

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE
Salvia hispanica L. (CHIA) COMERCIALIZADAS EN LOS MERCADOS Y
SUPERMERCADOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
INGRID MARISOL CRUZ DE GUEVARA
ARMIDA JUDITH HIDALGO SANABRIA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE, 2021

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DEL PROCESO DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESORA DE AREA: EN CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

DOCENTE ASESORA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por cada bendición recibida hasta el día de hoy, por la sabiduría, entendimiento, fortaleza, perseverancia y la capacidad para culminar aun en medio de las dificultades vividas durante el transcurso de la carrera.

A nuestros padres y hermanos, por ser los pilares incondicionales de nuestra vida, por sus esfuerzos, sacrificios, comprensión, consejos y apoyo a lo largo de mi formación académica para lograr culminar este primer éxito.

A nuestros esposos porque desde amigos nos brindaron comprensión, paciencia, palabras de ánimo y han sido un apoyo fundamental en los últimos años de nuestra carrera.

A nuestros amigos/as y personas que de una u otra forma nos animaron y dieron apoyo absoluto en todo momento incentivándonos a culminar la carrera profesional a pesar de las adversidades

A nuestra asesora MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz, por brindarnos su tiempo, paciencia, conocimiento, experiencia y orientarnos en la realización de cada una de las etapas para desarrollar nuestra tesis.

A cada catedrático que nos brindó sus conocimientos durante el tiempo de estudio de la carrera y la orientación para el buen ejercicio de la profesión.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y personal encargado por darnos la oportunidad de realizar nuestro trabajo experimental y por el apoyo ofrecido en el desarrollo de los análisis.

Armida e Ingrid

DEDICATORIAS

A Dios, por darme la vida, el tiempo, así como cada una de las bendiciones necesarias para culminar y sobrellevar las adversidades vividas a lo largo de mi preparación académica.

A mi madre, Ada Imelda Sanabria por su apoyo y amor incondicional, brindándome fuerzas en los momentos difíciles. De igual manera, agradezco a mi padre, Jose María Hidalgo Grande, quien goza ya en la presencia de Dios, al cual recuerdo por su amor, sus enseñanzas, apoyo, consejos e incentivar me hasta el último día de su vida para que alcanzara este logro.

A mis hermanos/as, por sus consejos y apoyo que ha sido fundamental para avanzar, y saber que por encima de cualquier adversidad he sido plenamente bendecida.

A amigos/as y compañeros/as, por el cariño, apoyo absoluto que me han brindado en lo personal y académico. Agradezco su compañía en todo momento, ya que me han dejado recuerdos invaluable.

A Ricardo, mi esposo, por su comprensión, paciencia, ayuda y motivación para realizarme profesional y personalmente.

A mi compañera de tesis, Ingrid, por la paciencia, tolerancia, apoyo y esfuerzo realizado para obtener éxito en nuestra meta trazada.

A mi asesora MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz, por brindarnos su valioso conocimiento y tiempo; guiándonos durante nuestra investigación hasta obtener nuestro trabajo de tesis.

A cada catedrático, por compartir tantas horas, conocimiento y consejos para desempeñar con ética mi profesión.

Armida Judith Hidalgo Sanabria

Agradezco a Dios primeramente por cada una de las bendiciones que me ha dado hasta el día de hoy. Por haberme permitido lograr mi gran sueño.

A mi madre Elsy Gladis Navarrete por su apoyo incondicional y darme fuerzas en los momentos más difíciles y cuando creía haberme rendido ella estaba para darme ánimos. A mi padre José Candelario Cruz por estar conmigo incondicionalmente. Gracias a ellos que han sido el pilar más importante y las personas que más me llenan de orgullo.

A mis hermanos Sigfredo, David, Darlin, Grecia, Irvin por ser las personas más importantes en mi vida por darme el apoyo necesario y creer en mí durante todo momento de mi vida.

A mi tío Félix Vázquez porque siempre estuvo para apoyarme en todo momento.

A mis abuelitos Lucia, Anselmo, Miguel Cruz (Q.D.D.G) Porque su mayor sueño fue verme toda una profesional sé que desde donde estén ellos están orgullosos y a mi tía Virginia Ventura (Q.D.D.G) sé que desde el cielo celebra este triunfo.

A mi esposo Oscar por apoyarme en todo momento, por sus palabras de motivación, por la paciencia a lo largo de esta carrera y por creer en mí.

A mi compañera de tesis Armida, por ser una excelente amiga y compañera, por su tolerancia, comprensión y por compartir conmigo sus conocimientos.

A mi amigos y amigas que de una u otra forma apoyaron en la culminación de mi carrera, por todo lo momentos divertidos y tristes que pasamos juntos.

A Wilber Guzmán por todo el apoyo brindado, porque ante cualquier dificultad siempre estuvo para darme palabras de ánimo motivarme a culminar mi carrera.

A todos los catedráticos por su paciencia y por compartir todos sus conocimientos.

A mi asesora MSc. Coralia de los Ángeles de González de Díaz a lo largo de la tesis y guiarme durante el transcurso de la investigación. Por compartir sus conocimientos enseñanza brindadas y por la orientación recibida por parte de ellos para poder darle fin a este proceso.

Ingrid Marisol Cruz de Guevara

INDICE

	Pág. N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco teórico	22
3.1 Historia de la Chía	23
3.2 Clasificación botánica	25
3.2.1 Clasificación sistemática de la Chía	26
3.3 Manejo de cultivo	26
3.3.1 Condiciones de cultivo	26
3.3.2 Características de la localización de los sitios de cultivo de Chía	27
3.3.3 Variedades	28
3.4 Composición química y nutricional	28
3.4.1 Ácidos grasos	33
3.4.2 Fibra	33
3.4.3 Proteína	34
3.4.4 Vitaminas y minerales	34
3.4.5 Aminoácidos	34
3.5 Las semillas de Chía	38
3.5.1 Las semillas de Chía un superalimento	39
3.5.1.1 Formas de consumo de la semilla de Chía	39
3.5.2 Los beneficios de consumir la semilla de Chía	39
3.5.3 Contraindicaciones	40
3.6 Calidad de la semilla de Chía	40
3.7 Fuentes de contaminación de los alimentos	41

3.7.1 Principales fuentes de contaminación de los alimentos	41
3.8 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)	42
3.8.1 Clasificación de las enfermedades de transmisión alimentaria	44
3.9 Enfermedades gastrointestinales	46
3.10 Infecciones alimentarias	47
3.10.1 Intoxicaciones alimentarias	47
3.11 Bacterias	48
3.11.1 Toxinas bacterianas	48
3.11.2 Crecimiento y multiplicación de las bacterias	48
3.11.3 <i>Salmonella spp</i>	50
3.11.3.1 Características del género	50
3.11.3.2 Enfermedad Producida	52
3.11.3.3 Alimentos implicados	53
3.11.3.4 Sintomatología y Diagnostico	53
3.11.4 Grupo Coliforme Total	54
3.11.5 Grupo Coliforme Fecal	55
3.11.6 <i>Escherichia coli</i> enteropatógena	55
3.11.6.1 Características del género	55
3.11.6.2 Enfermedad Producida	56
3.11.6.3 Diagnóstico	57
3.12 Hongos y Levaduras	57
3.12.1 Condiciones ambientales requeridas para el crecimiento	59
3.12.2 Medios de cultivo	60
3.12.3 Condiciones de incubación	60
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	63
4.1 Tipo de estudio	63
4.2 Investigación bibliográfica	63
4.3 Investigación de campo	64

4.3.1 Universo	66
4.3.2 Muestra	66
4.3.3 Toma de muestra	67
4.3.4 Determinación y selección del número de Supermercados y Mercados	67
4.3.5 Tipo de muestreo	77
4.3.6 Identificación de la muestra	78
4.3.7 Presentación de resultados	78
4.4 Parte experimental	78
4.4.1 Toma y transporte de muestra	78
4.4.2 Análisis microbiológico	79
4.4.2.1 Preparación de las disoluciones de cada muestra de los mercados y supermercados	79
4.4.2.2 Determinación de Coliformes Totales	80
4.4.2.3 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	80
4.4.2.4 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	81
4.4.2.4 Recuento de Hongos y Levaduras	82
4.4.2.5 Pruebas Bioquímicas	83
Capítulo V	
5.0 Resultados	88
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	124
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	127
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág. N°
1. Flores de la planta <i>Salvia hispánica</i> L (Chía) color purpura	25
2. Hojas de la planta de <i>Salvia hispánica</i> L. (Chía) son opuestas, pecioladas, bordes dentados.	25
3. Semillas ovales, con manchas anómalas conformadas por los colores marrón, gris y blanco	25
4. Morfología macroscópica de <i>Salmonella spp</i> en Agar XLD colonias rosadas con o sin centro negro	50
5. Morfología microscópica de <i>Salmonella spp</i>	50
6. Morfología macroscópica de <i>Escherichia coli.</i> en Agar EMB colonias exhiben un brillo verde metálico	55
7. Morfología microscópica de <i>Escherichia coli.</i>	55
8. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras del Mercado Central de San Salvador.	90
9. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras del Mercado San Miguelito de San Salvador.	91
10. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras de Supermercados Súper Selectos.	94
11. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras de Supermercados Despensa de Don Juan.	95
12. Recuento de Hongos y Levaduras en Agar Papa Dextrosa	101
13. Determinación de <i>Salmonella spp</i> en Agar <i>Salmonella-Shigella</i>	103
14. Determinación de <i>Salmonella spp</i> en Agar XLD	103
15. Conteo de Hongos y Levaduras en Agar Papa Dextrosa	104

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág. N°
1. Clasificación sistemática de la semilla de Chía	26
2. Entorno agroclimático indispensable para el crecimiento de la semilla de Chía.	27
3. Algunos países donde se cultiva semilla de <i>Salvia hispánica</i> L. (Chía).	27
4. Algunas especies o variedades de semilla de Chía	28
5. Composición Nutricional de la Chía	29
6. Ejemplo de enfermedades bacterianas transmitidas por contaminación fecal.	46
7. Mercados que corresponden al Distrito 1 de la zona Metropolitana de San Salvador.	65
8. Supermercados que corresponden al Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador.	66
9. Número de mercados por estrato	68
10. Supermercados a muestrear	73
11. Listado de Supermercados a muestrear	75
12. Requisitos de etiquetado según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.01.02:10 de las muestras de Supermercados	97

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Porcentaje de cada uno de los mercados (estratos) del Distrito 1 de San Salvador	70
2. Numero de Mercados a muestrear por estrato	71
3. Cantidad de muestras por mercados	72
4. Porcentaje de las cadenas comerciales de supermercados	74
5. Número de supermercados que se muestrearon por estrato	75
6. Cantidad de muestras por Supermercado	77
7. Resultados de la lista de chequeo de los Mercados Central y San Miguelito.	88
8. Resultados de la lista de chequeo realizada a los Súper Selectos y Despensa de Don Juan.	92
9. Resultados obtenidos del análisis de las muestras del Mercado Central	98
10. Resultados del análisis de las muestras del Mercado San Miguelito	101
11. Resultados de los análisis de las muestras del Súper Selectos.	104
12. Resultados de los análisis de las muestras de la Despensa de Don Juan	106
13. Resultados de los análisis de las muestras (mezclas) <i>Salvia hispánica</i> L (Chía).	109
14. Cuadro comparativo de los resultados del análisis de hongos y levaduras de las muestras (Chía) de Mercados y supermercados	110

INDICE DE ANEXOS

1. Ubicación del Distrito 1 en el Área Metropolitana del Departamento de San Salvador.
2. Ubicación de los puestos mercado Central donde se tomaron las muestras de *Salvia hispánica L.* (Chía)
3. Ubicación de las rutas de acceso a los puestos para ingresar al Mercado San Miguelito.
4. Ubicación del Distrito 2 en el Área Metropolitana del Departamento de San Salvador
5. Lista de Chequeo de Mercados
6. Lista de Chequeo de Supermercados
7. Resultados de la lista de chequeo de los Mercados Central y San Miguelito
8. Resultados de la lista de chequeo realizada a los Súper Selectos y Despensa de Don Juan.
9. Esquema de dilución de muestras de semillas de *Salvia hispánica L.* (Chía)
10. Esquema de la Técnica del Número Más Probable (NMP) para la determinación de coliformes totales
11. Esquema de procedimiento para la determinación de *Escherichia coli*.
12. Esquema del tratamiento de muestra para la determinación de la especie *Salmonella spp*
13. Esquema de procedimiento para la determinación de *Salmonella spp*
14. Esquema para determinar la presencia de Hongos y Levaduras en la muestra
15. Número Más Probable (NMP) detección de coliformes totales. Para 3 tubos cada uno con 0.1, 0.01 y 0.001 g de inóculo, con límites de confianza de 95%.
16. a) Pruebas Bioquímicas de *Escherichia coli* y b) Pruebas bioquímicas de *Salmonella spp*
17. Resultado de las pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.
18. Resultado de pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp*

19. Criterios microbiológicos
20. Etiqueta de identificación de cada una de las muestras.
21. Códigos de las muestras del Mercado Central
22. Código de las muestras del Mercado San Miguelito
23. Código de las muestras de los Supermercados
24. Tabla de Distribución Normal Estándar.
25. Esquema de realización de Tinción Gram
26. Material para el análisis microbiológico
27. Fotografía de las condiciones de almacenamiento de las muestras en los Supermercados.
28. Fotografía del procedimiento de las muestras de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) en el laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD)
29. Fotografía de colonia de bacterias sospechosas y tinción gram
30. Carta de confirmación de la especie emitida por el Jardín Botánico
31. Requisitos solicitados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) para las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) importada, país y cantidad importada registrado en la base de datos del MAG.
32. Esquema de Toma de Muestra.

ABREVIATURAS

Agar XLD=	Agar xilosa Lisina Desoxicolato
Agar S-S=	Agar Salmonella-Shiguella
Agar EMB=	Eosina Azul de Metileno
BAM=	Manual de análisis bacteriológico
CENSALUD=	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud
ETAs=	Enfermedades Transmitidas por Alimentos
FAO=	Organización para la Alimentación y la Agricultura
NMP/g=	Número más probable por gramo de muestra
NOM=	Norma Oficial Mexicana
OMS=	Organización Mundial de la Salud
RTCA=	Reglamento Técnico Centroamericano
spp=	Especies
TSA=	Agar Trypticase Soya
UFC/g=	Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de *Salvia hispánica* L (Chía) comercializada en los Mercados y Supermercados del Área Metropolitana de San Salvador. Para llevar a cabo esta investigación, inicialmente, se evaluaron las condiciones de manipulación y almacenamiento de las semillas por parte de los distribuidores, mediante una lista de chequeo. Posteriormente, se realizó la recolección de 40 muestras procedentes de los mercados del Distrito 1: Central y San Miguelito, así mismo de los ocho supermercados del Distrito 2. Los análisis estuvieron basados en la metodología del Manual de Análisis Bacteriológico (BAM).

Por tanto, se evaluaron como indicadores el recuento de *Escherichia coli*, la ausencia/ presencia de *Salmonella spp*, conteo de Mohos y Levaduras. Los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador en el periodo de enero a julio del año 2017. Por consiguiente, los resultados obtenidos fueron comparados con los valores establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 y la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008. En el caso de *Escherichia coli*, no se encontró presencia de ella, pero sí valores elevados de Coliformes Totales. Así mismo, se registró cifras considerablemente altas para Mohos y Levaduras. Además, hubo total ausencia de *Salmonella spp.*, sin embargo, se identificó la presencia de *Shigella spp.* y *Klebsiella sp.*

Se realizó un comparativo entre nuestro estudio y otras dos investigaciones, concluyendo que, tanto mercados como supermercados no cumplen con las normativas por la presencia de coliformes, hongos y levaduras que pone en evidencia factores críticos que comprometen la integridad, calidad e inocuidad de las semillas.

CAPITULO I
INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

La semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) es una planta anual de verano originaria del centro sur de México y norte de Guatemala, pertenece a la familia *Lamiacea*, donde también se encuentran otro tipo de plantas aromáticas como la menta, el tomillo, el romero y el orégano. Esta semilla fue ampliamente utilizada desde antes de la era cristiana e incluso por civilizaciones precolombinas de Mesoamérica como alimento y medicina. A pesar del importante rol que tuvo en ese periodo de la historia, el consumo de esta disminuyó luego de la llegada de los conquistadores españoles a América. El cultivo de la Chía fue suprimido por los colonizadores, debido a conflictos culturales y religiosos, sin embargo logró sobrevivir en pequeñas parcelas alejadas de las ciudades como México, Guatemala y Nicaragua.

En la presente investigación el objetivo fue verificar la calidad microbiológica de la semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) que se comercializa en los Mercados del Distrito 1 y Supermercados del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador, esto con el propósito de descartar que se encuentre contaminada con microorganismos que pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S), los cuales pueden desencadenar un problema de salud para los consumidores.

La prevención y control de ETA'S son una de las metas de la salud pública, tanto Nacional como Internacional. En este sentido, se realizaron análisis microbiológicos que se establecen en el Reglamento Técnico Centroamericano y la Norma Oficial Mexicana, reglamento que hasta la fecha ha contribuido a la mejora de la calidad de los alimentos; ya que, obliga a las diferentes entidades pertinentes de velar por la salud y dar cumplimiento a las normativas que contienen los límites que garantizan una seguridad alimentaria a la población.

En primer lugar, se llevó a cabo un diagnóstico para verificar si las condiciones de almacenamiento eran las adecuadas a través de una lista de chequeo, se realizó los cálculos estadísticos para llevar a cabo el muestreo y luego se procedió a ejecutar los análisis microbiológicos que permitieron detectar recuento de *Escherichia coli*, la presencia o ausencia de la bacteria *Salmonella spp.* que se encuentran establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08, así como también el conteo de Hongos y Levaduras establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008. Posteriormente, se adquirió media libra de las semillas y se tomaron 6 gramos de cada una de las muestras de los mercados y supermercados, mezclándolas y obteniéndose 8 muestras 2 por cada mercado y 2 por cada supermercado, con la finalidad de comprobar la contaminación presente en las muestras.

Las tomas de muestras se desarrollaron en dos periodos de tiempo, con un lapso entre ambas tomas de 15 días durante el mes de agosto. Dicho análisis se llevaron a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador en el periodo de julio a diciembre del año 2017.

CAPITULO II
OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de *Salvia hispánica* L. (Chía) comercializadas en los Mercados y Supermercados del Área Metropolitana de San Salvador.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1. Verificar las condiciones de almacenamiento en las que se mantiene la semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) mediante una lista de chequeo en Mercados y Supermercados.
- 2.2.2. Identificar Recuento de *Escherichia coli*, la ausencia/ presencia de *Salmonella spp*, conteo de Hongos y Levaduras en las muestras seleccionadas de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) (mucílago).
- 2.2.3. Comparar los resultados obtenidos de las bacterias con los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 y resultados obtenidos de Hongos y Levaduras establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008.
- 2.2.4. Elaboración de un artículo científico que sintetice los resultados obtenidos en la investigación.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

III. MARCO TEORICO

3.1. Historia de la Chía ⁽²⁹⁾

Salvia hispánica L. (Chía) es una especie de la que existen evidencias que desde hace más de 3.500 años antes de la era cristiana fue utilizada para la alimentación. Entre los años 2.600 y 2.000 A.C., las civilizaciones Tolteca y Teotihuacana cultivaban Chía antes de la llegada del imperio Azteca al centro de México y durante la época del 1.500 a 900 A.C. la Chía ya era un pilar fundamental en la alimentación de varias civilizaciones Mesoamericanas del valle de México.

Los Aztecas le atribuyen gran valor a esta planta milenaria, ellos la usaron como alimento, medicina, pintura y de manera religiosa.

En cuanto al uso alimentario, la Chía fue un ingrediente básico para platos y bebidas de consumo diario para los Aztecas, ésta se elaboró de diferentes formas, como: semilla, mezclada con otros alimentos, en forma de harina y con agua para producir una bebida refrescante y nutritiva. Un alimento cotidiano para ellos era la mezcla de semillas tostadas de Chía y Amaranto, que formaban una masa llamada “tzoalli”, en lengua náhuatl. Al ser considerada una semilla altamente energética, la milicia Azteca almacenaba semillas de Chía para ser consumida en sus batallas y ejercicios militares, esto los llevó a dominar las tribus que habitaban en el valle de México.

Así mismo, la Chía fue considerada un insumo para la realización de obras artísticas. El aceite de Chía llamado “chuamatl” por los Aztecas, se utilizaba como base de barnices que servían para pintar la cara y cuero de los indios, proteger estatuas religiosas de las inclemencias del tiempo, darle brillo a sus pinturas y otorgarle una calidad excepcional a manuscritos creados en la época.

Sobre el aspecto religioso, se conoce que los aztecas utilizaban la *Salvia hispánica* L. (Chía) en sus ceremonias. En ellas ofrendaban galletas de Chía a sus dioses y la semilla la entregaban como diezmo.

La conquista española reprimió a los nativos, suprimió sus tradiciones y eliminó los sistemas productivos y de comercialización de los productos agrícolas, obligados a que cultivos de gran relevancia en la dieta se perdieran y fuesen sustituidos por especies europeas como trigo, cebada, arroz, entre otras y dejar así en el olvido alimentos que para ese entonces eran imprescindibles.

La Chía desapareció parcialmente durante 500 años, se considera que esta especie logró sobrevivir debido a la conservación de algunas tradiciones precolombinas por parte de pequeños grupos de descendientes de las naciones Náhuatl que siguieron cultivando en pequeñas parcelas de México, Guatemala y Nicaragua.

Durante muchos años las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) fueron comercializadas solamente por mercados Mexicanos y utilizada como materia prima para la elaboración de la bebida denominada Chía fresca la cual era consumida por razones étnicas o religiosas. En 1965 la Chía comenzó a estar disponible en comercios dietéticos del sureste de California y Arizona y hacia finales de los años 1980 se empezó a comercializar en los Estados Unidos un alimento para mascotas (Chía Pets), incrementándose la demanda de las semillas y posibilitando la venta mayoritaria de su producción.

3.2. Clasificación Botánica ⁽²⁸⁾

La Chía es una planta que se desarrolla en los meses de verano y alcanza alrededor de 1 a 1.5 m de altura, de tallo herbáceo y ramificado y protegido por pequeños pelillos, sus hojas son opuestas, pecioladas, bordes dentados que miden de 4 – 8 cm de largo y 3 - 5 cm de ancho, sus flores son hermafroditas de color púrpura claro o blanco, y se hallan unidas en grupo de 6 o más, en verticilos sobre el raquis de la inflorescencia con puntas largas y puntiagudas, las semillas son ovales, llanas, lustrosas y miden 2 mm de largo, adicional tienen manchas anómalas conformadas por los colores marrón, gris y blanco.



