La mayoría de estos han sido soluciones sódicas o de hipoclorito cálcico.

El hipoclorito de cálcico y sódico poseen una toxicidad relativamente baja. Son levemente corrosivos para los ojos, y se ha informado que causan

quemaduras en las membranas mucosas. Los envenenamientos severos no son muy frecuentes en estas soluciones con estos agentes.

3.3.2 Halógenos y compuestos halogenados: Yodo

La destrucción de microorganismos por el yodo no depende sólo de la concentración, sino que además depende del tiempo de contacto (cada microorganismo necesita un tiempo de contacto diferente) y de la temperatura del agua, es necesaria una concentración más elevada a temperaturas bajas o bien un mayor tiempo de contacto.

En general se recomienda para tratamiento directo con hortalizas, el uso de soluciones de yodo a concentraciones entre 20 y 30 ppm.

El riesgo para utilizar yodo es bajo, una sobredosis provoca el vómito, por el que se expulsa cierta cantidad. Respecto a la toxicidad crónica, si se siguen las dosis recomendadas, no parece que se deba preocupar.

3.3.3 Cloruro de Benzalconio

Los compuestos de amonio cuaternario, son surfactantes catiónicos utilizados para la desinfección de paredes, suelos, drenajes, equipos y otras superficies en contacto con los alimentos en las plantas de procesamiento de frutas y hortalizas.

Aunque los Quats en general no están aprobados para el contacto directo con los alimentos, pueden tener una utilidad limitada en el tratamiento de frutas y hortalizas frescas que tienen que ser peladas antes del consumo (CFSAN / FDA, 2001).

4.0 EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

En general cuando se evalúa la acción de un método desinfectante en general se determina la reducción de la carga microbiana alcanzada con el

tratamiento. Esta reducción se puede expresar en porcentaje de órdenes o unidades logarítmicas (log).

La actividad germicida de los desinfectantes depende de las condiciones de uso, como concentración, tiempo, temperatura, pH, dureza de las aguas, clase y cantidad de materia orgánica presente, características de la superficie y tipos y concentración de los microorganismos a destruir. Estas no solamente influyen en la eficacia de la desinfección, sino también en la rapidez con que estas soluciones rebajen su fuerza, lo que determina, con frecuencia, que sea necesario repetir la operación de desinfección.

Las características que debe presentar un desinfectante para considerar "ideal" son:

- a) *Actividad antimicrobiana*: debe ser capaz de matar a los microorganismos. A baja concentración debe tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana.
- b) *Solubilidad*: ser soluble en agua u otros solventes, en la proporción necesaria, para su uso efectivo.
- c) *Estabilidad*: durante el almacenamiento los cambios en sus propiedades deben ser mínimos y no deben causar una pérdida significativa de su acción germicida.
- d) No debe ser tóxico para el hombre ni los animales.
- e) *Homogeneidad*: la preparación debe ser uniforme en composición, de manera que los ingredientes activos estén presentes en cada aplicación.
- f) No se debe combinar con materiales orgánicos extraños.
- g) Debe ser tóxico para los microorganismos a la temperatura ambiente
- h) Capacidad para penetrar: esto no es necesario si se requiere sólo una acción superficial.
- i) No debe ser corrosivo, ni teñir el material que se trate.

- j) Capacidad desodorante: desodorizar mientras desinfecta es una propiedad deseable. Idealmente el desinfectante debe ser inodoro o tener un olor agradable.
- k) Capacidad detergente: ya que un desinfectante que sea a la vez detergente cumple 2 objetivos: limpieza y desinfección:
- l) Disponibilidad: debe estar disponible en grandes cantidades a un precio razonable.
- m) Actuar en un tiempo relativamente corto.

4.1 Fundamentos para la Determinación de Coliformes Totales, Fecales y *Escherichia coli*

4.1.1 Coliformes totales

En general, las bacterias del grupo de los coliformes se caracterizan por su forma de bastoncillos, no forman esporas, son gram negativas, aeróbicas y aeróbicas facultativas, y fermentan la lactosa con formación de gas, al cabo de 48 horas a la temperatura de 35°C. A este grupo pertenecen las especies que habitan en el tracto intestinal de humanos y animales, o en medios no intestinales, como el suelo y el agua, tales como el *E. coli* y las especies de los géneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*. Este grupo de bacterias se consideran indicadores de la calidad higiénica de los alimentos, en general. El número de microorganismos presentes y la tasa de coliformes se consideran indicadores higiénicos. Es decir, si los resultados obtenidos de los recuentos arrojan valores altos están indicando deficiencias higiénicas. Esto representa puntos críticos que deben ser corregidos o eliminados.

4.1.2 Coliformes fecales

El término coliformes fecales ha surgido como un intento de encontrar métodos rápidos y fiables para establecer la presencia de *E. coli* y variantes

estrechamente relacionados sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos en las pruebas para coliformes o de aplicar las relativamente costosas pruebas confirmatorias. Los “coliformes fecales” comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales (entre 44 y 45.5°C, dependiendo del método). Tales cultivos de enriquecimiento contienen por lo general un alto porcentaje de *E. coli* tipos I y II y son, por ello, muy indicativos de una probable contaminación de origen fecal del alimento.

4.1.3 *Escherichia coli*

E. coli es un bacilo corto, móvil, Gram negativo, con muchas características iguales a las de las *Salmonellas*. Uno de los detalles característicos que diferencian a *E. coli* de las *Salmonellas* es su capacidad de atacar a la lactosa y sacarosa con la producción de ácido y gas. Del intestino de los animales de sangre caliente pueden aislarse cantidades enormes de *E. coli* no patógeno. Sin embargo, muchas cepas de *E. coli* son más o menos patógenas para el hombre; se dividen en cinco grupos (Olsvik *et al.*, 1991, citado por Forsythe y Hayes, 2002), los cuales se mencionan a continuación:

- ***E. coli* enteroagregante (EAEC)**, origina diarrea persistente en los niños pequeños, especialmente en los países en desarrollo. Estas cepas producen tres tipos de toxinas que estimulan la secreción intestinal.
- ***E. coli* enteropatógeno (EPEC)** causa graves diarreas en los niños pero todavía se desconocen sus mecanismos patogénicos si bien se sabe que algunas cepas EPEC producen una o más citotoxinas.
- ***E. coli* enterotoxigénico (ETEC)** también origina diarrea en la especie humana, tanto en niños como en adultos, estos últimos padecen la enfermedad extendida por todo el mundo conocida como «diarrea del viajero». Las cepas ETEC producen enterotoxinas de dos tipos distintos: una termolábil que se inactiva a 60°C en 30 minutos y una termoestable

que resiste los 100°C durante 15 minutos (Scotland, 1988, citado por Forsythe y Hayes, 2002).

- **E. coli enteroinvasivo** (EICE) produce una citotoxina y frecuentemente induce enfermedades más graves, como colitis y una forma de disentería acompañada de fiebre y de heces sanguinolentas.
- **E. coli enterohemorrágico** (EHEC) también produce citotoxinas que originan síntomas más graves. E. coli 0157:H7 (llamado así por sus antígenos específicos O y H-) es la cepa mejor conocida de todas las enterohemorrágicas. Su dosis infectiva es de aproximadamente 10 -100 bacterias y sus vehículos infectivos son la carne con procesamiento térmico deficiente, los productos lácteos contaminados después de pasteurizados, el jugo de fruta y directamente por contacto con animales.

4.2 Estimación del número más probable (NMP)

El método de número más probable (NMP) es una estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia (pos o neg) en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de suelo u otros ambientes. Por lo tanto, un requisito importante de este método es la necesidad de poder reconocer un atributo particular de la población(es) en el medio de crecimiento a utilizarse. El estimado de densidad poblacional se obtiene del patrón de ocurrencia de ese atributo en diluciones seriadas y el uso de una tabla probabilística.

Este método se basa en la presunción de que las bacterias se hallan normalmente distribuidas en un medio líquido, esto es, que las muestras repetidas del mismo tamaño de un mismo producto, debe esperarse contengan el mismo número de gérmenes como promedio; naturalmente, algunas de las muestras pueden contener algunos gérmenes más o menos. La cifra media es el número más probable (NMP). Si el número de gérmenes es grande, la diferencia entre las muestras serán pequeñas; todos los

resultados individuales estarán próximos a la media. Si el número de gérmenes es pequeño, las diferencias, hablando relativamente, serán mayores.

Si un líquido contiene 100 gérmenes por 100 ml, cada muestra de 10 ml debe contener 10 gérmenes como promedio. Algunas contendrán más, quizá una o dos muestras puedan contener hasta 20 gérmenes; otras contendrán menos, pero es poco probable encontrar muestras que no tengan gérmenes. Si se siembran en un medio conveniente diversas muestras, debe esperarse que haya crecimiento.

De manera similar, las muestras de 1 ml deben contener como promedio 1 germen. Algunas muestras tendrán 2-3 gérmenes y otras no tendrán ninguno. Debe esperarse que si se siembran varios tubos de medio de cultivo con muestras de 1 ml, habrá una porción que no muestren crecimiento. En todo caso, debe esperarse que las muestras de 0.1 ml contengan tan sólo un germen por cada diez muestras y la mayor parte de los tubos sembrados deben ser negativos.

Es posible calcular el número más probable de gérmenes/100 ml con cualquier combinación de resultados obtenidos de tales muestras. Existen tablas como la mostrada en la Tabla 11 y la cual ha sido utilizada en este estudio, para muestras de 10 ml, 1 ml y 0.1 ml, utilizando tres tubos para cada tamaño de la muestra. También existen tablas para series de 5 tubos, que son utilizadas dependiendo del análisis y el tamaño de la muestra.

Esta técnica se usa principalmente para la estimación de bacilos coliformes, pero puede utilizarse casi para toda clase de gérmenes en muestras líquidas si puede observarse fácilmente el crecimiento, por ejemplo, si hay turbidez o producción de ácido.

Se incuban durante 24-48 horas y se observa el crecimiento, la producción de ácido y gas, etc. Se tabulan los números de los tubos positivos en cada serie de cinco o tres tubos y se consultan las tablas correspondientes.

Tabla 11. Números más probables por 100 ml. Usando tres tubos sembrados cada uno con 10, 1,0 y 0,1 ml de muestra

<i>Tubos positivos</i>				<i>Tubos positivos</i>				<i>Tubos positivos</i>			
			<i>MPN</i>				<i>MPN</i>				<i>MPN</i>
<i>10 ml</i>	<i>1.0 ml</i>	<i>0.1 ml</i>		<i>10 ml</i>	<i>1.0 ml</i>	<i>0.1 ml</i>		<i>10 ml</i>	<i>1.0 ml</i>	<i>0.1 ml</i>	
0	0	1	3	1	2	0	11	2	3	3	53
0	0	2	6	1	2	1	15	3	0	0	23
0	0	3	9	1	2	2	20	3	0	1	39
0	1	0	3	1	2	3	24	3	0	2	64
0	1	1	6	1	3	0	16	3	0	3	95
0	1	2	9	1	3	1	20	3	1	0	43
0	1	3	12	1	3	2	24	3	1	1	75
0	2	0	6	1	3	3	29	3	1	2	120
0	2	1	9	2	0	0	9	3	1	3	160
0	2	2	12	2	0	1	14	3	2	0	93
0	2	3	16	2	0	2	20	3	2	1	150
0	3	0	9	2	0	3	26	3	2	2	210
0	3	1	13	2	1	0	15	3	2	3	290
0	3	2	16	2	1	1	20	3	3	0	240
0	3	3	19	2	1	2	27	3	3	1	460
1	0	0	4	2	1	3	34	3	3	2	1100
1	0	1	7	2	2	0	21	3	3	3	1100+
1	0	2	11	2	2	1	28				
1	0	3	15	2	2	2	35				
1	1	0	7	2	2	3	42				
1	1	1	11	2	3	0	29				
1	1	2	15	2	3	1	36				
1	1	3	19	2	3	2	44				

Fuente: Manual de Análisis Bacteriológico (BAM)

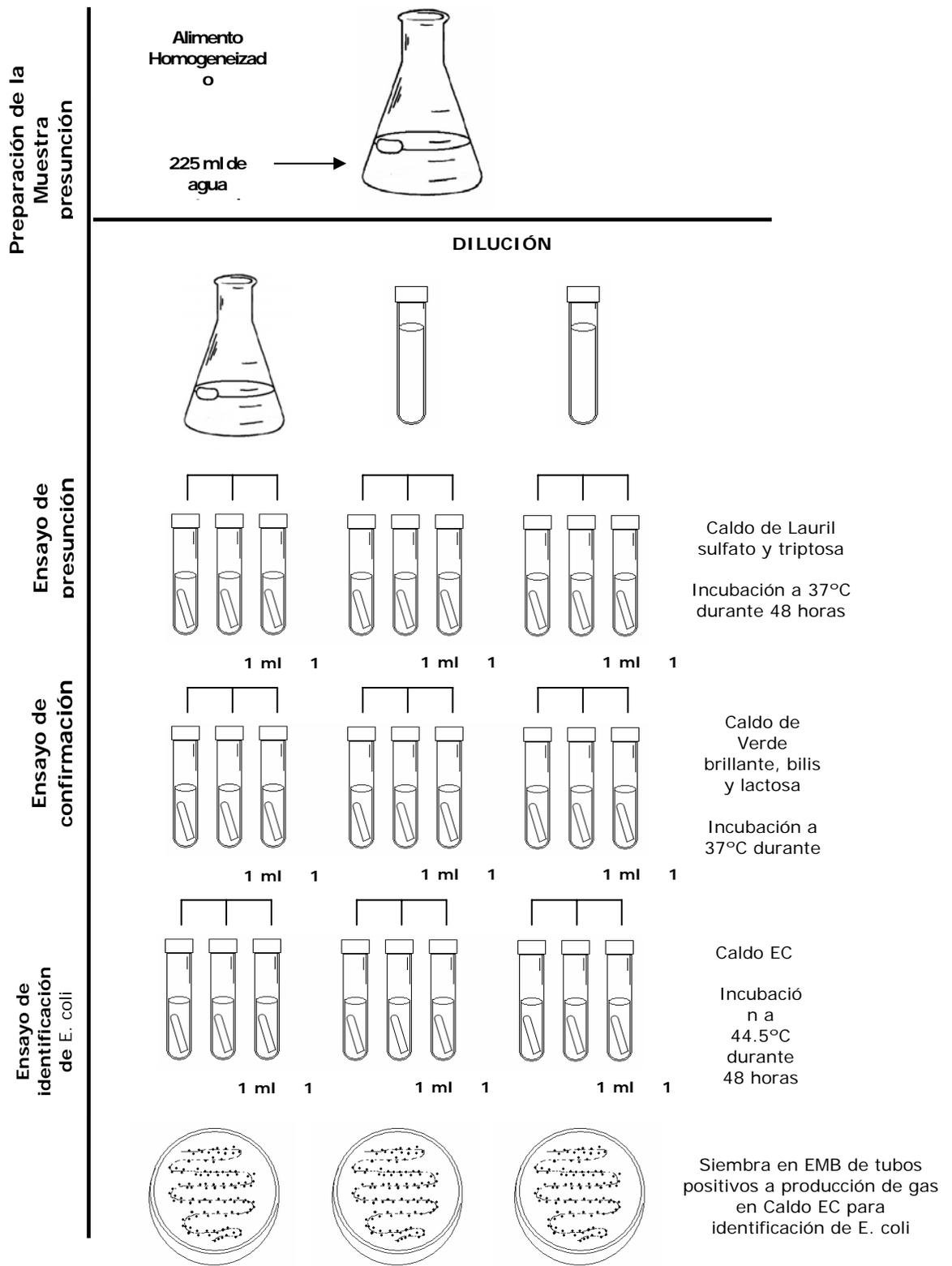


Figura 2. Esquema del Ensayo para la Determinación de Coliformes Totales, Fecales y *E.coli* utilizando la estimación del Número más Probable con tres tubos

4.3 Fundamentos para la Determinación de Salmonella

4.3.1 Microorganismos

Las Salmonellas son bacilos cortos (1-2 μm), Gram negativos, no esporulados y generalmente móviles con flagelos peritricos (Ver figura3). El género Salmonella contiene unas 2,000 cepas distintas (denominadas serovares o serotipos) de acuerdo con sus antígenos O y H. Su número crece continuamente a medida que se aíslan cepas nuevas serológicamente distintas. Son anaerobios facultativos caracterizados bioquímicamente por su capacidad de fermentar la glucosa con producción de ácido y gas y por su incapacidad de hidrolizar la lactosa y la sacarosa. Su temperatura óptima de crecimiento, como la de la mayoría de las bacterias causantes de toxiinfecciones alimentarias está próxima a los 38°C; son relativamente fotosensibles y se destruyen a 60°C en unos 15-20 minutos, siendo incapaces de crecer por debajo de los 7 u 8°C.

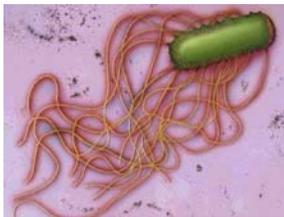


Figura 3. Fotografía de una célula típica de Salmonella

4.3.2 La Enfermedad

Salmonelosis es el nombre genérico empleado para designar a las infecciones humanas y animales originadas por miembros del género Salmonella. Como se dice más atrás, las Salmonellas provocan la enfermedad cuando mueren, después de multiplicarse en el intestino de su hospedador y de sufrir la lisis subsiguiente que libera una potente endotoxina. Se trata de un liposacárido que forma parte de la membrana de la bacteria y que es el principal responsable de los síntomas clínicos. Las enterotoxinas producidas en el

interior del intestino humano muy bien podrían tener un importante rol en la enfermedad (D'Aoust, 1991, citado por Forsythe y Hayes, 2002).

En las personas el periodo de incubación (es decir, el tiempo transcurrido desde la ingestión del alimento contaminado y la aparición de los síntomas) varía considerablemente, pero generalmente está comprendido entre 12 y 36 horas. Los principales síntomas de la salmonelosis son: náuseas, dolor abdominal, somnolencia, diarrea y fiebre moderada; puede producirse deshidratación que da lugar a una gran sed. Las heces son acuosas, de color verdoso, de olor muy repugnante y a veces teñidas de sangre. El microorganismo puede invadir la corriente sanguínea originando así una septicemia y en los casos más extremos el paciente puede entrar en coma. La mortalidad de la población en su conjunto es baja, menor del 1%, la sensibilidad varía, siendo especialmente sensibles los ancianos y los niños menores de 1 año; también lo son los enfermos. El adulto humano necesita ingerir probablemente medio millón de Salmonellas viables al menos para que aparezcan los síntomas, mientras lactantes y ancianos son sensibles a sólo algunas fracciones de este número.

La enfermedad dura corrientemente hasta siete días pero algunos de los síntomas pueden persistir semanas o incluso meses. Durante la fase aguda de la enfermedad se excretan con las heces grandes cantidades de las bacterias responsables, cuyo número disminuye progresivamente al recuperarse el paciente, hasta que las excretas quedan libres de Salmonellas.

Casi el 50% de los pacientes eliminan heces «positivas» después de 4 semanas, el 10% después de 8 y entre el 0,2 y el 5% las eliminan intermitentemente durante periodos más largos. A los últimos se les conoce como «portadores», sin embargo, hay otros «portadores» que eliminan Salmonellas intermitentemente aunque no presenten síntoma alguno de enfermedad.

5. ANTECEDENTES RELACIONADOS CON EL TEMA DE INVESTIGACIÓN

5.1 Generalidades

El Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, inició en el primer trimestre del año 2005 el proyecto denominado, “Estudio de contaminantes de hortalizas de consumo de la población salvadoreña y detección de las rutas de contaminación”.

En la primera fase de este proyecto se determinó los contaminantes microbiológicos presentes en nueve clases de hortalizas, las cuales son: apio, cebolla, cilantro, lechuga, pepino, rábano, repollo, tomate, zanahoria y se identificó que estas se encontraban contaminadas con microorganismos patógenos tales como: E. coli, Salmonella y parásitos.

A continuación se presenta la Tabla 12 la cual contiene los resultados de los análisis microbiológicos realizados durante la primera fase de la investigación.

Tabla 12. Resultados de los Análisis de la primera fase de la investigación

HORTALIZA	% Coliformes Totales	% Coliformes Fecales	% <u>E. coli</u>	% Parásitos
CILANTRO	100	67	67	100
RABANO	100	56	56	100
APIO	22	22	22	100
LECHUGA	22	22	22	67

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 12, la hortaliza que presentó mayor recuento microbiano con relación a coliformes totales, fecales, *E. coli* y parásitos es el cilantro seguido el rábano, el apio, y la lechuga, por lo que estas se tomarán como hortalizas de referencia para desarrollar etapa experimental de la presente investigación

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN

6. INVESTIGACIÓN DE CAMPO

6.1 *Determinación del Universo*

El universo de la investigación estaba constituido inicialmente por siete mercados que pertenecen al área metropolitana de San Salvador: Mercado Central, La Tiendona, Modelo, San Antonio Abad, San Jacinto, san Miguelito y Zacamil.

Partiendo de esta información, se realizó un sondeo en los mercados mencionados sobre la procedencia de las hortalizas objeto de análisis y de determinó que el mercado La Tiendona es el principal abastecedor de hortalizas para los diferentes mercados del área metropolitana de San Salvador y en general del país, por lo tanto el universo de la investigación se limitó únicamente al mercado de mayoreo La Tiendona.

7. DISEÑO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

El muestreo realizado en la investigación, correspondió a un muestreo aleatorio simple, debido a que se contaba con una población finita de la que se deseaba extraer una muestra, y esta metodología garantiza en el proceso de extracción cada uno de los elementos de la población tenga la misma oportunidad de ser incluidos en la muestra.

7.1 *Obtención de las muestras de hortalizas*

Para el desarrollo de la investigación se utilizarán las cuatro hortalizas que presentaron recuentos microbiológicos más altos en el estudio realizado en la primera fase, las cuales son: apio, cilantro, lechuga y rábano.

En el mercado de mayoreo La Tiendona se identificaron los puestos de venta de esta clase de hortalizas y la selección de los puestos para la obtención de la muestra se realizó de manera aleatoria de acuerdo a lo especificado en el numeral 7 (Ver anexo III).

En los puestos seleccionados, se recolectó dos muestras representativas de cada una de las hortalizas, que equivalen a un aproximado de 454 gr. cada muestra.

Cuando no se encontró alguna de las hortalizas en referencia en un puesto de venta determinado, se seleccionó otro puesto de venta en forma aleatoria.

7.2 Obtención de las muestras de desinfectantes

El muestreo realizado aplicado para la adquisición de los diferentes frascos de desinfectantes, correspondió a un muestreo aleatorio simple, debido a que se contaba con una población finita de la que se deseaba extraer una muestra, por lo que se seleccionaron 5 frascos del mismo número de lote, de cada uno de los desinfectantes.