Figura N° 1 Flores de la planta de *Salvia hispánica* L. (Chía) color púrpura.



Figura N° 2 Hojas de la planta de *Salvia hispánica* L. (Chía) son opuestas, pecioladas, bordes dentados.



Figura N° 3. Semillas ovales, con manchas anómalas conformadas por los colores marrón, gris y blanco.

3.2.1 Clasificación sistemática de la Chía

Cuadro N° 1. Clasificación sistemática de la semilla de Chía. ⁽²⁸⁾

Reino	Plantae – planta
Subreino	Tracheobionta – planta vascular
División	Magnoliophyta – Angiosperma
Clase	Magnoliopsida – Dicotiledónea
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	Salvia L
Especie	<i>Salvia hispánica</i> L.

3.3. Manejo de Cultivo ⁽²⁸⁾

3.3.1. Condiciones cultivo

Esta planta a lo largo de los años se ha sembrado en territorios tropicales como subtropicales, en zonas a nivel del mar hasta los 2500 msnm, no obstante, la semilla no soporta heladas por este motivo no se desarrolla en áreas cuyas temperaturas desciendan bruscamente.

Crece en suelos areno-limosos o areno-arcillosos con buen drenaje, cabe recalcar que la planta es semi tolerante a la aridez y los suelos ácidos. El cultivo es sensible al fotoperiodo de la luz por lo que requiere zona con luz solar y su desarrollo varía según la altitud en la que se encuentre.

Cuadro N° 2. Entorno agroclimático indispensable para el crecimiento de la semilla de Chía. ⁽²⁸⁾

Temperatura	14 – 20 °C
Precipitación	250 – 300 mm
Altitud	0 – 260 msnm
Suelo	Opta por suelos livianos a medios drenados, no demasiado húmedos
Ph	6.5 a 7.5
Semilla	6 – 8Kg/ *ha
Número de semilla por sitio	Chorro continuo
Distancia entre planta	5 – 6 cm
Distancia entre surco	60 – 70 cm
Fertilización	250kg/ ha \bar{O} ¹ úrea

La semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) en la actualidad se cultiva principalmente en países de América Central y América de Sur.

3.3.2. Características de la localización de los sitios de cultivo de Chía

Cuadro N°3. Algunos países donde se cultiva semilla *Salvia hispánica* L. (Chía). ⁽²⁸⁾

	Localidad	Latitud	Elevación (msnm)	T° Anual/ estación °C	Precipitaciones Anual/estación (mm)	Ciclo de cultivo (días)
Argentina	El carril	25°05´S	1170	17,3/16,6	560/390	150
Bolivia	Santa cruz	17°43´S	437	24,6/22,8	1141/566	150
Colombia	La Unión	4°32´N	920	24/23,8	1118/341	90
México	México	19°00´N	2259	15,5/16,3	579/470	150
Perú	Ica	14°05´S	396	21,1/20,4	3/1	150

3.3.3. Variedades ⁽²⁸⁾

En México se localiza la mayor variedad genética de Chía, a la falta de investigaciones referente a esta semilla no se conoce con precisión sobre su sistema reproductivo, es por esta razón que varios proyectos realizados toman como marcador genético especialmente el color de las flores y de las semillas.

Cuadro N° 4. Algunas especies o variedades de semilla se Chía. ⁽⁴⁷⁾

Nombre Común	Nombre Científico
Chía	<i>Salvia hispánica</i> L.
Chía azul grande	<i>Salvia cyanea</i> B.
Chía cimarrona	<i>Salvia tiliaefolia</i> V.
Chía cimarrona	<i>Salvia dugessi</i> F.
Chía de campo	<i>Salvia columbariae</i> B.
Chía de California	<i>Salvia columbariae</i> B.
Chían/Chiyan	<i>Salvia hispánica</i> L.
Chía de Colima	<i>Hyptis suaveolens</i> L.
Chía gorda	<i>Hyptis suaveolens</i> L.
Chía grande	<i>Hyptis suaveolens</i> L.
Chía de chapata	<i>Amaranthus leocarpus</i> W.

3.4. Composición química y nutricional ⁽⁵⁷⁾

En la actualidad esta pequeña semilla está adquiriendo gran importancia entre los atletas, nutricionistas y entre las personas que quieren una forma fácil de perder peso, con el propósito de mejorar su resistencia atlética, aumentar su energía, evitar dolencias, prevenir enfermedades y mejorar el aspecto de la piel, el pelo y las uñas.

Esta diminuta semilla se encuentra conteniendo antioxidantes, vitaminas, minerales, fibra, aminoácidos, proteínas y ácidos grasos, entre ellos el omega-3 llamados alfa-linolénicos. La semilla *Salvia hispánica* L. (Chía) se le puede atribuir tantos beneficios y actúa sobre tantos problemas de salud que muchas personas creen que es uno de los alimentos más beneficiosos.

La semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) es hidrófila, es decir que absorbe la humedad, cuando esta se humedece se hincha y forma un recubrimiento gelatinoso llamado mucílago. Esta cualidad de hincharse es la que le permite a la Chía proporcionar esa sensación de saciedad que contribuye a que las personas logren pérdida de peso, control de la necesidad de comer y equilibrar los niveles de azúcar en sangre.

Cuadro N°5. Composición Nutricional de la Chía. ^{(57) (16)}

Nutrientes	Nombre secundario	Constituyente específico	Valor medio (mg/100g)	Valor máximo (mg/100g)	Valor mínimo (mg/100g)
Calorías			460	529	356
	Calorías de grasas		233	309	110
Grasa total			30.86	34.3	21.4
	Grasas saturadas		3.47	3.91	2.48
	Grasas trans		0.14	0.191	0.04
	Grasas poliinsaturadas		23.97	26	16.2
	Grasas monoinsaturadas		2.36	2.76	1.71
Ácidos grasos omega-3					
	Esenciales				

Cuadro N° 5 (Continuación)

		Omega-3 (Linolénico)	18.56	21.1	12.3
		Omega-6 (Linoleico)	5.93	7.15	3.88
	No esenciales				
		Omega-9 (Oleico)	2.12	2.71	1.41
Colesterol					
Carbohidratos totales			40.27	54	32
Fibra dietética (total)			34.43	41.2	30
	Fibra insoluble		31.39	35.9	28
	Fibra soluble		3.68	5.8	1.1
Proteínas					
Vitaminas					
	Vitamina A		53.86	80	30
	Vitamina C (Ácido Ascórbico)		1.61	2.9	0.5
	Vitamina D				
	Vitamina E		0.74	0.74	0.74
	Vitamina K				
	Tiamina (Vitamina B1)		0.62	0.79	0.21
	Riboflavina (Vitamina B2)				
	Ácido fenólico		64	158	40
	Biotina				
	Ácido gálico				
	Ácido pantoténico				

Cuadro N° 5 (Continuación)

Minerales					
	Calcio		569.80	616	623
	Hierro		7.72	9.78	6.27
	Fosforo		770.30	880	675
	Yodo				
	Magnesio		334.50	369	321
	Zinc		5.68	6.48	4.46
	Selenio		55.15	92.5	17.8
	Cobre		1.66	1.88	1.44
	Manganeso		3.28	4.32	2.46
	Bromo		9.07	16.4	1.74
	Molibdeno				
	Cloro				
	Sodio		128	272	22
	Potasio		653	741	596
Aminoácidos esenciales	*				
	Arginina (esencial para los jóvenes pero no para los adultos)		2221	2750	1950
	Histidina		550	629	483
	Isoleucina		830	1100	700
	Leucina		1121	1700	1210
	Lisina		1005	840	700
	Metionina		609	1200	400
	Fenilalanina		735	894	647
	Triptófano		452	1600	178
	Valina		935	1110	857

Cuadro N° 5 (Continuación)

Aminoácidos no esenciales					
	Alanina		1082	1300	920
	Asparagina				
	Ácido aspártico		1751	2150	1490
	Cisteína		422	500	370
	Acido glutámico (Glutamato)		3628	4370	3140
	Glicina		977	1120	830
	Prolina		834	893	683
	Serina		1087	1280	928
	Tirosina		584	880	25
Fitonutrientes					
	Flavonoides (Polifenoles)				
		Quercetina	35	60	20
		Kenferol	35	70	20
		Miricetina	51	62	41
	Ácidos fenólicos				
		Ferulico	64	158	40
		Gálico			
		Cafeico	290	387	132
		p-Curamico	603	1174	31
		Clorogenico	603	1174	31
	Catequinas (Flava-3-oles)				
		Epigallocatequina	893	1850	90
	TOTALES		1599	2312	1106

3.4.1. Ácidos grasos ⁽²⁸⁾

Por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, la Chía es considerada como una semilla altamente nutritiva. Hoy por hoy, es la semilla que contiene, mayor porcentaje de ácido alfa-linolénicos. En comparación con otra fuente vegetal. La semilla de Chía posee entre un 0.25 y 0.38 g_{aceite}/g_{semilla}, donde la mayor parte son triglicéridos compuesto por ácido alfa-linolénicos y ácido linoleico, lo que significa un alto valor nutricional puesto que estos ácidos intervienen como precursores para otros ácidos grasos esenciales y dan origen a prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos con actividad antiinflamatoria, anticoagulante y antiagregante.

Además se destacan entre los ácidos grasos saturados el ácido palmítico y ácido esteárico.

3.4.2. Fibra ⁽²⁸⁾

La fibra dietética es un bicomponente para el beneficio de la salud, ya que según varias investigaciones, el ingerir fibra reduce el riesgo de enfermedades cardiacas, peligro de diabetes tipo 2 y diversos tipos de cáncer. La Asociación Americana ha determinado que la fibra es beneficiosa para la salud y ayuda a la prevención de enfermedades, además otras fuentes recomiendan que la ingesta para adulto sea de 20-35 g/día.

La Chía contiene entre 34 y 40 g de fibra dietética por cada 100 g., lo que equivale a 100 % de las recomendaciones diarias para la población adulta; la harina sin grasa posee 40 % de fibra, en esa porción se tiene 5 – 10 % fibra soluble y forma parte del mucílago.

3.4.3. Proteína ⁽²⁸⁾

Dependiendo de la localización geográfica, condiciones y desarrollo de cultivo la proteína de la semilla de Chía varía entre 15% y 23%, este porcentaje de proteína resulta superior a diversos cereales habituales como la cebada, arroz, maíz, trigo y avena, además el amaranto y la quinua, la Chía no contiene gluten y sus aminoácidos no tienen limitantes en la dieta para adultos, lo que quiere decir que puede ser suministrada en la dieta humana, con el fin de incentivar una alimentación equilibrada.

3.4.4. Vitaminas y minerales ⁽²⁸⁾

La Chía es una extraordinaria fuente de vitamina B, en comparación con otros cultivos habituales, esta posee un mayor contenido de niacina que la soya, el maíz y arroz; el contenido de tiamina y riboflavina es equivalente al maíz y arroz pero mucho menor en la soya. Contiene minerales esenciales como: fosforo, calcio, magnesio, hierro, potasio, cobre y zinc. El porcentaje de proteínas de la Chía resulta superior a algunas fuentes ricas en hierro como la espinaca, la lenteja y el hígado vacuno.

3.4.5. Aminoácidos ⁽²⁶⁾

Entre los aminoácidos esenciales que contiene, destaca la lisina, aminoácido limitante en los otros cereales. No contiene gluten, por lo que su consumo es apto para las personas alérgicas al gluten (celíacos) o intolerantes.

Existen dos tipos principales de aminoácidos que están agrupados según su procedencia y características, estos grupos son aminoácidos esenciales y aminoácidos no esenciales. Con base en estudios realizados se ha determinado

que la semilla de Chan contiene los 10 aminoácidos esenciales que el cuerpo necesita. Estos son:

- Histidina ⁽²⁶⁾

Este aminoácido se encuentra abundantemente en la hemoglobina y se utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoide, alergias, úlceras y anemia. Es esencial para el crecimiento y la reparación de los tejidos. La Histidina, también es importante para el mantenimiento de las vainas de mielina que protegen las células nerviosas, es necesario para la producción tanto de glóbulos rojos como blancos en la sangre, protege al organismo de los daños por radiación, reduce la presión arterial, ayuda en la eliminación de metales pesados del cuerpo y ayuda a la excitación sexual.

- Isoleucina ⁽²⁶⁾

La isoleucina es necesaria para la formación de hemoglobina, estabiliza y regula el azúcar en la sangre y los niveles de energía. Este aminoácido es valioso para los deportistas porque ayuda a la curación y la reparación del tejido muscular, piel y huesos. La cantidad de este aminoácido se ha visto que es insuficiente en personas que sufren de ciertos trastornos mentales y físicos.

- Leucina ⁽²⁶⁾

La leucina interactúa con los aminoácidos isoleucina y valina para promover la cicatrización del tejido muscular, la piel y los huesos y se recomienda para quienes se recuperan de la cirugía. Este aminoácido reduce los niveles de azúcar en la sangre y ayuda a aumentar la producción de la hormona del crecimiento.

- Lisina ⁽²⁶⁾

Las funciones de este aminoácido son garantizar la absorción adecuada de calcio y mantiene un equilibrio adecuado de nitrógeno en los adultos. Además, la lisina ayuda a formar colágeno que constituye el cartílago y tejido conectivo. La lisina también ayuda a la producción de anticuerpos que tienen la capacidad para luchar contra el herpes labial y los brotes de herpes y reduce los niveles elevados de triglicéridos en suero.

- Metionina⁽²⁶⁾

La metionina es un antioxidante de gran alcance y una buena fuente de azufre, lo que evita trastornos del cabello, piel y uñas, ayuda a la descomposición de las grasas, ayudando así a prevenir la acumulación de grasa en el hígado y las arterias, que pueden obstruir el flujo sanguíneo a el cerebro, el corazón y los riñones. Ayuda a desintoxicar los agentes nocivos como el plomo y otros metales pesados, ayuda a disminuir la debilidad muscular, previene el cabello quebradizo, protege contra los efectos de las radiaciones, es beneficioso para las mujeres que toman anticonceptivos orales, ya que promueve la excreción de los estrógenos, reduce el nivel de histamina en el cuerpo que puede causar que el cerebro transmita mensajes equivocados, por lo que es útil a las personas que sufren de esquizofrenia.

- Fenilalanina ⁽²⁶⁾

Aminoácidos utilizados por el cerebro para producir la noradrenalina, una sustancia química que transmite señales entre las células nerviosas en el cerebro, promueve el estado de alerta y la vitalidad.

La fenilalanina eleva el estado de ánimo, disminuye el dolor, ayuda a la memoria y el aprendizaje, que se utiliza para tratar la artritis, depresión, calambres menstruales, las jaquecas, la obesidad, la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia.

- Treonina ⁽²⁶⁾

La treonina es un aminoácido cuyas funciones son ayudar a mantener la cantidad adecuada de proteínas en el cuerpo, es importante para la formación de colágeno, elastina y esmalte de los dientes y ayuda a la función lipotrópica del hígado, cuando se combina con ácido aspártico y la metionina, previene la acumulación de grasa en el hígado, su metabolismo y ayuda a su asimilación.

- Triptófano ⁽²⁶⁾

Este aminoácido es un relajante natural, ayuda a aliviar el insomnio induciendo el sueño normal, reduce la ansiedad y la depresión y estabiliza el estado de ánimo, ayuda en el tratamiento de la migraña, ayuda a que el sistema inmunológico funcione correctamente. El triptófano ayuda en el control de peso mediante la reducción de apetito, aumenta la liberación de hormonas de crecimiento y ayuda a controlar la hiperactividad en los niños.

- Valina ⁽²⁶⁾

La Valina es necesaria para el metabolismo muscular y la coordinación, la reparación de tejidos, y para el mantenimiento del equilibrio adecuado de nitrógeno en el cuerpo, que se utiliza como fuente de energía por el tejido muscular. Este aminoácido es útil en el tratamiento de enfermedades del hígado y la vesícula biliar, promueve el vigor mental y las emociones tranquilas.

- Alanina ⁽²⁶⁾

Desempeña un papel importante en la transferencia de nitrógeno de los tejidos periféricos hacia el hígado, ayuda en el metabolismo de la glucosa, un carbohidrato simple que el cuerpo utiliza como energía, protege contra la acumulación de sustancias tóxicas que se liberan en las células musculares, cuando la proteína muscular descompone rápidamente para satisfacer las necesidades de energía, como lo que sucede con el ejercicio aeróbico, fortalece el sistema inmunológico mediante la producción de anticuerpos.

3.5. Las semillas de Chía ⁽⁵⁷⁾

Son semillas comestibles que provienen de la planta de la Salvia. Para la Agencia de Alimentos y Medicamentos estadounidenses (FDA) clasifica la Chía como un alimento seguro para el consumo humano. La Chía es antialérgica, lo que significa que es muy raro que alguien tenga alergia a esta semilla. Además, tampoco altera los niveles hormonales de los humanos. Los altos niveles de ácido graso omega-3 ayudan al cuerpo a perder peso y no recuperarlo, así como a protegerse contra muchas afecciones y enfermedades cardíacas, el cáncer, el síndrome del colon irritable y otras enfermedades autoinmunes como el lupus o la artritis reumatoide. Los ácidos grasos omega-3 son moléculas que el cuerpo no produce por sí mismo pero que son esenciales para que gran número de los sistemas corporales funcionen de forma eficiente.

Hay tres tipos de ácidos grasos omega-3: el alfa-linolénico (AAL), el eicosapentanoico (AEP) y el docosahexanoico (ADH). El alfa-linolénico es el único que se encuentra en la Chía.

La naturaleza del ecosistema ejerce efectos significativos en la composición de los nutrientes de la semilla *Salvia hispánica* L. (Chía). Los factores ambientales que habitualmente pueden influir en la composición se encuentran la temperatura, la luz, la composición del suelo y el tipo/variedad, la altitud.

Se puede optar por la variedad negra la semilla más común (que tiene un nivel amplio de antioxidantes ligeramente más alto) o por la variedad blanca que es algo más difícil de encontrar.

3.5.1. Las semillas de Chía un superalimento ⁽⁵⁷⁾

3.5.1.1. Formas de consumo de la semilla de Chía.

La semilla de *Salvia hispánica* L. comúnmente es llamada semilla de Chía, pero en el área centroamericana y en nuestro país se reconoce como semillas de Chan. La forma más común de aprovechar los beneficios de la semilla es tomarla en bebidas, pero internacionalmente existen otras formas como incorporarla en batidos, espolvoreada en ensaladas u otros platos, incorporarla en yogures, cereales o sopas. Se puede ingerir la semilla entera, también machacada o molida.

3.5.2. Los beneficios de consumir la semilla de Chía ⁽⁵⁷⁾

- Contienen antioxidantes, proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerales y fibra.
- Calma el sistema digestivo y proporciona la sensación de saciedad que contribuye a la pérdida de peso.
- Ayuda en caso afecciones y enfermedades cardiacas, cáncer, síndrome de intestino irritable y otras enfermedades autoinmunes como lupus o artritis

reumatoidea.

- Ayuda a mejorar la salud del sistema nervioso e inmunológico, el ácido graso Omega-3, ayuda a regular las sustancias que causa dolor, hinchazón o irritación.
- Aumenta la resistencia física lubricando las articulaciones, mejorando el desarrollo muscular y en la regeneración de tejidos.
- Equilibra niveles de azúcar en sangre.
- Favorece en el cuidado del cabello, uñas y piel por el alto contenido de omega-3 y antioxidantes.
- Reduce los niveles de colesterol.

3.5.3. Contraindicaciones

En cuanto a los efectos secundarios de las semillas de Chía, el Parlamento Europeo y el Consejo de Europa quienes aprobaron las semillas de Chía como un nuevo alimento en el año 2009. Hasta la fecha, ningún estudio ha revelado efectos adversos tóxicos, alérgicos o anti nutricionales después de ingerir semillas de Chía enteras o molidas. ⁽¹³⁾ La ley de normas y seguridad alimentaria (2006) y sus reglamentos (2011) no proporcionan ninguna información sobre la prohibición de las semillas de Chía. ⁽¹⁴⁾ Por lo tanto, las semillas de Chía pueden considerarse segura para el consumo humano y tienen un futuro prometedor como alimento funcional. Sin embargo, se deben realizar más ensayos clínicos en animales y humanos para determinar los aspectos de seguridad de las semillas de Chía. ⁽¹⁵⁾

3.6. Calidad de la semilla de Chía. ⁽³⁸⁾

Las semillas son la base principal para el sustento humano. Son las depositarias del potencial genético de las especies y sus variedades resultantes de la mejora

continua y la selección a través del tiempo. Por lo tanto, la seguridad alimentaria depende de la seguridad y calidad de las semillas.

A menudo tiende a confundirse la inocuidad de alimentos con la calidad, pero la FAO detalla que la calidad de los alimentos abarca una compleja gama de atributos que influyen en el valor de un producto o aceptabilidad para el consumidor, engloba, por lo tanto, las características del alimento (inocuidad, nutricional) y la calidad psicosocial o subjetiva (satisfacción). Es decir, que la inocuidad es un aspecto de la calidad.

Por su parte, la inocuidad de los alimentos, la OMS lo define como todas las medidas encaminadas a garantizar que los alimentos no causarán daño al consumidor. Es decir que son todo el conjunto de condiciones necesarias durante la producción, elaboración, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos asegurar que, una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud del consumidor. También existen diferencias individuales en relación a la inocuidad de los alimentos, tales como las intolerancias o las alergias alimentarias. ⁽³⁹⁾

3.7. Fuentes de contaminación de los alimentos. ⁽⁸⁾

3.7.1. Principales fuentes de contaminación de los alimentos.

- El medio ambiente: agua (contaminada o no potable), polvo, tierra, aire, entre otras fuentes, a través de todos ellos se transmiten microorganismos que pueden contaminar el alimento.

- Plagas: seres vivos citados anteriormente como insectos, roedores, aves,

parásitos.

- Utensilios y locales: si no tienen la higiene adecuada serán foco de infección.
- Basuras: si hay basuras cerca de los alimentos podrán contaminarlos.
- Otros alimentos: esto es muy importante, ya que hablamos de contaminación cruzada, es decir, el paso de contaminantes de unos alimentos a otros. Se puede dar mezclando alimentos crudos y cocinados (en los cocinados hemos eliminado gran parte de bacterias, pero en los crudos no, y pueden pasar de unos a otros, haciendo los cocinados peligrosos para la salud). También puede darse contaminación cruzada al utilizar los mismos utensilios (tabla de corte, cuchillo) para tratar alimentos crudos y después cocinados, sin previa limpieza.
- Manipulador de alimentos: muchas veces por falta de higiene en las personas que rodean a los alimentos se hace que éstos se contaminen. También puede ocurrir que los manipuladores están enfermos y lo transmitan a los alimentos, haciendo que la salud de otros se vea afectada. Otra posible contaminación por parte de los manipuladores es hablar, toser, sonarse la nariz o estornudar cerca o delante de los alimentos, haciendo que las bacterias pasen a éstos. Es por todo ello, que es importante se mantengan buenas prácticas higiénicas.