Los frascos de desinfectantes seleccionados se almacenaron a condiciones similares a las del punto de venta de los mismos para conservar las características y propiedades de cada producto.

7.3 Metodología Analítica

7.3.1 Límites microbiológicos permitidos

Los análisis microbiológicos se realizaron de acuerdo a los procedimientos especificados en el Manual de Análisis Bacteriológico (BAM, por sus siglas en inglés) para las siguientes determinaciones:

- n) Determinación y recuento de *E. coli*
- o) Determinación de *Salmonella*

Según el Manual para el Control de la Calidad de los alimentos. Análisis Microbiológico, de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), los límites permitidos de presencia de *E. coli* y *Salmonella* en alimentos son los presentados en la Tabla 13.

Tabla 13. Límites Permitidos de presencia de *E. coli* y *Salmonella sp.* en alimentos según el Manual para el Control de la Calidad de los alimentos. Análisis Microbiológico, de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)

Parámetro	<u><i>Escherichia coli</i></u> (NMP/g)	<u><i>Salmonella sp.</i></u>
Límite Microbiológico	100	Ausencia en 25 gr.

7.3.2 Lugar de Trabajo

Los análisis microbiológicos se realizaron en los Laboratorios de Microbiología del El Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

8. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

Para la realización de la investigación se utilizaron en primer lugar los métodos de desinfección químicos que actualmente se comercializan en los diferentes mercados y supermercados del país y que se encuentran elaborados a partir de los siguientes componentes activos:

- p) Hipoclorito de sodio
- q) Yodo en solución
- r) Cloruro de Benzalconio

Estos métodos de Desinfección son utilizados generalmente por amas de casa para la desinfección de diferentes tipos de hortalizas así como por los restaurantes de comida rápida y a la carta, los cuales aplican las concentraciones indicadas en los frascos y en algunas ocasiones utilizan los desinfectantes sin control alguno, poniéndose en riesgo a los consumidores de estos productos.

Por lo anteriormente descrito la evaluación de los métodos de desinfección se realizó en tres etapas aplicando en cada una de ellas análisis microbiológicos antes y después de la aplicación del método de desinfección para cada una de las hortalizas en estudio.

Se estableció en la segunda etapa evaluar los métodos de desinfección a concentraciones y tiempos de acción diferentes a los propuestos en las viñetas de los frascos que contiene estos productos, tomando en cuenta los límites permitidos de uso de estos desinfectantes en hortalizas, para ello y tomando en cuenta las limitaciones de recursos económicos para la realización de múltiples análisis microbiológicos a diferentes concentraciones y tiempos de acción, se utilizó la metodología de McFarland utilizando para ello cepas puras de *E. coli*, para determinar la susceptibilidad de crecimiento de la flora microbiana identificada en las hortalizas, para realizar posteriormente los análisis de evaluación de los desinfectantes con las concentraciones identificadas.

En este sentido se determinó la necesidad de verificar que las concentraciones de los componentes activos declaradas en las viñetas de los frascos de los desinfectantes son las concentraciones reales, por lo que se enviaron a analizar al Laboratorio de servicios analíticos de la Fundación Salvadoreña para investigación del Café (PROCAFE), muestras de los desinfectantes seleccionados(Ver anexo IV), con el objetivo de obtener la información mencionada y proceder a efectuar los cálculos necesarios para establecer las concentraciones que se evaluarían sin sobrepasar los límites permitidos para el uso de los desinfectantes.

Adicionalmente se envió a analizar al Laboratorio Especializado en Control de Calidad (LECC) una muestra de agua potable, obtenida del Laboratorio de Aguas de CENSALUD, para conocer el estado microbiológico del agua utilizada y de esta forma descartar posibles fuentes de contaminación cruzada interferentes en los análisis microbiológicos realizados a los diferentes métodos de desinfección (Ver Anexo V).

Finalmente en la tercera etapa, para obtener mayor efectividad en la evaluación de los métodos de desinfección se realizaron análisis utilizando previo al uso de los desinfectantes químicos soluciones de detergente a una concentración de 2.5 y 5 %p/v.

Además de los métodos químicos mencionados anteriormente, se evaluaron dos métodos de desinfección no químicos: solución de orégano a concentraciones de 2, 5 y 10 %p/v y vinagre a la concentración de 4 %v/v de ácido acético, debido a que actualmente se está promoviendo la utilización de productos de origen natural para preparar y procesar diferentes tipos de alimentos debido a los beneficios que se generan en la salud al utilizar este tipo de productos.

9. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS PARA LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

9.1 Recolección de las muestras

Se recolectaron las muestras de las hortalizas seleccionadas de los puestos de venta muestreados, estas se empacaron en bolsas de plástico para no alterar la microflora presente en las muestras, luego estas se trasladaron a los Laboratorios de microbiología de CENSALUD y finalmente se procesaron.

9.2 Preparación de la muestra

9.2.1 Preparación de Dilución 10^{-1}

Se pesaron de forma directa 25 gr. de la muestra en un beaker de 100 ml. estéril, luego se transfirió a un erlenmeyer de 500 ml. al cual se le adicionaron 225 ml. de solución de agua peptonada al 0.1% y finalmente se colocó la muestra en el stomacher para que se realizara la digestión y homogenización de la misma.

9.2.2 Preparación de Dilución 10^{-2}

Después de homogenizar la muestra y dejarla en reposo se tomó una alícuota de 1 ml con una pipeta estéril del líquido sobrenadante y se transfirió a un tubo con 9 ml de solución de agua peptonada al 0.1%.

9.2.3 Preparación de Dilución 10^{-3}

Finalmente se transfirió 1 ml de la dilución 10^{-2} a otro tubo que contenía 9 ml de la solución de agua peptonada al 0.1% para preparar esta dilución.

9.3 Determinación de Coliformes totales, fecales y E. coli por el método de determinación de Coliformes

9.3.1 Ensayo de Presunción (Coliformes totales)

De cada una de las diluciones de las muestras (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}), se transfirió un inóculo de 1 ml. a 3 tubos de fermentación con tubos de durham que contenían 9 ml. de Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST).

Se incubaron los tubos a 37 °C y se examinaron después de transcurridas 48 horas, para establecer la posible formación de gas en el tubo de durham lo cual se pudo verificar cuando ocurrió desplazamiento del medio de cultivo en el tubo o por presencia de efervescencia al agitar suavemente el tubo.

Posteriormente se sometieron al ensayo de confirmación los tubos presuntivamente positivos, es decir todos aquellos que presentaron crecimiento y formación de gas.

9.3.2 Parte II. Ensayo de Confirmación (Coliformes fecales)

De cada uno de los tubos con Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST) que resultaron positivos, se transfirió una porción de la suspensión con un asa circular a tubos que contenían Caldo Verde Brillante Bilis y lactosa (BGLB;BRILLA). Posteriormente se incubaron los tubos durante 48 horas a 37°C y se examinaron al transcurrir este tiempo con el objetivo de seleccionar los tubos en los que se formó gas y de esta forma determinar la presencia de coliformes.

9.3.3 Parte III. Prueba de *E.coli*

Al mismo tiempo que se utilizó el Caldo Verde Brillante Bilis y lactosa (BGLB;BRILLA) como procedimiento de confirmación, se trasladó al medio *E. coli* (EC) con asa bacteriológica un inóculo de todos los tubos que reaccionaron positivamente en el ensayo de presunción.

Luego se incubaron los tubos con EC, durante 24 horas a la temperatura de 45.5°C en baño maría y trascurridas 24 horas se observaron los tubos para identificar producción de gas, lo cual confirma la presencia de *E. coli* en la muestra analizada.

Simultáneamente, se sembró en placa por el método de estrías en medio Eosina Azul de Metileno (EMB) por 48 horas a 37°C, todos los tubos que presentaron reacción positiva en el ensayo de presunción. Se incubaron posteriormente y después de 48 horas se observaron las placas para establecer si se realizó crecimiento de colonias típicas de *E. coli*, las cuales se distinguen por su forma circular y color verde con brillo metálico.

9.4 Determinación de Salmonella

9.4.1 Enriquecimiento Selectivo

De la Dilución 10^{-1} preparada para cada una de las hortalizas seleccionadas, se transfirió un inóculo de 1 ml a dos tubos que contenían 9 ml. de Caldo de Tretationato y 9 ml. de Caldo de Rappaport respectivamente, luego se incubaron a 37°C por un período de 24 horas.

Trascurridas las 24 horas se procedió a realizar las observaciones pertinentes para cada uno de los tubos.

9.4.2 Aislamiento

Se extrajo una porción de cada uno de los tubos incubados que presentaron reacción positiva y con un asa circular se sembró sobre la superficie de placas de agar Salmonella-Shigella (S-S), a fin de obtener colonias aisladas y con crecimiento adecuado.

Las placas se incubaron por un período de 24 horas a 37°C y al completar el período de incubación se examinaron las placas para determinar la presencia de colonias típicas de Salmonella, las cuales presentan color rosado en el medio mencionado.

9.4.3 Confirmación

De cada una de las placas que presentaron crecimiento de colonias típicas de Salmonella, se seleccionaron colonias representativas para realizarles la prueba de confirmación, mediante el uso de pruebas bioquímicas.

Las colonias seleccionadas se sembraron en los siguientes medios de cultivo:

- a) Agar TSI: se sembró con un asa en punta las colonias, en forma de estrías sobre la superficie inclinada del agar y por picadura en el fondo. Se incubaron durante 24 horas a 37°C.
- b) Reacción de Voges-Proskauer: se inoculó con un asa circular, un tubo que contenía 0.5 ml. de medio VP, suspendiendo una porción de la colonia y se inoculó durante 24 horas a una temperatura de 37°C.

Posterior a la incubación se adicionó al tubo 0.2 ml de solución de Hidróxido de Potasio y luego 0.2 ml de solución alcohólica de alfa-naftol, se agitaron rápidamente los tubos luego de la adición de los reactivos para dar lugar a la reacción.

- c) Reacción del Indol: se inoculó un tubo que contenía 1 ml del medio con la colonia seleccionada y se incubó durante 24 horas a 37 °C. Después de la incubación se agregó 0.5 ml de Eter y posteriormente se adicionaron 0.5 ml de reactivo de Erlich. El análisis positivo se evidencia por la presencia de un anillo púrpura en la interfase.

9.4.4 Interpretación de Resultados

Para la interpretación de resultados obtenidos, se tomó en cuenta las reacciones específicas para cepas de Salmonella que se indican en la Tabla 14.

Tabla 14. Reacciones Bioquímicas de Salmonella sp.

Reacción	Resultado
Glucosa TSI (Formación de ácido en el fondo)	Positiva
Glucosa TSI (Formación de gas en el fondo)	Positiva
Lactosa TSI (Formación de ácido en la superficie)	Negativa
Sacarosa TSI (Formación de ácido en la superficie)	Negativa
Sulfuro de Hidrógeno TSI (Negro en el fondo)	Positiva
Reacción de Voges-Proskauer	Negativa
Reacción de Indol	Negativa

CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

10. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

La realización de la etapa experimental de la investigación se realizó en tres etapas, según se detalla a continuación:

Etapas I:

Se realizó el estudio piloto utilizando la metodología de análisis especificada en el capítulo II para evaluar la efectividad de los métodos químicos de desinfección seleccionados, aplicando un lavado previo con agua potable y posteriormente utilizando las concentraciones recomendadas en las viñetas de los frascos.

Etapas II:

Se evaluó la efectividad de los métodos de desinfección químicos y no químicos utilizando la escala de evaluación de Mc Farland a concentraciones y tiempos de acción diferentes para cada desinfectante seleccionado.

Etapas III:

Se realizó la evaluación de los métodos de desinfección químicos y no químicos a las concentraciones y tiempos de acción identificados en la etapa II, utilizando para ello la metodología especificada en el capítulo II.

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la evaluación de los métodos de desinfección en las diferentes etapas y los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados en cada una de las etapas mencionadas.

10.1 Resultados de la Fase Experimental: Etapa I

Continuación Tabla 15. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli*.
Prueba Presuntiva (Coliformes totales)

Hortaliza	Resultados NMP															
	Apio			Cilantro			Lechuga			Rábano						
Blanco/Desinfectante	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Crec	FG	Crec	FG	Diluc.	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
	Hipoclorito de sodio	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3	>1100	3	>1100	3	>1100
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	1	>1100
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)							
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)							
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
Yodo en Solución		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)						
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3	>1100	3	>1100	3	>1100
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	3	>1100
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							

Tabla 16. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli*.

Prueba Confirmativa (Coliformes fecales)

Hortaliza	Apio						Cilantro		Lechuga		Rábano		Resultados NMP																		
	Dilución		Crec		FG		Crec		FG		Crec		FG		Diluc.		# Tubos		NMP/g		# Tubos		NMP/g								
Blanco/Desinfectante	Blanco Sin Lavado	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100					
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100				
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100				
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
Blanco Con Lavado	Blanco Sin Lavado	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100					
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																	
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100				
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100				
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
Cloruro de Benzalconio	Blanco Sin Lavado	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	3	3	3	3	3	3	3	3	290	>1100					
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																	
		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	2	2	2	2	2	2	2	2	2	>1100	>1100				
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3	3	3	3	3	3	3	3	3	>1100	>1100				
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																
		10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)																

Continuación Tabla 16. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli*.
Prueba Confirmativa (Coliformes fecales)

Hortaliza	Apio						Cilantro		Lechuga		Rábano		Resultados NMP								
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	FG	Crec	FG	Crec	FG	Diluc.	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Blanco/Desinfectante	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100	3	>1100	3	460
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3		3		3	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	1		3		3		3		1	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100	3	>1100	3	460
Yodo en Solución	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3		3		3		3		3	
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3		3		3		
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		3		3		3		3		1
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)											

Tabla 17. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.
Prueba de E. coli.

Hortaliza	Resultados NMP												
	Apio			Cilantro			Lechuga			Rábano			
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	FG	Crec	FG	Diluc.	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Blanco Sin Lavado	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	160	3	>1100
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)					
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	10 ⁻²	1		3	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		3	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)					
Blanco Con Lavado	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	2	15	3	290
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	1		1	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	0		3	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)					
Cloruro de Benzalconio	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	2	35	2	53
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	2		3	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	2		3	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)					
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)					

**Continuación Tabla 17. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable (NMP) de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.
Prueba de E. coli.**

Hortaliza	Resultados NMP																			
	Apio				Cilantro				Lechuga				Rábano							
	Dilución	Crec	FG		Crec	FG			Diluc.	# Tubos	NMP/g		Diluc.	# Tubos	NMP/g		Diluc.	# Tubos	NMP/g	
Blanco/Desinfectante	10 ⁻¹	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	10 ⁻¹	1	4	10 ⁻¹	0	19	1	15	10 ⁻¹	3	23	
	10 ⁻¹	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻²	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	10 ⁻²	0		10 ⁻²	3		2			0		
	10 ⁻²	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻²	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	10 ⁻³	0		10 ⁻³	3		1			0		
	10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻¹	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	10 ⁻¹	2	29	10 ⁻¹	3	>1100	3	120	10 ⁻¹	3	1100	
	10 ⁻¹	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	10 ⁻²	3		10 ⁻²	3		1			3		
10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)													
10 ⁻²	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)													
10 ⁻³	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	10 ⁻³	0		10 ⁻³	3		2			2			
10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)													
10 ⁻³	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)													

Tabla 18. Resultados Etapa I de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación de presencia de Salmonella.
Hortaliza: Apio

Medio	SS	
	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Salmonella</u>	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Shigella</u>
Blanco/Desinfectante		
Blanco Sin Lavado	(+++)	(++)
Blanco Con Lavado	(+++)	(---)
Cloruro de Benzalconio	(+++)	(++)
Hipoclorito de sodio	(+++)	(++)
Yodo en Solución	(+++)	(++)

Tabla 19. Resultados Etapa I de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales. Determinación de presencia de Salmonella.
Hortaliza: Cilantro

Medio	SS	
	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Salmonella</u>	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Shigella</u>
Blanco/Desinfectante		
Blanco Sin Lavado	(+++)	(+++)
Blanco Con Lavado	(+++)	(++)
Cloruro de Benzalconio	(+++)	(+++)
Hipoclorito de sodio	(++)	(++)
Yodo en Solución	(+++)	(+++)

Tabla 20. Resultados de Etapa I de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales para la Determinación de presencia de Salmonella.
Hortaliza: Lechuga

Medio	SS	
	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Salmonella</u>	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Shigella</u>
Blanco/Desinfectante		
Blanco Sin Lavado	(++)	(++)
Blanco Con Lavado	(---)	(++)
Cloruro de Benzalconio	(+++)	(---)
Hipoclorito de sodio	(---)	(---)
Yodo en Solución	(+++)	(++)

Tabla 21. Resultados de Etapa I de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Prueba Exploratoria para métodos comerciales la Determinación de presencia de Salmonella.
Hortaliza: Rábano

Medio	SS	
	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Salmonella</u>	Crecimiento de Colonias típicas de <u>Shigella</u>
Blanco/Desinfectante		
Blanco Sin Lavado	(+++)	(++)
Blanco Con Lavado	(+++)	(---)
Cloruro de Benzalconio	(+++)	(++)
Hipoclorito de sodio	(---)	(---)
Yodo en Solución	(+++)	(---)

10.1.1 *Análisis de Resultados Etapa I de la Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas. Prueba Exploratoria aplicando métodos comerciales.*

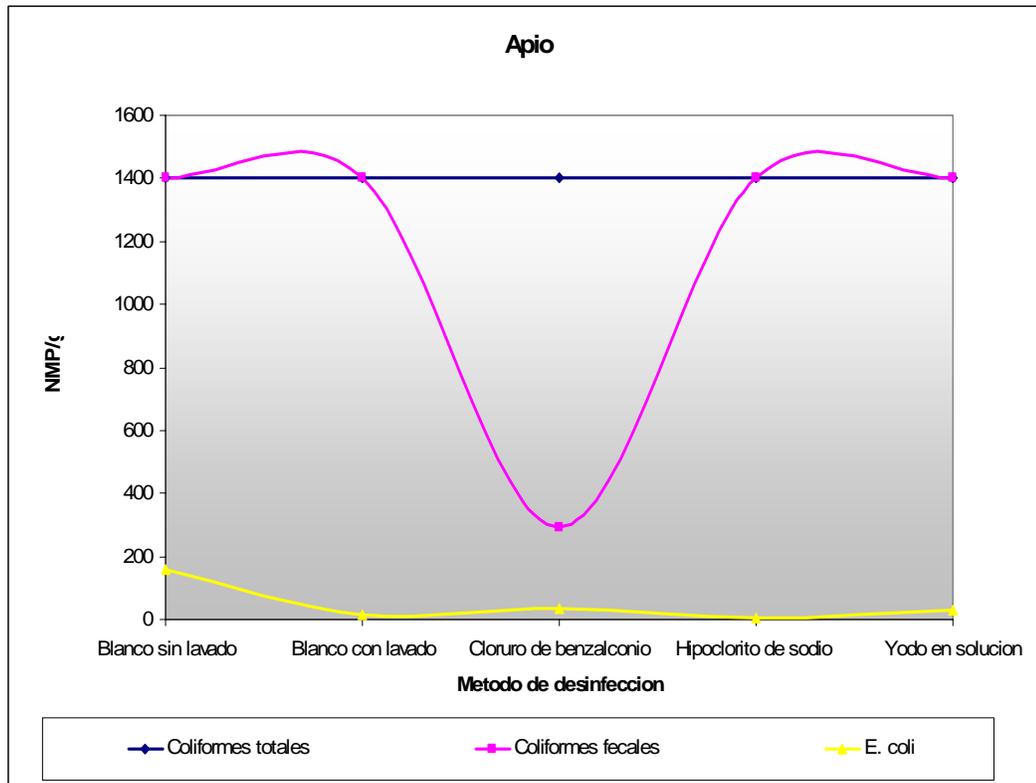


Grafico 1. Comportamiento de la carga bacteriana de coliformes totales para Apio (estimada en NMP/g), frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos.

Interpretación

En el gráfico 1, se observa el comportamiento de la carga bacteriana en apio, respecto al método de desinfección aplicado. La línea azul muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes totales, la línea rosa muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes fecales y la línea amarilla, presenta la variación de la carga bacteriana de *E. coli*. Para el caso del apio se observa que el método de desinfección con mayor incidencia para la reducción de la carga bacteriana de coliformes fecales es el cloruro de benzalconio y para la reducción de *E. coli* es el hipoclorito de sodio. Mientras que la carga bacteriana de coliformes totales permanece constante después de la aplicación de los métodos de desinfección.

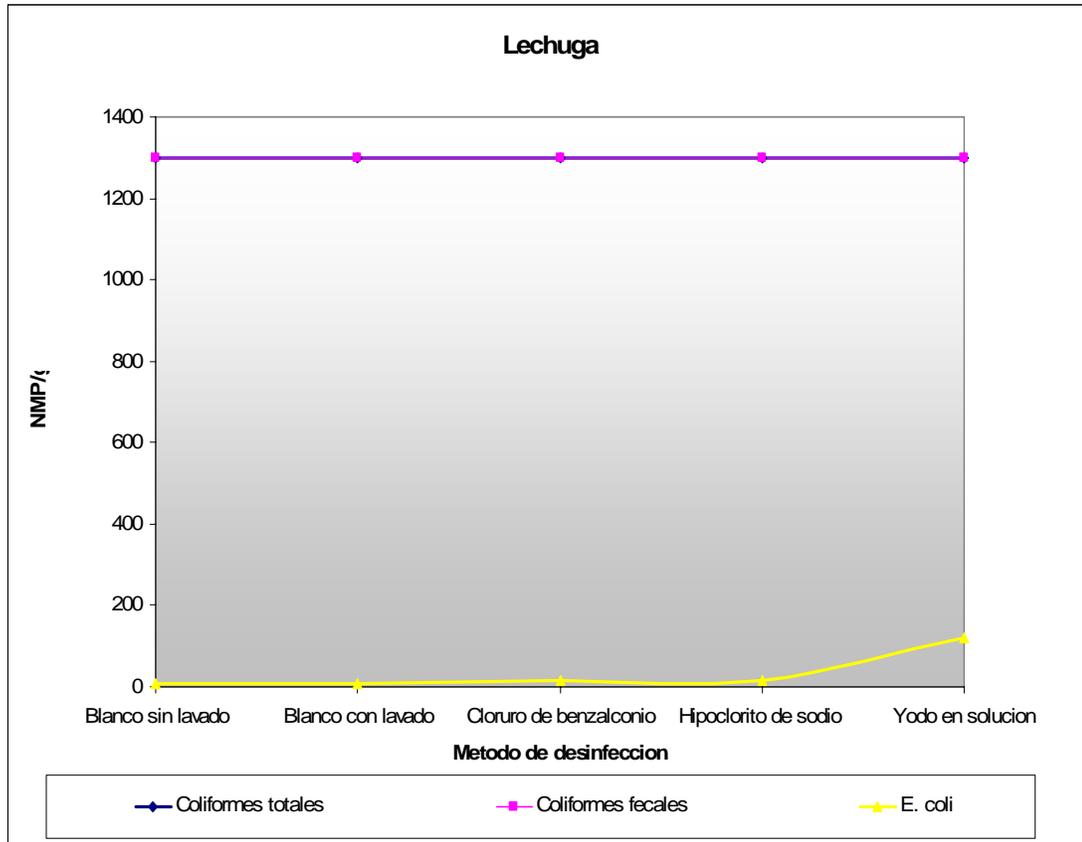


Gráfico 2. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para Lechuga, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos.