3.8. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

La organización Mundial de la Salud (OMS), ha definido a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) como “el conjunto de síntomas originados por la ingestión de aguas y/o alimento que contenga agentes biológicos (p. ej.,

bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas”. La mayoría de las enfermedades por alimentos son de origen microbiano. ⁽⁴⁴⁾

En otras palabras se denomina ETA a las enfermedades que se originan por la ingestión de alimentos infectados por agentes contaminantes en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor. Sean sólidos, naturales, preparados o bebidas como el agua, los alimentos pueden originar dolencias provocadas por microorganismos indicadores o potencialmente patógenos los que generalmente se cuantifican para determinar la calidad sanitaria de los alimentos entre ellos se encuentran bacterias mesófilos aerobios, mohos, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, virus, hongos, parásitos o componentes químicos que se encuentran en su composición. ⁽⁴²⁾

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que, dependiendo del país, entre el 15% y el 79% de los casos de diarrea se debe a alimentos contaminados. En los países de América Latina y el Caribe, el porcentaje es de alrededor de 70 por ciento. Así mismo estiman que el 15.3% de la mortalidad mundial se debe a enfermedades infecciosas y parasitarias y que de estas, las enfermedades diarreicas son responsables del 4,3% de las muertes. ⁽⁴³⁾

Según los investigadores de la OMS, las ETA constituyen una patología con una proporción de personas en condiciones de contraer la enfermedad que alcanza a todos los estratos poblacionales, es decir que todos somos susceptibles a las enfermedades causadas por alimentos contaminados. ⁽⁴⁰⁾

Para que ocurra una ETA, el patógeno o su(s) toxina(s) debe(n) estar presente(s) en el alimento. Sin embargo, la sola presencia del patógeno no significa que la enfermedad ocurrirá. En la mayoría de los casos de ETA: ⁽⁴⁰⁾

- El patógeno debe estar presente en cantidades suficientes como para causar una infección o para producir toxinas.
- El alimento debe ser capaz de sustentar el crecimiento de los patógenos, o sea, debe presentar características intrínsecas que favorezcan el desarrollo del agente.
- El alimento debe permanecer en la zona de peligro de temperatura durante tiempo suficiente como para que el organismo patógeno se multiplique y/o produzca toxina. Otras condiciones extrínsecas deben prevalecer para que esta multiplicación y/o producción de toxinas sea favorecida.
- Debe ingerirse una cantidad (porción) suficiente del alimento conteniendo el agente, para que la barrera de susceptibilidad del individuo sea sobrepasada.

3.8.1. Clasificación de las enfermedades de transmisión alimentaria. ⁽⁴⁰⁾

ETA puede clasificarse en infecciones, intoxicaciones o infecciones mediadas por toxinas.

- Las infección transmitida por alimentos es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos conteniendo microorganismos patógenos vivos, como *Salmonella*, *Shigella*, el virus de la hepatitis A, *Trichinella spirallis* y otros.

- La intoxicación causada por alimentos ocurre cuando las toxinas producidas por bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido o elementos químicos en cantidades que afecten la salud.
- Las toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar la enfermedad incluso después de la eliminación de los microorganismos.

La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquiera de las etapas del proceso de fabricación o de distribución. Sin embargo, una buena parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas por alimentos que en el hogar, establecimientos que sirven comida o en los mercados han sido preparados, manipulados o almacenados de forma incorrecta. ⁽³⁶⁾

Cuando los agentes patógenos sobreviven y se multiplican pueden causar enfermedades en los consumidores y en ocasiones volverse letales. Un microorganismo patógeno es aquel que, independientemente de la cantidad de colonias presentes en el alimento, pueden causar enfermedad.

La contaminación es difícil de detectar, ya que generalmente no se altera el sabor, el color o el aspecto de la comida.

Dentro de las causas de cómo se produjo una ETA, pueden encontrarse los siguientes factores: ⁽⁴¹⁾

- Enfriamiento inadecuado.
- Preparación con demasiada anticipación al consumo.
- Almacenamiento inadecuado.
- Conservación a temperatura ambiente.
- Cocción insuficiente. (Temperaturas inadecuadas de cocción)

- Conservación caliente a temperatura inadecuada.
- Higiene personal insuficiente.
- Contaminación cruzada.
- Ingredientes de origen dudoso.
- Contacto de alimentos con animales y/o sus excrementos.

3.9. Enfermedades gastrointestinales. ⁽²²⁾

El tracto gastrointestinal del hombre alberga una gran cantidad de bacterias, la mayoría de las cuales son inofensivas. Sin embargo, existen algunas bacterias capaces de instalarse en el tracto intestinal y causar enfermedades como la tifoidea, el cólera, la *shigelosis* o disentería bacteriana y la gastroenteritis.

Todas tienen en común que el agente etiológico es excretado por las heces y debe entrar por la boca del próximo huésped.

Estas enfermedades se conocen como enfermedades gastrointestinales o entéricas, y la mejor medida para prevenir la diseminación de estas enfermedades es la higiene.

Cuadro N°.6 Ejemplo de enfermedades bacterianas transmitidas por contaminación fecal. ⁽²²⁾

Enfermedad	Agente etiológico
Tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
Cólera	<i>Vibrio cholerae</i>
Disentería bacteriana	<i>Shigella dysenteriae</i>
Salmonelosis	<i>Salmonella spp.</i>

Las enfermedades gastrointestinales adquieren mayor relevancia ya que son una de las principales causas más importantes de morbilidad en niños y ancianos, que es transmitida, ya sea por vía fecal-oral, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. El origen de este padecimiento puede ser:

- Químico

- Biológico

Las manifestaciones clínicas más destacadas de la gastroenteritis son: fiebre, vómito, dolor abdominal, y diarrea moderada o intensa.

3.10. Infecciones alimentarias. ⁽³⁷⁾

Son enfermedades causadas por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos patógenos vivos. En general, son determinadas por la invasión, multiplicación y alteraciones de los tejidos del huésped producidas por los gérmenes transportados por los alimentos

3.10.1. Intoxicaciones alimentarias. ⁽³⁷⁾

Son las enfermedades generadas al ingerir un alimento en el que se encuentra la toxina o veneno formado en tejidos de plantas o animales o como metabolito de los microorganismos. También se incluyen las intoxicaciones causadas por sustancias químicas incorporadas al alimento en forma accidental o intencionalmente, como plaguicidas, metales pesados u otras.

3.11. Bacterias. ⁽⁴⁶⁾

Las bacterias son seres vivos microscópicos que nacen, crecen, se reproducen y mueren. Están presentes ampliamente en el aire, polvo, tierra, suelo, agua, piel, plumas, pelo, boca, nariz, garganta, tracto intestinal, ambiente, equipo de cocina, etc.

3.11.1. Toxinas bacterianas. ⁽⁴⁶⁾

Las bacterias pueden elaborar sustancias tóxicas durante su crecimiento, denominadas toxinas de ellas se distinguen dos clases: exotoxinas y endotoxinas.

Las exotoxinas son proteínas solubles, más o menos termolábiles, fuertemente antigénicas y de una gran toxicidad que se liberan en el medio donde crecen y se multiplican.

Las endotoxinas son partes constituyentes de los cuerpos bacterianos. Forman moléculas mucho más complejas que las exotoxinas y están compuestas por poliósidos, lípidos y proteínas. Son termoestables y solo se encuentran en bacterias Gram negativas.

3.11.2. Crecimiento y multiplicación de las bacterias. ⁽⁴⁶⁾

Las bacterias, como todo ser vivo, necesitan nutrirse para poder crecer y multiplicarse. Se nutren a expensas de un medio que, con frecuencia, es un alimento. Estos microorganismos son capaces de aprovechar los restos que pueden haber quedado sobre las superficies o utensilios que tuvieron contacto directo con el alimento.

Todo organismo debe hallar en el medio donde se encuentra los elementos para su subsistencia, es decir de los denominados nutrientes. Así mismo necesita de ciertas condiciones para poder crecer y multiplicarse. En cuanto a las bacterias patógenas, estas condiciones son determinantes. Dentro de estas condiciones se tienen:

- Temperatura
- Nutrientes
- Humedad
- Tiempo

Las bacterias patógenas que ocasionan enfermedades de origen alimentario, prefieren vivir a la temperatura del cuerpo humano (37 °C), en la que crece y se multiplica de forma muy activa. Los límites mínimos y máximos de temperatura en los que pueden desarrollarse habitualmente las bacterias están entre 15° C y 45° C, excepto en el caso de *Clostridium perfringens*, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 47 °C. Si a partir de 37 °C se va incrementando la temperatura hacia los 50 °C, la tasa de crecimiento desciende y, al superar los 50 °C, son muy pocas las bacterias capaces de crecer.

Las bacterias no esporuladas que originan enfermedades de origen alimentario, suelen morir al alcanzar los 60 °C cuando se aplican durante diez a treinta minutos, según el tipo de bacteria y el alimento involucrado.

La temperatura de ebullición destruye a la mayoría de las bacterias vivas en uno o dos minutos; algunos esporos requieren una ebullición de más de cinco horas para ser destruidos. Necesitan menos tiempo cuando se aplica vapor a presión.

Para destruir las toxinas elaboradas por *Staphylococcus aureus* sobre un alimento, se requieren treinta minutos, y aún más, a temperatura de ebullición; por el contrario, las toxinas botulínicas son mucho más sensibles a la acción del calor: una temperatura de 80 °C aplicada al alimento tóxico durante diez minutos, inactiva cualquier tipo de toxina botulínica que contenga.

3.11.3. *Salmonella spp.* ⁽¹⁰⁾

3.11.3.1. Características del género.

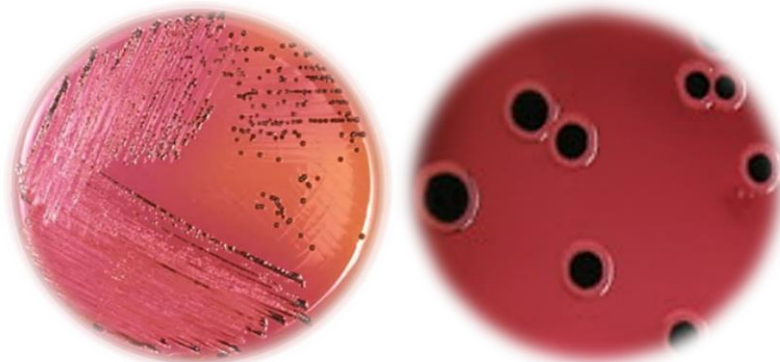


Figura N°4. Morfología macroscópica de *Salmonella spp.* en Agar XLD colonias rosadas con o sin centro negro. ⁽⁵¹⁾

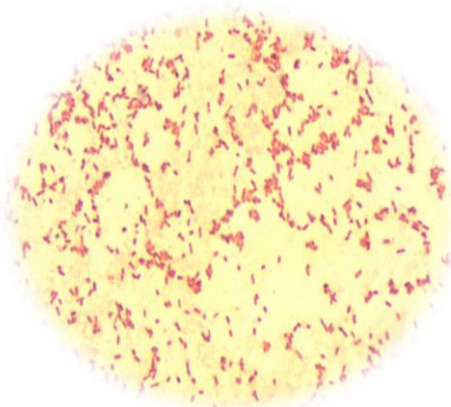


Figura N°5. Morfología microscópica de *Salmonella spp.* ⁽¹¹⁾

Las *Salmonellas spp* son bacilos gram negativos esporógenas que fermentan la glucosa, generalmente con producción de gas, no fermentan ni la lactosa ni la sacarosa.

Cuando el medio de cultivo es apropiado, crecen dentro de intervalos de temperaturas, de pH, y de actividad de agua (*aw*) más amplios que cuando se trata de un medio de cultivo con escasez de nutrientes.

Su temperatura máxima de crecimiento es de unos 45.6 °C. Crecen bien a temperatura ambiente, si bien su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente 37 °C.

El intervalo de pH de crecimiento se halla comprendido entre los valores 4.1 y 9.0, multiplicándose, por lo tanto, en alimentos de baja acidez.

Su actividad de agua (*aw*) mínima de crecimiento varía para cada alimento aunque es de aproximadamente 0.93 a 0.95. Además, las especies y cepas de *Salmonella spp* se diferencian por su termorresistencia y por la influencia que los factores ambientales ejercen en el crecimiento.

El tratamiento térmico que se aconsejan para destruir las *Salmonellas spp* en los alimentos perecederos es el calentamiento de los alimentos a una temperatura de 66 °C y mantenimiento de esta temperatura en todas las partes del alimento por lo menos durante 12 minutos (o a 60 °C durante 78 a 83 minutos).

3.11.3.2. Enfermedad Producida ⁽²¹⁾

La salmonelosis puede ser consecuencia de la ingestión de células viables pertenecientes a una especie del género *Salmonella spp.* Se trata de la infección bacteriana de origen alimentario que se presenta con mayor frecuencia.

En las infecciones por *Salmonella spp.*; por lo general, la bacteria infectante se ha multiplicado en el alimento hasta alcanzar cifras elevadas, aumentando de esta forma la posibilidad de que se produzca la infección, y con frecuencia originando brotes de enfermedad en familias o en otros grupos de mayor número de personas.

La probabilidad de infección por ingestión de un alimento que contiene *Salmonellas spp* depende de la resistencia del consumidor, de la infecciosidad de la cepa de *Salmonella spp* en cuestión, y del número de microorganismos ingeridos.

Su periodo de incubación es largo: suele ser de 12 a 36 horas. En algunas infecciones por *Salmonella spp* el período de incubación puede ser más corto (del orden de unas 5 horas) o más largo (de hasta 72 horas).

El género *Salmonella* se encuentra distribuido por todo el mundo en distintas especies habitando en el tracto intestinal del hombre y de una amplia variedad de animales domésticos, salvajes, aves, reptiles, anfibios y artrópodos.

Además, se puede aislar en aguas residuales, aguas frescas contaminadas con aguas residuales o heces, tierras irrigadas con aguas contaminadas o fertilizadas con abonos orgánicos de origen animal y otras fuentes similares. ⁽⁴⁶⁾

3.11.3.3. Alimentos implicados. ⁽¹³⁾

En la producción de los brotes de infecciones por *Salmonella spp* se hallan implicados un gran número de alimentos. La leche y los productos lácteos, incluso la leche fresca, las leches fermentadas, los helados, y el queso, han producido infecciones salmonelosis entre otros alimentos que no son usualmente reportados.

3.11.3.4. Sintomatología y Diagnóstico ⁽²¹⁾

Los principales síntomas de toda infección gastrointestinal por *Salmonella spp* son: náuseas, vómitos, dolor abdominal, y diarrea que suele aparecer súbitamente. La diarrea a veces va precedida de cefalalgia y escalofríos. Otros síntomas de la enfermedad son: heces líquidas, verdosas y malolientes, abatimiento, debilidad muscular, lasitud, generalmente fiebre moderada, desasosiego, contracciones nerviosas, y somnolencia.

La mortalidad es baja, siendo inferior al 1 por ciento. La gravedad y duración de la enfermedad no sólo dependen de la cantidad de alimento ingerido, y por consiguiente del número de *Salmonellas spp* ingeridas, sino también de la sensibilidad individual.

La dosis infectante capaz de desencadenar la salmonelosis humana suele ser de 1×10^5 bacterias, dependiendo de factores como:

- Tipo de alimento
- Cepa involucrada
- Susceptibilidad del individuo
- Virulencia de la cepa

Entre las especies altamente virulentas se encuentran algunas cepas de *Salmonella dublin* y, sobre todo, *Salmonella enteritidis*.⁽⁴⁶⁾

La intensidad de los síntomas puede oscilar desde un ligero malestar y la existencia de diarrea hasta la presentación de la muerte en un plazo de 2 a 6 días. Los síntomas suelen persistir durante 2 a 3 días, transcurridos los cuales, la enfermedad cura sin complicaciones, aunque a veces se puede prolongar durante semanas e incluso meses.

Entre un 0.2 y un 5 por ciento de los enfermos pueden ser portadores de *Salmonellas spp.*

El diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad resulta difícil a no ser que se pueda aislar *Salmonella spp* tanto en el alimento sospechoso como en las heces de los enfermos. No obstante, muchas veces ya no se dispone de los alimentos implicados, y los microorganismos desaparecen del tracto intestinal.

3.11.4. Grupo Coliforme Total⁽¹⁶⁾

El grupo coliforme está formado por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gram negativos, no formadoras de esporas y con forma de bastón que fermentan la lactosa, produciendo gas y ácido en 48 horas a 35 °C.

Pertencen a este grupo los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*.

3.11.5. Grupo Coliforme Fecal⁽¹⁶⁾

Son bacterias que forman parte del grupo coliforme total y son definidas como bacilos gramnegativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a $44.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, dentro de las 48 - 72 horas.

Este grupo también es denominado termo tolerante y la especie más predominante es la *Escherichia coli*, que constituye una gran proporción de la población intestinal humana.

3.11.6. *Escherichia coli* enteropatógeno. ⁽¹⁰⁾

3.11.6.1. Características del género

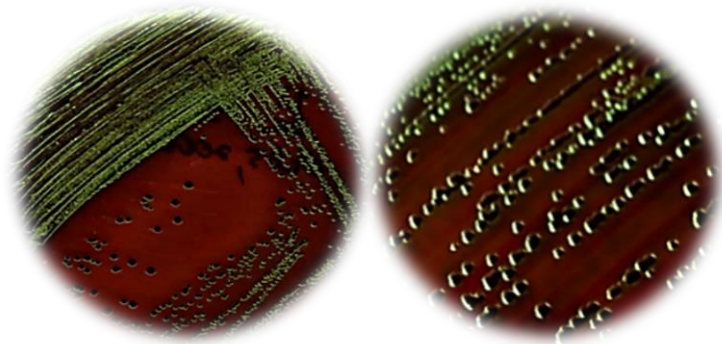


Figura N°6. Morfología macroscópica de *Escherichia coli*. en Agar EMB colonias exhiben un brillo verde metálico. ⁽¹⁾

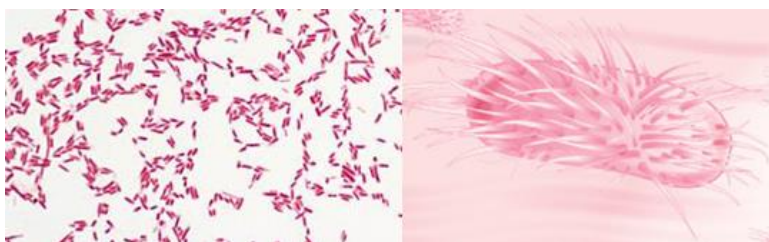


Figura N° 7. Morfología microscópica de *Escherichia coli*. ⁽⁵³⁾

La especie *Escherichia coli* es considerada generalmente como integrante de la flora normal del tracto intestinal del hombre y de los animales.

La temperatura óptima de crecimiento del microorganismo es de 37 °C, con un intervalo de crecimiento de 10 a 40 °C.

Su pH óptimo de crecimiento es de 7.0 a 7.5, con un pH mínimo de crecimiento de valor 4.0 y un pH máximo de crecimiento de valor 8.5.

Este microorganismo es relativamente termo-sensible y puede ser destruido con facilidad a temperaturas de pasteurización y también mediante la apropiada cocción de los alimentos.

3.11.6.2. Enfermedad Producida. ⁽²¹⁾

En el hombre, los síndromes de enfermedad como consecuencia de la ingestión de EEC (*Escherichia coli* enteropatógena) se han dividido en dos grupos principales:

- El primer grupo está integrado por cepas que elaboran una enterotoxina y que producen una enfermedad parecida al cólera o enfermedad enterotoxigénica en las personas. Para que se desencadenen dicha enfermedades, se precisa la ingestión de serotipos de EEC capaces de elaborar las enterotoxinas, seguida de la colonización de los microorganismos en el tramo superior del intestino delgado y de la producción de las enterotoxinas.
- El otro gran grupo está integrado por cepas invasoras que elaboran una citotoxina y originan una enfermedad invasora, colitis, o un síndrome disenteriforme; Se multiplican en el colon, e invaden o penetran en las células epiteliales de su mucosa.

Para que se presenten tanto la enfermedad enterotoxigénica como la enfermedad invasora, se necesita una elevada dosis de EEC. Por consiguiente, para que tenga lugar una abundante multiplicación, los alimentos deben estar contaminados masivamente o deben estar incorrectamente conservados o refrigerados.

3.11.6.3. Diagnóstico. ⁽²¹⁾

La base del tratamiento es de apoyo. Aunque la *Escherichia coli* es sensible a los antibióticos de uso común.

Los antibióticos no han demostrado aliviar los síntomas, reducir el transporte por el organismo o prevenir el síndrome hemolítico urémico. Se sospecha que las fluoroquinolonas aumentan la liberación de enterotoxinas.

3.12. Hongos y Levaduras. ⁽²²⁾

La ciencia que estudia los hongos (termino derivado del latín fungus) se denomina micología (del gr. Mykes: “hongos”).

La gran diversidad de hongos existentes se identifican y se clasifica tomando como base su morfología, macro y microscópica. ⁽²²⁾

Los hongos son microorganismos pluricelulares, microscópicos que se reproducen por esporas cuyas colonias se pueden observar a simple vista. Sobreviven gracias a la descomposición de la materia orgánica muerta. En general provocan alteración en los alimentos aunque algunas especies producen micotoxinas capaces de provocar intoxicaciones alimentarias. ⁽⁶⁾

Los Mohos son Hongos multicelulares filamentosos, dotados de micelios verdadero, microscópicos, y cuyo crecimiento en los alimentos y en los medios

de cultivo, se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso y de diversos colores. Cada filamento se denomina hifa, y un conjunto de hifas forma lo que se conoce con el nombre de micelio. ⁽⁶⁾

Las Levaduras son Hongos, son organismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria que crecen generalmente en forma de agregados sueltos de células independientes que pueden ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. En algunos casos forman cadenas de células alargadas, adheridas de modo suelto (pseudomicelio). Cuando crecen en los alimentos y medios de cultivos, forman colonias de aspecto característico semejante a las de las bacterias. ⁽⁶⁾ Es decir, que los hongos pueden ser mohos o levaduras.

La importancia de la contaminación fúngica radica no solo en el potencial de deteriorar los alimentos, sino en el caso de los mohos, por su capacidad de producir sustancias tóxicas (micotoxinas) para hombres y animales. Además son capaces de producir procesos micóticos y alergias. ⁽⁵²⁾

Estos organismos son heterótrofos; para su nutrición, requieren de compuestos orgánicos y, como tales, obtienen su alimento de la materia orgánica en descomposición (organismos saprófitos); o se alimentan de otros seres vivientes (organismos parásitos). ⁽²²⁾

Los hongos crecen sobre diversos objetos como alimentos, ropa, libros, zapatos. Estos se pueden observar en forma de sombrillita. La característica fundamental de ellos es que están constituidos por muchos filamentos microscópicos capaces de crecer longitudinalmente y de ramificarse, los cuales se organizan para dar origen a las diferentes estructuras macroscópicas que se pueden observar. ⁽²²⁾

Los hongos tienen requerimientos nutricionales similares al resto de los seres viviente, aunque presentan aspectos nutricionales que los caracterizan. Para su nutrición, los hongos poseen la capacidad de utilizar una gran variedad de materiales orgánicos, tanto sencillos como complejos, como almidón y celulosa, pueden ser utilizados por muchos de ellos. Todos los hongos tienen además, la capacidad de utilizar nitrógeno orgánico, aunque algunas especies pueden usar nitrógeno inorgánico tales como las sales de amonio.

En cuanto al requerimiento de agua, la mayoría necesita menos humedad que las bacterias. Por esta razón, muchos pueden crecer en medios tan secos como libros, ropa, zapatos y paredes, donde la mayoría de las bacterias no podrían proliferar. Por esta razón muchos alimentos de baja humedad, como cereales, granos y harinas sufren deterioro principalmente por los hongos. ⁽²²⁾

3.12.1. Condiciones ambientales requeridas para el crecimiento. ⁽²²⁾

Oxígeno, la mayoría son aerobios estrictos y su crecimiento se ve favorecido cuando hay abundante suministro de oxígeno.

pH: tiene un rango amplio de tolerancia, pueden crecer en concentraciones relativas altas de ácido, así como en medios bastante alcalinos. El rango para una gran mayoría oscila de 2.0 a 9.0, pero casi todos crecen mejor en un pH ácido. El pH óptimo se encuentra alrededor de 5.6.

Temperatura: La mayoría pueden ser considerados mesófilos, con temperatura óptima de crecimiento entre 22° y 30 °C. Algunos hongos patógenos para el hombre y animales tienen una temperatura óptima de un poco más elevado, entre 30° y 37 °C. Otros pueden crecer a temperaturas de refrigeración y aún a 0 °C o menos, como los que causan el deterioro de los alimentos congelados. Además,

existe un pequeño grupo de hongos termófilo, es decir, que tienen una temperatura optima elevada. Algunos pueden crecer a temperaturas tan altas como 62 °C.

Concentración de solutos: en su mayoría pueden crecer en medios cuya concentración de azúcar (o sal) sería inhibitoria para la mayoría de las bacterias. Esta tolerancia a altas concentraciones de soluto hace que los hongos sean importantes en el deterioro de productos alimenticios como jaleas, algunas confituras y carnes curadas.

3.12.2. Medios de cultivo. (22)

Pueden crecer en la mayoría de los medios diseñados para el crecimiento de bacterias, y en ocasiones pueden producir contaminaciones que interfieren con los estudios que se realizan de éstas. También las bacterias pueden contaminar los cultivos de los hongos, sobre todo si se parte de muestras donde existe una mezcla de hongos y bacterias, ya que generalmente, las bacterias forman colonias visibles mucho más rápido que los hongos. Por lo anterior, los medios de cultivos se han diseñado de tal manera que favorezcan el crecimiento de los hongos e inhiba el de las bacterias.

Por ejemplo, bajando el pH del medio a valores cercanos a 5.6 o menores, o utilizando una concentración elevada de azúcar junto con el pH, se logra inhibir la mayoría de las bacterias sin afectar a los hongos.

3.12.3. Condiciones de incubación.

Los cultivos de hongos se incuban, generalmente, a temperatura ambiente y bajo condiciones aerobias, ya que la mayoría son aerobios y mesófilos. (22)

Los hongos constituyen un grupo muy diverso de organismos dentro de los cuales contaminan con más frecuencia los alimentos son los mohos y levaduras.

Los hongos alteran los alimentos produciendo reblandecimiento, manchas y una capa esponjosa superficial visible a simple vista. Pueden desarrollarse en gran número de alimentos, unos se contaminan más que otros, como ocurre con las frutas, verduras, queso, pan y la parte superficial de las mermeladas, que son los que más frecuentemente sufren contaminación. En raras ocasiones pueden segregar toxinas que difunden al interior del alimento. No obstante, es aconsejable desechar cualquier alimento con aspecto mohoso. ⁽³³⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

IV. DISEÑO METODOLOGICO

4.1. Tipo de estudio

Prospectivo: Los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo servirán de antecedentes microbiológicos para futuras investigaciones relacionadas a la semilla *Salvia hispánica* L. (Chía), y la calidad que debe cumplir como alimento que se comercializan en los Mercados del Distrito 1 y los Supermercados del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador.

Experimental: Se realizaron análisis microbiológicos a las muestras que se recolectaron de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) en los diferentes puestos de distribución comercial de los mercados: Central y San Miguelito, pertenecientes al Distrito 1; así como de los Supermercados que se ubican dentro del Distrito 2. Posteriormente, se llevaron a cabo las siguientes determinaciones que corresponde a microorganismos patógenos tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, Hongos y Levaduras. Estos análisis se determinaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

4.2. Investigación bibliográfica

Se consultaron revistas científicas y las siguientes bibliotecas:

- “Dr. Benjamín Orozco” Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

- Central de la Universidad de El Salvador (UES).
- Central “Hugo Lindo” de la Universidad José Matías Delgado
- Internet

4.3. Investigación de campo

Se realizó una visita de campo donde se identificó cada uno de los puestos en que se comercializa semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) del Distrito 1 (Ver Anexo N° 1), el cual comprende cinco mercados: Central, San Miguelito, Belloso, Ex Cuartel y Sagrado Corazón de Jesús, de los cuales se muestrearon dos a criterio de los investigadores Mercado Central y Mercado San Miguelito (Ver Anexo N°2 y Anexo N° 3), ya que por el acceso se facilita, no así en el resto de los mercados debido a la delincuencia que prevalece en esos sectores.

En cada uno de los mercados se identificaron 12 puntos de venta del Mercado Central y 6 del Mercado San Miguelito, donde se comercializan las muestras. Mediante el muestreo estratificado se determinó que las muestras a tomar fueran 8 del Mercado Central y 4 del Mercado San Miguelito haciendo un total de 12 muestras.

En el Distrito 2 (Ver Anexo N° 4) se identificaron 8 supermercados, 2 Despensas de Don Juan (se codificó con DJ) y 6 Súper Selectos (se codificó SS), por los resultados obtenidos en el método estratificado y el inconveniente de límite de marcas a criterio de los investigadores tomamos todo el universo, teniendo en total 8 muestras.

Para confirmar contaminación de los análisis se tomó 6 gramos de cada una de las muestras de los mercados y supermercados, mezclándolas y obteniéndose 8 muestras 2 por cada mercado y 2 por cada supermercado.

Al efectuar el recorrido en cada uno de los pasillos de los Mercados del Distrito 1 y Supermercados del Distrito 2 con el propósito de conocer las condiciones ambientales y las buenas prácticas higiénicas en las que se comercializa en los puntos de venta se hizo uso de una lista de chequeo que se elaboró para cada uno de ellos. (Ver Anexo N° 5 y Anexo N° 6)

Los análisis de cada una de las muestras de los Mercados y Supermercados se realizaron dos veces cada quince días haciendo un total de 48 muestras, se identificó con un código para cada muestra del Mercado Central (Ver Anexo N° 19), Mercado San Miguelito (Ver Anexo N° 20), Súper Selectos y Despensa de Don Juan (Ver Anexo N° 21), donde se detalló el lugar con una etiqueta (Ver Anexo N° 18) y posteriormente se colocó en una bolsa de ziploc con su respectiva identificación y fueron transportadas en un contenedor previamente sanitizado al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), para sus respectivos análisis los cuales se hicieron basados en una calendarización de recolección de cada 15 días.

Cuadro N° 7. Mercados que corresponden al Distrito 1 de la zona Metropolitana de San Salvador. ⁽⁵⁾

Listado de mercados del sistema municipal Distrito 1	Mercado Central
	Ex cuartel
	Belloso
	Sagrado Corazón de Jesús
	San Miguelito
Total	5

Cuadro Nº 8. Supermercados que corresponden al Distrito 2 de la zona Metropolitana de San Salvador. ⁽²⁴⁾ ⁽⁵⁶⁾

Supermercado	Sucursal
DJ	Los Héroes Colonia Miramonte, Avenida Los Sisimiles. SS.
	Escalón Norte Av. Napoleón Viera y Prolongación Alam. Juan Pablo II #41, SS.
SS	Metrocentro etapa 6. Local Ancla, Remodelación de la 6ta. Metrocentro SS
	Metrocentro etapa 8. * Avenida Los andes, Local N. 281, SS.
	Metrosur. * Condominio Metrosur #413 planta baja SS.
	San Luis Calle San Antonio Abad y Av. Izalco. SS
	Miralvalle Constitución. Bulevar Constitución y condominio Balam. SS
	Miralvalle Motocross Bulevar Constitución y calle motocross. SS
Total	8

4.3.1. Universo

Semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) comercializadas en los mercados del Distrito 1 y Supermercados del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador.

4.3.2. Muestra

Las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) seleccionadas de los mercados pertenecientes al Distrito 1 y Supermercados del Distrito 2 de San Salvador.

4.3.3. Toma de muestra

En cuanto a la realización del muestreo en el Distrito 1, se tomaron en cuenta 8 puestos del mercado Central y 4 puntos de venta del mercado San Miguelito; por consiguiente, en el primer muestreo, se recolectaron de cada uno de los puestos 226.8 gramos ($\frac{1}{2}$ libra) de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía). Por el contrario, en el segundo muestreo se recolectó el doble, es decir 453.6 gramos (1 libra) por cada punto de venta, correspondiente a los dos mercados mencionados. Por lo tanto, se tomaron en cuenta 24 muestras en total, considerando que estas fueron recolectadas en un intervalo de 15 días entre ellas.

En el caso del Distrito 2, debido al inconveniente de las marcas se consideró que las muestras no eran representativas, en tal sentido, se decidió que el universo serían los 8 supermercados que están dentro del distrito. Entonces, la toma de muestras se realizó en dos fases con un lapso de 15 días entre ellas; además, en cada una de las fases se tomó 8 muestras, teniendo en total 16 de estas.

Luego se etiquetaron y se transportaron al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador en el periodo de enero a junio del año 2017.

4.3.4. Determinación y selección del número de Supermercados y Mercados

El muestreo estratificado se realizó clasificando los 18 establecimientos de los mercados y los 8 supermercados seleccionados de San salvador.

Para la recolección de muestras de los mercados se llevó a cabo muestreo aleatorio estratificado, con el objeto de que todas las muestras tengan la misma posibilidad de ser seleccionadas, y tener muestras representativas para el

análisis, se considera un 50 % de probabilidad de muestras contaminadas, con el valor de confianza del 97.5 % (valor estándar del 1.96) y un intervalo de error del 0.5 (valor estándar).

Cuadro N° 9. Numero de mercados por estrato

N° de estrato	Nombre del Mercado	Número de Mercado
1	Mercado Central	12
2	Mercado san Miguelito	6
Total		18

Fórmula para determinar el tamaño muestral por el método del muestreo estratificado. ⁽⁹⁾

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2pq}$$

Dónde:

N= universo

n= muestra a tomar

Z= Intervalo de confianza al 97.5 %

p= población que posee la característica de interés.

q= población que no posee la característica de interés (50) %.

d= intervalo de error

En este caso se asumió varianza máxima por que los valores de p y q serán 0.5.

En el caso de los Mercados tenemos:

$$n = \frac{(18) (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(0.5)^2 (18-1) + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = 3.32 \approx 3 \text{ Tamaño de muestra}$$

Lo cual significa que 3 es el tamaño de la muestra

Nota: $Z = 1.96$; para un intervalo de confianza de 97.5% se buscó en la tabla de distribución normal el valor de 0.975, en la columna el valor es de 1.9 y en la fila de 0.06 por lo que la suma de estos dos valores fue equivalente a $Z = 1.96$.

Por lo que el número (Ver Anexo N° 22)

El porcentaje representativo del estrato se representa de la siguiente manera:

$$\% = \left(\frac{Ni}{N} \right) \times 100$$

Dónde:

Ni = Número de mercados por estrato

N = Número de mercados en el universo

Así tenemos que para el estrato 1:

$$\% = \left(\frac{12}{18} \right) \times 100$$

$$\% = 66.66 \%$$

Por lo tanto el Mercado Central representa un 66.66 % del muestreo.

Tabla N° 1. Porcentaje de cada uno de los mercados (estratos) del Distrito 1 de San Salvador.

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
Mercado Central	$(12/18) \times 100$	66.67
Mercado San Miguelito	$(6/18) \times 100$	33.33
Total		100

La unidad que se muestreará en cada estrato se obtiene de la siguiente formula:

$$ni = n \times \left(\frac{Ni}{N} \right)$$

Donde

ni: Número de mercados a muestrear por cada estrato

n: Tamaño de muestra

Ni: Número de mercados por estrato.

N: Número de mercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$ni = 3 \times \left(\frac{12}{18} \right)$$

$$ni = 2$$

Es decir que se muestrearán 2 puestos del Mercado Central.

Tabla N° 2. Numero de Mercados a muestrear por estrato

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1- Mercado Central	3 x (12/18)	2
2- Mercado San Miguelito	3 x (6/18)	1
Total		3

La selección se realizó aleatoriamente, obteniéndose el listado de la cantidad de puestos que se muestrearán de los diferentes mercados.

Determinación de la cantidad de muestra de semillas de Chía

Para conocer el número de muestra de semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) a tomar en cada mercado se utiliza la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Dónde:

n= Muestra

Z= Intervalo de confianza del 95 %

p= Población que posee la característica de interés (asumiendo varianza máxima)

q= Población que no posee la característica de interés

d= Error muestral máximo permisible

Así tenemos:

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(0.5)^2}$$

$$n = 3.84 \approx 4 \text{ muestras de } \textit{Salvia hispánica} \text{ L. (Chía)}$$

Por lo tanto tenemos para el estrato 1 (Mercado Central)

$n_T = n \times \text{número de mercados por estrato}$

$$n_T = 4 \times 2$$

$n_T = 8$ muestras de semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) del Mercado Central.

Así tenemos para el estrato 2 (Mercado San Miguelito)

$n_T = n \times \text{número de mercados por estrato}$

$$n_T = 4 \times 1$$

$n_T = 4$ muestras de semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) del Mercado San Miguelito

Tabla N° 3. Cantidad de muestras por mercados del Distrito 1

Estrato	Mercados	Muestra de <i>Salvia hispánica</i> L. (Chía)
1	Mercado Central	$4 \times 2 = 8$
2	Mercado San Miguelito	$4 \times 1 = 4$
Total		12 muestras

Determinación del número de supermercados

El muestreo estratificado se realizó clasificando los 8 supermercados (universo) del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador, por sus cadenas comerciales como estratos.

Cuadro N° 10. Supermercados a muestrear.

N° de estrato	Nombre de la Cadena comercial	Número de Supermercados
1	Súper Selectos (SS)	6
2	Despensa de Don Juan (DJ)	2
Total		8

Para elegir los supermercados que fueron muestreados por estrato, se utilizó un muestreo aleatorio simple.

Fórmula para determinar el tamaño muestral por el método del muestreo estratificado.

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2pq}$$

Dónde:

N= Universo

n= Muestra a tomar

Z= Intervalo de confianza al 97.5 %

p= Población que posee la característica de interés.

q= Población que no posee la característica de interés (50) %.

d= Intervalo de error

En este caso se asumirá varianza máxima por que los valores de p y q serán 0.5.

$$n = \frac{(8) (1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(0.5)^2 (8-1) + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = 2.83 \approx 3 \text{ Tamaño de muestra}$$

Lo cual significa que 3 es el tamaño de la muestra

El porcentaje representativo del estrato se representa de la siguiente manera:

$$\% = \left(\frac{Ni}{N} \right) \times 100$$

Dónde:

Ni= Número de mercados por estrato

N= Número de mercados en el universo

Así tenemos que para el estrato 1:

$$\% = \left(\frac{6}{8} \right) \times 100$$

$$\% = 75 \%$$

Por lo tanto el 75 % representa la cadena comercial de Súper Selectos

Tabla N° 4. Porcentaje de las cadenas comerciales de Supermercados

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1- Súper selectos	$(6/8) \times 100$	75
2- Despensa de Don Juan	$(2/8) \times 100$	25
Total		100

La unidad que se muestreo en cada estrato se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$ni = n \times \left(\frac{Ni}{N} \right)$$

Dónde:

n_i = Número de Supermercados que se muestrearon por cada estrato.

n = Tamaño de muestra

N_i = Número de Supermercados por estrato

N = Número de Supermercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$n_i = 3 \times \left(\frac{6}{8} \right)$$

$$n_i = 2.25 \approx 2$$

Es decir, se muestrearon 2 Supermercados de la cadena comercial en Súper Selectos

Tabla N° 5. Número de Supermercados que se muestrearon por estrato

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1	$3 \times (6 / 8)$	2
2	$3 \times (2/8)$	1
Total		3

La selección se realizó aleatoriamente, obteniéndose el listado de la cantidad de sucursales que se muestrearon de los diferentes supermercados lo cual se presenta en la siguiente tabla:

Cuadro N° 11. Listado de supermercados a muestrear

Numero	Cadena comercial	Sucursal
1	Súper Selectos	Miralvalle Constitución
2	Súper Selectos	Centro Comercial San Luis
3	Dispensa de Don Juan	Escalón Norte

Determinación de la cantidad de muestra de semillas de Chía.

Para conocer el número de muestras de *Salvia hispánica* L. (Chía) que se tomaron en cada supermercado se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Dónde:

n= Muestra

Z= Intervalo de confianza del 97.5 %

p= Población que posee la características de interés (asumiendo varianza máxima)

q= Población que no posee la característica de interés

d = Error muestral máximo permisible

Así tenemos:

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.5) (0.5)}{(0.5)^2}$$

$$n = 3.84 \approx 4 \text{ muestras de } \textit{Salvia hispánica} \text{ L.}$$

Por lo tanto tenemos para el estrato 1 (Súper Selectos)

$n_T = n \times \text{número de Supermercados por estrato}$

$n_T = 4 \times 2$

$n_T = 8$ muestras de *Salvia hispánica* L. (Chía) del Súper Selectos.

Así tenemos para el estrato 2 (Despensa de Don Juan)

$n_T = n \times \text{número de Supermercados por estrato}$

$n_T = 4 \times 1$

$n_T = 4$ muestras de *Salvia hispánica* L. (Chía) de la Despensa de Don Juan

Tabla N° 6. Cantidad de muestras por Supermercados

Estrato	Supermercados	Muestra de <i>Salvia hispánica</i> L. (Chía)
1	Súper Selecto Miralvalle constitución Súper Selecto San Luis	4 x 2 = 8 (ver nota)
2	Despensa de Don Juan	4 x 1 = 4 (ver nota)
Total		12 muestras

Nota: El diseño estadístico dió como resultado que se requería de 8 marcas de semilla de *Salvia hispánica* L (Chía), pero mediante una inspección visual se detectó que se distribuyen 3 marcas en el caso del Súper Selectos. En lo que concierne a la Despensa de Don Juan se requería de 4 marcas, pero solamente distribuyen 1.

Ante los resultados obtenidos para Supermercados, a criterio de los investigadores se seleccionó todo el universo para la toma de muestra.

4.3.5. Tipo de muestreo

En la investigación se realizó una previa inspección visual para conocer los Mercados del Distrito 1 y Supermercados del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador. Después se visitó nuevamente para hacer uso de la lista de chequeo para identificar las condiciones de manipulación y almacenamiento de la semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía). Posteriormente se utilizó el muestreo aleatorio estratificado para la agrupación y determinación del número de

mercados y supermercados que fueron muestreados (Ver Anexo N° 36). Con el número de mercado y supermercados identificados se utilizó el muestreo aleatorio simple para la selección de los establecimientos y sucursales (en este caso se realizó todo el universo por falta de marcas), ya que en todos ellos se comercializa la semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía).

El muestro aleatorio simple al azar se realizó cada quince días en el total de muestra y cada muestra se identificó con su respectiva etiqueta.

4.3.6. Identificación de la muestra

Cada muestra se identificó con una etiqueta que posee la siguiente información: código de muestra, fecha de toma de muestra, lugar de muestreo, hora de toma de muestra, número de puesto, nombre del analista. (Ver Anexo N°18)

4.4. Parte experimental

4.4.1. Toma y transporte de muestra

Las muestras se seleccionaron con su correspondiente viñeta codificándolas con base a la fecha de muestreo y un número correlativo con respecto a los Mercados del Distrito 1 y los Supermercados del Distrito 2, posteriormente fueron transportadas en bolsas estériles ziploc y colocadas dentro de un contenedor previamente sanitizada al Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, para realizar los correspondientes análisis.

4.4.2. Análisis microbiológicos

Se realizaron los análisis microbiológicos de *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, Hongos y Levaduras a 48 muestras de semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) de los 2 Mercados del Distrito 1 y los 8 Supermercados del Distrito 2 de Área Metropolitana.

4.4.2.1. Preparación de las diluciones de cada muestra de los mercados y supermercados. ⁽¹⁸⁾ (Ver anexo N° 7)

Procedimiento:

- Pesar 25 g de muestra de una forma aséptica en una bolsa Stomacher.
- Adicionar 225 mL de solución Agua Peptonada Bufferada (APF) y luego rotular como dilución 10^{-1} .
- Posteriormente agitar por 2 minutos a 260 rpm por medio del Stomacher.
- De la primera dilución 10^{-1} medir 10 mL con pipeta de Mohr, estéril y despuntada y transferir a un frasco que contiene 90 mL de solución Agua Peptonada Bufferada (APF) (diluyente) y rotular como dilución 10^{-2} .
- Homogenizar durante 2 minutos dilución 10^{-2} .
- De la dilución anterior medir 10 mL con otra pipeta Mohr, despuntada y estéril, y colocar en un frasco de vidrio que contiene 90 mL de solución Agua Peptonada Bufferada (APF) (diluyente) y rotular como dilución 10^{-3} .