Interpretación

En el gráfico 2, se observa el comportamiento de la carga bacteriana en lechuga, respecto al método de desinfección aplicado. La línea azul muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes totales, la línea rosa muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes fecales y la línea amarilla, presenta la variación de la carga bacteriana de *E. coli*. Para el caso de la lechuga se observa que el método de desinfección con mayor incidencia para la reducción de la carga de *E. coli* es el hipoclorito de sodio. Mientras que la carga bacteriana de coliformes totales y fecales permanece constante después de la aplicación de los métodos de desinfección.

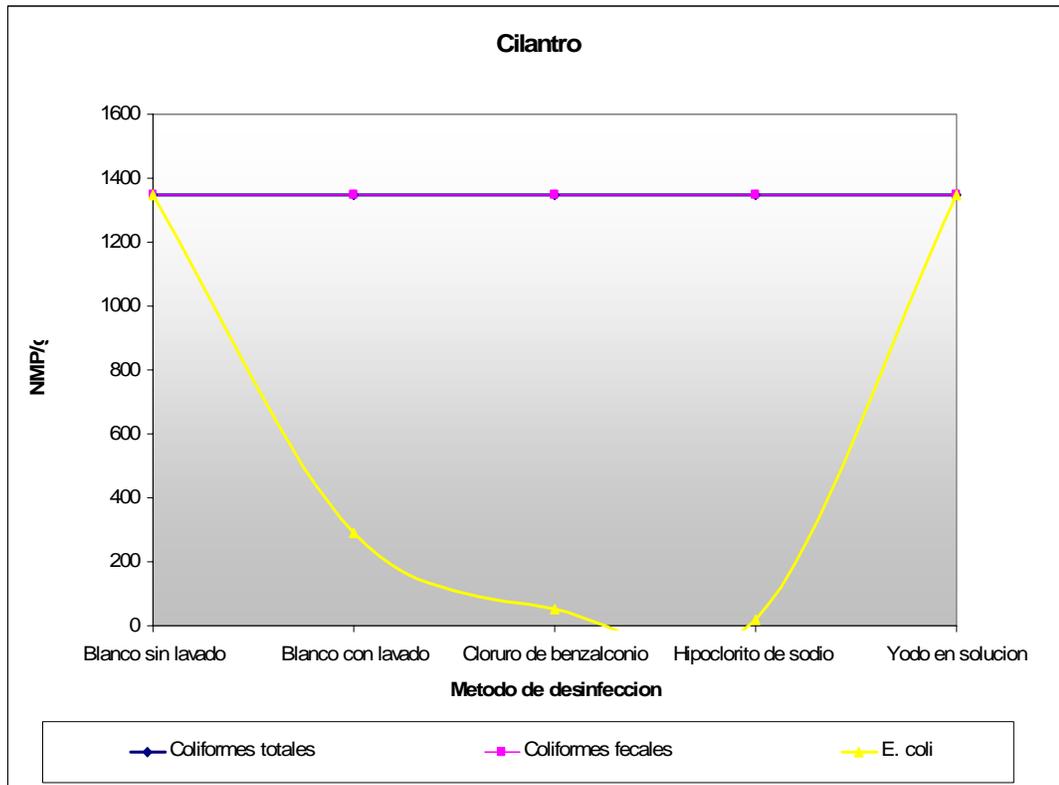


Gráfico 3. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos.

Interpretación:

En el gráfico 3, se observa el comportamiento de la carga bacteriana en cilantro, respecto al método de desinfección aplicado. La línea azul muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes totales, la línea rosa muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes fecales y la línea amarilla, presenta la variación de la carga bacteriana de E. coli. Para el caso del cilantro se observa que el método de desinfección con mayor incidencia para la reducción de la carga bacteriana de E. coli es el hipoclorito de sodio. Mientras que la carga bacteriana de coliformes totales y fecales permanece constante después de la aplicación de los métodos de desinfección. En este caso en particular puede observarse que hay menor efectividad por parte de los métodos de desinfección en comparación de las demás hortalizas lo cual indica una mayor carga microbiana presente en el cilantro.

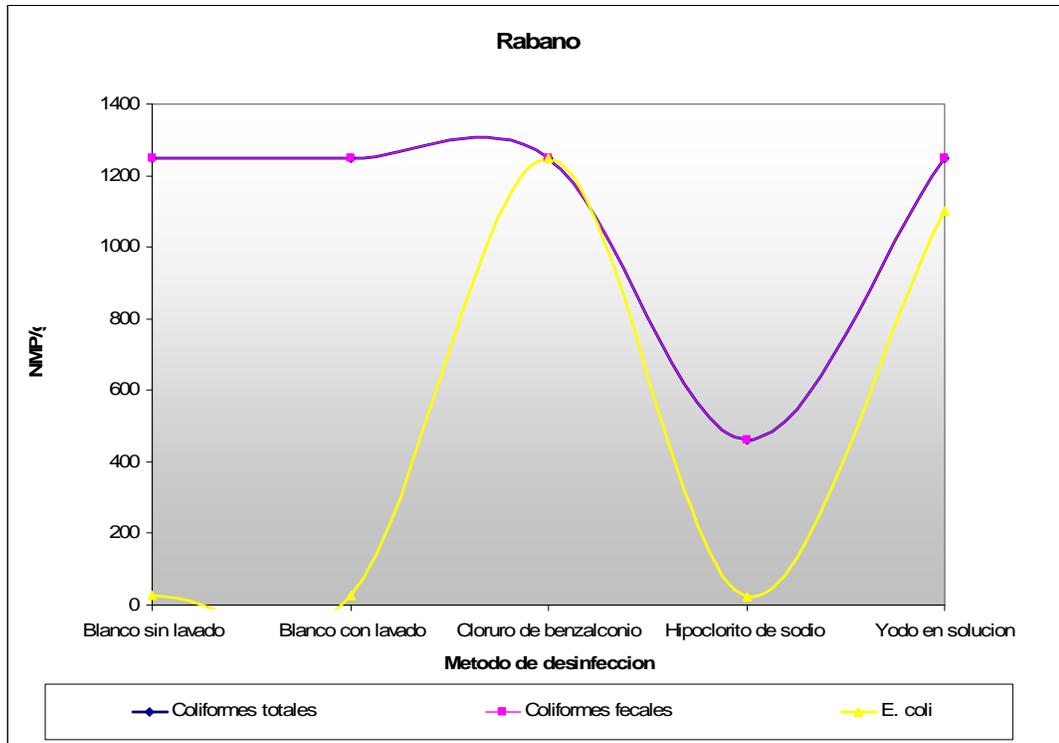


Gráfico 4. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para rábano, frente al tratamiento con los métodos de desinfección comerciales, de acuerdo al uso recomendado en las etiquetas de cada uno de los frascos correspondiente a los métodos.

Interpretación

En el gráfico 4, se observa el comportamiento de la carga bacteriana en rábano, respecto al método de desinfección aplicado. La línea azul muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes totales, la línea rosa muestra la variación de la carga bacteriana de coliformes fecales y la línea amarilla, presenta la variación de la carga bacteriana de *E. coli*. Para el caso del rábano se observa que el método de desinfección con mayor incidencia para la reducción de la carga bacteriana de coliformes totales, fecales y *E. coli*, es el hipoclorito de sodio.

10.2 Resultados Fase Experimental: Etapa II

Tabla 22. Resultados de Etapa II de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Pruebas de Susceptibilidad de *E. coli* con Escala Mcfarland a 0,5 para estimación de efectividad de los métodos propuestos.

Desinfectante	Concentración	Crecimiento por Tiempo de Acción (min)			Crecimiento de colonias típicas de <i>E. coli</i> en EMB según Tiempo de Acción (min)		
		5	10	15	5	10	15
Hipoclorito de sodio	338 ppm	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Yodo en solución	8 ppm	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Cloruro de Benzalconio	40 ppm	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Orégano	10 % p/v	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Orégano	5% p/v	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Orégano	2% p/v	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Detergente	2.5% p/v	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Detergente	5% p/v	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Vinagre artesanal	2% ácido acético	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Vinagre comercial	4% ácido acético	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

10.3.Resultados de la Fase Experimental:Etapa III

Tabla 23. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número más Probable de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli* aplicando los métodos de desinfección.
Prueba Presuntiva (Coliformes totales)

Método de desinfección	Tiempo		5 minutos						10 minutos		15 minutos		Resultados NMP									
	Dilución		Crec	FG	FG	FG	FG	FG	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1	>1100	3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
Blanco *	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	Solución de Yodo 4 ppm + Detergente 5% p/v	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3
10		-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
10		-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
10		-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
10		-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
10		-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
10		-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
10		-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
10		-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
10		-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
10		-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
10		-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
Solución de yodo 8 ppm	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-2		3		10	-2	3			
	10	-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-3		3		10	-3	3			
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100
	10	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	-1		3	>1100	10	-1	3	>1100	3	>1100

Continuación Tabla 23. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilindro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli* aplicando los métodos de desinfección.

Prueba Presuntiva (Coliformes totales)

Método de desinfección	Tiempo		Resultados NMP									
	5 minutos		10 minutos		15 minutos		5 minutos		10 minutos		15 minutos	
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Hipoclorito de Sodio + Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	240	1	29
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		0		3	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)							
	Infusión de Orégano 10% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		3		3	
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻³		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻¹		(+)	(+)	(+)	(+)							
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3	
10 ⁻²		(+)	(+)	(+)	(+)							
Detergente 2.5% p/v		10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3		3	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		3		3	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10	(+)	(+)	(+)	(+)							

Continuación Tabla 23. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilarantro. Determinación y cuantificación por el Numero mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli* aplicando los métodos de desinfección.

Prueba Presuntiva (Coliformes totales)

Método de desinfección	Tiempo			5 minutos			10 minutos			15 minutos			Resultados NMP						
	Dilución	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g									
Vinagre comercial 4% ácido acético	10 ⁻¹	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻¹	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻¹	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻²	(+)	(+)	10 ⁻²	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻²	(+)	(+)	10 ⁻²	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻²	(+)	(+)	10 ⁻²	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻³	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻³	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻³	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	3	>1100									
	10 ⁻³	(+)	(+)	10 ⁻³	3	>1100	3	>1100	3	>1100									

Tabla 24. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y *E. coli*.

Prueba Confirmativa (Coliformes fecales)

Método de desinfección	Tiempo		5 minutos						10 minutos		15 minutos		Resultados NMP						
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Blanco *	10 ⁻¹	(+)	(+)					10 ⁻¹	3	>1100									
	10 ⁻¹	(+)	(+)																
	10 ⁻¹	(+)	(+)																
	10 ⁻²	(+)	(+)					10 ⁻²	3										
	10 ⁻²	(+)	(+)																
	10 ⁻²	(+)	(+)																
	10 ⁻³	(+)	(+)					10 ⁻³	3										
	10 ⁻³	(+)	(+)																
	10 ⁻³	(+)	(+)																
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100								1	29
Solución de Yodo 4 ppm + Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3										
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3										
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100									
Solución de yodo 8 ppm	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3										
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3										
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)												
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100									

Continuación Tabla 24. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.

Prueba Confirmativa (Coliformes fecales)

Método de desinfección	Tiempo			Resultados NMP																
	5 minutos			10 minutos			15 minutos			5 minutos			10 minutos			15 minutos				
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Hipoclorito de Sodio + Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	1100	10 ⁻¹	3	1	16						
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3											
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		2											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	1100	10 ⁻¹	3	3	1100						
Infusión de Orégano 10% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3											
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		2											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	10 ⁻¹	3	3	>1100						
Detergente 2.5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		3											
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		3											
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	>1100	10 ⁻¹	3	3	>1100						

Continuación Tabla 24. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.

Prueba Confirmativa (Coliformes fecales)

Método de desinfección	5 minutos			10 minutos			15 minutos			Resultados NMP					
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g		
Vinagre comercial 4% Acido acético	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	3	>1100	3	93		
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻²	3		2			
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻³	3		0			
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)							
	10													1	
															29

Tabla 25. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.
Prueba de E. coli.

Método de desinfección	Tiempo		5 minutos						10 minutos		15 minutos		Resultados NMP						
	Dilución	Crec	FG	FG	Crec	FG	Crec	FG	Crec	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Blanco *	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)						-1	3	240							
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)															
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)						10									
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)						-2	3								
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)															
	10 ⁻²	(+)	(-)	(-)						10									
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)						-3	0								
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)															
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)						10									
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	-1	1	29	1	11		1		1	7
Solución de Yodo 4 ppm + Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)										
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10								1	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-2	3							1	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)										
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10								1	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-3	3							1	
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)										
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10									
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-1	1	15	1	15		1		1	11
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)										
Solución de yodo 8 ppm	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	10								2	
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-2	2								
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)										
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10								1	
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	-3	1							0	
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)										
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	10									
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)										

Continuación Tabla 25. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.
Prueba de E. coli.

Método de desinfección	Tiempo			5 minutos			10 minutos			15 minutos			5 minutos			10 minutos			15 minutos						
	Dilución	Crec	FG	Dilución	Crec	FG	Dilución	Crec	FG	Dilución	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	
Hipoclorito de Sodio + Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	2	29	1	15	1	7				1		
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	3		1						1			
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	10	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	10	0		5						0			
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
Infusión de Orégano 10% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	3	43	2	35	2	16				1		
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)										3			
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		1		2									
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
Solución de Detergente 2.5% p/v	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	3	43	1	7	1	3				0		
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		1		0									
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻²	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													
	10 ⁻³	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)													

Continuación Tabla 25. Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Determinación y cuantificación por el Número mas Probable de Coliformes Totales, Fecales y E. coli.
Prueba de E. coli.

Método de desinfección	Tiempo						Resultados NMP										
	5 minutos			10 minutos			15 minutos			5 minutos		10 minutos		15 minutos			
	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Dilución	Crec	FG	Crec	FG	Dilución	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g	# Tubos	NMP/g
Vinagre comercial 4% Acido acético	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	10 ⁻¹	(+)	(+)	(+)	(+)	-1	1	4	1	4	0	<3.0
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)							
	10 ⁻¹	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	10						
	10 ⁻²	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	-2	0			0		
	10 ⁻²	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)							
	10 ⁻²	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	10						
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	-3	0			0		
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)							
	10 ⁻³	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	10				0		

Tabla 26. Resultados Etapa III de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Ensayo final aplicando los métodos propuestos al cilantro. Confirmación de presencia de *E. coli* en Medio de cultivo diferencial Eosina Azul de Metileno (EMB)

Método de desinfección	Tiempo		5 minutos	10 minutos	15 minutos
	Dilución	Crec	Crec	Crec	
Blanco	10 ⁻²	(+++)			
Solución de yodo 4 ppm + Detergente 5% p/v	10 ⁻²	(++)	(++)	(---)	
Solución de yodo 8 ppm	10 ⁻¹	(++)	(++)	(+++)	
Hipoclorito de sodio + Solución Detergente 5% p/v	10 ⁻¹	(++)	(++)	(---)	
Infusión de Orégano 10% p/v	10 ⁻¹	(++)	(++)	(++)	
Solución de Detergente 2.5% p/v	10 ⁻¹	(+++)	(+++)	(+++)	
Vinagre comercial 4% ácido acético	10 ⁻¹	(++)	(++)	(++)	

*El blanco no fue evaluado utilizando tiempo

Códigos y Abreviaturas

Diluc.: Dilución

Crec: Crecimiento o turbidez

FG: Formación de gas

(+): Positivo

(-): Negativo

(+++): Crecimiento positivo y abundante de colonias típicas de *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*

(++): Crecimiento positivo muy poco de colonias típicas de *E. coli*, *Salmonella* o *Shigella*

(---): Sin crecimiento de colonias típicas de *E. coli*, *Salmonella* o *Shigella*

%p/v: Porcentaje Peso volumen

ppm: Partes por millón

Tabla 27. Resultados de Etapa III de Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas: Ensayo final aplicando métodos propuestos. Determinación de presencia de *Salmonella* en 25 g muestra.

Hortaliza: Cilantro

Medio	Tetratonato				Rappaport				SS						
	Crecimiento				Crecimiento				Crecimiento de Colonias típicas de <i>Salmonella</i>			Crecimiento de Colonias típicas de <i>Shigella</i>			
	5 minutos	10 minutos	15 minutos	5 minutos	10 minutos	15 minutos	5 minutos	10 minutos	15 minutos	5 minutos	10 minutos	15 minutos	5 minutos	10 minutos	15 minutos
Blanco/Desinfectante	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(++)	(++)
Blanco	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(++)	(++)
Solución de yodo 4 ppm + Detergente 5% p/v	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(++)	(--)	(++)	(++)	(++)	(++)
Solución de yodo 8 ppm	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
Hipoclorito de sodio + Solución Detergente 5% p/v	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(--)
Infusión de Orégano 10% p/v	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
Solución de Detergente 2.5% p/v	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
Vinagre comercial 4% ácido acético	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(++)	(--)	(--)	(++)	(++)	(--)

Tabla 28. Resultados de pruebas bioquímicas realizadas a colonias aisladas con características típicas de Salmonella incubadas en medio diferencial SS (Salmonella – Shigella)

Método de Desinfección y tiempo de acción	Infusión de Orégano al 10% p/v 15 minutos	Solución de Yodo 4 ppm + solución de detergente al 5% p/v 15 minutos
Prueba bioquímica		
TSI	A/negro	A/negro
INDOL	+	+
CIT	+	+
RM	+	+
VP	-	-
MOV	-	-
GAS (TSI)	+++	+++
H ₂ S (TSI)	++	++
Resultado	<u>Salmonella enteritidis</u>	<u>Salmonella enteritidis</u>

10.3.1 Resultados Etapa III de la Evaluación de métodos de desinfección para hortalizas

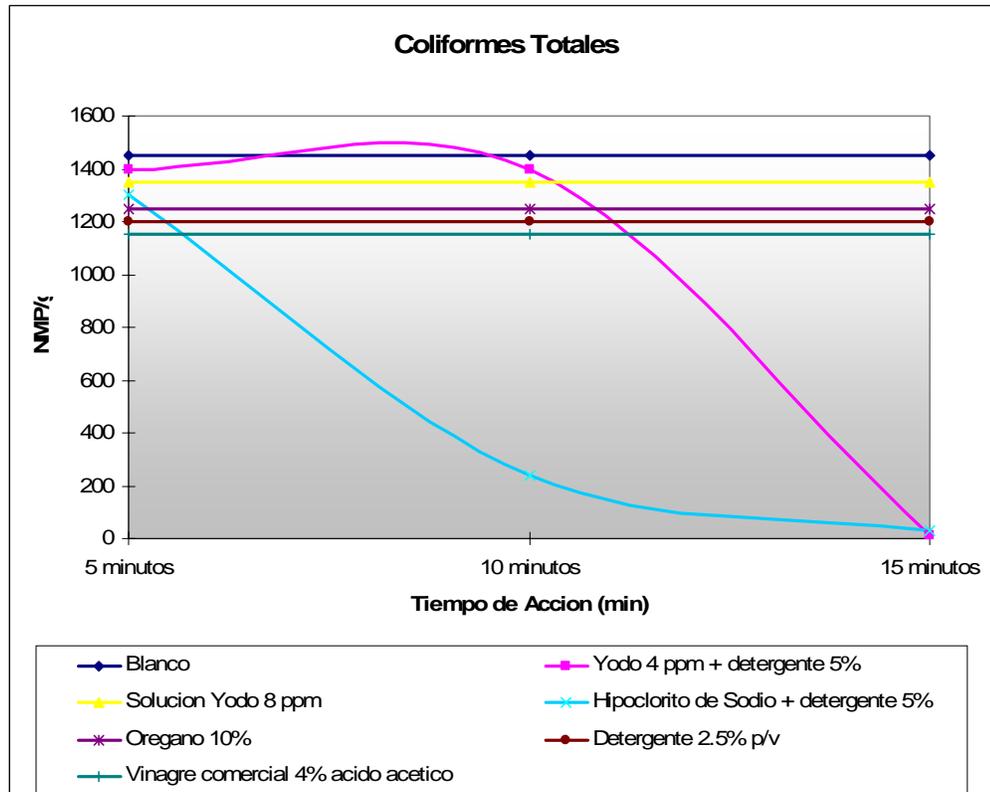


Gráfico 5. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Totales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción.

Interpretación

En el gráfico 5, se observa el comportamiento de la carga bacteriana cuantificada en NMP/g, respecto al tiempo de acción para cada uno de los métodos de desinfección. La curva celeste y la curva rosa, muestran la reducción de coliformes totales para los métodos de desinfección de hipoclorito de sodio y yodo, respectivamente, ambos en combinación con un lavado previo con solución de detergente al 5% p/v. Se visualiza la efectividad para la reducción de coliformes totales respecto al tiempo en una muestra de cilantro de estos métodos en relación a los demás.