4.4.2.2. Determinación de Coliformes Totales

Técnica Número Más Probable (NMP). ⁽¹⁷⁾ (Ver Anexo N° 8).

Procedimiento:

- Preparar una serie de nueve tubos conteniendo 9 mL de Caldo LMX.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución 10^{-1} e inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución 10^{-2} e

- inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución 10^{-3} e inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
 - Incubar los 9 tubos por 24-48 horas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Interpretación de resultados:

Se considera positiva la prueba para coliformes totales si los tubos presentan una coloración azul verdosa.

4.4.2.3. Determinación de *Escherichia coli*.⁽¹⁸⁾ (Ver Anexo N° 9)

Procedimiento:

- Los tubos que resultaron positivos en la determinación de coliformes totales, caldo LMX, observarlos con luz ultravioleta.
- Se considera la presencia de *Escherichia coli* como positiva si la coloración presenta fluorescencia brillante.
- Para confirmar la presencia de *Escherichia coli* agregar 3 - 5 gotas de reactivo de Kovacs, se considera positivo si se forma en la superficie un anillo de color rojo.
- Calcular el NMP utilizando la tabla para 9 tubos (Ver Anexo N° 13) y reportar los resultados como NMP/g. Valor máximo permisible para *Escherichia coli* es < 3 NMP/g de acuerdo a lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08.
- Por el método de estrías antes de agregar el reactivo de Kovacs, tomar una azada y estriar en placas de petri que contengan agar EMB.
- Incubar las placas invertidas a 35°C de 24 ± 2 horas.

Interpretación de resultados

Observar colonias sospechosas de *Escherichia coli* de aspecto verde brillante en

agar EMB.

- Sembrar el microorganismo sospechoso en Agar TSA e incubar a 35 °C por 24 horas.
- Seleccionar las colonias sospechosas y realizar las Pruebas Bioquímicas sembrando en agar TSI, Voges Proskauer, Indol, Rojo de Metilo, movilidad y Citrato.
- Comparar los resultados obtenidos con tablas de pruebas bioquímicas (Ver Anexo N° 14).

4.4.2.4. Determinación de *Salmonella spp.*⁽¹⁹⁾ (Ver Anexo N° 10 y Anexo N° 11)

Procedimiento:

- Pesar 25 g de muestra de una forma aséptica en una bolsa estéril y adicionar 225 mL de Caldo Lactosado.
- Homogenizar durante 2 minutos a 260 rpm por medio del Stomacher.
- Transferir el contenido de la bolsa de Stomacher a un Erlenmeyer de 500 mL, tapar con papel aluminio e incubar a $35^{\circ} \pm 2$ °C durante 24 ± 2 horas.
- Agitar la muestra incubada y transferir asépticamente 1 mL a un tubo que contiene 10 mL de Caldo Tetrionato; y 0.1 mL a un tubo que contiene 10 mL de Caldo Rappaport - Vassiliadis.
- Incubar los medios selectivos de la siguiente manera:
Tubo con Caldo Rappaport - Vassiliadis a 24 ± 2 horas a 42 ± 0.2 °C
Tubo con Caldo Tetrionato a 24 ± 2 horas a 35 ± 0.2 °C
- Sembrar por estrías sobre placas que contienen Agar Xilosa-Lisina-Desoxilato (XLD) y Agar *Salmonella*- Shigella e incubar ambas placas 24 ± 2 horas a 35 °C.

Interpretación de resultados:

Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Salmonella spp.*

Agar XLD: colonias rosadas con o sin centro negro.

Agar *Salmonella*- Shigella: colonias color rojo.

- Sembrar el microorganismo sospechoso en Agar TSA e incubar a 35 ° C por 24 horas.
- Seleccionar las colonias sospechosas y realizar las Pruebas Bioquímicas sembrando en agar TSI, Voges Proskauer, Indol, Rojo de Metilo, movilidad y Citrato.
- Comparar los resultados obtenidos con tablas de pruebas bioquímicas (Ver Anexo N°16).
- Se considera conforme el resultado si hay ausencia de *Salmonella spp.*

4.4.2.4. Recuento Hongos y Levaduras. ⁽²⁰⁾ (Ver Anexo N° 12).

Procedimiento:

- Con una pipeta estéril, se transfirió, por duplicado, 1 mL de cada una de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} a cajas petri estériles.
- Se vertió en cada placa 15 a 20 mL del medio de cultivo Agar Papa Dextrosa, fundido y acidificado a un pH 3.5 con solución de ácido tartárico estéril 10%, asegurándose que la temperatura del medio fuera de aproximadamente 45 °C.
- Posteriormente, se mezcló el contenido de las placas con movimiento (técnica del ocho).
- Se esperó el tiempo necesario para que el medio se solidificara.
- Se incubo a 20 °C – 25 °C, por 7 días, en posición invertida.
- Al finalizar el período de incubación, se contó el número de colonias en cada placa, empleando un contador de colonias

4.4.2.5. Pruebas Bioquímicas ⁽²⁾

Procedimiento:

- Sembrar el microorganismo sospechoso en agar TSA e incubar a 35 °C por 24 horas.
- Con las colonias que crezcan en el agar TSA realizar el siguiente procedimiento.

a) Agar TSI. ⁽²⁾

Procedimiento:

- Con un asa en punta inocular por picadura el agar TSI hasta el fondo del tubo y estriar de forma simple en la superficie.
- Incubar los tubos a 37 °C ± 2 °C durante 24 – 48 horas.

Interpretación de resultado

Observar el crecimiento en el medio de cultivo y la coloración en el bisel y en el fondo, además si hay formación de gas SH₂.

b) Citrato. ⁽²⁾

Procedimiento:

- Con un asa en punta inocular por picadura el agar Citrato hasta el fondo del tubo y estriar en la superficie.
- Incubar los tubos a 37 °C ± 2 °C durante 24 – 48 horas.

Interpretación de resultado

Se observa crecimiento a lo largo de la estría y un cambio en la coloración del medio que va del verde a azul indica prueba positiva. Indicador de que el microorganismo utiliza el citrato como única fuente de carbono.

c) Agar movilidad (Prueba SIM). ⁽²⁾

Procedimiento:

- Con un asa en punta inocular por picadura el agar movilidad hasta el fondo del tubo.
- Incubar los tubos a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 – 48 horas.

Interpretación de resultado

Luego de la incubación se observa la movilidad de la bacteria en el medio de cultivo más allá de la punzada de siembra. Indicador de la presencia de flagelos.

d) Prueba de Indol. ⁽²⁾

Procedimiento:

- Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene el caldo Indol.
- Incubar los tubos a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 – 48 horas.
- Luego de incubar agregar al tubo 5 gotas de éter etílico y 5 gotas de reactivo de Ehrlich.

Interpretación de resultado

La formación de un anillo violeta en la superficie del medio indica prueba positiva. Indicador de la presencia de la enzima triptofanasa que degrada el triptófano para liberar Indol.

Si el anillo formado es amarillo o del mismo color que el medio indica prueba negativa.

e) Prueba Rojo de Metilo. ⁽²⁾

Procedimiento:

- Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene el caldo rojo de metilo.
- Incubar los tubos a $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 24 – 48 horas.
- Luego de la incubación agregar al tubo 5 gotas de reactivo rojo de metilo.

Interpretación de resultado

La formación de una coloración roja difusa en el medio indica prueba positiva. Indicador de la presencia de ácidos provenientes de la fermentación de la glucosa.

f) Prueba de Voges Proskauer. ⁽²⁾

Procedimiento:

- Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene el caldo Voges Proskauer.
- Incubar los tubos a $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 24 – 48 horas.
- Luego de la incubación agregar al tubo 0.6 mL de Alfa-naftol y 0.4 mL de KOH.
- Dejar reposar el tubo de 10 a 15 minutos.

Interpretación de resultado

La formación de una coloración en el medio de rosa o rojo indica prueba positiva indicadora de la presencia de acetoína, producto de la fermentación de la glucosa.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizó la visita a los mercados y supermercados del Distrito 1 y Distrito 2 de la zona metropolitana de San Salvador. Seguidamente, se verificó los parámetros de la lista de chequeo y en base a lo recopilado se evaluó las condiciones de manipulación como de almacenamiento por parte de las personas a cargo de la dispensación de semillas no empacadas, contenida en sacos o bolsas de diferente capacidad, en el caso de los mercados; y las condiciones o espacio asignado a las semillas empaquetadas en las salas de venta de los supermercados.

Así mismo, se presentan los resultados de los análisis microbiológicos que se llevó a cabo para verificar la calidad de las semillas.

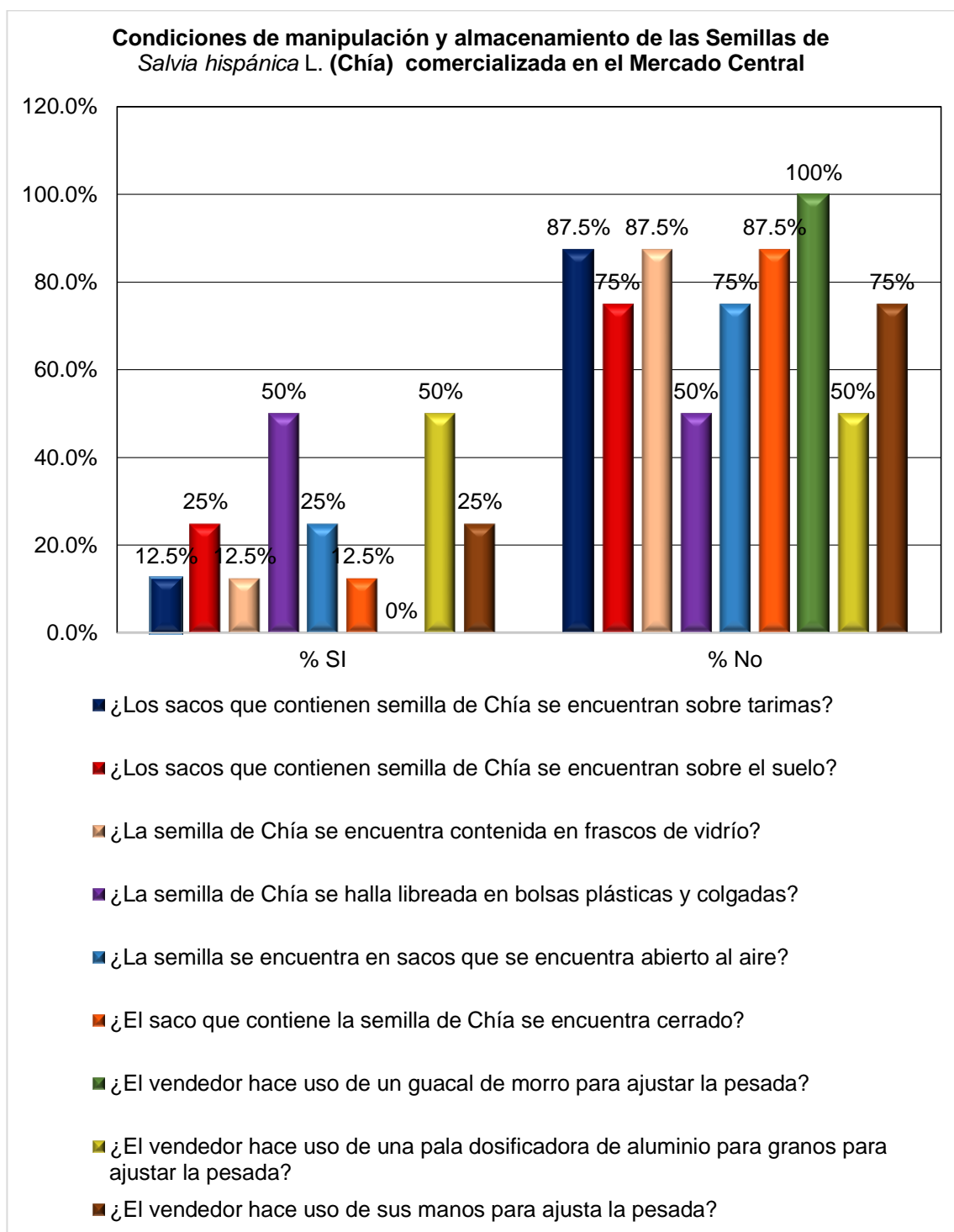


Figura N° 8a. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras del Mercados Central de San Salvador.

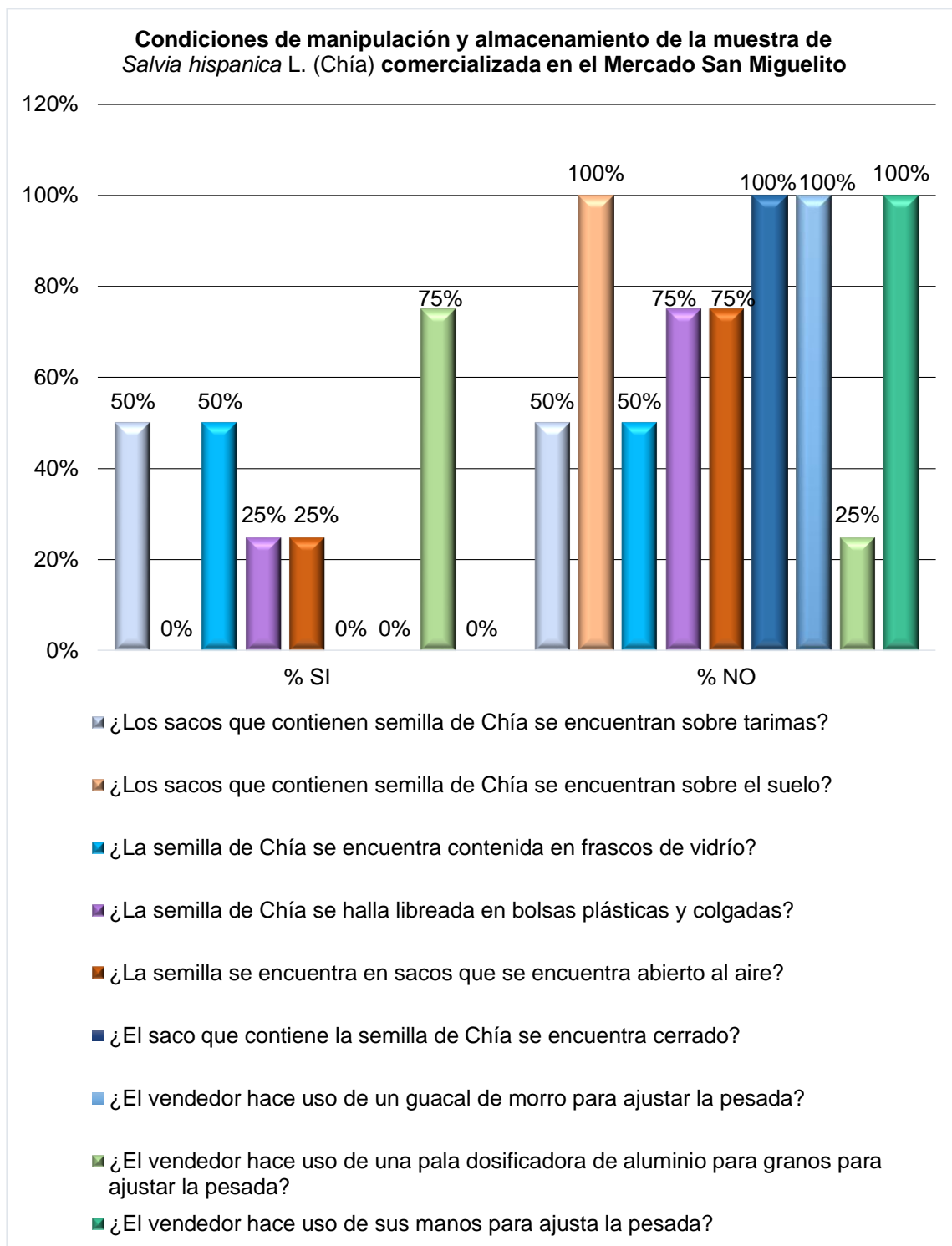


Figura N° 8b. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras del Mercados San Miguelito de San Salvador.

En la Tabla N°7, Figura 8a y Figura 8b se observa los resultados obtenidos utilizando la lista de chequeo, en donde se evidencia las condiciones de almacenamiento y manipulación bajo las cuales se encontró la muestra analizada. En las visitas se identificó factores críticos en los puntos de venta de los mercados, un 12.5 % de los sacos que contiene las semillas de Chía no siempre están sobre tarimas, el 25 % de los sacos o costales permanece abierto y expuesto a la humedad del ambiente, factores que contribuyen al aumento de la velocidad del deterioro de las semillas.

En el Mercado Central un 50 % de los comerciantes empleó pala dosificadora para la dispensación de semillas, sin embargo, se evidenció contaminación cruzada al ser utilizada con diferentes semillas y otros productos ofrecidos al consumidor; además un 25 % hizo uso de sus manos para efectuar el ajuste de pesada, esto favorece la generación de condiciones para el crecimiento de microorganismos que alteran la calidad de la muestra. Otro punto importante de mencionar, es la falta de limpieza de los frascos utilizados para almacenar.

En el Mercado San Miguelito el 100 % utilizó la cuchara dosificadora en todo momento y no se hizo uso de la mano para ajustar la pesada, además, ambos mercados tienen a disposición semillas libreadas en bolsas plásticas y colgadas, no obstante, lo observado no garantiza que la muestra esté libre de contaminación adquirida en algunas de las etapas previas.

También, se solicitó en los puntos de ventas de los mercados Central y San Miguelito, tener acceso a la información que pudiese contener los sacos en los que se encuentran contenidas las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía), donde nos encontramos con la dificultad de no tener aprobación por parte de los propietarios.

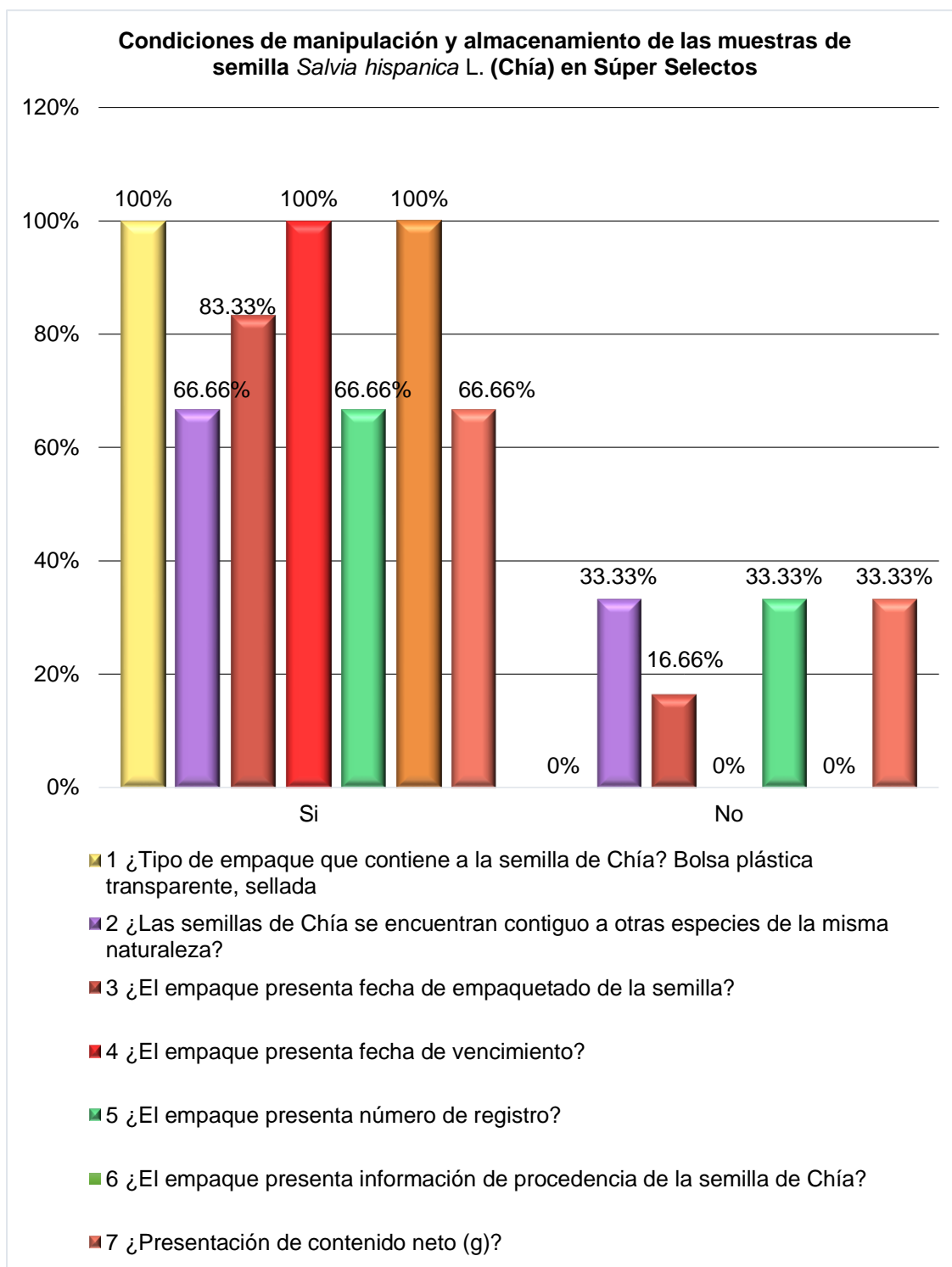


Figura N° 9a. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras de supermercados Súper Selectos.