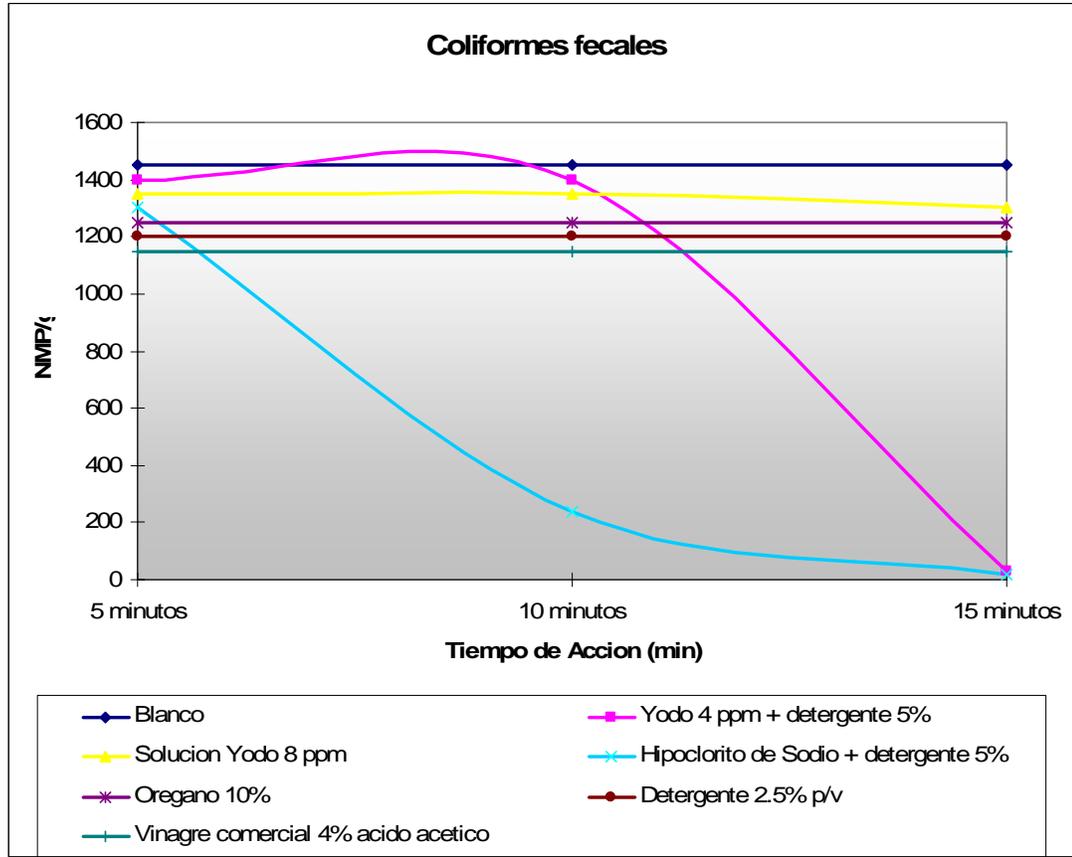


Grafico 6. Comportamiento de la carga bacteriana de Coliformes Fecales (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección químicos, químicos no convencionales y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción.

Interpretación:

En el gráfico 6, se observa el comportamiento de la carga bacteriana cuantificada en NMP/g, respecto al tiempo de acción para cada uno de los métodos de desinfección. La curva celeste y la curva rosa, muestran la reducción de coliformes fecales para los métodos de desinfección de hipoclorito de sodio y yodo, respectivamente, ambos en combinación con un lavado previo con solución de detergente al 5% p/v. Se visualiza la efectividad para la reducción de coliformes fecales respecto al tiempo en una muestra de cilantro de estos métodos en relación a los demás.

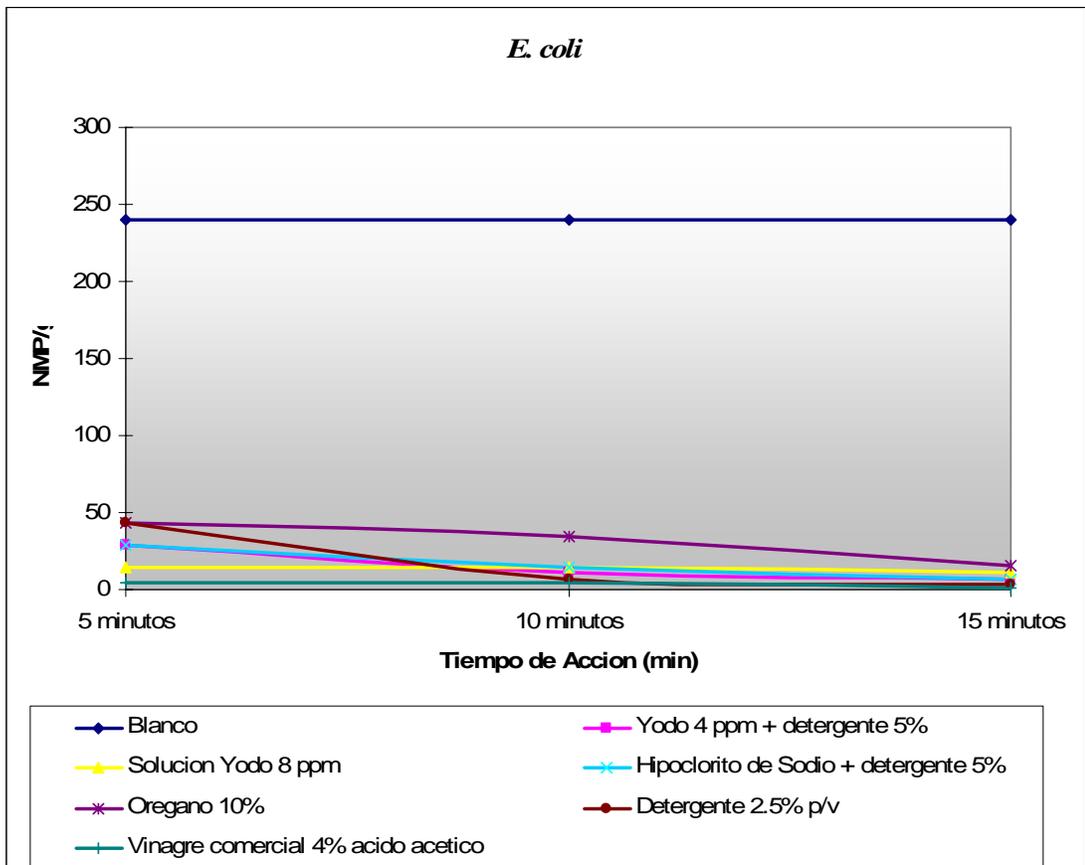


Grafico 7. Comportamiento de la carga bacteriana de *E. coli* (estimada en NMP/g) para cilantro, frente al tratamiento con los métodos de desinfección química, químicos no convencional y no químico a diferentes concentraciones y tiempos de acción.

Interpretación

En el gráfico 7, se observa el comportamiento de la carga bacteriana cuantificada en NMP/g, respecto al tiempo de acción para cada uno de los métodos de desinfección. Se visualiza la reducción de la carga bacteriana de *E. coli* respecto al tiempo de todos los métodos de desinfección ensayados. Sobresalen en este caso, el vinagre comercial 4% ácido acético, así como los métodos de hipoclorito de sodio y yodo combinados con solución de detergente al 5% p/v.

11.0 OBSERVACIONES DE LAS ETAPA EXPERIMENTAL

11.1 Observaciones de la Etapa I

- La primera etapa (prueba piloto), se realizó con el objetivo de evaluar la efectividad los métodos químicos de desinfección seleccionados, a las concentraciones recomendadas en las viñetas de estos productos.
- En la primera etapa se aplicó previo al uso de los desinfectantes un lavado con agua potable a las hortalizas y también se determinó la microflora bacteriana presente en las hortalizas.
- Después de realizar los análisis microbiológicos para la evaluación de los métodos de desinfección en cada una de las hortalizas, se estableció que la hortaliza que presentaba mayor grado de contaminación en relación a coliformes totales, fecales y E. coli fue el cilantro.
- Debido a las limitaciones de recursos económicos relacionados con los materiales y medios de cultivo utilizados para la realización de la parte experimental, se decidió evaluar los métodos de desinfección no químicos seleccionados a diferentes concentraciones y tiempos de acción, utilizando para ello la escala de Mc Farland como método para determinar la susceptibilidad de crecimiento de coliformes totales en las muestras de hortalizas.

11.2 Observaciones de la Etapa II

- Se enviaron a analizar al Laboratorio de Servicios Analíticos de la Fundación Salvadoreña para la investigación del Café (PROCAFE), las concentraciones de componentes activos de los desinfectantes químicos seleccionados, para poder verificar si las concentraciones declaradas en las viñetas de estos productos coinciden con los valores obtenidos de los análisis de laboratorio.

- Se establecieron como concentraciones reales los valores obtenidos de los análisis del laboratorio de PROCAFE sin embargo se realizaron las conversiones necesarias para presentar los valores de concentración en partes por millón (ppm) y comparar estos valores con los presentados dentro de los límites permitidos para uso de estos desinfectantes según lo especificado en el capítulo I.
- Se aplicó la escala de Mc. Farland utilizando las siguientes concentraciones y tiempos de acción para cada uno de los desinfectantes químicos seleccionados:
 - a) Método Hipoclorito de Sodio a la concentración determinada en los análisis de Laboratorio realizados en PROCAFE a tiempo de acción de 5, 10 y 15 min.
 - b) Método Yodo en Solución al doble concentración a la concentración determinada en los análisis de Laboratorio realizados en PROCAFE a tiempo de acción de 5,10 y 15 minutos
 - c) Método de cloruro de Benzalconio a doble concertación a la concentración determinada en los análisis de Laboratorio realizados en PROCAFE a tiempo de acción de 5, 10 y 15 min.
- Se aplicó la escala de Mc. Farland utilizando las siguientes métodos de desinfección no químicos a las siguientes concentraciones y tiempos de acción:
- Solución de orégano a concentración de 2,5 y 10 %p/v a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min.
- Vinagre a concentración de 4%v/v de ácido acético a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min
- Se aplicó de la escala de Mc. Farland utilizando solución de detergente al 2.5 y 5%p/v a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min.

- De los métodos de desinfección aplicados se seleccionaron para aplicarlos en la tercera fase de la etapa experimental, aquellos que no presentaron crecimiento de colonias típicas de E. coli
- Se decidió no proceder con la evaluación del método de cloruro de benzalconio en la tercera fase de etapa experimental por las siguientes razones:
 - Los desinfectantes elaborados con este componente activo, no están recomendados para uso directo con alimentos sino únicamente con aquellas superficies que estarán en contacto con los mismos.
 - Los resultados obtenidos del análisis de este método de desinfección demostraron que su aplicación a las condiciones especificadas en la viñeta del producto no inhiben el crecimiento de E. coli en las muestras.
- Debido a que en la fase I se determinó que el cilantro posee los niveles más altos de contaminación por coliformes totales, fecales y E. coli., se decidió evaluar los métodos de desinfección químicos y no químicos seleccionados en la tercera etapa de la fase experimental únicamente para esta hortaliza, ya que se consideró que si los desinfectantes realizaba destrucción total o parcial de la flora microbiana presente en esta hortalizas, lo realizarían también de forma similar en las otras hortalizas ue presentaron un menor gradote contaminación.

11.3 Observaciones de la Etapa III

- Se dividió en dos subetapas: en la primera se evaluaron los métodos de Desinfección no químicos y las solución de detergente a las siguientes concentraciones y tiempos de acción:
 - Solución de Orégano al 10% p/v a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min.

- Vinagre al 4% v/v a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min.
 - Solución de detergente al 2.5% p/v a tiempos de acción de 5, 10 y 15 min.
- Debido a que los resultados del análisis de la solución de detergente al 2.5%p/v reflejaron que no se realizó inhibición en el crecimiento de coliformes totales ya que el NMP es >1100, para la segunda subetapa se utilizó solución jabonosa al 5%p/v.
- En la segunda subetapa se evaluaron los métodos de Desinfección químicos a concentraciones y tiempos de acción así como la combinación del uso de solución de detergente con los desinfectantes de la manera siguiente:
- Método Hipoclorito de Sodio + Solución de detergente a tiempo de acción de 5, 10 y 15 min.
 - Método Yodo en Solución a la concentración determinada en los análisis de laboratorio realizados en PROCAFE + Solución de detergente a doble concentración a 5,10 y 15 minutos
 - Método Yodo en Solución a doble concentración a 5,10 y 15 minutos
- Con los resultados obtenidos en las tres etapas se procedió al análisis e interpretación de los resultados y posteriormente al establecimiento de conclusiones.

CONCLUSIONES

- 1 De acuerdo a la investigación Bibliográfica realizada se determinó que los límites permisibles para el uso de soluciones de yodo y de hipoclorito de sodio son 30 ppm y 200 ppm. respectivamente, mientras que la utilización de Cloruro de Benzalconio como método de desinfección de hortalizas no se considera adecuado, debido a la toxicidad que esta sustancia genera al entrar en contacto directo con los alimentos.
- 2 Los métodos de desinfección para hortalizas comercializados actualmente en el mercado nacional, aplicados según lo declara la viñeta del producto no reducen la carga microbiana presente en las hortalizas objeto de análisis en la investigación, sin embargo a partir de los resultados obtenidos en la fase experimental, se pudo determinar que la combinación de estos métodos con un agente tensoactivo, aumentan su efectividad y por tanto reducen la presencia de *E. coli*.
- 3 Los resultados de los análisis microbiológicos obtenidos en la etapa 2 al aplicar la prueba de susceptibilidad de McFarland en escala de 0.5 la cual representa una concentración estimada de 10⁸ UFC/ml, demostraron que la solución de detergente al 2.5 % p/v, solución de yodo al doble de la concentración especificada en el frasco del producto (8 ppm) y la solución de orégano al 10% p/v todas a tiempos de acción 5 y 10 minutos inhibían el crecimiento de *E. coli* en las hortalizas, sin embargo en la etapa tres se obtuvo resultados que diferían con los anteriores, lo cual se puede aducir a la presencia de una carga bacteriana mayor a 10⁸ UFC/ml en las hortalizas.
- 4 En la etapa 3 de la fase experimental se estableció que el método de desinfección que presenta mayor efectividad ante la reducción de la carga bacteriana, tanto de coliformes totales, fecales, *E. coli* y *Salmonella*, a un tiempo de acción de 15 minutos es el tratamiento

aplicando un lavado previo a las hortalizas con una solución detergente al 5 % p/v y posteriormente la aplicación de una solución de Hipoclorito de Sodio de 169 ppm, realizando esta dilución de acuerdo a las recomendaciones presentadas en la viñeta del producto.

- 5 El método no químico de desinfección que reduce sustancialmente la presencia de *E. coli* a un nivel por debajo del límite máximo permitido en alimentos para las hortalizas analizadas, de acuerdo a los resultados obtenidos en la etapa 3 de la fase experimental es una solución de orégano a concentración de 10 % p/v a un tiempo de acción de 15 minutos.
- 6 Se determinó que el método químico no convencional que inhibe el crecimiento de células viables de *Salmonella* es el ácido acético (vinagre) al 4% v/v.

RECOMENDACIONES

- El uso de los métodos de desinfección para hortalizas es una medida correctiva ante la necesidad de consumir alimentos que no sean nocivos a la salud y la conciencia que existe popularmente que las hortalizas se encuentran contaminadas por el inadecuado manejo desde el punto de origen, por tanto se recomienda el uso de medidas preventivas como las Buenas Practicas Agrícolas (BPA) en la producción primaria y de Buenas Prácticas higiénicas en las etapas de post cosecha incluyendo el transporte al centro de distribución y venta.
- Se recomienda el uso del método de desinfección para hortalizas que se consumen en crudo en el que se aplica un lavado previo a las mismas con una solución de detergente al 5 % p/v y posteriormente una solución de Hipoclorito de Sodio de 169 ppm, realizando esta dilución de acuerdo a las recomendaciones presentadas en la viñeta del producto, para hortalizas tales como cilantro, apio y otra con características similares.
- No se recomienda el uso del vinagre como método de desinfección químico no “convencional” para las diferentes hortalizas, por medio de la adición de un volumen de desinfectante suficiente hasta cubrir la hortaliza, dejándolo actuar por 15 minutos y finalmente retirándolo con agua potable.
- Para la preparación y uso de los métodos de desinfección para hortalizas es recomendable utilizar instrumentos de medición de volumen adecuados y pertinentes a nivel casero para no afectar la efectividad de los mismos.
- Que las autoridades competentes realicen con frecuencia actividades de inspecciones y verificación en los centros de distribución, tal es el caso de los mercados, así como brindar charlas de capacitación a los vendedores y distribuidores sobre el adecuado manejo de las hortalizas y alimentos en general.

→ A nivel nacional no existe ninguna normativa que indique los límites microbiológicos permisibles para el tipo de muestra analizada durante nuestro estudio, por tanto se recomienda a las autoridades correspondientes evaluar la importancia de contar con reglamentos técnicos que especifiquen los parámetros necesarios para garantizar la inocuidad de las hortalizas y así asegurar la salud de los consumidores.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

1. Collins, C.H. & Lyne, P. M. (2003). **“Métodos microbiológicos”**. Editorial Acribia, España.
2. Forsythe S. J., Hayes P. R. (2002) **“Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP”**. Editorial Acribia, España
3. Figuerola F., Rojas L. (1993), **“Procesamiento de frutas y hortalizas mediante métodos artesanales y de pequeña escala”**, Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura y la Alimentación, Santiago de Chile.
4. Gavin, A. and Weddig, L.M. (1995) **“Canned Foods: Principles of Thermal Process Control, Acidification and Container Closure Evaluation”**, The Food Processors Institute, Washington, D.C.
5. International Commission on microbiological specifications for foods “ICMSF” (1980) **“Ecología microbiana de los alimentos. Parte 1”**, Editorial Acribia, España.
6. Johnson, J. D. (1975) **“Desinfection–Water and Waste-Water”**. Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor Michigan.
7. Join Institute for Food Safety and Applied Nutrition “CFSAN” (2001) **“Buenas Prácticas para la manipulación, embalaje, almacenamiento y transporte de productos frescos”**, Universidad de Maryland, Estados Unidos.
8. López C., Andrés F (2003). **“Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. Del campo al mercado”**, FAO, Roma, 2003
9. Marriott, N. G. (1999) **“Principles of food sanitation”** (4th. Edition), Ed. Gaithersburg (MD) Aspen.

10. Merianos, J.J. (1991), **“Quaternary ammonium antimicrobial compounds. Desinfection, sterilization and preservation.** Lean and Febiger. Philadelphia.
11. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (2000), **“Manual para el Control de la Calidad de los alimentos. Análisis Microbiológico”.**
12. Reigart, J. Roberts J. (1999), **“Reconocimiento y Manejo de los envenenamientos por pesticidas”.** Quinta Edición, Agencia de protección ambiental (EPA), Washington D.C.
13. Richardson, S.D., Thruston, A.D., Caughran, T.V., Collete, T.W., Patterson, K.S. and Lykins, B.W. (1998), **“Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. Food Technology”.**

TESIS

14. Espinoza Al., C. B.; Lemus R., W. H.; Manzano G.; R. E. (1999) **“Evaluación de la calidad microbiológica de ensaladas frescas elaboradas artesanalmente en los comedores de los mercados del área de San Salvador y Antiguo Cuscatlán”.** Trabajo de Graduación para optar al título de Licenciado en Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
15. Salamanca G., P. A. (1974) **“Uso de la tintura de yodo en la desinfección de hortalizas”.** Trabajo de Graduación para optar al título de Licenciado en Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.

DOCUMENTOS

16. Beuchat, L.R. 1998. **Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: A review.** World Health Organization. WHO/FSF/FOS/98.2.
17. Castillo Al. (2004), **“Importancia de la calidad e inocuidad alimentaria”**, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos”, Universidad de Texas A&M, Collage Station.
18. Garmendia, G., Verso, S., **“Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas”**, Facultad de Química, Universidad de Paraguay.
19. U.S. Food and Drug Administration “FDA” (1998), **“Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables”**.
20. U.S. Food and Drug Administration “FDA” and Center for Food Safety and Applied Nutrition “CFSAN” (2001), **“Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce”**.
21. U.S. Department of Agriculture (1977) **“List of chemical compounds authorized for the use under U.S.D.A. Meat, Poultry rabbit and eggs products inspection programs”**, MPI 8. U.S. Gov. Print. Off., Washington D.C.
22. U.S. Department of Health, Education and Welfare, (1976^a.), **“Food Service Sanitation Manual”**, HEW Plub. No. (FDA) 78-2081. U.S. Gov. Print. Off., Washington D.C.

REFERENCIAS NORMATIVAS

23. Asociación Española de Normalización (2005), Norma UNE-EN ISO 22000 **“Sistemas de gestión de la inocuidad de alimentos. Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria”**

24. Comisión Codex Alimentarius (2003), “**Código Internacional de Prácticas Recomendado - Principios Generales De Higiene De Los Alimentos**” (CAC/RCP 1-1969, Rev 4).

DOCUMENTOS DE REFERENCIA DE INTERNET

25. "Agar Salmonella – Shigella", extraído de:
<http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/salmoshigagar.htm>
26. "Apium graveolens", extraído de
http://es.wikipedia.org/wiki/Apium_graveolens
27. "Cuaternarios de Amonio, antisépticos y Desinfectantes", extraído de:
<http://www.quiminet.com.mx/pr1/CLORURO+DE+AMONIO.htm#m-info>
28. "Cultivo del orégano", extraído de:
http://www.infoagro.com/aromaticas/oregano_sin2.asp
29. " El vinagre", extraído de:
<http://www.proluxsa.com/spanish/elvinagre.html>
30. Enciclopedia de Frutas y Hortalizas, extraído de:
<http://www.adefrutas.com/enciclopedia/>
31. Foro Mundial sobre Inocuidad Alimentaria: "La inocuidad de los alimentos" .
http://www.cofepris.gob.mx/RevistaRED/portada2005julio/num2_art_5.htm
32. Inocuidad de los alimentos: "Como controlar peligros":
http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/revistas/r_12/12_09_peligros.htm
33. Inocuidad agroalimentaria.
http://190.8.196.14/www/docs_agronet/20061114114816_ICAInforma.pdf

34. "Origanum Vulgare", extraído de:

http://es.wikipedia.org/wiki/Origanum_vulgare

ANEXOS

ANEXO 1. CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LAS FRUTAS Y HORTALIZAS

FRESCAS CAC/RCP 53-2003

Índice

CÓDIGO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE PARA LAS FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS	1
INTRODUCCIÓN	3
1. OBJETIVOS DEL CÓDIGO	3
2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES	3
2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN.....	3
2.2 UTILIZACIÓN.....	4
2.3 DEFINICIONES.....	4
3. PRODUCCIÓN PRIMARIA	5
3.1 HIGIENE DEL MEDIO.....	5
3.2 PRODUCCIÓN PRIMARIA HIGIÉNICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS.....	6
3.2.1 <i>Requisitos relativos a los insumos agrícolas</i>	6
3.2.2 <i>Instalaciones cerradas utilizadas en el cultivo y la recolección</i>	8
3.2.3 <i>Servicios sanitarios y de salud e higiene para el personal</i>	9
3.2.4 <i>Equipo utilizado en el cultivo y la recolección</i>	10
3.3 MANIPULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE.....	10
3.3.1 <i>Prevención de la contaminación cruzada</i>	10
3.3.2 <i>Almacenamiento y transporte desde el campo al establecimiento de envasado</i>	11
3.4 LIMPIEZA, MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO.....	11
3.4.1 <i>Programas de limpieza</i>	11
3.4.2 <i>Procedimientos y métodos de limpieza</i>	11
3.4.3 <i>Sistemas de lucha contra las plagas</i>	12
3.4.4 <i>Gestión de residuos</i>	12
4. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: PROYECTO E INSTALACIONES	12
5. CONTROL DE LAS OPERACIONES	12
5.1 CONTROL DE LOS PELIGROS PARA LOS ALIMENTOS.....	12
5.2 ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS SISTEMAS DE CONTROL DE HIGIENE.....	12
5.2.1 <i>Control del tiempo y la temperatura</i>	12
5.2.2 <i>Fases específicas del proceso</i>	12
5.2.3 <i>Especificaciones microbiológicas y de otra índole</i>	13
5.2.4 <i>Contaminación microbiana cruzada</i>	13
5.2.5 <i>Contaminación física y química</i>	13
5.3 REQUISITOS RELATIVOS A LAS MATERIAS PRIMAS.....	13
5.4 ENVASADO.....	13
5.5 AGUA UTILIZADA EN EL ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO.....	13
5.6 DIRECCIÓN Y SUPERVISIÓN.....	13
5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS.....	14
5.8 PROCEDIMIENTOS DE RETIRO DE PRODUCTOS DEL MERCADO.....	14
6. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO	14
7. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: HIGIENE PERSONAL	14
8. TRANSPORTE	14
9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES	14
10. CAPACITACIÓN	14
10.1 CONOCIMIENTO Y RESPONSABILIDADES.....	15
10.2 PROGRAMAS DE CAPACITACIÓN.....	15

ANEXO I	16
ANEXO SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS PRECORTADAS LISTAS PARA EL CONSUMO.....	16
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVO.....	16
2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES.....	16
2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN	16
2.2 UTILIZACIÓN.....	17
2.3 DEFINICIONES	17
3. PRODUCCIÓN PRIMARIA	17
4. ESTABLECIMIENTO: PROYECTO E INSTALACIONES.....	17
4.4 INSTALACIONES	17
4.4.2 <i>Drenaje y eliminación de residuos</i>	17
5. CONTROL DE LAS OPERACIONES.....	17
5.1 CONTROL DE LOS PELIGROS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS	17
5.2 ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS SISTEMAS DE CONTROL.....	18
5.2.2 <i>Fases específicas del proceso</i>	18
5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS.....	18
5.8 PROCEDIMIENTOS DE RETIRADA DE PRODUCTOS DEL MERCADO	19
6. ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO	
7. ESTABLECIMIENTO: HIGIENE PERSONAL	
8. TRANSPORTE	19
9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES	19
10. CAPACITACIÓN.....	19
10.2 PROGRAMAS DE CAPACITACIÓN.....	19
ANEXO II.....	20
ANEXO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS GERMINADAS.....	20
INTRODUCCIÓN	20
1. OBJETIVOS.....	20
2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES.....	20
2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN	20
2.2 UTILIZACIÓN.....	20
2.3 DEFINICIONES	20
3. PRODUCCIÓN PRIMARIA DE SEMILLAS	21
3.2 PRODUCCIÓN HIGIÉNICA DE SEMILLAS	21
3.2.1.2 <i>Estiércol y biosólidos</i>	21
3.2.4 <i>Equipo utilizado en el cultivo y la recolección</i>	21
3.3 MANIPULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE	21
3.4 ANÁLISIS	21
3.5 PROCEDIMIENTOS DE RETIRADA DE PRODUCTOS DEL MERCADO	22
4. ESTABLECIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS GERMINADAS.....	22
4.2.1 <i>Proyecto y disposición</i>	22
5. CONTROL DE LAS OPERACIONES.....	22
5.2.2 <i>Fases específicas del proceso de producción de semillas germinadas</i>	22
5.2.3 <i>Especificaciones microbiológicas y de otra índole</i>	24
5.2.4 <i>Contaminación microbiológica cruzada</i>	25
5.3 REQUISITOS RELATIVOS A LAS MATERIAS PRIMAS.....	25
5.3.1 <i>Especificaciones para las semillas recibidas</i>	25
5.3.2 <i>Control de las semillas recibidas</i>	25
5.3.3 <i>Almacenamiento de semillas</i>	25
5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS.....	25

6.	ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO	26
7.	ESTABLECIMIENTO: HIGIENE PERSONAL	26
8.	TRANSPORTE	26
9.	INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES	26
10.	CAPACITACIÓN	26
10.1	CONOCIMIENTO Y RESPONSABILIDADES.....	26

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones científicas de los últimos decenios han demostrado que una dieta rica en frutas y hortalizas protege contra numerosos tipos de cáncer y disminuye la incidencia de las cardiopatías coronarias. El reconocimiento de la importancia del consumo habitual de frutas y hortalizas frescas, unido a un notable aumento de la disponibilidad de estos productos durante todo el año en el mercado mundial, ha contribuido a un incremento importante del consumo de frutas y hortalizas frescas en los últimos 20 años. Sin embargo, el aumento reciente de los casos notificados de enfermedades transmitidas por alimentos que se asocian a las frutas y hortalizas frescas ha suscitado preocupación entre los organismos de salud pública y los consumidores en cuanto a la inocuidad de estos productos.

1. OBJETIVOS DEL CÓDIGO

El presente código aborda las buenas prácticas agrícolas (BPA) y las buenas prácticas de fabricación (BPF) que ayudarán a controlar los peligros microbianos, químicos y físicos asociados con todas las etapas de la producción de frutas y hortalizas frescas, desde la producción primaria hasta el envasado. En él se dedica particular atención a reducir al mínimo los peligros microbianos. El código ofrece un marco general de recomendaciones que permite su adopción uniforme por este sector, en lugar de ofrecer recomendaciones detalladas sobre prácticas, operaciones o productos agrícolas específicos. El sector de las frutas y hortalizas frescas es muy complejo. Las frutas y hortalizas frescas se producen y envasan en condiciones ambientales diversas. Se reconoce que algunas de las disposiciones de este código pueden ser difíciles de aplicar en zonas donde la producción primaria se lleva a cabo en pequeñas explotaciones, tanto en países desarrollados como en desarrollo y también en zonas donde se practica la agricultura tradicional. Por consiguiente, el código es necesariamente flexible a fin de dar cabida a diferentes sistemas de control y prevención de la contaminación para diferentes grupos de productos.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES

2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente código de prácticas comprende prácticas generales de higiene para la producción primaria y el envasado de frutas y hortalizas frescas cultivadas para el consumo humano a fin de obtener un producto inocuo y sano, especialmente las que van a consumirse crudas. Concretamente, este anteproyecto de código es aplicable a las frutas y hortalizas frescas cultivadas en el campo (con o sin cubierta) o en instalaciones protegidas (sistemas hidropónicos, invernaderos). Se concentra en los peligros microbianos y solamente aborda los físicos y químicos en la medida en que se relacionen con las BPA y las BPF.

El *Anexo sobre Frutas y Hortalizas Frescas Precortadas Listas para el Consumo* (Anexo I) y el *Anexo sobre la Producción de Semillas Germinadas* (Anexo II) son complementos de este código e incluyen recomendaciones suplementarias para regular las prácticas de higiene en la producción de frutas y hortalizas frescas precortadas listas para el consumo y las que son específicas de la producción primaria de semillas destinadas a la germinación y la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano.

Este código no ofrece recomendaciones sobre prácticas de manipulación para mantener la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas en el comercio al por mayor o al por menor, en los servicios alimentarios o en los hogares. Quedan excluidos de él los productos alimenticios para los cuales existe un código específico de prácticas de higiene del Codex Alimentarius.

2.2 UTILIZACIÓN

El presente documento sigue el modelo del *Código Internacional Recomendado de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los Alimentos* - CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997) del Codex, junto con el cual deberá utilizarse. Se centra en cuestiones de higiene que son específicas de la producción primaria y el envasado de frutas y hortalizas frescas. Las cuestiones principales se regulan en la Sección 3. En otras secciones, se han ampliado los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos* cuando se presentan aspectos específicos de la producción primaria y el envasado. El *Anexo sobre Frutas y Hortalizas Frescas Precortadas Listas para el Consumo* ofrece recomendaciones suplementarias, específicas para la elaboración de frutas y hortalizas frescas precortadas y listas para el consumo, y el *Anexo sobre Producción de Semillas Germinadas* contiene recomendaciones suplementarias aplicables específicamente a la producción primaria de semillas para germinar y la producción de semillas germinadas para el consumo humano.

2.3 DEFINICIONES

Las definiciones de términos generales están incluidas en los Principios Generales de Higiene de los Alimentos. Para los fines del presente código, se entenderá por:

Agentes antimicrobianos – toda sustancia de origen natural, sintético o semi-sintético que en concentraciones bajas mata los microorganismos o inhibe su desarrollo provocando un daño reducido o nulo al organismo huésped.

Biosólidos – fangos y otros depósitos de residuos procedentes de instalaciones de tratamiento de aguas residuales y del tratamiento aplicado a desechos urbanos e industriales (industrias alimentarias y otros tipos de industrias).

Compostaje - proceso controlado en el que los materiales orgánicos son digeridos aeróbica y anaeróbicamente por acción microbiana.

Cultivo – toda acción o práctica agrícola empleada por los productores para establecer y mejorar las condiciones de cultivo de frutas y hortalizas frescas en el campo (con o sin cubierta) o en instalaciones protegidas (sistemas hidropónicos, invernaderos).

Envasador - persona que administra la elaboración poscosecha y el envasado de frutas y hortalizas frescas.

Envasar - acción de colocar frutas y hortalizas frescas en un envase. Esta operación puede llevarse a cabo en el campo o en un establecimiento.

Establecimiento de envasado - todo establecimiento cerrado en el que las frutas y hortalizas frescas reciben un tratamiento poscosecha y se envasan.

Estiércol - excrementos animales que pueden mezclarse con residuos orgánicos u otros materiales, así como fermentarse o someterse a algún otro tratamiento.

Explotación agrícola – todo lugar o establecimiento en que se cultiven y recolecten frutas y/u hortalizas frescas y las zonas circundantes que estén bajo el control de la misma dirección.

Insumos agrícolas - todo material recibido (por ejemplo, semillas, fertilizantes, agua, productos agroquímicos, soportes de plantas, etc.) que se utilice para la producción primaria de frutas y hortalizas frescas.

Lucha biológica – utilización de competidores biológicos (como por ejemplo insectos, microorganismos y/o metabolitos microbianos) para luchar contra ácaros, plagas, fitopatógenos y organismos que producen la descomposición.

Material peligroso - todo compuesto que, en determinadas cantidades, puede tener efectos perjudiciales para la salud.

Microorganismos - incluyen levaduras, hongos, bacterias, virus y parásitos. Como adjetivo correspondiente se utiliza el término “microbiano”.

Peligro – agente biológico, químico o físico presente en un alimento, o condición de este último, potencialmente capaz de producir un efecto nocivo para la salud.

Si no pueden identificarse los usos anteriores o si el examen de las zonas de cultivo o adyacentes lleva a la conclusión de que existen peligros potenciales, deberán analizarse dichos lugares para detectar la presencia de contaminantes que son motivo de preocupación. Si existen agentes contaminantes en cantidades excesivas y no se han adoptado medidas preventivas o correctivas para reducir al mínimo los posibles peligros, no deberán utilizarse esos lugares hasta que se hayan aplicado medidas correctivas o de control.

3.2 PRODUCCIÓN PRIMARIA HIGIÉNICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS

3.2.1 Requisitos relativos a los insumos agrícolas

Los insumos agrícolas no deberán contener contaminantes microbianos o químicos (según se definen en el Código Internacional Recomendado de Prácticas – Principios Generales de Higiene de los Alimentos) (CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997) en cantidades que puedan menoscabar a la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas, teniendo en cuenta las directrices de la OMS sobre el uso seguro de aguas residuales y excretas en la agricultura y la acuicultura cuando proceda.

3.2.1.1 Agua para la producción primaria

- Los productores deberán identificar las fuentes del agua utilizada en la explotación agrícola (abastecimiento municipal, agua de riego reutilizada, pozo, canal abierto, embalse, ríos, lagos, estanques piscícolas, etc.). Deberán evaluar su calidad microbiológica y química y su idoneidad para el uso previsto, e identificar medidas correctivas para prevenir o reducir al mínimo la contaminación (por ejemplo, procedente de ganado, tratamiento de aguas negras, asentamientos humanos).
- Cuando sea necesario, los productores deberán analizar el agua que utilizan para detectar contaminantes microbianos y químicos. La frecuencia de los análisis dependerá de la fuente de la que procede el agua y de los riesgos de contaminación ambiental, incluida la contaminación temporal o intermitente (por ejemplo, lluvias intensas, inundaciones, etc.). Si se observa que la fuente de agua está contaminada, deberán tomarse medidas correctivas a fin de garantizar que el agua resulte idónea para el uso previsto.

3.2.1.1.1 Agua para el riego y la recolección

El agua utilizada para fines agrícolas deberá ser de calidad adecuada para el uso previsto. Deberá prestarse especial atención a la calidad del agua en las situaciones siguientes:

- Riego con técnicas de distribución del agua que exponen directamente al agua la parte comestible de las frutas y hortalizas frescas (por ejemplo, pulverizadores) sobre todo en fechas próximas a la recolección.
- Riego de frutas y hortalizas con características físicas tales como hojas y superficies rugosas que facilitan la acumulación de agua.
- Riego de frutas y hortalizas que recibirán poco o ningún tratamiento de lavado poscosecha antes del envasado, como por ejemplo productos envasados en el campo.

3.2.1.1.2 Agua para la aplicación de fertilizantes y otros productos agroquímicos y para la lucha contra las plagas

- El agua utilizada para la aplicación en el campo y en instalaciones cerradas de fertilizantes y productos agroquímicos solubles en agua no deberá contener contaminantes microbianos en cantidades que puedan perjudicar la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas. Deberá prestarse especial atención a la calidad del agua cuando se utilicen técnicas de distribución de fertilizantes y productos agroquímicos (por ejemplo, aspersión) que exponen directamente al agua la parte comestible de las frutas y hortalizas frescas, sobre todo en fechas próximas a la cosecha.

3.2.1.1.3 Agua para cultivos hidropónicos

Las plantas que se cultivan en sistemas hidropónicos absorben nutrientes y agua a diferentes velocidades, por lo que cambia constantemente la composición de la solución de nutrientes recirculada. Por este motivo:

- El agua utilizada en los cultivos hidropónicos deberá cambiarse frecuentemente o, en el caso de que se recicle, deberá tratarse para reducir al mínimo la contaminación microbiana o química.

Si no pueden identificarse los usos anteriores o si el examen de las zonas de cultivo o adyacentes lleva a la conclusión de que existen peligros potenciales, deberán analizarse dichos lugares para detectar la presencia de contaminantes que son motivo de preocupación. Si existen agentes contaminantes en cantidades excesivas y no se han adoptado medidas preventivas o correctivas para reducir al mínimo los posibles peligros, no deberán utilizarse esos lugares hasta que se hayan aplicado medidas correctivas o de control.

3.2 PRODUCCIÓN PRIMARIA HIGIÉNICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS

3.2.1 Requisitos relativos a los insumos agrícolas

Los insumos agrícolas no deberán contener contaminantes microbianos o químicos (según se definen en el Código Internacional Recomendado de Prácticas – Principios Generales de Higiene de los Alimentos) (CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997) en cantidades que puedan menoscabar a la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas, teniendo en cuenta las directrices de la OMS sobre el uso seguro de aguas residuales y excretas en la agricultura y la acuicultura cuando proceda.

3.2.1.1 Agua para la producción primaria

- Los productores deberán identificar las fuentes del agua utilizada en la explotación agrícola (abastecimiento municipal, agua de riego reutilizada, pozo, canal abierto, embalse, ríos, lagos, estanques piscícolas, etc.). Deberán evaluar su calidad microbiológica y química y su idoneidad para el uso previsto, e identificar medidas correctivas para prevenir o reducir al mínimo la contaminación (por ejemplo, procedente de ganado, tratamiento de aguas negras, asentamientos humanos).
- Cuando sea necesario, los productores deberán analizar el agua que utilizan para detectar contaminantes microbianos y químicos. La frecuencia de los análisis dependerá de la fuente de la que procede el agua y de los riesgos de contaminación ambiental, incluida la contaminación temporal o intermitente (por ejemplo, lluvias intensas, inundaciones, etc.). Si se observa que la fuente de agua está contaminada, deberán tomarse medidas correctivas a fin de garantizar que el agua resulte idónea para el uso previsto.

3.2.1.1.1 Agua para el riego y la recolección

El agua utilizada para fines agrícolas deberá ser de calidad adecuada para el uso previsto. Deberá prestarse especial atención a la calidad del agua en las situaciones siguientes:

- Riego con técnicas de distribución del agua que exponen directamente al agua la parte comestible de las frutas y hortalizas frescas (por ejemplo, pulverizadores) sobre todo en fechas próximas a la recolección.
- Riego de frutas y hortalizas con características físicas tales como hojas y superficies rugosas que facilitan la acumulación de agua.
- Riego de frutas y hortalizas que recibirán poco o ningún tratamiento de lavado poscosecha antes del envasado, como por ejemplo productos envasados en el campo.

3.2.1.1.2 Agua para la aplicación de fertilizantes y otros productos agroquímicos y para la lucha contra las plagas

- El agua utilizada para la aplicación en el campo y en instalaciones cerradas de fertilizantes y productos agroquímicos solubles en agua no deberá contener contaminantes microbianos en cantidades que puedan perjudicar la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas. Deberá prestarse especial atención a la calidad del agua cuando se utilicen técnicas de distribución de fertilizantes y productos agroquímicos (por ejemplo, aspersión) que exponen directamente al agua la parte comestible de las frutas y hortalizas frescas, sobre todo en fechas próximas a la cosecha.

3.2.1.1.3 Agua para cultivos hidropónicos

Las plantas que se cultivan en sistemas hidropónicos absorben nutrientes y agua a diferentes velocidades, por lo que cambia constantemente la composición de la solución de nutrientes recirculada. Por este motivo:

- El agua utilizada en los cultivos hidropónicos deberá cambiarse frecuentemente o, en el caso de que se recicle, deberá tratarse para reducir al mínimo la contaminación microbiana o química.

- Los sistemas de distribución de agua deberán mantenerse y limpiarse, cuando proceda, para prevenir la contaminación microbiana del agua.

3.2.1.2 Estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales

El empleo de estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales en la producción de frutas y hortalizas frescas deberá hacerse de manera que se limite la posibilidad de contaminación microbiana, química y física. No deberán utilizarse estiércol, biosólidos u otros fertilizantes naturales que estén contaminados con metales pesados u otros productos químicos en cantidades que puedan afectar a la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas. Cuando sea necesario, deberán tenerse en cuenta las prácticas siguientes a fin de reducir al mínimo la contaminación microbiana:

- Deberán adoptarse procedimientos apropiados de tratamiento (por ejemplo, compostaje, pasteurización, secado por calor, radiación ultravioleta, digestión alcalina, secado al sol o combinaciones de éstos) que hayan sido proyectados para reducir o eliminar los agentes patógenos en el estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales. Cuando se examine la idoneidad de las diferentes aplicaciones, deberá tenerse en cuenta el grado de reducción de patógenos conseguido
- El estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales no tratados o parcialmente tratados podrán utilizarse únicamente si se adoptan medidas correctivas adecuadas para reducir los contaminantes microbianos, como por ejemplo aumentar al máximo el tiempo transcurrido entre la aplicación y la recolección de las frutas y hortalizas frescas.
- Los productores que compren estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales que hayan sido tratados para reducir la contaminación microbiana o química deberán, si es posible, obtener del proveedor una documentación en la que se identifiquen la procedencia, el tratamiento aplicado, los análisis realizados y los resultados de los mismos.
- Deberá reducirse al mínimo el contacto directo o indirecto del estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales con las frutas y hortalizas frescas, sobre todo en fechas próximas a la cosecha.
- Deberá reducirse al mínimo la contaminación por estiércol, biosólidos y otros fertilizantes naturales procedentes de campos adyacentes. Si se determina la posibilidad de contaminación procedente de los campos adyacentes, deberán aplicarse medidas preventivas (por ejemplo, cuidado durante la aplicación y control de la escorrentía) para reducir al mínimo los riesgos.
- Deberá evitarse que los lugares de almacenamiento o tratamiento estén situados en las proximidades de las zonas de producción de frutas y hortalizas frescas. Se deberá prevenir la contaminación cruzada por escorrentía o lixiviación asegurando las zonas donde se tratan y almacenan el estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales.

3.2.1.3 Suelos

Deberán evaluarse los suelos para detectar la presencia de peligros. Si la evaluación llega a la conclusión que existen niveles que puedan menoscabar la inocuidad de los cultivos, deberán aplicarse medidas de control para reducir los peligros a niveles aceptables. Si no es posible conseguirlo mediante las medidas de control disponibles, los productores no deberán utilizar esos suelos para la producción primaria.

3.2.1.4 Productos agroquímicos

- Los productores deberán utilizar únicamente productos agroquímicos que hayan sido autorizados para el cultivo de las frutas y hortalizas frescas en cuestión, y emplearlos siguiendo las instrucciones del fabricante para el fin previsto. Los residuos no deberán exceder de los límites establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius.
- A fin de reducir al mínimo y contener la aparición de resistencia a los antimicrobianos:
- Deberá evitarse la utilización de agentes antimicrobianos que sean significativos para la terapia de los seres humanos y los animales.

- Los agentes antimicrobianos que no sean significativos para la terapia de los seres humanos y los animales sólo deberán utilizarse cuando sea inevitable, de conformidad con las buenas prácticas agrícolas y de una manera que permita lograr este objetivo.
- Los trabajadores agrícolas que apliquen productos agroquímicos deberán recibir capacitación en los procedimientos apropiados de aplicación.
- Los productores deberán mantener registros de las aplicaciones de productos agroquímicos. Tales registros deberán incluir información sobre la fecha de aplicación, el producto químico utilizado, el cultivo rociado, la plaga o enfermedad contra la que ha sido utilizado, la concentración, método y frecuencia de la aplicación, y registros de la recolección para verificar si el tiempo transcurrido entre la aplicación y la recolección es adecuado.
- Los aspersores de productos agroquímicos deberán calibrarse cuando sea necesario para controlar la precisión de la dosis de aplicación.
- La mezcla de productos agroquímicos deberá llevarse a cabo de manera que se evite la contaminación de aguas y terrenos en las zonas circundantes y se proteja contra posibles peligros a las personas que realizan esta actividad.
- Los aspersores y los recipientes que contienen la mezcla deberán lavarse concienzudamente después de su utilización, especialmente cuando se utilicen para distintos productos agroquímicos en diferentes cultivos, a fin de evitar la contaminación de las frutas y hortalizas.
- Los productos agroquímicos deberán conservarse en sus recipientes originales etiquetados con el nombre de la sustancia química y las instrucciones para su aplicación. Los productos agroquímicos deberán almacenarse en un lugar seguro, bien ventilado y alejado de las zonas de producción, de superficies habitables y de las frutas y hortalizas recolectadas, y eliminarse de una manera que no comporte riesgos de contaminación de los cultivos, los habitantes de la zona o del entorno de la producción primaria.
- Los recipientes vacíos deberán eliminarse siguiendo las indicaciones del fabricante. No deberán utilizarse para otros fines relacionados con la alimentación

3.2.1.5 Lucha biológica

Cuando se empleen organismos biológicos competidores y/o sus metabolitos para la lucha contra plagas, ácaros, fitopatógenos y organismos que producen la descomposición de las frutas y hortalizas frescas, deberá considerarse su inocuidad para el medio ambiente y de los consumidores.