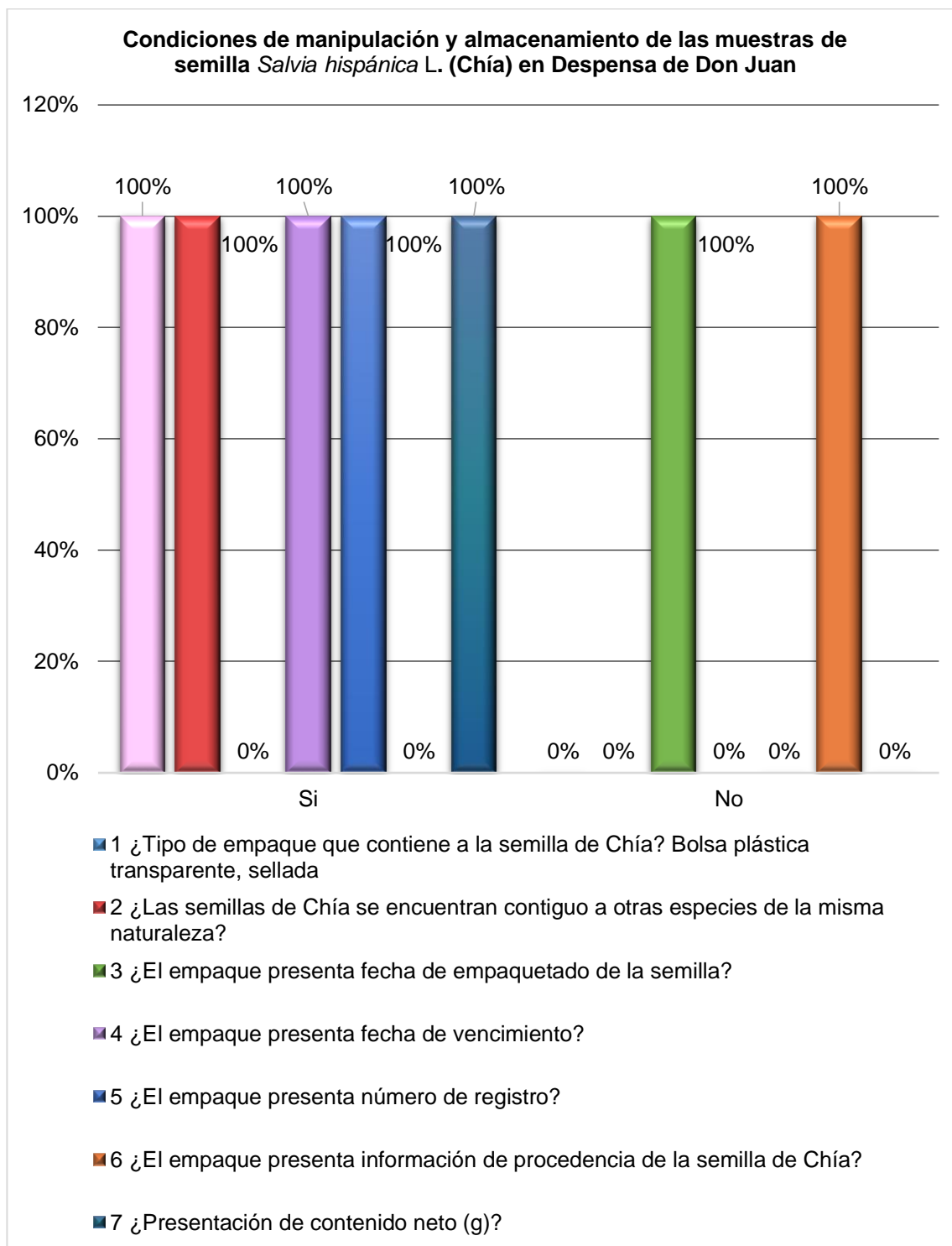


Figura N° 9b. Gráfico de las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras de supermercados Despensa de Don Juan

En la Tabla N° 8, Figura N° 9a y Figura N° 9b muestra la información recopilada de la lista de chequeo de las muestras de supermercados, realizado mediante una inspección visual, donde se identificaron aspectos cruciales que favorecen la proliferación de microorganismos, dicho de otra manera, se encontró muestras colocadas junto a otras especies diferentes a las de interés de esta investigación, como frutas y otros productos que requieren refrigeración.

El estudio de Ascencio A. y Contreras L. en su investigación a semillas procesadas y a granel de Supermercados del Distrito 2, mercado San Miguelito del Distrito 1 y ventas del interior de la Universidad de El Salvador (2018) evaluaron las condiciones en las que estaban almacenadas y dispensadas las semillas, la manera en la que los consumidores manipulaban las semillas y si había una persona destinada al área. Del mismo modo, utilizaron Listas de chequeo para verificar parámetros sobre las condiciones de limpieza y almacenamiento.

En dicha investigación reportan resultados del Supermercado Miralvalle 2 con un 72.7 % que no cumple, para Metrocentro 6ta etapa no cumple con 63.6 % y San Luis no cumple con un 63.6 %. En sus análisis microbiológicos realizados encontraron presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y crecimiento de Hongos

Además, en el estudio se describe que las cucharas fueron encontradas sucias llenas de caramelo y los depósitos no tienen la limpieza necesaria, es decir, que no se lavan con agua y jabón, sino que sólo son refileados; en otros casos, cambian la semilla de depósito, sacuden y retiran el nombre de la semilla anterior, provocando una contaminación cruzada. También, observaron que habían colocado una bolsa que contenía carne sobre las áreas asignadas a semillas.

Así mismo, nuestra investigación consistió en visitar Supermercados y Mercados, observando que estos presentan condiciones de ambiente y distribución de espacio con diferencias significativas, pero existe coincidencia con los resultados obtenidos en relación al estudio que presentan Ascencio A. y Contreras L. Además, se observa que las metodologías de análisis en ambas pruebas son comparables con las realizadas por los autores mencionados anteriormente, lo que evidencia el trabajo que hay por hacer para contar y proporcionar las condiciones idóneas para preservar la calidad de las semillas, independientemente del tipo que se trate, la necesidad de mejorar los hábitos y educación de los usuarios.

5.1. Etiquetado

Cuadro N° 12 Requisitos de etiquetado según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.01.02:10 de las muestras de Supermercado.

Requisitos de etiquetado	Despensa de Don Juan (4 muestras)	Súper selectos (12 muestras)		
	Productos la Canasta	SAINSA S.A. DE C.V.	Productos Solís	PROINCA, S.A. DE C.V.
5.1 Nombre del alimento	✓	✓	✓	✓
5.2 Lista de ingredientes	✓	✓	✓	✓
5.3 Contenido neto	✓	✓	✓	✓
5.4 Numero de registro	✓	✓	✓	✓
5.5 Nombre y dirección del fabricante, envasador, distribuidor o exportador	✓	x	✓	✓
5.6 País de origen	✓	✓	✓	✓
5.7 Identificación de lote	✓	✓	x	✓

5.8 Marcado de la fecha de vencimiento e instrucciones para la conservación	✓	x	✓	✓
6 Instrucciones para el uso	✓	x	x	✓

✓ Cumple RTCA

x No cumple RTCA

En cuanto a las 2 cadenas de supermercados muestreados, se encontraron cuatro marcas de semillas de *Salvia hispánica* L (Chía) y se determinó que cada una de las etiquetas cumpliera con los requisitos del Reglamento Técnico Centroamericano de Etiquetado. Se pudo observar que de las 16 muestras recolectadas, la única marca distribuida por la Despensa de Don Juan, contiene los requisitos mínimos que establece el RTCA. Además, de las 3 marcas que se encontraron en Súper Selectos, PROICAM S.A. DE C.V. cumple con la norma de etiquetado, mientras que las dos marcas restantes no cumplen.

Tabla N° 9. Resultados obtenidos del análisis de las muestras del Mercado Central.

Primer muestreo					
Código	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (UFC/g)	Hongos y Levaduras (UFC/g)	Conforme/ No conforme	Otros MOS
	Coliformes totales		Límite máximo permitido por el RTCA		
	<3.0 NMP/g	Ausencia	300 UFC/g		
	MCP1	3.6 NMP/g	Ausencia		
MCP2	9.2 NMP/g	Ausencia	58	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP3	<3.0 NMP/g	Ausencia	62	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP4	<3.0 NMP/g	Ausencia	390	No conforme	<i>Shigella</i>

Tabla N° 9(Continuación)

MCP5	<3.0 NMP/g	Ausencia	3978	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP6	<3.0 NMP/g	Ausencia	538	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP7	<3.0 NMP/g	Ausencia	500	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP8	<3.0 NMP/g	Ausencia	1738	No conforme	<i>Shigella</i>
Segundo muestreo					
MCP1	<3.0 NMP/g	Ausencia	30	No conforme	<i>Klebsiella</i>
MCP2	<3.0 NMP/g	Ausencia	15	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP3	<3.0 NMP/g	Ausencia	50	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP4	<3.0 NMP/g	Ausencia	480	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP5	<3.0 NMP/g	Ausencia	180	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP6	<3.0 NMP/g	Ausencia	378	No Conforme	<i>Shigella</i>
MCP7	240 NMP/g	Ausencia	8590	No conforme	<i>Shigella</i>
MCP8	<3.0 NMP/g	Ausencia	1825	No conforme	<i>Shigella</i>

En la tabla N° 9 se presentan los resultados de las muestras de 8 puestos del Mercado Central. En estas se observó que para la determinación de *Escherichia coli* por medio de caldo LMX, utilizando la técnica del Número Más Probable y confirmando con agar EMB, por consiguiente, de las 16 muestras, incluyendo el primer y segundo muestreo (100 %), en ninguno de los análisis de las muestras se identificó la presencia de colonias características de *Escherichia coli*, es decir, que los resultados obtenidos en nuestra investigación corresponden a Coliformes Totales, los cuales son un grupo de microorganismos que son indicadores de la calidad higiénica de los alimentos, evidenciando que las medidas higiénicas implementadas no han sido las idóneas.

Ante la falta de un parámetro microbiológico para este grupo en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a semillas y

nueces (Ver Anexo N° 17) no se puede determinar o comparar el cumplimiento o no con un límite de referencia. Las pruebas bioquímicas se utilizaron en las muestras con colonias sospechosas, determinando la especie y género dándonos como resultados característicos para *Klebsiella*. (Ver Anexos N° 27 y Anexo N° 15)

En relación a la determinación del microorganismo patógeno *Salmonella spp.* en agar XLD y en agar *Salmonella-Shigella*, en ninguna de las muestras se observó crecimiento de colonias características de *Salmonella spp.*, tanto así, que en las 16 muestras incluyendo el primer y segundo muestreo, dio como resultados que las muestras recolectadas estaban libre de contaminación por dicho microorganismo patógeno; por lo tanto, el producto se encuentra dentro de la especificación de Ausencia de *Salmonella spp.*, según lo establece el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente semillas y nueces; sin embargo, si presenta colonias características de la especie *Shigella*, realizándose posteriormente las pruebas bioquímicas para confirmar la presencia de esta y ausencia de *Salmonella*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la determinación de Recuento de Hongos y Levaduras en agar Papa Dextrosa, se evidenció en las 16 muestras (primer y segundo muestreo), el crecimiento de colonias características, aunque la Norma Mexicana NOM-247-SSA1-2008 especifica 300 UFC/g; por lo tanto 6 muestras (37.5 %) si cumplen con las especificaciones debido a que se obtuvieron valores menores a 300 UFC/g, mientras que 10 muestras (62.5 %) no cumplen, debido a que presentaron valores mayores a lo determinado. (Ver Anexo N°17)

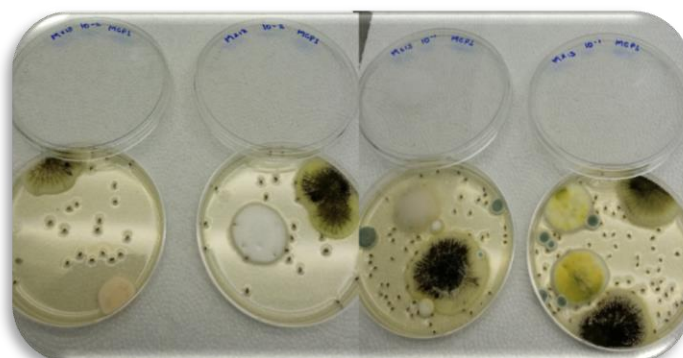


Figura N° 10. Recuento de Hongos y Levaduras en Agar Papa Dextrosa.

Los resultados anteriores, indican que las muestras analizadas del Mercado Central durante la producción, almacenamiento y manipulación de la semilla, así como las prácticas sanitarias han sido inadecuadas. Las muestras MCP1, MCP4, MCP5, MCP6, MCP7 y MCP8, las cuales fueron tomadas del Mercado Central, se encuentran arriba del valor establecido en la NOM, por lo que es un producto que fácilmente puede deteriorarse microbiológicamente.

Tabla N° 10. Resultados del análisis de las muestras de semillas de Chía del Mercado San Miguelito.

Primer muestreo					
Código	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> spp (UFC/g)	Hongos y Levaduras (300 UFC/g)	Conforme/ No conforme	Otros MOS
	Coliformes totales		Límite máximo permitido por el RTCA		
	Límite máximo permitido por el RTCA		Límite máximo permitido por la NOM		
	<3.0 NMP/g	Ausencia	300 UFC/g		
MSMP1	<3.0 NMP/g	Ausencia	840	No conforme	<i>Shigella</i>
MSMP2	6.1 NMP/g	Ausencia	967	No conforme	<i>Shigella</i>
MSMP3	<3.0 NMP/g	Ausencia	407	No conforme	<i>Shigella</i>
MSMP4	<3.0 NMP/g	Ausencia	1057	No conforme	<i>Shigella</i>

Tabla N° 10 (Continuación)

Segundo muestreo					
MSMP1	<3.0 NMP/g	Ausencia	540	No conforme	<i>Shigella</i>
MSMP2	<3.0 NMP/g	Ausencia	10	Conforme	<i>Shigella</i>
MSMP3	<3.0 NMP/g	Ausencia	1443	No conforme	<i>Shigella</i>
MSMP4	<3.0 NMP/g	Ausencia	528	No conforme	<i>Shigella</i>

La tabla N° 10. muestra los resultados de las determinaciones realizadas en las muestras de semilla de *Salvia hispánica* L. (Chía) seleccionadas de los 4 puestos del Mercado San Miguelito. En tal sentido, se observó que para la determinación de *Escherichia coli* por medio de caldo LMX por la técnica de Número Más Probable y confirmando con agar EMB, de las 8 muestras incluyendo el primer y segundo muestreo (100 %) no se identificó la presencia de *Escherichia coli*, pero si la presencia de otras colonias de otros microorganismos sospechosos, en otras palabras, los valores obtenidos corresponden a Coliformes Totales grupo de microorganismos que reflejan que la medidas adoptadas e implementadas para el control sanitario de este alimento, han sido insuficientes y necesitan ser mejorados; por tanto, no teniendo especificación para este grupo en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 referente a semillas y nueces, no es posible determinar el cumplimiento o no de un parámetro ante la ausencia de este. Así que, se optó por realizar pruebas bioquímicas para confirmar la presencia o ausencia de *Escherichia coli*.

En cuanto a la determinación del microorganismo patógeno *Salmonella spp.* en agar XLD y en agar *Salmonella-Shigella*, ninguna de las muestras presentó crecimiento de colonias características de *Salmonella spp.*, en las 8 muestras incluyendo el primer y segundo muestreo dando como resultados, que las muestras recolectadas estaban libre de contaminación por dicho microorganismo patógeno, por lo tanto, los productos se encuentran dentro de la especificación

de ausencia de *Salmonella spp.* según lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente semillas y nueces; no obstante, las muestras no presentan crecimiento de colonias características a *Salmonella*, pero sí de colonias característica a *Shigella spp.* Posteriormente se realizó las pruebas bioquímicas para confirmar la presencia de la misma y ausencia de *Salmonella*.

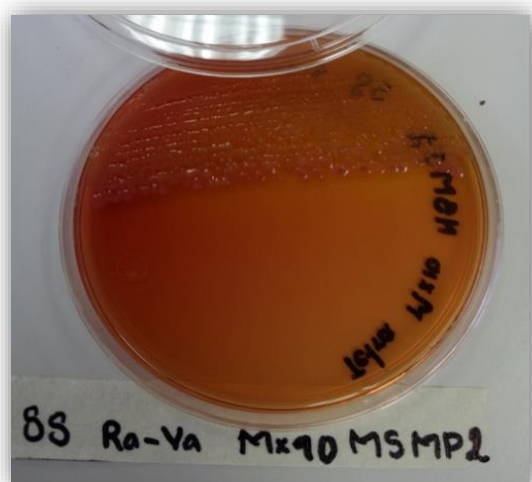


Figura N° 11. Determinación de *Salmonella spp* en Agar Salmonella-Shigella



Figura N°12 Determinación de *Salmonella spp* en Agar XLD

De acuerdo a los resultados obtenidos en la determinación de Recuento Hongos y Levaduras en agar Papa Dextrosa en todas las muestras se observó el crecimiento de colonias características, es decir, en las 8 muestras incluyendo el primer y segundo muestreo; sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 especifica 300 UFC/g, en consecuencia, 1 muestra (12.5 %) sí cumple con dichas especificaciones debido a que se obtuvieron valores menores a 300 UFG/g, mientras que 7 muestras (87.5) % presentaron valores mayores a lo especificado, por lo tanto no cumple con lo establecido.

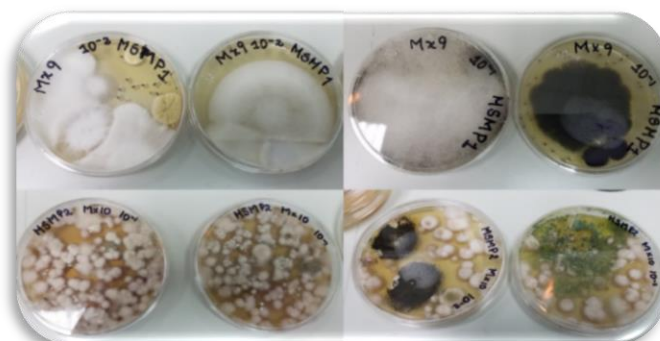


Figura N° 13. Conteo de Hongos y Levaduras en Agar Papa Dextrosa

Estos resultados indican que las muestras analizadas del San Miguelito, durante la producción, almacenamiento y manipulación de la semilla, no cumple con prácticas sanitarias idóneas.

Tabla N° 11. Resultados de los análisis de las muestras de Chía del Súper Selectos.

Primer muestreo					
Código	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> spp (UFC/g)	Hongos y Levaduras (UFC/g)	Conforme/ No conforme	Otros MOS
	Coliformes totales				
	Límite máximo permitido por el RTCA		Límite máximo permitido por la NOM		
	<3.0 NMP/g	Ausencia	300 UFC/g		
SSM	<3.0 NMP/g	Ausencia	578	No conforme	<i>Shigella</i>
SSM6a	<3.0 NMP/g	Ausencia	772	No conforme	<i>Shigella</i>
SSL	<3.0 NMP/g	Ausencia	1427	No conforme	<i>Shigella</i>
SSMO	1100.0 NMP/g	Ausencia	573	No conforme	<i>Klebsiella</i>
SSM8a	<3.0 NMP/g	Ausencia	540	No conforme	<i>Shigella</i>
SSMi	<3.0 NMP/g	Ausencia	383	No conforme	<i>Shigella</i>

Tabla N° 11 (Continuación)

Segundo muestreo					
SSM	<3.0 NMP/g	Ausencia	385	No conforme	<i>Shigella</i>
SSM6a	<3.0 NMP/g	Ausencia	388	No conforme	<i>Shigella</i>
SSL	9.2 NMP/g	Ausencia	1358	No conforme	<i>Shigella</i>
SSMO	<3.0 NMP/g	Ausencia	377	No conforme	<i>Shigella</i>
SSM8a	<3.0 NMP/g	Ausencia	4460	No conforme	<i>Shigella</i>
SSMi	<3.0 NMP/g	Ausencia	373	No conforme	<i>Shigella</i>

En relación a las muestras analizadas del Supermercado Súper Selectos, los resultados observados y/u obtenidos en la determinación de *Escherichia coli* de las 12 muestras que integran el primer y segundo muestreo (100 %) ninguna mostró presencia de este microorganismo, por ende los resultados obtenidos en el recuento corresponden a Coliformes Totales, lo que evidencia que las condiciones higiénico-sanitarias durante la cosecha o la procedente de las personas responsables de la manipulación, durante la recolección y procesos posteriores, no fueron efectivos. Aunque no se descarta la posibilidad de que haya sido al estar expuesta en contacto con otros alimentos. Por lo tanto, al no contar con especificación para este grupo en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 referente a semillas y nueces, es imposible utilizar un parámetro para compararse.

En cuanto a la determinación de *Salmonella spp.* en agar XLD y en agar *Salmonella-Shigella*, en ninguna de las muestras se observó crecimiento de colonias características de *Salmonella spp.*, es decir, en las 12 muestras que incluyen el primer y segundo muestreo, los resultados obtenidos confirman la no presencia del microorganismo patógeno; por lo tanto, se encuentran dentro de la especificación de Ausencia de *Salmonella spp.* según lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente semillas y nueces.

De acuerdo con el conteo de Hongos y Levaduras en agar Papa Dextrosa en las 12 muestras del primer y segundo muestreo, estas no cumplen lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 específica 300 UFC/g, ya que los valores son mayores a lo especificado, por lo que las muestras no son aptas para el consumo.

Tabla N° 12. Resultados del análisis de las muestras de Chía de la Despensa de Don Juan.

Primer muestreo					
Código	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella</i> spp (UFC/g)	Hongos y Levaduras (NOM: 300 UFC/g)	Conforme/ No conforme	Otros MOS
	Coliformes totales				
	Límite máximo permitido por el RTCA		Límite máximo permitido por la NOM		
	<3.0 NMP/g	Ausencia	300 UFC/g		
DJM	<3.0 NMP/g	Ausencia	4940	No conforme	<i>Shigella</i>
DJEN	<3.0 NMP/g	Ausencia	3415	No conforme	<i>Shigella</i>
Segundo muestreo					
DJM	<3.0 NMP/g	Ausencia	703	No conforme	<i>Shigella</i>
DJEM	<3.0 NMP/g	Ausencia	1462	No conforme	<i>Shigella</i>

En la Tabla N° 12 se observan resultados de las determinaciones realizadas en las muestras de la Despensa de Don Juan. Para la determinación de *Escherichia coli* de las 4 muestras que integran el primer y segundo muestreo (100 %) no hubo presencia de colonias características de *Escherichia coli*, por consiguiente los resultados obtenidos pertenecen a Coliformes Totales, lo que indica que el alimento ha sido expuesto a contaminación, cuya procedencia puede ser de origen fecal, ya sea del lugar de donde fue cultivado, por el agua utilizada para el

riego o por la que utilizaron los manipuladores en otras etapas, no teniendo especificación para este grupo en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a semillas y nueces. No se puede emitir criterio por la falta de parámetro para este grupo.

Con respecto a la determinación de *Salmonella spp.* los resultados obtenidos de agar XLD y en agar *Salmonella-Shigella*, en ninguna de las 4 muestras que incluyen el primer y segundo muestreo (100 %) se observó crecimiento de colonias características de *Salmonella spp.* Los resultados de la calidad microbiológica, en este caso, se encuentran dentro de la especificación de Ausencia del patógeno *Salmonella spp.* según lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente semillas y nueces. Pero, se encontró presencia de colonias características a *Shigella spp.* siendo confirmado con las pruebas bioquímicas.