Los productores deberán utilizar únicamente métodos de lucha biológica que hayan sido autorizados para el cultivo de la fruta u hortaliza en cuestión, y deberán aplicarlos siguiendo las instrucciones del fabricante para el fin previsto.

3.2.2 Instalaciones cerradas utilizadas en el cultivo y la recolección

Cuando las frutas y hortalizas frescas se cultiven en instalaciones cerradas (invernaderos, cultivo hidropónico, etc.) deberán utilizarse locales apropiados.

3.2.2.1 Ubicación, proyecto y disposición

- Las instalaciones y estructuras deberán estar ubicadas, proyectadas y construidas de manera que se evite la contaminación de las frutas y hortalizas frescas y el asentamiento de plagas como por ejemplo insectos, roedores y aves.
- Cuando proceda, el proyecto y la estructura internos deberán permitir el cumplimiento de buenas prácticas de higiene para la producción primaria de frutas y hortalizas frescas en instalaciones cerradas, incluida la protección contra la contaminación cruzada entre las operaciones y en el curso de éstas. Cada establecimiento deberá evaluarse por separado a fin de identificar los requisitos de higiene específicos para cada producto.

3.2.2.2 Abastecimiento de agua

Cuando proceda, las instalaciones cerradas para la producción primaria deberán disponer de un abastecimiento suficiente de agua potable o limpia, con los medios adecuados para su almacenamiento y distribución. El agua no potable deberá contar con un sistema independiente. Se deberán identificar los sistemas de agua no potable, que no deberán estar conectados con los sistemas de agua potable ni permitir el refluo hacia ellos.

- Evitar la contaminación de los sistemas de abastecimiento de agua potable o limpia por exposición a insumos agrícolas empleados para el cultivo de productos frescos
- Limpiar y desinfectar periódicamente las instalaciones de almacenamiento de agua potable o limpia.
- Controlar la calidad del abastecimiento de agua.

3.2.2.3 Drenaje y eliminación de residuos

Deberán preverse sistemas e instalaciones adecuados de drenaje y eliminación de residuos. Estos sistemas deberán proyectarse y construirse de manera que se evite la posible contaminación de las frutas y hortalizas frescas, los insumos agrícolas o el abastecimiento de agua potable.

3.2.3 Servicios sanitarios y de salud e higiene para el personal

Deberán cumplirse los requisitos de salud e higiene para que no exista la posibilidad de que el personal que entra en contacto directo con frutas y hortalizas frescas durante la recolección o después de ésta las contamine. Los visitantes deberán, cuando proceda, llevar ropa protectora y cumplir las demás disposiciones sobre higiene del personal incluidas en esta sección.

3.2.3.1 Servicios sanitarios y de higiene para el personal

Deberán preverse servicios sanitarios y de higiene para los trabajadores y empleados a fin de asegurar el mantenimiento de un grado apropiado de higiene personal. En la medida de lo posible, dichos servicios deberán:

- Estar ubicados muy cerca de los campos y las instalaciones cerradas, en número suficiente para todo el personal.
- Estar debidamente proyectados para asegurar la eliminación higiénica de los residuos y evitar la contaminación de los lugares de cultivo, las frutas y hortalizas frescas o los insumos agrícolas.
- Disponer de medios adecuados para el lavado y secado higiénicos de las manos.
- Mantenerse en condiciones higiénicas y en buen estado.

3.2.3.2 Estado de salud

No deberá permitirse que las personas de las que se sepa o sospeche que padecen una enfermedad transmisible a través de las frutas y hortalizas frescas, o que son portadoras de ella, entren en las zonas donde se manipulan alimentos si existe la posibilidad de que contaminen las frutas y hortalizas frescas. Toda persona afectada deberá comunicar inmediatamente a la dirección la enfermedad o sus síntomas.

3.2.3.3 Aseo personal

Los trabajadores agrícolas que estén en contacto directo con frutas y hortalizas frescas deberán mantener un elevado grado de aseo personal y, cuando proceda, llevar ropa y calzado protectores adecuados. Si se permite al personal seguir trabajando, los cortes y heridas deberán cubrirse con vendajes adecuados resistentes al agua.

El personal deberá lavarse las manos cuando manipule frutas y hortalizas frescas u otro material que entre en contacto con las mismas; antes de iniciar actividades que impliquen la manipulación de frutas y hortalizas frescas; cada vez que regrese a las zonas de manipulación después de un descanso; inmediatamente después de hacer uso de los sanitarios; o después de manipular cualquier material contaminado cuando ello pueda dar lugar a una contaminación de las frutas y hortalizas frescas.

3.2.3.4 Comportamiento del personal

Los trabajadores agrícolas deberán abstenerse de todo comportamiento que pudiera dar lugar a contaminación de los alimentos, como por ejemplo fumar, escupir, masticar chicle, comer, estornudar o toser sobre frutas y hortalizas no protegidas.

En las zonas de producción de frutas y hortalizas frescas no deberán llevarse puestos o introducirse efectos personales tales como joyas, relojes u otros objetos si constituyen una amenaza para la inocuidad e idoneidad de los alimentos.

3.2.4 Equipo utilizado en el cultivo y la recolección

Cuando sea necesario, los productores y recolectores deberán seguir las especificaciones técnicas recomendadas por los fabricantes del equipo para su uso y mantenimiento adecuados. Los productores y recolectores deberán adoptar las prácticas sanitarias siguientes:

- El equipo y los recipientes que entren en contacto con frutas y hortalizas frescas deberán estar fabricados con materiales no tóxicos. Deberán estar proyectados y contruidos de manera que sea posible su limpieza, desinfección y mantenimiento para evitar la contaminación de las frutas y hortalizas frescas. Además deberán identificarse los requisitos de higiene y mantenimiento específicos para cada pieza del equipo utilizado y el tipo de fruta u hortaliza asociado con ella.
- Los recipientes para residuos, subproductos y sustancias no comestibles o peligrosas deberán poderse identificar con precisión, estar correctamente contruidos y, cuando proceda, estar fabricados con material impermeable. Cuando proceda, dichos recipientes deben disponer de un sistema de cierre para evitar la contaminación intencionada o accidental de las frutas y hortalizas frescas o de los insumos agrícolas. Esos recipientes deberán mantenerse aislados o identificarse de algún otro modo para evitar su utilización en la recolección.
- Deberán desecharse los recipientes que no puedan seguir manteniéndose en condiciones de higiene.
- El equipo y las herramientas deberán funcionar de acuerdo con el uso para el que han sido proyectados, sin dañar los productos. El equipo deberá mantenerse en buen estado.

3.3 MANIPULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

3.3.1 Prevención de la contaminación cruzada

Durante la producción primaria y las actividades poscosecha deberán tomarse medidas eficaces para prevenir la contaminación cruzada de las frutas y hortalizas frescas por conducto de los insumos agrícolas o el personal que está en contacto directo o indirecto con las frutas y hortalizas frescas. Para prevenir dicha posibilidad de contaminación cruzada, los productores, los recolectores y sus empleados deberán cumplir las recomendaciones que se hacen en otros apartados de la sección 3 de este código, así como las disposiciones siguientes:

- En la época de la recolección, la dirección deberá tener en cuenta la necesidad de adoptar medidas suplementarias cuando cualquier factor local, como por ejemplo unas condiciones atmosféricas adversas, pueda incrementar la posibilidad de contaminación de los cultivos.
- Las frutas y hortalizas frescas que no sean aptas para consumo humano deberán separarse durante la recolección. Las que no puedan convertirse en inocuas mediante elaboración posterior deberán eliminarse de manera adecuada para evitar la contaminación de las frutas y hortalizas frescas o los insumos agrícolas.
- Las personas que trabajen en la recolección no deberán utilizar los recipientes destinados a ésta para transportar materiales (por ejemplo, comidas, herramientas, combustible, etc.) distintos de las frutas y hortalizas frescas.
- El equipo y los recipientes que se hayan empleado anteriormente para materiales potencialmente peligrosos (por ejemplo, basura, estiércol, etc.) no deberán utilizarse para guardar frutas u hortalizas frescas ni estar en contacto con el material de envasado que se utiliza para las frutas u hortalizas frescas sin una limpieza y desinfección adecuadas.

- Cuando se envasen frutas y hortalizas frescas en el campo se deberá tener cuidado de evitar la contaminación de los recipientes o cajas por contacto con el estiércol o heces animales o humanas

3.3.2 Almacenamiento y transporte desde el campo al establecimiento de envasado

Las frutas y hortalizas frescas deberán almacenarse y transportarse en unas condiciones que reduzcan al mínimo la posibilidad de contaminación microbiana, química o física. Deberán adoptarse las prácticas siguientes:

- Las instalaciones de almacenamiento y los vehículos utilizados para el transporte de los cultivos recolectados deberán estar contruidos de manera que se reduzcan al mínimo los daños a las frutas y hortalizas frescas y se evite el acceso de plagas. Deberán estar hechos con materiales no tóxicos que permitan una limpieza fácil y minuciosa. Deberán estar contruidos de manera que se reduzcan las oportunidades de una posible contaminación por objetos físicos como por ejemplo vidrio, madera, plástico, etc.
- Las frutas y hortalizas frescas que no sean aptas para el consumo humano deberán separarse antes del almacenamiento o transporte. Aquellas cuya inocuidad no pueda garantizarse mediante su elaboración posterior deberán eliminarse de manera apropiada para evitar la contaminación de las frutas y hortalizas frescas o de los insumos agrícolas.
- Los trabajadores agrícolas deberán eliminar la mayor cantidad posible de tierra de las frutas y hortalizas frescas antes de que sean almacenadas o transportadas. Se deberá tener cuidado de reducir al mínimo los daños físicos a los cultivos durante este proceso.
- Los vehículos de transporte no deberán utilizarse para el transporte de sustancias peligrosas a menos que hayan sido limpiados adecuadamente, y en caso necesario desinfectados, con el fin de evitar la contaminación cruzada.

3.4 LIMPIEZA, MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

- Los locales y el equipo de recolección deberán mantenerse en buenas condiciones para facilitar la limpieza y desinfección. El equipo deberá funcionar según lo previsto para evitar la contaminación de las frutas y hortalizas frescas. Los materiales de limpieza y las sustancias peligrosas, como por ejemplo productos agroquímicos, deberán poder identificarse con precisión y guardarse o almacenarse por separado en instalaciones de almacenamiento seguras. Los materiales de limpieza y los productos agroquímicos deberán utilizarse siguiendo las instrucciones del fabricante para el uso previsto.

3.4.1 Programas de limpieza

Deberán establecerse programas de limpieza y desinfección que aseguren la realización eficaz y adecuada de toda actividad de limpieza o mantenimiento que sea necesaria. Los sistemas de limpieza y desinfección deberán ser vigilados para comprobar su eficacia y examinados periódicamente para adaptarlos a las nuevas condiciones. Las recomendaciones específicas son las siguientes:

- El equipo de recolección y los recipientes reutilizables que entren en contacto con frutas y hortalizas frescas deberán limpiarse y, cuando proceda, desinfectarse periódicamente.
- El equipo de recolección y los recipientes reutilizables empleados para frutas y hortalizas frescas que no se laven antes de su envasado deberán limpiarse y desinfectarse cuando sea necesario.

3.4.2 Procedimientos y métodos de limpieza

Los métodos y materiales de limpieza adecuados dependerán del tipo de equipo y de la naturaleza de la fruta u hortaliza. Deberá adoptarse el procedimiento siguiente:

- Los procedimientos de limpieza deberán incluir la eliminación de restos en la superficie del equipo, la aplicación de una solución detergente, el enjuague con agua y, cuando proceda, la desinfección.

3.4.3 Sistemas de lucha contra las plagas

Cuando la producción primaria se lleve a cabo en establecimientos cerrados (por ejemplo, invernaderos), se deberán aplicar las recomendaciones de los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*, sección 6.3, en lo que respecta a la lucha contra las plagas.

3.4.4 Gestión de residuos

Deberán tomarse medidas adecuadas para el almacenamiento y eliminación de los residuos. No deberá permitirse la acumulación de residuos en las zonas de almacenamiento y manipulación de frutas y hortalizas frescas o en lugares adyacentes. Las zonas de almacenamiento de residuos deberán mantenerse limpias.

4. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: PROYECTO E INSTALACIONES

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5. CONTROL DE LAS OPERACIONES

5.1 CONTROL DE LOS PELIGROS PARA LOS ALIMENTOS

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.2 ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS SISTEMAS DE CONTROL DE HIGIENE

5.2.1 Control del tiempo y la temperatura

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.2.2 Fases específicas del proceso

5.2.2.1 Utilización del agua después de la cosecha

La gestión de la calidad del agua variará a través de todas las operaciones. Los envasadores deberán seguir las BPF para prevenir o reducir al mínimo la posibilidad de que se introduzcan o propaguen patógenos en el agua de elaboración. La calidad del agua utilizada dependerá de las etapas de la operación. Por ejemplo, podrá utilizarse agua limpia para las etapas iniciales de lavado, mientras que el agua empleada para los enjuagues finales deberá ser de calidad potable.

- Los sistemas poscosecha que utilicen agua deberán proyectarse de manera que se reduzcan al mínimo los lugares donde se depositan los productos y se acumula la suciedad.
- Sólo deberán utilizarse agentes antimicrobianos cuando sea absolutamente necesario para reducir al mínimo la contaminación cruzada durante las operaciones poscosecha y cuando su utilización esté en consonancia con las buenas prácticas de higiene. Deberán vigilarse y controlarse los niveles de agentes antimicrobianos para garantizar que se mantienen en concentraciones eficaces. Se deberá proceder a la aplicación de agentes antimicrobianos, seguida de un lavado en caso necesario, para garantizar que los residuos químicos no excedan de los límites recomendados por la Comisión del Codex Alimentarius.
- Cuando proceda, deberá vigilarse y controlarse la temperatura del agua utilizada en operaciones poscosecha.
- El agua reciclada deberá tratarse y mantenerse en condiciones que no constituyan un riesgo para la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas. El proceso de tratamiento deberá vigilarse y controlarse eficazmente.
- El agua reciclada podrá utilizarse sin un tratamiento posterior siempre que su empleo no constituya un riesgo para la inocuidad de las frutas y hortalizas frescas (por ejemplo, utilización para el primer lavado de agua recuperada del lavado final).
- El hielo deberá elaborarse con agua potable y deberá protegerse de la contaminación durante su producción, manipulación y almacenamiento.

5.2.2.2 Tratamientos químicos

- Los envasadores deberán utilizar para los tratamientos poscosecha únicamente productos químicos (por ejemplo, ceras, fungicidas) que sean conformes con las normas generales para aditivos alimentarios o con las directrices del Codex sobre plaguicidas. Estos tratamientos deberán llevarse a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante para el fin previsto.
- Los aspersores para los tratamientos poscosecha deberán calibrarse periódicamente a fin de controlar la precisión de la dosis de aplicación. Cuando se utilicen con diferentes productos químicos y en diferentes frutas u hortalizas deberán lavarse minuciosamente en zonas seguras a fin de evitar la contaminación de los productos.

5.2.2.3 Enfriamiento de las frutas y hortalizas frescas

- El agua condensada y descongelada procedente de los sistemas de enfriamiento de tipo evaporador (por ejemplo, enfriamiento por vacío, cámaras frigoríficas) no deberá gotear sobre las frutas y hortalizas frescas. El interior de los sistemas de enfriamiento deberá mantenerse limpio.
- Los sistemas de enfriamiento deberán utilizar agua potable cuando el agua o hielo esté en contacto directo con las frutas y hortalizas frescas (por ejemplo, enfriamiento por agua helada, enfriamiento por hielo). Deberá controlarse y mantenerse la calidad del agua en estos sistemas.
- El enfriamiento por circulación forzada de aire consiste en la utilización de aire refrigerado que se desplaza rápidamente sobre las frutas y hortalizas frescas en cámaras frigoríficas. Los sistemas de enfriamiento por aire deberán proyectarse y mantenerse adecuadamente para evitar la contaminación de los productos frescos.

5.2.2.4 Almacenamiento en frío

- Cuando proceda, las frutas y hortalizas frescas deberán mantenerse a baja temperatura después del enfriamiento a fin de reducir al mínimo la proliferación microbiana. Deberá vigilarse y controlarse la temperatura del almacenamiento en frío.
- El agua condensada y descongelada procedente de los sistemas de enfriamiento en las zonas de almacenamiento en frío no deberá gotear sobre las frutas y hortalizas frescas. El interior de los sistemas de enfriamiento deberá mantenerse limpio y en condiciones higiénicas.

5.2.3 Especificaciones microbiológicas y de otra índole

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.2.4 Contaminación microbiana cruzada

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.2.5 Contaminación física y química

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.3 REQUISITOS RELATIVOS A LAS MATERIAS PRIMAS

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.4 ENVASADO

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.5 AGUA UTILIZADA EN EL ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.6 DIRECCIÓN Y SUPERVISIÓN

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS

Cuando proceda, los registros relativos a la elaboración, producción y distribución deberán mantenerse durante el tiempo suficiente para facilitar la retirada del mercado de los productos y la investigación de enfermedades transmitidas por alimentos si es necesario. Este período podrá ser mucho más largo que la duración en almacén de las frutas y hortalizas frescas. La documentación puede aumentar la credibilidad y eficacia del sistema de control de la inocuidad de los alimentos.

- Los productores deberán mantener actualizada toda la información pertinente sobre las actividades agrícolas, como por ejemplo el lugar de producción, información de los proveedores sobre los insumos agrícolas, número de los lotes de éstos, prácticas de riego, utilización de productos agroquímicos, datos sobre la calidad del agua, programas de lucha contra plagas y de limpieza para establecimientos cerrados, locales, instalaciones, equipo y recipientes.
- Los envasadores deberán mantener actualizada toda la información relativa a cada lote, en particular información sobre los materiales que se reciben (por ejemplo, información de los productores, número de los lotes), datos sobre la calidad del agua de elaboración, programas de lucha contra plagas, temperaturas de enfriamiento y almacenamiento, productos químicos utilizados en los tratamientos poscosecha y programas de limpieza para locales, instalaciones, equipo, recipientes, etc.

5.8 PROCEDIMIENTOS DE RETIRO DE PRODUCTOS DEL MERCADO

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos

Además, cuando proceda:

- Los productores y envasadores deberán disponer de programas que garanticen la identificación efectiva de los lotes. Estos programas deberán ser capaces de rastrear los lugares y los insumos agrícolas implicados en la producción primaria y la procedencia de las materias recibidas en el establecimiento de envasado en caso de que se sospeche la existencia de contaminación.
- La información de los productores deberá estar vinculada con la información de los envasadores de manera que el sistema pueda rastrear los productos desde el distribuidor hasta el campo. La información deberá incluir la fecha de la recolección, la identificación de la explotación agrícola y, cuando sea posible, las personas que manipularon las frutas y hortalizas frescas desde el lugar de producción primaria hasta el establecimiento de envasado

6. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

7. ESTABLECIMIENTO DE ENVASADO: HIGIENE PERSONAL

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

8. TRANSPORTE

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos y el Código de Prácticas de Higiene para el Transporte de Alimentos a Granel y Alimentos Semienvasados.

9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

10. CAPACITACIÓN

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos, excepto en lo relativo a las secciones 10.1 y 10.2.

10.1 CONOCIMIENTO Y RESPONSABILIDADES

El personal relacionado con el cultivo y la recolección deberá estar al corriente de las BPA y las buenas prácticas de higiene, así como de su papel y responsabilidad en la protección de las frutas y hortalizas frescas contra la contaminación o el deterioro. Los trabajadores agrícolas deberán tener los conocimientos y la capacidad necesarios para llevar a cabo actividades agrícolas y manipular las frutas y hortalizas frescas y los insumos agrícolas de manera higiénica.

El personal relacionado con el envasado deberá estar al corriente de las BPF y las buenas prácticas de higiene, así como de su papel y responsabilidad en la protección de las frutas y hortalizas frescas contra la contaminación o el deterioro. Los envasadores deberán tener los conocimientos y capacidad necesarios para realizar las operaciones de envasado y manipular las frutas y hortalizas frescas de manera que se reduzca al mínimo la posibilidad de contaminación microbiana, química o física.

Todo el personal que manipule productos químicos de limpieza u otras sustancias químicas potencialmente peligrosas deberá ser instruido sobre las técnicas de manipulación segura. Deberá ser consciente del papel y la responsabilidad que le competen en la protección de las frutas y hortalizas contra la contaminación durante su limpieza y mantenimiento.

10.2 PROGRAMAS DE CAPACITACIÓN

Entre los factores que hay que tener en cuenta en la evaluación del nivel de capacitación necesario para las actividades de cultivo, recolección y envasado figuran los siguientes:

- La naturaleza de la fruta u hortaliza, en particular su capacidad para sustentar el desarrollo de microorganismos patógenos.
- Las técnicas e insumos agrícolas utilizados en la producción primaria, incluida la probabilidad de contaminación microbiana, química y física.
- Las tareas que realizarán probablemente los empleados y los peligros y controles asociados con ellas.
- La manera en que se elaboran y envasan las frutas y hortalizas frescas, incluida la probabilidad de contaminación o proliferación microbiana.
- Las condiciones en las que se almacenarán las frutas y hortalizas frescas.
- El alcance y naturaleza de la elaboración o preparación posterior por el consumidor antes del consumo final.

Las cuestiones que han de tenerse en cuenta en los programas de capacitación incluyen, entre otras, las siguientes:

- La importancia de la buena salud y de la higiene para la salud personal y la inocuidad de los alimentos.
- La importancia de lavarse las manos para la inocuidad de los alimentos, y de hacerlo aplicando las técnicas apropiadas.
- La importancia de utilizar los servicios sanitarios para reducir la posibilidad de contaminar los campos, los productos y el abastecimiento de agua, así como a otros trabajadores.
- Las técnicas para la manipulación y almacenamiento higiénicos de las frutas y hortalizas frescas por los transportistas, distribuidores, almacenistas y consumidores.

ANEXO I

**ANEXO SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS PRECORTADAS
LISTAS PARA EL CONSUMO****INTRODUCCIÓN**

Los beneficios para la salud asociados con el consumo de frutas y hortalizas frescas, en combinación con el continuo interés del consumidor por disponer de una variedad de alimentos listos para el consumo, han contribuido a aumentar considerablemente la popularidad de las frutas y hortalizas precortadas. Debido a la mayor comodidad y a un aumento del consumo de frutas y hortalizas precortadas dentro y fuera de los hogares, la preparación de estos productos se ha desplazado del punto de consumo al elaborador o el minorista. La elaboración de productos frescos sin aplicar adecuados procedimientos de saneamiento en el entorno de fabricación puede aumentar la posibilidad de contaminación por patógenos microbiológicos. La posibilidad de supervivencia o multiplicación de los patógenos aumenta por el alto contenido de humedad y nutrientes en las frutas y hortalizas frescas, la ausencia de un procedimiento letal para eliminarlos y la posibilidad de que se verifiquen temperaturas indebidas durante la elaboración, almacenamiento, transporte y exposición de los productos en tiendas minoristas.