En los resultados del Recuento de Hongos y Levaduras en agar Papa Dextrosa en todas las muestras se observó crecimiento de colonias características, en las 4 muestras (100 %) que incluye el primer y segundo muestreo, considerando que la Norma Mexicana NOM-247-SSA1-2008 especifica 300 UFC/g, esto indica que los resultados de las muestras *Salvia hispánica* L. (Chía) de los mercados y supermercados seleccionados no son aptas para el consumo y que la semillas se han expuesto a condiciones de manipulación y almacenamiento que comprometen su calidad hasta el punto de perjudicar la salud de los consumidores.

En otros estudios como el de Guzmán, A., de forma similar dentro de sus objetivos particulares evaluó la calidad microbiana presente en las semillas de Chía (*Salvia hispánica* L.). Las muestras fueron adquiridas en diferentes mercados populares del estado de Puebla, México (2019) reportando para

Bacterias Mesofílicas Aerobias 5.6 ± 0.09 Log (UFC/g) y su límite permitido 4 Log (UFC/g), en el caso de Hongos y Levaduras 4.0 ± 0.10 Log (UFC/g) con un límite permitido de 2.4 Log (UFC/g) y Coliformes Totales <1 Log (UFC/g) con límite permitido de 1.4 Log (UFC/g).

Por su parte, Guzmán expresó que la calidad sanitaria de las muestras presentó elevados valores de bacterias mesofílicas aerobias, hongos y levaduras, por encima de los valores de la NOM-147-SSA1-1996 (Bienes y Servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales), parámetro utilizado por el investigador. En cuanto, a coliformes totales los valores encontrados están por debajo de lo permitido en la normativa anteriormente descrita.

Especificaciones	Límite Máximo
Bacterias Mesofílicas Aerobias	10000 UFC/g
Hongos y Levaduras	300 UFC/g
Coliformes Totales	<30 UFC/g

Cabe destacar que los resultados convergen con los obtenidos del presente estudio, en cuanto a la metodología presenta ciertas discrepancias en la utilización de dos medios de cultivo para los análisis microbiológicos, además que las muestras analizadas provienen solo de mercados. Se puede señalar que la similitud se basa en los microorganismos de interés, la norma de referencia utilizada por el analista; la cual ya fue actualizada como se puede ver en nuestro trabajo, pero conserva las especificaciones y el hecho de la presencia de contaminación por microorganismos capaces de alterar la calidad e integridad de las semillas.

5.2. Tinción Gram (Ver Anexo N° 23)

Se realizó Tinción Gram a las colonias sospechosa (Ver Anexo N° 27a y Anexo N° 27b), teniendo como resultado una bacteria Gram negativa (Ver Anexo N° 27c). Luego se realizaron pruebas Bioquímicas y se compararon los resultados con la tabla de identificación, esto indicó que la bacteria que se encontró presente en las muestras se trata de la *Shigella spp* (Ver Anexo N° 14b). y *Klebsiella sp*(Ver Anexo N° 14)

Tabla N° 13. Resultados obtenidos del análisis de las muestras (mezclas) de *Salvia hispánica L.* (Chía)

Primer muestreo Pool					
Código	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (UFC/g)	Hongos y Levaduras (UFC/g)	Conforme/ No conforme	Otros MOS
	Coliformes totales				
	Límite máximo permitido por el RTCA		Límite máximo permitido por la NOM		
	<3.0 NMP/g	Ausencia	300 UFC/g		
Pool SS	<3.0 NMP/g	Ausencia	1277	No conforme	<i>Shigella</i>
Pool DJ	<3.0 NMP/g	Ausencia	1000	No conforme	<i>Shigella</i>
Pool MC	<3.0 NMP/g	Ausencia	437	No conforme	<i>Klebsiella</i>
Pool SM	<3.0 NMP/g	Ausencia	608	No conforme	<i>Shigella</i>
Segundo muestreo					
Pool SS	<3.0 NMP/g	Ausencia	487	No conforme	<i>Shigella</i>
Pool DJ	<3.0 NMP/g	Ausencia	800	No conforme	<i>Shigella</i>
Pool MC	9.2 NMP/g	Ausencia	2250	No conforme	<i>Shigella</i>
Pool SM	<3.0 NMP/g	Ausencia	22100	No conforme	<i>Shigella</i>

Tabla N° 14. Cuadro comparativo de los resultados del análisis de hongos y levaduras de las muestras de Chía de mercados y supermercados

RESULTADOS DE HONGOS Y LEVADURAS							
MERCADO CENTRAL		MERCADO SAN MIGUELITO		SUPER SELECTOS		DESPENSA DE DON JUAN	
Primer muestreo							
Código de muestra	(NOM: 300UFC/g)	Código de muestra	(NOM: 300UFC/g)	Código de muestra	(NOM: 300UFC/g)	Código de muestra	(NOM: 300UFC/g)
MCP1	442	MSMP1	840	SSM	578	DJM	4940
MCP2	58	MSMP2	6967	SSM6a	772	DJEN	3415
MCP3	62	MSMP3	407	SSL	1427	-	-
MCP4	390	MSMP4	1057	SSMO	573	-	-
MCP5	3978	-	-	SSM8a	540	-	-
MCP6	538	-	-	SSMi	383	-	-
MCP7	500	-	-	-	-	-	-
MCP8	1738	-	-	-	-	-	-
Segundo muestreo							
MCP1	30	MSMP1	540	SSM	385	DJM	703
MCP2	15	MSMP2	10	SSM6a	388	DJEN	1462
MCP3	50	MSMP3	1443	SSL	1358	-	-
MCP4	480	MSMP4	528	SSMO	377	-	-
MCP5	180	-	-	SSM8a	4460	-	-
MCP6	378	-	-	SSMi	373	-	-
MCP7	8590	-	-	-	-	-	-
MCP8	1825	-	-	-	-	-	-

El cuadro anterior relaciona los resultados del análisis de Hongos y Levaduras. En el primer muestreo, las muestras MCP1 y MCP2 del mercado Central están dentro del límite máximo que exige la NOM, en comparación a los resultados obtenidos del Mercado San Miguelito, Súper Selectos y Despensa de Don Juan, donde sus valores están por encima de lo especificado en la norma.

En el caso del segundo muestreo, el Mercado Central tiene el mayor número de muestras que están dentro de lo que establece la NOM, en comparación con el Mercado San Miguelito que solo presentó una muestra (MSMP2).

Por lo tanto, en ningunos los supermercados que se muestrearon tanto en primer y segundo muestreo cumplía con lo establecido en la NOM.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. En la evaluación de los aspectos citados en la lista de chequeo los establecimientos de venta no cumplen las buenas prácticas de manipulación y almacenamiento, debido a que el producto está expuesto a diversos factores externos como la humedad, a la manipulación con las manos, la utilización de una pala dosificadora para diferentes productos, lo que pone en riesgo la integridad y calidad de las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía).
2. El Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 establece lineamientos para la bacteria *Escherichia coli*, sin embargo no fue identificada; es decir, que los valores obtenidos corresponden a Coliformes Totales, indicando condiciones inadecuadas de higiene, manipulación y almacenamiento, ya que se encontró la presencia de otros microorganismos que pueden perjudicar la salud de los consumidores.
3. En la determinación de *Salmonella spp.* realizada a 48 muestras de *Salvia hispánica* L. (Chía), estas cumplen con la especificación de ausencia para *Salmonella spp.* así establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Bocadoillos y Boquitas. Subgrupo de alimento: Semillas y nueces.
4. En el conteo de Hongos y Levaduras el 14.58 % de las muestras analizadas cumple, mientras que el 85.41 % representa un riesgo para la salud, ya que no cumplen con el parámetro microbiológico de la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008. Exceptuando dos muestras que presentaron un recuento menor en el primer y segundo muestreo.

5. Al realizar el análisis microbiológico de las muestras de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) se encontró la presencia de otros microorganismos como son: *Shigella* y *Klebsiella sp* que ponen en riesgo la salud de los consumidores, y que no son contemplados o delimitados en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos.
6. Los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros microbiológicos de 48 muestras indican que la presencia de bacterias coliformes totales, hongos y levaduras están estrechamente relacionados a las condiciones de manipulación y almacenamiento.
7. De las cuatro marcas identificadas en los 8 supermercados del Distrito 2 de San Salvador, dos marcas distribuidas por Súper Selectos no cumplen con los requisitos establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.01.07:10. de Etiquetado de Alimentos Preenvasados, dejando en evidencia el incumplimiento de industrias, que llevan a cabo el proceso de empaquetado.
8. Después de realizar las evaluaciones y comparaciones las mezclas de las muestras de los mercados y supermercados, con el fin de verificar los resultados de los análisis individuales, confirman la presencia de los microorganismos *Shigella spp*, *Klebsiella sp*, Hongos y Levaduras, que prevalecieron en los estudios microbiológicos individuales de cada una de las muestras.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

1. Que las instituciones correspondientes deben realizar monitoreo en supermercados e indicar las mejoras necesarias a los programas de buenas prácticas de almacenamiento, evitando condiciones que favorezcan la contaminación cruzada y que comprometan la calidad del producto.
2. Fortalecer la Defensoría del Consumidor en conjunto con el Ministerio de Salud (MINSAL) y el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) el sistema de vigilancia de las semillas, desarrollando análisis microbiológicos de las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) importadas y consumidas en nuestro país, a fin de verificar que la ingesta de este producto no representa riesgo alguno para la salud.
3. Mejorar por parte de las empresas empacadoras que distribuyen la semilla *Salvia hispánica* L. (Chía), mediante capacitaciones a sus empleados y conozcan sus procedimientos de buenas prácticas manipulación, almacenamiento y transporte para reducir la presencia de microorganismos y obtener productos inocuos y de excelente calidad, seguros para el consumo humano.
4. Promover capacitaciones a todos los sectores que intervienen en la manipulación de alimentos de la naturaleza de la semilla desde la cosecha, el transporte, almacenamiento, empaque, distribución.
5. Proponer que en futuras investigaciones se dé seguimiento al presente trabajo teniendo en consideración hacer análisis a un mayor número de muestras y la toma de muestras en otros mercados o establecimientos de venta.

6. Determinar en futuras investigaciones factores físicoquímicos como pH, grados Brix, características organolépticas, composición nutricional, evaluar como las propiedades pueden verse afectadas por diferentes factores o condiciones.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Analizmarketi, (2016), Análisis de *Escherichi coli*, © Bilim Medical y Laboratuvar Hizmetleri Tic. Ltd., Estambul. Disponible en: <https://www.analizmarketi.com/149-escherichia-coli.html>
2. ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica). (2011) Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficia. Microorganismos patógenos. Volumen 1. (En línea). Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_aliments_Vol_I.pdf
3. Alcaldía de San Salvador. (2009). Distrito dos. Blog oficial de la ciudad de San Salvador (en línea). Disponible en: <https://alcaldiass.wordpress.com/2009/05/08/distrito-municipal-2/>
4. Alcaldía de San Salvador. (2009). Distrito dos. Blog oficial de la ciudad de San Salvador (en línea). Disponible en: <https://alcaldiass.wordpress.com/2009/05/08/distrito-municipal-1/>
5. Alcaldía Municipal de San Salvador, (2015) Fuente de acceso a la información, Ref. 025-UAIP-15. Disponible en: <http://www.sansalvador.gob.sv/phocadownload/userupload/8903f4e72d/Ref-%20025%20-%20UAIP%20-%202015.pdf>
6. Armada, L. y Ros, C., (2007), "Manipulador de alimentos. La importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comida" (2ª Edición), Ideas propias Editorial, España Pagina 37. Disponible en: <https://books.google.com.sv/books?id=TdQoX6U8MsEC&pg=PT193&dq=MOHOS+Y+LEVADURAS&hl=>

es&sa=X&ved=0ahUKEwjL5bG9u63VAhXE4CYKHUC5CX4Q6AEIUTAJ#v=onepage&q=MOHOS%20Y%20LEVADURAS&f=false

7. Bailey & Scott (2009) "Diagnostico Microbiológico, 12ª Edición, Argentina Editorial Médica Panamericana, P 100 Disponible en: https://books.google.com/sv/books?id=239cauKqSt0C&pg=PR10&dq=bailey+scott+diagnostico+microbiologico+7+edicion&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwidv4WImO_uAhUxszEKHU8pBRoQ6AEwBHoECAQQAg#v=onepage&q=bailey%20scott%20diagnostico%20microbiologico%207%20edicion&f=tru
8. Barrero, B. (2016). Manipulador de Alimentos. Manual del curso en línea: Disponible en: <https://manipulador-de-alimentos.com/manual--de-alimentos-coformacion.pdf>
9. Bonilla, G. (1996) Estadística I. Elementos de estadística descriptiva y probabilidad. (4a edición). San Salvador, El Salvador: UCA editores. Pág. 240- 241.
10. Brooks, G. F., Butel J. S., Ornston L. N., (1999). Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. (16ª Edición.), México DF - Santafé Bogotá. Ed. El Manual Moderno. P. 202, 219-224, 238, 243, 245-249, 251-255.
11. Ceparío Unicach, (2005) Cepas microbiológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Disponible en: <https://cepariounicach.wordpress.com/2015/01/21/salmonella-typhi-2/>
12. Cruz, R., Estrada, E. y Tobar, F. (2014). Propuesta de intervención Urbana en la Plaza Roque Dalton y en el Mercado Municipal del Barrio San Miguelito, San Salvador. P. 51, Tesis para optar al título de Arquitecto, Universidad de

El Salvador, El Salvador. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5592/1/Propuesta%20de%20intervenci%C3%B3n%20urbana%20en%20la%20plaza%20Roque%20Dalton%20y%20en%20el%20mercado%20municipal%20del%20barrio%20San%20Miguelito%2C%20San%20Salvador.pdf>

13. EFSA, The Journal (2009) Opinion on the safety of Chía seeds (*Salvia hispánica* L.) and group whole Chía seeds as a food ingredient, Diario Oficial de la Unión Europea. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/996.pdf
14. EFSA “Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the European commission related to the safety of Chia (*Salvia hispanica* L.), Seeds and ground whole chia as a novel food ingredient intended for use in bread,” EFSA Journal, 278, 2005, 1-12. Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2005.278>
15. EFSA, “Opinion of the safety of “Chía seeds (*Salvia hispánica* L.) and ground whole Chía seeds” as a food ingredient”, Scientific Opinion of the panel on Dietetic products, Nutrition and Allergies The EFSA Journal, 996, 2009, 1-2) Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2009.996>
16. Escalante Escobar, L. G. y Ortíz Hernández, R. M. (2010). Evaluación de la calidad microbiológica de refrescos naturales no pasteurizados comercializados en el interior y los alrededores de la Universidad de El Salvador. Tesis de grado para optar al título de Licenciado(a) en Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, El Salvador.

17. FDA (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos), (2010), Métodos de Laboratorio, Manual Analítico Bacteriológico (BAM): Apéndice 2: Número más probable de diluciones en serie (en línea) Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm10956.htm>
18. FDA (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos), (2002). Métodos de Laboratorio, Manual Analítico Bacteriológico (BAM): Enumeración de *Escherichia coli* y las bacterias coliformes. (en línea), Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>
19. FDA (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos), (2002 y la última revisión dice que fue en 2017), Métodos de Laboratorio, Manual Analítico Bacteriológico (BAM): *Salmonella* (en línea). Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>
20. FDA, (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos) (2001), Métodos de Laboratorio, Manual Analítico Bacteriológico (BAM) Levaduras, mohos y micotoxinas (en línea). Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435>
21. Frazier, C. Westhoff. (2003) Microbiología de los alimentos. (4ª Edición) Zaragoza, España. Editorial Acribia. S.A., P. 331,373, 385-394, 546, 547, 554, 555, 559-564.
22. García, V., (2004), Introducción a la Microbiología, 2ª. Edición, Costa Rica, Editorial Universidad Estatal a Distancia. Disponible en: <https://books.google.com/>

gle.com.mw/books?id=K_ETVnqnMZIC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false

23. Google maps (en línea). Ubicación de sucursales de supermercados de San Salvador. Disponible en: <https://www.google.com/sv/maps/place/Metro+centro+San+Salvador/@13.7060931,89.2118084,18z/data=!4m5!3m4!1s08f633060eb7063f7:0x2dd4d4fce4e71b53!8m2!3d13.7055876!4d-89.2119479>
24. Google maps (en línea). Ubicación del mercado Central de San Salvador. Disponible en: <https://www.google.com/sv/maps/place/Mercado+Central/@13.6946788,89.1980783,17z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x8f6330ef17f0839:0x486775a83a4b8593!8m2!3d13.6946788!4d-89.1958896>
25. Grupo Callejas (2018), Salas de ventas, Súper Selectos, Disponible en: <https://www.superselectos.com/Tienda/Sucursales>
26. Guzmán, G. (2014), Extracción y Caracterización Físicoquímica del Mucílago de la semilla de Chan (*Salvia hispanica* L.) para su aplicación como aditivo nutritivo y espesante en la elaboración de una bebida en polvo, Tesis para obtener el título de Ingeniera Química, Guatemala.
27. Hernández, H., (2016) Evaluación de diferentes temperaturas en el proceso de sanitización con ETO (Óxido de etileno) en semillas de Chía (*Salvia hispánica* L.) para consumo. Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo en horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.
28. Herrera, A. (2015) Diseño de planta para la elaboración de dos productos alimenticios y un producto cosmético a base de semillas y aceite de Chía

- (*Salvia hispánica* L). Tesis de título en Ingeniería Agroindustria y de Alimentos. Universidad de las Américas, Quito.
29. Ixtaina, V. Y., (2010). “Caracterización de la semilla y el aceite de Chía (*Salvia hispánica* L.) obtenidos mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos”, Tesis de Doctorado en Ciencias Exactas, área Química, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.
 30. Lynch, M., Raphael, S., Mellor, L., Spare, P. y Inwood, M., (1985) Métodos de Laboratorio, (2ª Edición), Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., México
 31. Mapas y Fotos Satelitales. Galería de mapas de El Salvador. Disponible: http://www.zonu.com/mapas_el_salvador/San_Salvador_Map_El_Salvador.htm
 32. Márquez, D. (2014) Elaboración de un pudín nutritivo a base de semilla de Chía (*Salvia hispánica* L.). Tesis de título en Ingeniería en Alimentos. Universidad Dr. José Matías Delgado, La Libertad. El Salvador.
 33. Mataix, J. y Carazo, I. (2005), Nutrición para educadores, (2ª Edición) Volumen 1, Ediciones Diaz de Santos, España.
 34. Mendenhall, Beaver & Beaver (2010). Introducción a la probabilidad y estadística. 13 Edición, Cengage Learning Editores, S.A. de C.V., México.
 35. Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de

harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/NOM_cereales_12434.pdf

36. OMS, (Organización Mundial de la Salud), (2015). Inocuidad de los alimentos. Nota descriptiva N°399 (en línea). Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
37. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Informe Técnico sobre ingeniería agrícola y alimentaria (en línea). Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>
38. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017). Semillas. Nota informativa en línea. Disponible: <http://www.fao.org/seeSeguridadAds/es/>
39. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (1999). Importancia de la calidad e inocuidad de los alimentos para los países en desarrollo. Nota informativa del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial (en línea). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/meeting/x1845s.htm>
40. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud (2016). Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Nota informativa (en línea). Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?Option=com_content&view=article&id=10836%3A2015-enfermedadestransmitidas-por-alimentoseta&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es

41. Organización Panamericana de la Salud, (2002), Enfermedades Transmitidas por Alimentos para conocer mejor las ETA, Disponible en: <http://www.Panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?cd=152&id=67>
42. Organización Panamericana de la Salud, Educación en Inocuidad de Alimentos, Glosario de términos, (2016), Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433%3Aeducacion-inocuidadalimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&catid=1237%3Aeducation-on-food-safety&Itemid=41278&lang=es
43. Organización panamericana de la salud. Día Mundial de la Salud (2015). Nota informativa de la Inocuidad de los alimentos (en línea). Disponible en: http://www.paho.org/nic/index.php?option=com_docman&task=doc_download&id=694&Itemid=235
44. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS), Food Safety La seguridad alimentaria como política pública, (2012), Disponible en: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/otras%20pub/SeguridadAlimentaria.pdf>
45. Pachón Cubillos, D.A. (2009) Aislamiento, Identificación y Serotipificación de Enterobacterias del Genero Salmonella en una población *Crocodylus Intermedius* y Testudino mantenidos en cautiverio en la Estación de biología Tropical Roberto Franco E.B.T.R.B. de la Facultad de Ciencias- Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio – Meta, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencia Básicas, Programa Profesional de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, Colombia.

46. Pascual Anderson, Ma. del R., (2005) Enfermedades de origen alimentario su prevención, Ediciones Díaz de Santos, S.A, España
47. Pozo, S., (2010). Alternativas para el control químico de malezas en el cultivo de Chía (*Salvia hispánica* L.) en la granja ECAA, provincia de Imbabura. (Consultado 5 de febrero de 2017) Disponible en: <http://dspace.uce.edu.ec/bitstream/11010/168/1/T72373.pdf>
48. Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.01.02:10. Etiquetado General de los Alimentos previamente envasados (preenvasados). Disponible en: http://www.cita.ucr.ac.cr/sites/default/files/archivos_adjuntos/Reglamento%20T%C3%A9cnico%20Centroamericano%20de%20Etiquetado%20General%20de%20los%20Alimentos%20Preenvasados.pdf
49. Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos. Disponible en: <http://www.mspas.gob.gt/images/files/drca/normativasvigentes/RTCACriteriosMicrobiologicos.PDF>
50. Romero. R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. (en línea). México. Editorial Médica Panamericana. Disponible en: <https://books.google.com/sv/books?id=Wv026CUhR6YC&printsec=frontcover&dq=microbiologia+medica+salmonella&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjW4bb5yKDSAhWK5CYKHcFJD4EQ6AEIGjAA#v=onepage&q=microbiologia%20medica%20salmonella&f=true>
51. Sanchis, V., Allaert, C., Viñas, I., Sala, N. y Torres, M., (1997) “Prácticas Microbiología de Alimentos” Editor Universitat de Lleida P. 59 libro disponible en: <https://book.google.com/sv/books?id=Tq8nBgAAQBJ&pg=PA58&dq=mi>

crobiologia+(mohos+y+levaduras)&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwir9YTRzq3VAhUBQSYKHaH8BJcQ6AEIPzAG#v=onepage&q=microbiologia%20(mohos%20y%20levaduras)&f=false)

52. Sub-Saharan African Journal of Medicine, (2014), Laboratory perspective of gram staining and its significance in investigations of infectious diseases, Published by Wolters Kluwer – Medknow, Nigeeria, Recuperado de: <http://www.sajm.org/article.asp?issn=2384-5147;year=2014;volume=1;issue=4;spage=168;epage=174;aulast=Thairu>
53. Todar's, K., (2012) Libro de texto en línea de Bacteriología, Universidad de Wisconsin, Departamento de Bacteriología, Wisconsin-Madison Disponible en: http://textbookofbacteriology.net/ken_todar.html
54. Tortora, G. Funke, B. Case, C., (2007) "Introducción a la Microbiología, 9ª Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana. Disponible en: [https://books.google.com/sv/books?id=Nxb3iETuwplC&printsec=frontcover&dq=TORTORA,+FUNKE,+CASE+\(2007\)+%E2%80%9CIntroducci%C3%B3n+a+la+Microbiolog%C3%ADa,+9%C2%AA+Edici%C3%B3n&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwimgsvD-oDaAhUIzlkKHVYEBQMQ6AEIJTAA#v=onepage&q=TORTORA%20FUNKE%20CASE%20\(2007\)%20%E2%80%9CIntroducci%C3%B3n%20a%20la%20Microbiolog%C3%ADa%209%C2%AA%20Edici%C3%B3n&f=false](https://books.google.com/sv/books?id=Nxb3iETuwplC&printsec=frontcover&dq=TORTORA,+FUNKE,+CASE+(2007)+%E2%80%9CIntroducci%C3%B3n+a+la+Microbiolog%C3%ADa,+9%C2%AA+Edici%C3%B3n&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwimgsvD-oDaAhUIzlkKHVYEBQMQ6AEIJTAA#v=onepage&q=TORTORA%20FUNKE%20CASE%20(2007)%20%E2%80%9CIntroducci%C3%B3n%20a%20la%20Microbiolog%C3%ADa%209%C2%AA%20Edici%C3%B3n&f=false)
55. USDA, (Departamento de agricultura de los Estados Unidos), (2017), Chía aminoácidos, Bases de datos de composición de alimentos del USDA, Servicio de Investigación Agrícola, Estados Unidos.