Algunos de los patógenos microbiológicos asociados con las frutas y hortalizas frescas son *Salmonella* spp., *Shigella* spp., cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, virus análogos al de Norwalk, virus de hepatitis A y parásitos tales como *Ciclospora*. Algunos de estos patógenos están asociados al entorno agrícola, mientras que otros pueden proceder de trabajadores infectados o agua contaminada. Debido a la capacidad de los patógenos de sobrevivir y proliferar en los productos frescos, es importante que la industria de las frutas y hortalizas precortadas siga las buenas prácticas de higiene para garantizar la inocuidad microbiológica de sus productos.

1. OBJETIVO

Las recomendaciones de higiene relativas a la producción primaria de frutas y hortalizas frescas están incluidas en el *Código de Prácticas para las Frutas y Hortalizas Frescas*. Este Anexo recomienda la aplicación de las buenas prácticas de fabricación (BPF) en todas las etapas de la producción de frutas y hortalizas precortadas listas para el consumo, desde la recepción de las materias primas hasta la distribución de los productos terminados.

El objetivo principal del presente Anexo es identificar BPF que ayuden a controlar los peligros microbiológicos, físicos, y químicos asociados con la elaboración de frutas y hortalizas frescas precortadas. Se dedica especial atención a reducir al mínimo los peligros microbiológicos. El presente Anexo contiene elementos que deberán tenerse en cuenta en la producción, elaboración y distribución de estos alimentos.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES**2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN**

El presente Anexo se aplica específicamente a las frutas y hortalizas frescas listas para el consumo que han sido peladas, cortadas o modificadas físicamente de alguna otra manera con respecto a su forma original, pero que se mantienen en estado fresco, y en particular a las que están destinadas a ser consumidas crudas. Su aplicación es independiente de dónde se realicen las operaciones (por ejemplo, en el campo, en la explotación agrícola, en los locales del minorista, en los del mayorista, en el establecimiento de elaboración, etc.)

Para algunos establecimientos que elaboran las frutas y hortalizas frescas precortadas, este Anexo comprenderá todas las operaciones desde la recepción de las materias primas hasta la distribución del producto final. Para otros, (por ejemplo, los que utilizan frutas y hortalizas frescas precortadas listas para el consumo en combinación con otros productos, tales como salsas, carne, queso, etc.) solamente se aplicarán las secciones específicas que guardan relación con la elaboración de los componentes de frutas y hortalizas frescas precortadas.

El presente Anexo no se aplica directamente a las frutas y hortalizas frescas que han sido recortadas, dejando el alimento intacto. Tampoco se aplica a otras frutas y hortalizas frescas que han sido precortadas pero que están destinadas a una elaboración ulterior con la que se prevé que se eliminará cualquier patógeno que pudiera estar presente (por ejemplo, cocción, elaboración de jugos (zumos), fermentación), ni a los jugos (zumos) de frutas y hortalizas frescas. No obstante, algunos de los principios básicos del Anexo podrían seguir siendo aplicables a tales productos.

El envasado incluye los recipientes para una sola porción (por ejemplo bolsas cerradas herméticamente o bandejas de plástico), envases más grandes para consumidores o instituciones y recipientes para productos a granel. Este Anexo se centra en los peligros microbianos y sólo se ocupa de los peligros físicos y químicos en la medida en que guardan relación con las BPF.

2.2 UTILIZACIÓN

El presente documento sigue el modelo del Código Internacional Recomendado de Prácticas – Principios Generales de Higiene de los Alimentos, CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997), y deberá utilizarse juntamente con los Principios Generales de Higiene de los Alimentos y el Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas.

2.3 DEFINICIONES

Elaborador – persona responsable de la gestión de las actividades asociadas con la producción de frutas y hortalizas frescas precortadas y listas para el consumo.

3. PRODUCCIÓN PRIMARIA

Véase el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*.

4. ESTABLECIMIENTO: PROYECTO E INSTALACIONES

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*. Además:

4.4 INSTALACIONES

4.4.2 Drenaje y eliminación de residuos

La elaboración de los productos regulados por el presente Anexo genera una gran cantidad de residuos que pueden servir de alimento y refugio para las plagas. Por esa razón es muy importante programar un sistema eficaz de evacuación de los residuos. Este sistema deberá mantenerse siempre en buenas condiciones para que no se convierta en una fuente de contaminación del producto.

5. CONTROL DE LAS OPERACIONES

Véase el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*. Además:

5.1 CONTROL DE LOS PELIGROS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS

Por lo que respecta a los productos regulados por el presente Anexo, debe reconocerse que, si bien la elaboración puede reducir el nivel de contaminación inicialmente presente en las materias primas, no podrá garantizar la eliminación de dicha contaminación. En consecuencia, el elaborador deberá asegurarse de que sus proveedores (productores, recolectores, envasadores y distribuidores) toman medidas para reducir al mínimo la contaminación de las materias primas durante la producción primaria. Se recomienda que los elaboradores se aseguren de que sus proveedores han adoptado los principios que se esbozan en el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*.

Algunos patógenos, como *Listeria monocytogenes* y *Clostridium botulinum*, constituyen un motivo específico de preocupación en relación con las hortalizas frescas precortadas y listas para el consumo envasadas en atmósfera modificada. Los elaboradores deberán asegurarse de que se han tenido en cuenta todas las cuestiones de inocuidad pertinentes en relación con el empleo de ese tipo de envasado.

5.2 ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS SISTEMAS DE CONTROL

5.2.2 Fases específicas del proceso

5.2.2.1 *Recepción e inspección de las materias primas*

Durante la descarga de materias primas, deberá verificarse la limpieza de la unidad de transporte de los alimentos y de las materias primas, buscando cualquier indicio de contaminación o deterioro.

5.2.2.2 *Preparación de las materias primas antes de la elaboración*

Los peligros físicos (tales como la presencia de restos animales o vegetales, metales y otras materias extrañas) deberán eliminarse por medio de una clasificación manual o mediante el uso de detectores, como por ejemplo detectores de metales. Deberá realizarse un recorte de las materias primas para eliminar toda parte dañada, podrida o mohosa.

5.2.2.3 *Lavado y descontaminación microbiológica*

Véase la sección 5.2.2.1 del Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas. Además:

- El agua utilizada para el enjuague final deberá ser de calidad potable, especialmente para los productos que probablemente no se lavarán antes de su consumo.

5.2.2.4 *Enfriamiento previo de las frutas y hortalizas frescas*

- Véase la sección 5.2.2.3 del Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas.

5.2.2.5 *Corte, rebanado, picado y otros procesos análogos de precortado*

Deberán establecerse procedimientos para reducir al mínimo la contaminación por contaminantes físicos (por ejemplo, metales) y microbiológicos durante el corte, rebanado, picado u otros procesos análogos de precortado.

5.2.2.6 *Lavado después del corte, rebanado, picado y otros procesos análogos de precortado*

El lavado con agua potable de los productos cortados puede reducir la contaminación microbiológica. Además, elimina algunos de los fluidos celulares que se liberan durante el proceso de corte, reduciendo así el nivel de nutrientes disponibles para la proliferación microbiana. Deberán tenerse en cuenta los factores siguientes:

- El agua deberá cambiarse con una frecuencia suficiente para prevenir la acumulación de materia orgánica y evitar la contaminación cruzada.
- Deberán emplearse, cuando proceda, agentes antimicrobianos, para reducir al mínimo la probabilidad de contaminación cruzada durante el lavado y cuando su empleo sea conforme a las buenas prácticas de higiene. Deberán vigilarse y controlarse los niveles de agentes antimicrobianos para garantizar que se mantienen en concentraciones eficaces. Deberá efectuarse una aplicación de agentes antimicrobianos, seguida por un lavado cuando proceda, para garantizar que los residuos químicos no superan los niveles recomendados por la Comisión del Codex Alimentarius.
- El secado o drenaje para eliminar el agua después del lavado es importante para reducir al mínimo la proliferación microbiológica.

5.2.2.7 *Almacenamiento en frío*

Véase la sección 5.2.2.4 del Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas. Además:

- Las frutas y hortalizas frescas precortadas deberán mantenerse a temperaturas bajas en todas las fases, desde el corte hasta la distribución, con el fin de reducir al mínimo la proliferación microbiológica.

5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS

Cuando proceda, deberán mantenerse registros en los que conste información precisa sobre los productos, como por ejemplo las formulaciones o especificaciones de los productos y los controles de las operaciones. El mantenimiento de documentación y registros adecuados de las operaciones de elaboración es importante

en caso de retirada de frutas y hortalizas frescas precortadas. Los registros deberían conservarse durante un período suficiente para facilitar la retirada y la investigación de enfermedades transmitidas por los alimentos, si es necesario. Dicho período será probablemente mucho más largo que la duración en almacén del producto. A continuación se indican algunos ejemplos de los registros que han de mantenerse:

- Registros de los proveedores de frutas y hortalizas frescas
- Registros de la calidad del agua y su abastecimiento
- Registro de la vigilancia y el mantenimiento del equipo
- Registros de la calibración del equipo
- Registros del saneamiento
- Registros de la elaboración de los productos
- Registros de la lucha contra las plagas
- Registros de la distribución.

5.8 PROCEDIMIENTOS DE RETIRADA DE PRODUCTOS DEL MERCADO

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

6. ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

7. ESTABLECIMIENTO: HIGIENE PERSONAL

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

8. TRANSPORTE

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos* y el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*.

9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

10. CAPACITACIÓN

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos* y el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*. Además:

10.2 PROGRAMAS DE CAPACITACIÓN

Para evaluar el nivel de capacitación que necesitan las personas encargadas de la producción de frutas y hortalizas frescas precortadas, deberán tenerse en cuenta los siguientes factores específicos:

- los sistemas de envasado utilizados para las frutas y hortalizas frescas precortadas, incluidos los riesgos de contaminación o proliferación microbiana que entrañan;
- la importancia del control de la temperatura y de las BPF.

ANEXO II

ANEXO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS GERMINADAS

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha aumentado de manera espectacular la popularidad de las semillas germinadas, que muchos aprecian por su valor nutritivo. Sin embargo, el reciente aumento de los casos notificados de enfermedades transmitidas por alimentos asociadas con semillas germinadas crudas ha suscitado preocupación entre los organismos que se ocupan de la salud pública y los consumidores en cuanto a la inocuidad de dichos productos.

Entre los patógenos microbianos asociados con las semillas germinadas cabe citar, por ejemplo: *Salmonella* spp, *E. Coli* patógeno, *Listeria monocytogenes* y *Shigella* spp. Investigaciones sobre brotes de enfermedades han revelado que los microorganismos encontrados en las semillas germinadas suelen tener su origen en las semillas. La mayoría de las semillas suministradas a los productores de semillas germinadas se producen principalmente para el forraje o pastoreo de animales, sin aplicar las buenas prácticas agrícolas (BPA) que son necesarias para impedir la contaminación microbiana de las semillas destinadas a la germinación especialmente debido a la utilización indebida de fertilizantes naturales o de agua de riego contaminada. En consecuencia, las semillas pueden contaminarse en el campo o durante la recolección, el almacenamiento o el transporte. En la producción de semillas germinadas, el proceso de germinación requiere habitualmente que las semillas se mantengan calientes y húmedas durante un periodo que varía entre dos y diez días. En esas condiciones, contaminantes microbianos que estén presentes en las semillas en niveles bajos pueden alcanzar rápidamente niveles suficientemente altos para causar enfermedades.

Las publicaciones científicas proponen tratamientos de descontaminación microbiológica de semillas que pueden lograr diversos niveles de reducción de patógenos. Actualmente no se dispone de un tratamiento que garantice la producción de semillas libres de patógenos. Están en curso investigaciones para encontrar tratamientos de descontaminación microbiológica eficaces que permitan una reducción suficiente de los patógenos en las semillas, especialmente cuando dichos patógenos están en el interior de las mismas.

1. OBJETIVOS

En este Anexo se recomienda la adopción de medidas de control en dos etapas: durante la producción de semillas y durante la producción de semillas germinadas. Durante la producción, acondicionamiento y almacenamiento de semillas, la aplicación de BPA y de buenas prácticas de higiene (BPH) está orientada a prevenir la contaminación de las semillas por patógenos microbianos. Durante la producción de semillas germinadas, la fase de descontaminación microbiológica de las semillas tiene por objeto reducir los posibles contaminantes, y las buenas prácticas de higiene procurar impedir la introducción de patógenos microbianos y reducir al mínimo su posible proliferación. El grado de control en esas dos etapas tiene repercusiones importantes sobre la inocuidad de las semillas germinadas.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN, UTILIZACIÓN Y DEFINICIONES

2.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente Anexo regula las prácticas de higiene específicas para la producción primaria de semillas destinadas a la germinación y la producción de semillas germinadas para el consumo humano, con el fin de obtener un producto inocuo y sano.

2.2 UTILIZACIÓN

El presente anexo sigue el modelo del Código Internacional Recomendado de Prácticas de Higiene - Principios Generales de Higiene de los Alimentos - CAC/RCP 1-1969, Rev. 3 (1997) del Codex y deberá utilizarse junto con los Principios Generales de Higiene de los Alimentos y el Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas

2.3 DEFINICIONES

Productor de semillas - toda persona encargada de dirigir las actividades asociadas con la producción primaria de semillas, incluidas las prácticas poscosecha.

Distribuidor de semillas - toda persona responsable de la distribución de semillas (manipulación, almacenamiento y transporte) a los productores de semillas germinadas. Puede darse el caso de que los distribuidores de semillas traten directamente con uno o varios productores de semillas o sean ellos mismos productores.

Productor de semillas germinadas: toda persona encargada de dirigir las actividades asociadas con la producción de semillas germinadas.

Agua de riego utilizada - agua que ha estado en contacto con las semillas germinadas durante el proceso de germinación.

3. PRODUCCIÓN PRIMARIA DE SEMILLAS

Véase el Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas. Además:

3.2 PRODUCCIÓN HIGIÉNICA DE SEMILLAS

3.2.1.2 Estiércol y biosólidos

Cuando las semillas estén destinadas a la producción de semillas germinadas para el consumo humano, no se deberá permitir que los animales silvestres o domésticos pasten en los campos donde se cultivan dichas semillas (por ejemplo, empleando ovejas para recortar la alfalfa en primavera).

Es especialmente importante impedir la contaminación microbiana durante la producción de semillas que se utilizarán para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano, debido a la posibilidad de proliferación de los patógenos durante el proceso de germinación. En consecuencia, el estiércol, los biosólidos y otros fertilizantes naturales sólo deberán utilizarse después de haber sido sometidos a tratamientos que consigan un alto nivel de reducción de patógenos.

3.2.1.4 Productos agroquímicos

Los productores de semillas sólo deberán utilizar productos agroquímicos (por ejemplo, plaguicidas, agentes desecantes) que sean aceptables para las semillas destinadas a la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano.

3.2.4 Equipo utilizado en el cultivo y la recolección

Antes de la cosecha, el equipo de recolección deberá ajustarse para reducir al mínimo la aspiración de tierra y los daños a las semillas, y limpiarse de cualquier residuo o tierra. Las semillas enfermas o dañadas que pudieran ser susceptibles de contaminación microbiana no deberán utilizarse para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano.

3.3 MANIPULACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Las semillas producidas para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano deberán mantenerse separadas de los productos que se sembrarán o plantarán para pienso (por ejemplo, para forraje o pastoreo de animales) y estar etiquetadas claramente.

Puesto que es sabido que las semillas son vulnerables a los patógenos microbianos durante el volteo y el secado, es necesario tener cuidado para mantener la higiene en las zonas de secado y evitar que las semillas queden expuestas a vapor, humedad elevada o neblina.

3.4 ANÁLISIS

Los productores de semillas, distribuidores y productores de semillas germinadas deberán analizar lotes de semillas para detectar patógenos microbianos utilizando métodos de análisis aceptados internacionalmente. La germinación de las semillas antes de los análisis aumenta la posibilidad de encontrar los patógenos que pudieran estar presentes. Si se detectan lotes de semillas contaminados, éstos no deberán venderse ni utilizarse para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano. Debido a las limitaciones de los métodos de muestreo y de las pruebas analíticas, el hecho de que no se encuentre contaminación no garantiza que las semillas estén libres de patógenos. Sin embargo, si se encuentra contaminación en esta fase, eso permite desviarlas o destruirlas antes de que se inicie la producción de semillas germinadas para el consumo humano. Los productores de semillas, distribuidores y productores de semillas germinadas deberán consultar los *Principios del Codex para el Establecimiento y la Aplicación de*

Criterios Microbiológicos para los Alimentos, CAC/GL 21-1977, para obtener orientación sobre el establecimiento de un plan de muestreo..

3.5 PROCEDIMIENTOS DE RETIRADA DE PRODUCTOS DEL MERCADO

Los productores de semillas para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano deberán asegurarse de que se han establecido registros y procedimientos de retirada de productos a fin de responder de manera eficaz a situaciones de riesgo para la salud. Los procedimientos deberán permitir la retirada completa y rápida de cualquier semilla afectada y ayudar a proporcionar información detallada para la identificación e investigación de las semillas o semillas germinadas contaminadas. Deberán adoptarse las medidas siguientes:

- Se deben aplicar prácticas de producción y distribución de semillas a fin de reducir al mínimo la cantidad de semillas identificadas como un único lote y evitar la mezcla de varios lotes, que complicaría la retirada de productos y ofrecería mayores posibilidades de contaminación cruzada. Los productores y distribuidores de semillas y los productores de semillas germinadas deberán mantener un registro para cada lote. En cada recipiente deberán indicarse el número de lote, el productor y el país de origen.
- Los productores de semillas deberán tener un sistema que les permita identificar eficazmente los lotes y rastrear los lugares de producción y los insumos agrícolas asociados con los lotes, así como recuperar físicamente las semillas cuando se sospeche que existe un peligro.
- Cuando se haya retirado un lote porque representa un peligro para la salud, deberá evaluarse la inocuidad de otros lotes que hayan sido producidos en condiciones análogas (por ejemplo, en los mismos lugares de producción o con los mismos insumos agrícolas) y que puedan representar un peligro análogo. Deberá retirarse todo lote que represente un riesgo análogo. También deberán retirarse las mezclas que contengan semillas potencialmente contaminadas.
- Las semillas que puedan representar un peligro deberán retenerse y conservarse hasta que sean eliminadas de manera adecuada.

4. ESTABLECIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS GERMINADAS

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos. Además:

4.2.1 Proyecto y disposición

Cuando proceda, el diseño y la disposición internos de los establecimientos que producen semillas germinadas deberán permitir unas buenas prácticas de higiene (BPH), incluida la protección contra la contaminación cruzada entre las operaciones y en el curso de éstas. Las zonas de almacenamiento, enjuague y descontaminación microbiana de semillas, germinación y envasado deberán estar físicamente aisladas entre sí.

5. CONTROL DE LAS OPERACIONES

Véanse los Principios Generales de Higiene de los Alimentos. Además:

5.2.2 Fases específicas del proceso de producción de semillas germinadas

5.2.2.1 Utilización de agua en la producción de semillas germinadas

La gestión de la calidad del agua variará a lo largo de todas las operaciones. Los productores de semillas germinadas deberán aplicar BPF para reducir al mínimo la posibilidad de que se introduzcan o propaguen patógenos en el agua de elaboración. La calidad del agua utilizada deberá depender de la fase de la operación. Debido a la posibilidad de proliferación de patógenos durante el proceso de germinación, podrá utilizarse agua limpia en las fases iniciales de lavado, mientras que el agua utilizada más adelante en el proceso de producción de semillas germinadas (es decir, para el enjuague después de la descontaminación microbiológica de las semillas y en operaciones posteriores) deberá ser preferentemente agua potable o al menos agua limpia.

5.2.2.2 Enjuague inicial

Las semillas deberán enjuagarse concienzudamente antes del tratamiento de descontaminación microbiológica a fin de eliminar la suciedad y aumentar la eficacia de este tratamiento.

- Las semillas deberán enjuagarse y agitarse concienzudamente en grandes cantidades de agua potable, a fin de aumentar en la mayor medida posible el contacto superficial. El proceso deberá repetirse hasta que se elimine la mayor parte de la suciedad y el agua de enjuague quede limpia.

5.2.2.3 Descontaminación microbiológica de las semillas

Debido a la dificultad de obtener semillas de las que pueda garantizarse que están libres de patógenos, se recomienda que las semillas sean sometidas a tratamiento antes del proceso de germinación. Aunque hay otras opciones, como por ejemplo el uso de bacterias productoras de ácido láctico, la descontaminación microbiológica con líquidos es el tratamiento generalmente utilizado. Durante dicho tratamiento, los productores de semillas germinadas deberán observar los principios siguientes:

- Todos los recipientes utilizados en la descontaminación microbiológica de las semillas deberán limpiarse y desinfectarse antes de su uso.
- Las semillas deberán agitarse bien en grandes cantidades de un agente antimicrobiano a fin de aumentar en la mayor medida posible el contacto superficial.
- La duración del tratamiento y la concentración del agente antimicrobiano utilizado deberán medirse y registrarse con precisión.
- Deberán establecerse medidas estrictas para impedir que las semillas se contaminen nuevamente después del tratamiento de descontaminación microbiológica.
- El agente antimicrobiano deberá utilizarse con arreglo a las instrucciones del fabricante para el uso previsto.

5.2.2.4 Enjuague después del tratamiento de las semillas

Cuando proceda, las semillas deberán enjuagarse concienzudamente con agua potable, o al menos con agua limpia, después del tratamiento de descontaminación microbiológica. El enjuague deberá repetirse un número de veces suficiente para eliminar el agente antimicrobiano.

5.2.2.5 Remojo previo a la germinación

Con frecuencia es necesario remojar las semillas para mejorar su germinación. Durante el remojo, el productor de semillas germinadas deberá observar los principios siguientes:

- Todos los recipientes utilizados para el remojo deberán limpiarse y desinfectarse antes de su utilización.
- Las semillas deberán remojar en agua durante el período más breve posible para reducir al mínimo la proliferación microbiana.
- En esta fase podrán utilizarse también agentes antimicrobianos.
- Después del remojo, las semillas deberán enjuagarse concienzudamente con agua potable o al menos con agua limpia.

5.2.2.6 Germinación

Durante la germinación, el entorno y el equipo deberán mantenerse limpios para evitar una posible contaminación. Antes de tratar un nuevo lote, deberá limpiarse y desinfectarse todo el equipo.

- Sólo deberá utilizarse agua potable.
- Cuando sea necesario y en caso de que se utilicen, los suelos u otras matrices deberán someterse a un tratamiento (por ejemplo, pasteurización) para lograr un alto grado de reducción de microbios.

5.2.2.7 Recolección

Antes de tratar un nuevo lote, deberá limpiarse y desinfectarse todo el equipo. La recolección deberá efectuarse con herramientas limpias y desinfectadas dedicadas exclusivamente a ese uso.

5.2.2.8 Enjuague final y enfriamiento

El enjuague final con agua elimina las cáscaras, enfría el producto y puede reducir la contaminación microbiana de las semillas germinadas. Deberán adoptarse las medidas siguientes:

- Cuando proceda, las semillas germinadas deberán enjuagarse con agua potable fría para bajar la temperatura de las semillas germinadas y frenar la proliferación microbiana.
- Se deberá cambiar el agua, cuando sea necesario (por ejemplo, entre lotes) para evitar la contaminación cruzada.
- Las semillas germinadas deberán escurrirse utilizando un equipo adecuado, (por ejemplo, una secadora centrífuga para alimentos) que se limpia y desinfecta antes de usarse.
- Si es necesario más tiempo de enfriamiento, deberán adoptarse medidas para facilitar un enfriamiento rápido (por ejemplo, colocar las semillas germinadas en recipientes más pequeños, con una corriente apropiada de aire entre los recipientes).

5.2.2.9 Almacenamiento del producto final

- Cuando proceda, las semillas germinadas deberán mantenerse a una temperatura baja (por ejemplo, 5°C) que reduzca al mínimo la proliferación microbiana durante la conservación prevista en almacén del producto. Deberá realizarse una vigilancia periódica y eficaz de la temperatura en las zonas de almacenamiento y en los vehículos de transporte.

5.2.3 Especificaciones microbiológicas y de otra índole

Se recomienda analizar las semillas, las semillas germinadas y el agua de riego utilizada a fin de detectar la presencia de patógenos.

5.2.3.1 Análisis de lotes de semillas antes de iniciar la producción

Se recomienda analizar cada lote nuevo de semillas recibido en las instalaciones de germinación antes de iniciar la producción (es decir, antes de las fases de descontaminación microbiológica de las semillas).

- Las semillas de la muestra seleccionada para el análisis deberán hacerse germinar antes del análisis para aumentar las posibilidades de detectar los patógenos que pudieran estar presentes. Podrán realizarse análisis de las semillas germinadas o del agua utilizada para germinar la muestra.
- Las muestras de semillas destinadas a análisis microbiano no deberán someterse a ningún tratamiento de descontaminación microbiológica en las instalaciones de germinación.

5.2.3.2 Análisis de las semillas germinadas y/o del agua de riego previamente utilizada

Los tratamientos actuales de las semillas no pueden garantizar la eliminación total de patógenos. Además, aun cuando sólo sobrevivan al tratamiento de descontaminación microbiológico unos pocos patógenos, éstos pueden proliferar durante la germinación hasta alcanzar una presencia numerosa. Por lo tanto, los productores deberán establecer un plan de muestreo y análisis para vigilar periódicamente la presencia de patógenos en una o varias fases tras el comienzo de la germinación.

- Podrán realizarse análisis durante el proceso de germinación (por ejemplo, del agua de riego utilizada o de las semillas germinadas) y/o analizarse el producto final después de la recolección.
- El agua de riego utilizada constituye un buen indicador analítico del estado microbiano de las semillas germinadas. Es homogénea y fácil de analizar. Además, el muestreo de agua de riego utilizada (o de semillas germinadas) durante la germinación permite obtener resultados más rápidos que si se analiza el producto terminado.
- Debido a la naturaleza esporádica de la contaminación de las semillas, se recomienda que los productores analicen cada lote producido.

5.2.4 Contaminación microbiológica cruzada

Los productores de semillas germinadas deberán adoptar las medidas siguientes:

- En los desplazamientos del personal se deberá prevenir la contaminación cruzada de las semillas germinadas. Por ejemplo, los empleados deberán evitar las idas y venidas entre las diferentes zonas de producción. Los empleados no deberán ir de una zona potencialmente contaminada a la zona de germinación o envasado sin antes haberse lavado las manos y cambiado la ropa protectora por otra limpia.

5.3 REQUISITOS RELATIVOS A LAS MATERIAS PRIMAS

5.3.1 Especificaciones para las semillas recibidas

- Los productores de semillas germinadas deberán recomendar que los productores de semillas adopten buenas prácticas agrícolas y aporten pruebas de que el producto ha sido cultivado de conformidad con la sección 3 del presente Anexo y con el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*.
- Los productores de semillas y de semillas germinadas deberán obtener de los productores o distribuidores de semillas la garantía de que los residuos de productos químicos de cada lote que se recibe están dentro de los límites establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius y, cuando proceda, deberán obtener certificados de análisis relativos a los patógenos microbianos que son motivo de preocupación.

5.3.2 Control de las semillas recibidas

Los recipientes de semillas deberán examinarse a su llegada al establecimiento para reducir al mínimo la posibilidad de que se introduzcan en él contaminantes obvios.

- Los recipientes de semillas deberán examinarse para detectar daños físicos (por ejemplo, agujeros hechos por roedores) y signos de contaminación (por ejemplo, manchas, roedores, insectos, heces, orina, materias extrañas, etc.). Si se observa que el recipiente está dañado, contaminado o potencialmente contaminado, su contenido no deberá utilizarse para la producción de semillas germinadas destinadas al consumo humano.
- Cuando se analicen lotes de semillas para determinar la presencia de patógenos microbianos que son motivo de preocupación, dichos lotes no deberán utilizarse antes de que se disponga de los resultados del análisis.

5.3.3 Almacenamiento de semillas

Las semillas deberán manipularse y almacenarse de manera que se eviten los daños y la contaminación.

- Las semillas deberán almacenarse a cierta distancia del suelo, lejos de las paredes y en condiciones de almacenamiento adecuadas que impidan la formación de moho y la proliferación de bacterias y que faciliten la inspección para la lucha contra las plagas.
- Los recipientes abiertos deberán almacenarse de manera que queden protegidos contra las plagas y otras fuentes de contaminación.

5.7 DOCUMENTACIÓN Y REGISTROS

Véase el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*. Además:

Deberá disponerse de registros escritos en los que conste información exacta sobre los productos y los controles de las operaciones para poder demostrar la idoneidad de las actividades de producción.

- Al recibirse las semillas, deberá registrarse su proveedor, el número de lote y el país de origen para facilitar los procedimientos de retirada de productos del mercado.

- Los registros deberán ser legibles, permanentes y exactos. Deberán abarcar procedimientos escritos, controles, límites, resultados de la vigilancia y documentación del seguimiento posterior. Los registros deberán incluir la procedencia y el número de lote de las semillas, los resultados del análisis del agua, los controles sanitarios, la vigilancia de la lucha contra las plagas, los códigos de los lotes de semillas germinadas, los resultados de los análisis, el volumen de la producción, la vigilancia de la temperatura de almacenamiento, la distribución de los productos y las reclamaciones de los consumidores.
- Los registros deberán mantenerse durante un período suficiente para facilitar la retirada de productos del mercado y la investigación de enfermedades transmitidas por los alimentos, en caso necesario. Este período será probablemente mucho más largo que la duración en almacén del producto.

6. ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO Y SANEAMIENTO

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

7. ESTABLECIMIENTO: HIGIENE PERSONAL

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

8. TRANSPORTE

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

9. INFORMACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS Y SENSIBILIZACIÓN DE LOS CONSUMIDORES

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*.

10. CAPACITACIÓN

Véanse los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos*. Además:

10.1 CONOCIMIENTO Y RESPONSABILIDADES

Véase el *Código de Prácticas de Higiene para las Frutas y Hortalizas Frescas*, Además:

- El productor debe contar con un programa escrito de capacitación que se examinará y actualizará periódicamente. Deberán establecerse sistemas que aseguren que los manipuladores de alimentos conocen todos los procedimientos necesarios para mantener la inocuidad de las semillas germinadas.

ANEXO II. FOTOGRAFÍAS DEL MUESTREO REALIZADO PARA LA FASE EXPERIMENTAL

Lugar de recolección de las muestras: Mercado de Mayoreo la Tiendona



- Selección y compra de muestras de hortalizas



Condiciones de la venta de hortalizas en el punto de muestreo

ANEXO III. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS EN PROCAFE



FUNDACIÓN SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ
LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS
SECCIÓN DE ESPECIALES



INFORME No. : EC-120

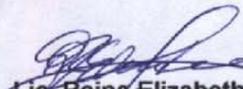
PROPIETARIO: CAMPOS DURAN, MARIA ANTONIETA
 MANZANO POLIO, WENDY AYMETH
 DIRECCIÓN: 25 Calle Poniente #1229, Col. Layco San
 Salvador
 TELFONO: 2231-5840/ FAX: 2226-7042
 2231-5637

FECHAS	
RECEPCIÓN:	25/07/07
ANÁLISIS:	20/08/07
EMISIÓN:	21/08/07

RESULTADOS DE ANÁLISIS EN MUESTRAS ESPECIALES

TIPO DE ANALISIS	EC – 887	EC – 888	EC – 889
	TIPO DE MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	TIPO DE MUESTRA
	WÖHLER	COSMOS	SANAVIDA
YODO	0.34%		
CLORUROS		7.47 %	
SODIO			4.29%

NOTA ACLARATORIA: El resultado del análisis corresponde a la muestra enviada por usted (es) a este Laboratorio. El muestreo es responsabilidad del usuario. El Laboratorio no autoriza la reproducción parcial sin la debida autorización por escrito.


Lic. Reina Elizabeth Funes de Cruz
 Coordinador del Laboratorio de Servicios Analíticos




Ing. Amanda de Pérez
 Técnico Analista

El Café es vida
 Avenida Manuel Gallardo y 13 Calle Poniente, Santa Tecla, La Libertad, El Salvador, C.A.
 PBX (503)2288-3088, Fax (503)2228-0669, E-mail info@procafe.com.sv, www.procafe.com.sv

1/1

**ANEXO IV. RESULTADO DEL ANÁLISIS DE AGUA POTABLE REALIZADO EN
EL LABORATORIO ESPECIALIZADO EN CONTROL DE CALIDAD
(LECC)**



Laboratorios Especializados en Control de Calidad
ESEBESA S.A. DE C.V.
Inscripción en C.S.S.P No. 357.
Calle San Antonio Abad No. 1965, San Salvador, El Salvador. C.A.
Teléfono: (503)2226-5223 • 2226-7042 • 2235-4836 • www.lecc.com.sv • e-mail: info@lecc.com.sv

Informe No.: **A-7001** **INFORME DE ANALISIS** Página 1 de 1

Nombre. Punto de Toma de Muestra: Agua. Grifo de Anda de Laboratorio de Aguas CENSALUD. UES	Procedencia: Wendy Manzano/ Maria Antonieta Campos	Fecha de Ingreso: 17/09/07 Fecha de Análisis: 17/09/07 Fecha de Emisión: 20/09/07
Fuente: Red	Control: A-7001	Referencia: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed.
		MUESTRA TOMADA POR: Cliente [x] Personal de LECC []

Descripción: Líquido transparente e incoloro.

DETERMINACION	REFERENCIA DEL METODO	RESULTADO	LIMITES NSO 13.07.01:04
Salmonella sp.	9260 B Medio Diferencial	Negativo	Negativo
<u>NUMERO MAS PROBABLE</u> Coliformes Totales	9223 B NMP	Menor a 1,1 NMP/100 mL	Menor a 1,1 NMP/100 mL

EL INFORME CORRESPONDE A LA MUESTRA REMITIDA Y ENSAYADA.
NSO (NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA). NSO 13.07.01:04 AGUA. AGUA POTABLE.

Elizabeth Banegas de Salazar

Dra. Elizabeth Banegas de Salazar.
DIRECTOR TÉCNICO.

Dra. ELIZABETH BANEGAS DE SALAZAR
QUÍMICO FARMACÉUTICO
Insc. J. V. P. Q. F. No. 427



ANEXO V. FOTOGRAFÍAS DE LOS PROCEDIMIENTOS REALIZADOS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE LA FASE EXPERIMENTAL

PARTE I: ETAPA EXPLORATORIA

"Evaluación de los Métodos de Desinfección Químicos Comerciales"



Material de laboratorio a utilizado



Preparación de la muestra



Pesado de las muestras



Métodos de Desinfección

De izq. a der.: "A" (Hipoclorito de sodio), "B" (Cloruro de Benzalconio) y C "Yodo en Solución"



Análisis en proceso

PARTE II: ETAPA EXPLORATORIA
"Ensayo de Susceptibilidad"



Reactivos para la preparación de estándar de McFarland



Algunos de los métodos Ensayados:
Solución de detergente al 2.5 y 5% p/v
y vinagre comercial



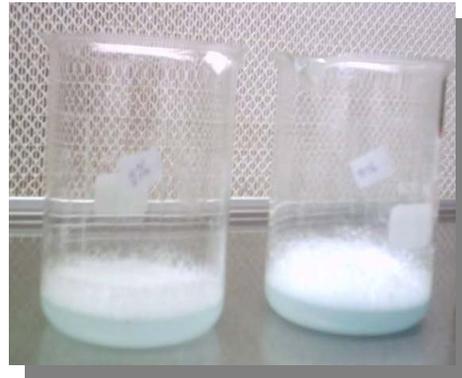
Evaluación rápida de los Métodos de desinfección para determinación de concentraciones y tiempos de acción de métodos propuestos

PARTE III: ETAPA FINAL

“Evaluación de los Métodos de desinfección químicos y no químicos”



Pesado de la muestra



Elaboración de Solución de detergente 5%



Preparación de la dilución de desinfectante



Lavado de las muestras de hortalizas

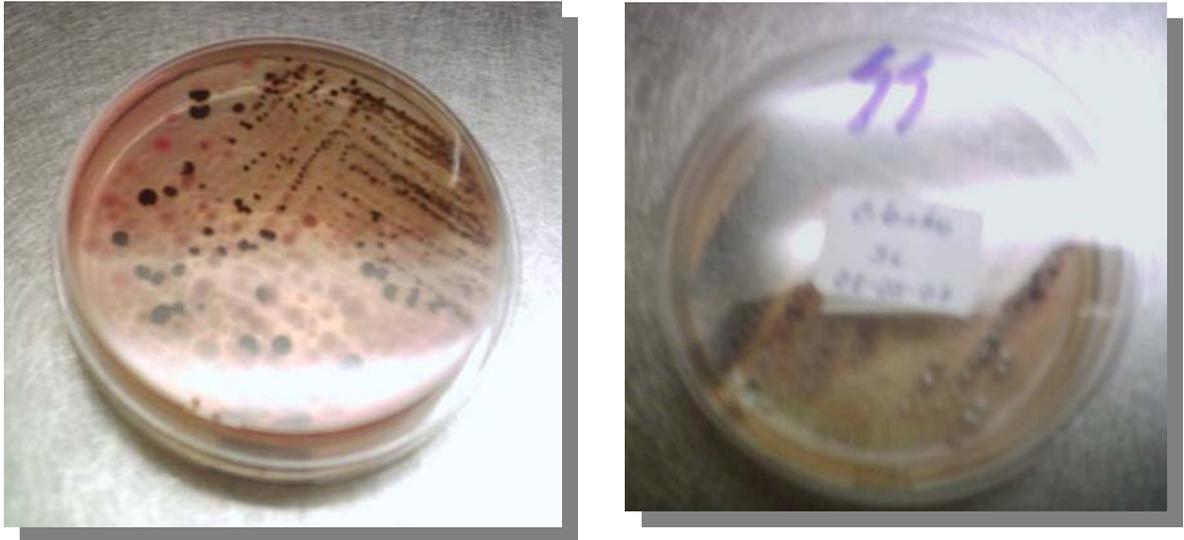


Análisis en proceso

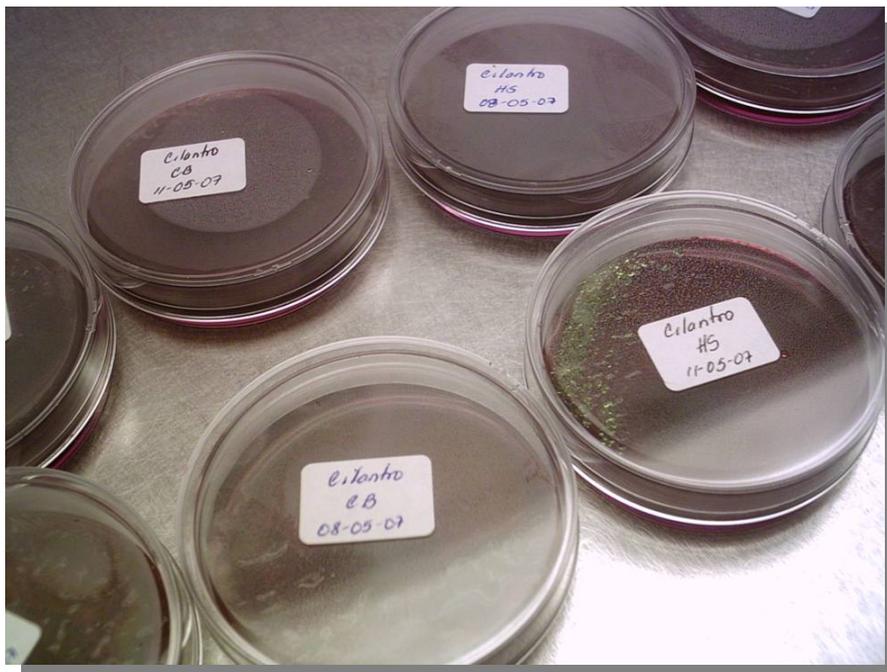
**ANEXO VI. FOTOGRAFÍAS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS
DIFERENTES ETAPAS DE LA FASE EXPERIMENTAL**

PARTE I: ETAPA EXPLORATORIA

"Evaluación de los Métodos de Desinfección Químicos Comerciales"



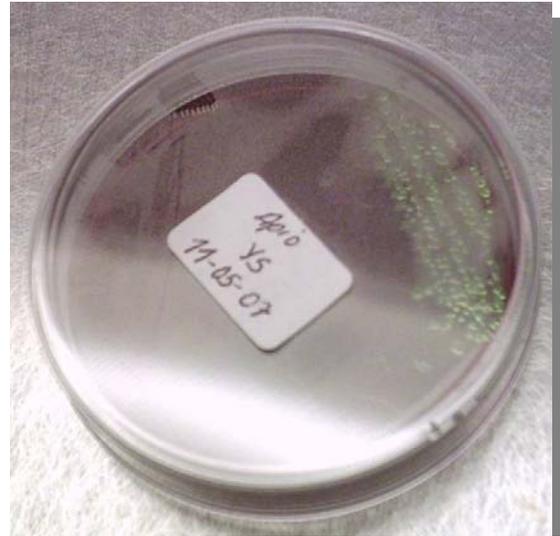
Resultados Salmonella



Resultados E. coli en EMB



Resultado de ***E. coli*** en EMB de Apio lavado con agua potable



Resultado de ***E. coli*** en EMB de Apio desinfectado con yodo en solución



Resultado de ***E. coli*** en EMB de Cilantro desinfectado con Hipoclorito de sodio



Resultado de ***E. coli*** en EMB de Apio desinfectado con Cloruro de Benzalconio

PARTE III: ETAPA FINAL

“Evaluación de los Métodos de desinfección químicos y no químicos”

Resultados *Salmonella*



Resultado de ***Salmonella*** en SS para Cilantro desinfectado con yodo en solución al doble de la concentración por 10 minutos.



Resultado de ***Salmonella*** en SS para Cilantro desinfectado con detergente más yodo en solución por 15 minutos.



Resultado de ***Salmonella*** en SS de Cilantro desinfectado con detergente más Hipoclorito de sodio por 10 minutos.



Resultado de ***Salmonella*** en SS de Cilantro desinfectado con detergente más Hipoclorito de sodio por 15 minutos.

ANEXO VII. PROCEDIMIENTO PARA LA DESINFECCIÓN DE HORTALIZAS UTILIZANDO LOS MÉTODOS DE DESINFECCIÓN PROPUESTOS

Método de desinfección aplicando Detergente al 5% p/v + Solución de Hipoclorito de Sodio

Preparación de 1 litro Solución de Detergente al 5% p/v.

Disolver 5 cucharaditas de detergente en polvo en un litro (4 tazas) de agua potable.

Preparación de solución de hipoclorito de sodio

Agregar 2 cucharaditas de solución de Hipoclorito de Sodio por taza de agua a utilizar.

Procedimiento

1. Sumergir las hortalizas en la solución de detergente hasta cubrirlas.
2. Dejar reposar durante aproximadamente 1 minuto.
3. Frotar, si es necesario, para la remoción de materia orgánica.
4. Retirar el detergente con abundante agua potable.
5. A continuación, sumergir las hortalizas lavadas con detergente en la solución desinfectante de hipoclorito de sodio.
6. Dejar reposar durante 15 minutos.
7. Retirar el desinfectante con abundante agua potable.

Método de desinfección aplicando Detergente al 5% p/v + Solución de Yodo

Preparación de 1 litro Solución de Detergente al 5% p/v.

Disolver 5 cucharaditas de detergente en polvo en un litro (4 tazas) de agua potable.

Preparación de solución de yodo

Agregar 1 cucharada (15 ml) de solución de yodo en 3 ½ litros de agua (14 tazas).

Procedimiento

1. Sumergir las hortalizas en la solución de detergente hasta cubrirlas.
2. Dejar reposar durante aproximadamente 1 minuto.
3. Frotar, si es necesario, para la remoción de materia orgánica.
4. Retirar el detergente con abundante agua potable.
5. A continuación, sumergir las hortalizas lavadas con detergente en la solución desinfectante de yodo.
6. Dejar reposar durante 15 minutos.
7. Retirar el desinfectante con abundante agua potable.

Método de desinfección aplicando Infusión de orégano

Preparación de 1 litro de infusión

1. Pesar 50 g de orégano seco o medir 5 tazas de orégano.
2. Medir 4 tazas de agua.
3. Colocar en un recipiente adecuado las 4 tazas de agua hasta temperatura de ebullición y agregar posteriormente el orégano.
4. Dejar en ebullición por 10 minutos la infusión y luego se dejar enfriar.

Procedimiento

1. Sumergir las hortalizas en la infusión de orégano hasta cubrirlas.
2. Dejar reposar durante 15 minutos.
3. Retirar el desinfectante con abundante agua potable.

Método de desinfección aplicando de ácido acético (vinagre).

1. Sumergir las hortalizas en el vinagre hasta cubrirlas.
2. Dejar reposar durante 15 minutos.
3. Retirar el desinfectante con abundante agua potable.