56. Walmart, (2015), Supermercados la Despensa de Don Juan, Tiendas, Disponible en: <http://www.ladespensadedonjuan.com.sv/#tiendas>
57. Waynes Coates (2013) Chía El increíble supernutriente, Editorial EDAF; S.L.U, Madrid España. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/ebook-chía-el-increible-supernutriente-ebook/9788441432826/2108737>
58. Winn, °Allen, °Janda, °Koneman, ° Procop, ° Schreckenberger, °Woods (2008) “Koneman Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas en Color”, 6ª Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana. Disponible en: <https://books.google.com.sv/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&dq=Koneman+Diagn%C3%B3stico+Microbiologico+Texto+y+Atlas+en+Color&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiA5YGX-4DaAhUD3FMKHS06C54Q6AEIJTAA#v=onepage&q=Koneman%20Diagn%C3%B3stico%20Microbiologico%20Texto%20y%20Atlas%20en%20Color&f=false>

GLOSARIO

GLOSARIO

Agar: agente solidificante que se agrega a un medio cuando se desea que la bacteria se desarrolle sobre un medio sólido. ⁽⁵⁴⁾

Agar Papa-Dextrosa (PDA): Este medio es el más utilizado para el aislamiento, crecimiento y almacenamiento de hongos. ⁽⁵⁴⁾

Agar *Salmonella-Shigella* (SS): Es un medio altamente selectivo formulado para inhibir el crecimiento de la mayoría de los microorganismos coliformes y permitir el crecimiento de especies de *Salmonella* y *Shigella spp.* provenientes de muestras ambientales y clínicas. ⁽⁵⁸⁾

Agar Xilosa Lisina Desoxicolato Sódico: medio selectivo y diferencial para las especies *Shigella spp.* y las de *Salmonella*. La sal, desoxicolato de sodio, inhibe muchos bacilos Gram negativos que no son patógenos entéricos e inhibe a los microorganismos Gram positivos. El indicador rojo fenol en el medio detecta el aumento de acidez causado por la fermentación de los hidratos de carbono (lactosa, xilosa y sacarosa). Los patógenos entéricos, como la especie de *Shigella spp.*, no fermentan estos hidratos de carbón de modo que sus colonias permanecen “incolores” (de un color rosa a rojo similar al medio sin sembrar). Las colonias de especies de *Salmonella* también son incolores debido a la descarboxilación de la lisina, que produce un aumento del pH que determina que el indicador de pH vire al rojo. Estas colonias a menudo exhiben un centro negro como resultado de la producción de H₂S por las especies de *Salmonella*. Varios de los microorganismos no patógenos fermentan uno o más de los azúcares y producen colonias amarilla. ⁽⁷⁾

Agente patógeno: Es definido como un organismo que tiene elevada potencialidad para causar enfermedad. ⁽⁵⁸⁾

Aerobio: Organismo que precisa de oxígeno molecular (O₂) para crecer. ⁽⁵⁴⁾

Alimento: Se consideran alimentos ciertas sustancias destinadas al consumo humano para su nutrición. ⁽⁷⁾

Anaerobio: Organismo que no necesita oxígeno molecular (O₂) para crecer. ⁽⁵⁴⁾

Agar: Polisacárido complejo proveniente de un alga marina que se utiliza como agente para producir la solidificación en los medios de cultivo. ⁽⁵⁴⁾

Bacilo: 1) Toda bacteria con forma de bastón. 2) *Bacillus* (el nombre de un género) se refiere a bacterias Gram positivas anaerobias facultativas con forma de bastón y que producen endosporas. ⁽⁵⁴⁾

Bacterias: Dominio de microorganismos procariotas caracterizados por paredes celulares que contienen peptidoglucanos. ⁽⁵⁴⁾

Bacterias Gram Negativas: Bacterias que pierden el colorante violeta cristal después de la decoloración con alcohol con alcohol, se tiñen de rojo tras el tratamiento con safranina. ⁽⁵⁴⁾

Bacterias Gram Positivas: Bacterias que retienen el color violeta cristal tras la decoloración con alcohol; se tiñen de púrpura oscuro. ⁽⁵⁴⁾

Coliformes: Bacilos aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos y no formadores de esporas que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48 horas a 35° C. ⁽⁵⁴⁾

Colonia: Masa visible de células microbianas que se originan a partir de una célula o de un grupo de los mismos microbios. ⁽⁵⁴⁾

Cultivo: Microorganismos que crecen y se multiplican en un recipiente que contiene medio de cultivo. ⁽⁵⁴⁾

Cultivo de enriquecimiento: Medio de cultivo utilizado para el aislamiento preliminar que favorece el crecimiento de un microorganismo particular. ⁽⁵⁴⁾

Endospora: Estructura de reposo formada en el interior de algunas bacterias. ⁽⁵⁴⁾

Endotoxinas: Parte de la porción externa de la pared celular (lípidos A) de la mayor parte de las bacterias Gram negativas; liberada por la destrucción de la célula. ⁽⁵⁴⁾

Enfermedad de origen alimentario: Se considera a las ocasionadas al ingerir alimentos o bebidas contaminados. ⁽⁷⁾

Enfermedad infecciosa: Enfermedad en la cual los patógenos invaden a un huésped susceptible y cumplen al menos parte de su ciclo vital en el huésped. ⁽⁵⁴⁾

Enfermedades Bacterianas de Origen Alimentario: Son aquellas que resultan de bacterias infectivas o sus toxinas en un alimento y que actúan cuando son ingeridas. ⁽⁷⁾

Espora: Estructura reproductiva formada por los hongos y los actinomicetos. ⁽⁵⁴⁾

Exotoxina: Toxinas proteicas liberada sobre todo por células bacterianas Gram positivas. ⁽⁵⁴⁾

Familia: Grupo taxonómico entre orden y género. ⁽⁵⁴⁾

Flameado: Proceso de esterilización de un asa de inoculación sosteniéndola sobre la llama directa. ⁽⁵⁴⁾

Género: Primer nombre de la nomenclatura científica (binomial); entre familia y especie. ⁽⁵⁴⁾

Hifa: Filamento largo de células en hongos o actinomicetos. ⁽²⁶⁾

Higiene: Eliminación de microbios de los utensilios de cocina y de áreas de preparación de alimentos. ⁽⁵⁴⁾

Hongos: Organismo que pertenece al reino fungí; eucarionte e quimioheterótrofo. ⁽⁵⁴⁾

Infección alimentaria: Enfermedades ocasionadas por la ingestión de ciertas bacterias vivas en una dosis adecuada que, previamente, han logrado crecer y multiplicarse en el alimento ingerido. En este caso, las bacterias actúan invadiendo el organismo del huésped o liberando toxinas en su tracto intestinal o cualquier otro órgano. ⁽⁴⁶⁾

Inóculo: Medio de cultivo en el que siembran los microorganismos. ⁽⁵⁴⁾

Intoxicación o intoxicación Alimentaria: Enfermedad que se produce como consecuencia de la ingestión de una toxina microbiana. ⁽⁵⁴⁾

-Enfermedades ocasionadas por la absorción intestinal de toxinas sintetizadas por ciertas bacterias al crecer y multiplicarse sobre un alimento. En este caso no son bacterias vivas las que provocan la enfermedad sino sustancias tóxicas elaboradas por algunas especies bacterianas. ⁽⁴⁶⁾

Levaduras: Son hongos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. ⁽⁵⁸⁾

Medio de cultivo: Material nutritivo preparado para el crecimiento de microorganismos en el laboratorio. ⁽⁵⁴⁾

Medio diferencial: Medio de cultivo sólido que facilita la distinción entre colonias de un microorganismo dado. ⁽⁵⁴⁾

Medio selectivo: Medio de cultivo destinado a suprimir el crecimiento de microorganismos no deseados y estimular el desarrollo de los que se investigan.

⁽⁵⁴⁾

Método de siembra en estría en placa: Método de aislamiento en cultivo mediante la siembra en estrías de los microorganismos sobre la superficie de un medio de cultivo sólido. ⁽⁵⁴⁾

Método del número más probable: Determinación estadística del número de coliformes por 100 mL de agua o 100 g de alimento. ⁽⁵⁴⁾

Micelio: Masa de filamentos largos de células que se ramifican y entrelazan; característica típica de los hongos filamentosos. ⁽⁵⁴⁾

Micotoxina: Toxina producida por un hongo. ⁽⁵⁴⁾

Microorganismo: Organismo vivo demasiado pequeño para ser visualizado a simple vista; incluye bacterias, hongos, protozoos y algas microscópicas; también comprende los virus. ⁽⁵⁴⁾

Muestreo aleatorio estratificado: el proceso consiste en dividir la población en grupos llamados estratos. Dentro de cada estrato están los elementos situados de manera más homogénea con respecto a las características en estudio. ⁽⁶⁾

Muestreo aleatorio simple: es un procedimiento de selección de una muestra por el cual todos y cada uno de los elementos de la población tienen igual probabilidad de ser incluidos en la muestra; entonces si toda una unidad disponible para observación (llamada unidad de muestreo) tiene la misma probabilidad de ser escogida, se sigue que, “toda muestra aleatoria de igual tamaño, tomada de una población dada, ha de tener la misma probabilidad de ser tomada”. ⁽⁶⁾

Orden: Clasificación taxonómica entre clase y familia. ⁽⁵⁴⁾

Patógeno: 1) Se denomina a un microorganismo capaz de ocasionar infecciones. 2) Organismo que causa enfermedad. ⁽⁵⁸⁾

Periodo de incubación: 1) Intervalo temporal entre la infección real y la primera aparición de cualquiera de signos o los síntomas de la enfermedad, 2) Periodo de aislamiento bajo condiciones establecidas de temperatura, tiempo, humedad, etc., requeridos para que se multiplique una población bacteriana. ⁽⁵⁸⁾

Producción de Indol: Esta prueba se desarrolla para determinar si la bacteria en estudio está en capacidad de desdoblar el Indol de la molécula de triptófano; el Indol es uno de los componentes de la degradación metabólica de aminoácidos triptófano. Las bacterias que poseen la triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de Indol, ácido pirúvico y amoniaco. La prueba se basa en la formación de un complejo rojo cuando el Indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo de los reactivos de Kovacs y Ehrlich, utilizados para la identificación de producción de Indol por parte de los microorganismos. ⁽⁴⁵⁾

Prueba de motilidad: Sirve para determinar si un organismo es móvil o inmóvil. La movilidad de las bacterias es consecuencia de la presencia de flagelos que se encuentran principalmente entre los bacilos, aunque algunas formas de cocos son móviles. Esta prueba es llevada a cabo en un medio de cultivo semisólido (SIM), donde a su vez es evaluada la producción de Indol y de ácido sulfhídrico por los microorganismos. Las bacterias móviles producirán un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria de los microorganismos. Por el contrario, las bacterias inmóviles permanecerán en la misma picadura donde se sembraron. ⁽⁴⁵⁾

Recuento de placas: Método de determinación del número de bacterias en una muestra mediante el recuento del número de unidades formadoras de colonias en un medio de cultivo sólido. ⁽⁵⁴⁾

Salmonelosis: Es una enfermedad de origen alimentario producida por la ingestión de alimentos contaminados con distintas especies del género Salmonella. ⁽⁴⁶⁾

Tinciones: Son preparaciones acuosas u orgánicas de colorantes o grupo de colorantes que proporcionan una variedad de colores a los microorganismos y a los tejidos vegetales y animales, u otras sustancias de importancia biológica. ⁽⁷⁾

Toxina: Toda sustancia venenosa producida por un microorganismo. ⁽⁵⁴⁾

Toxina de Shiga: Exotoxina producida por *Shigella dysenteriae* y *E. coli* enterohemorrágica. ⁽⁵⁴⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1



Figura N° 14. Ubicación del Distrito 1 en el Área Metropolitana del Departamento de San Salvador. (4)

ANEXO N° 2

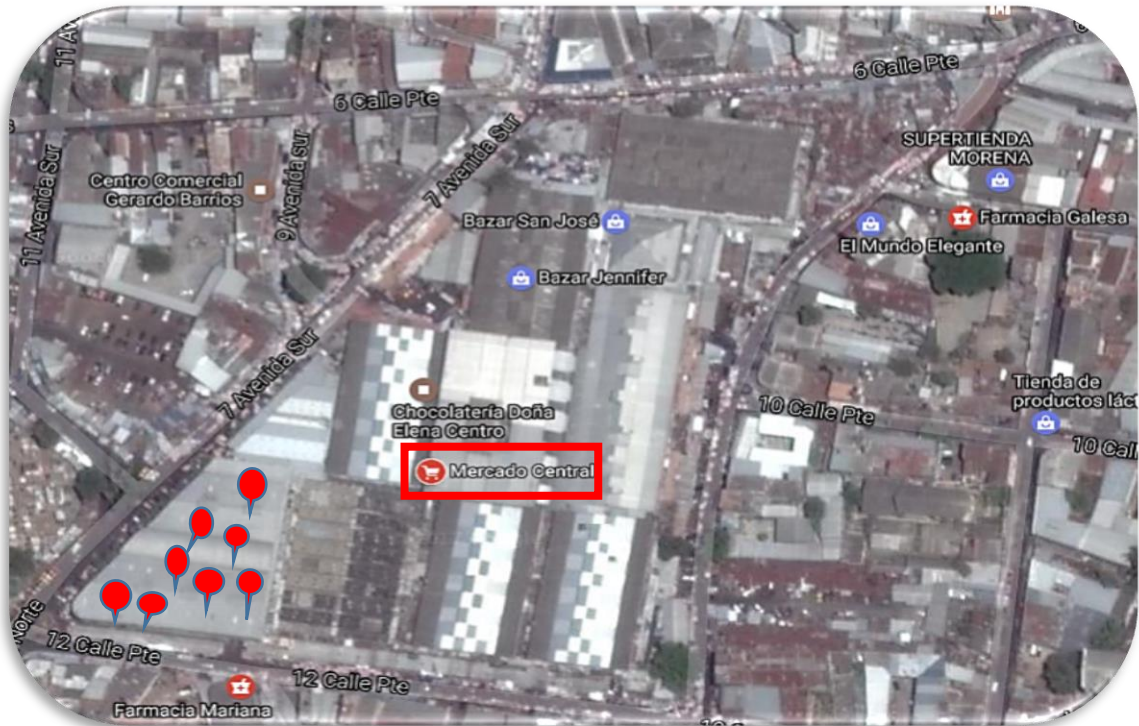


Figura N° 15. Ubicación de los puestos del Mercado Central donde se tomarán las muestras de *Salvia hispanica* L. (Chía). (24)

ANEXO N° 3



Figura N° 16. Ubicación de las rutas de acceso a los puestos para ingresar al Mercado San Miguelito. (12)

ANEXO N° 4

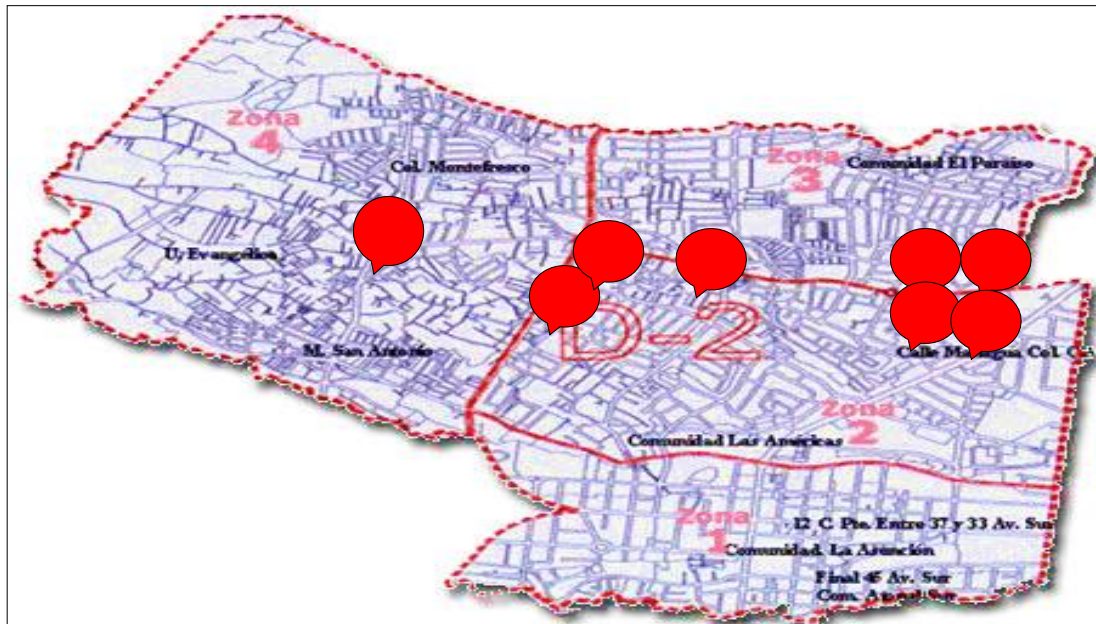


Figura N° 17. Ubicación del Distrito 2 en el Área Metropolitana del Departamento de San Salvador. (3)

8	¿El vendedor hace uso de una pala dosificadora de aluminio para granos para ajustar la pesada?									
9	¿El vendedor hace uso de sus manos para ajusta la pesada?									

P= PUESTO

Observaciones: _____

ANEXO N° 6

Lista de chequeo



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



OBJETIVO: Identificar las condiciones en las que se comercializa la semilla de Chía en los Supermercado del Distrito 2 del Área Metropolitana de San Salvador.

N°	LISTA DE CHEQUEO PARA INSPECCIONAR ZONAS DE ALMACENAMIENTO DE LA SEMILLA DE CHIA	Fecha : / /						
	SUPERMERCADO:							
	ITEMS	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	Observaciones
1	¿Tipo de empaque que contiene a la semilla de Chía?							
2	¿Las semillas de Chía se encuentran contiguo a otras especies de la misma naturaleza?							
3	¿El empaque presenta fecha de empaquetado de la semilla?							
4	¿El empaque presenta fecha de vencimiento?							
5	¿El empaque presenta número de registro?							
6	¿El empaque presenta información de procedencia de la semilla de Chía?							
7	¿Presentación de contenido neto (g)?							

S= SUPERMERCADO

Observaciones: _____

ANEXO N° 7

Tabla N° 7. Resultado de la lista de chequeo de inspección de los Mercados Central y San Miguelito

N°	ITEMS	Mercado Central (8 puestos) Porcentaje			Mercado San Miguelito (4 puestos) Porcentaje	
		Si	No	Observación	Si	No
1	¿Los sacos que contienen semilla de Chía se encuentran sobre tarimas?	12.5 %	87.5 %		50 %	50 %
2	¿Los sacos que contienen semilla de Chía se encuentran sobre el suelo?	25 %	75 %		0 %	100 %
3	¿La semilla de Chía se encuentra contenida en frascos de vidrio?	*12.5 %	87.5 %	*frasco plástico	50 %	50 %
4	¿La semilla de Chía se halla libreada en bolsas plásticas y colgadas?	50 %	50 %		25 %	75%
5	¿La semilla se encuentra en sacos que se encuentra abierto al aire?	25 %	75 %		25 %	75 %
6	¿El saco que contiene la semilla de Chía se encuentra cerrado?	12.5 %	87.5 %		0 %	100 %
7	¿El vendedor hace uso de un guacal de morro para ajustar la pesada?	0 %	100 %		0 %	100 %

Tabla N° 7 (Continuación)

8	¿El vendedor hace uso de una pala dosificadora de aluminio para granos para ajustar la pesada?	50 %	50 %		75 %	25 %
9	¿El vendedor hace uso de sus manos para ajusta la pesada?	25 %	75 %		0 %	100 %

Ejemplo

8 puestos----- 100%

1 puesto ----- x

$$x = 37\%$$

ANEXO N° 8

Tabla N° 8. Resultado de la lista de chequeo realizada a los Súper Selectos y Despensa de Don Juan.

N°	ITEMS	S. S (6 sucursales) Porcentaje		D. J (2 sucursales) Porcentaje	
		Si	No	Si	No
1	¿Tipo de empaque que contiene a la semilla de Chía? Bolsa plástica transparente, sellada	100 %	0 %	100 %	0 %
2	¿Las semillas de Chía se encuentran contigo a otras especies de la misma naturaleza?	Colgada: 66.66 %	0 %	100 %	0 %
		Estante: 33.33 %	0 %		
3	¿El empaque presenta fecha de empaquetado de la semilla?	83.33 %	16.66 %	0 %	100 %
4	¿El empaque presenta fecha de vencimiento?	100 %		100 %	0 %
5	¿El empaque presenta número de registro?	66.66 %	33.33 %	100 %	0 %
6	¿El empaque presenta información de procedencia de la semilla de Chía?	100 %	0 %	0 %	100 % Declara empacado en El Salvador
7	¿Presentación de contenido neto (g)?	30 g : 66.66 %	0 %	30 g: 100 %	0 %
		28 g: 33.33 %	0 %		

ANEXO N° 9

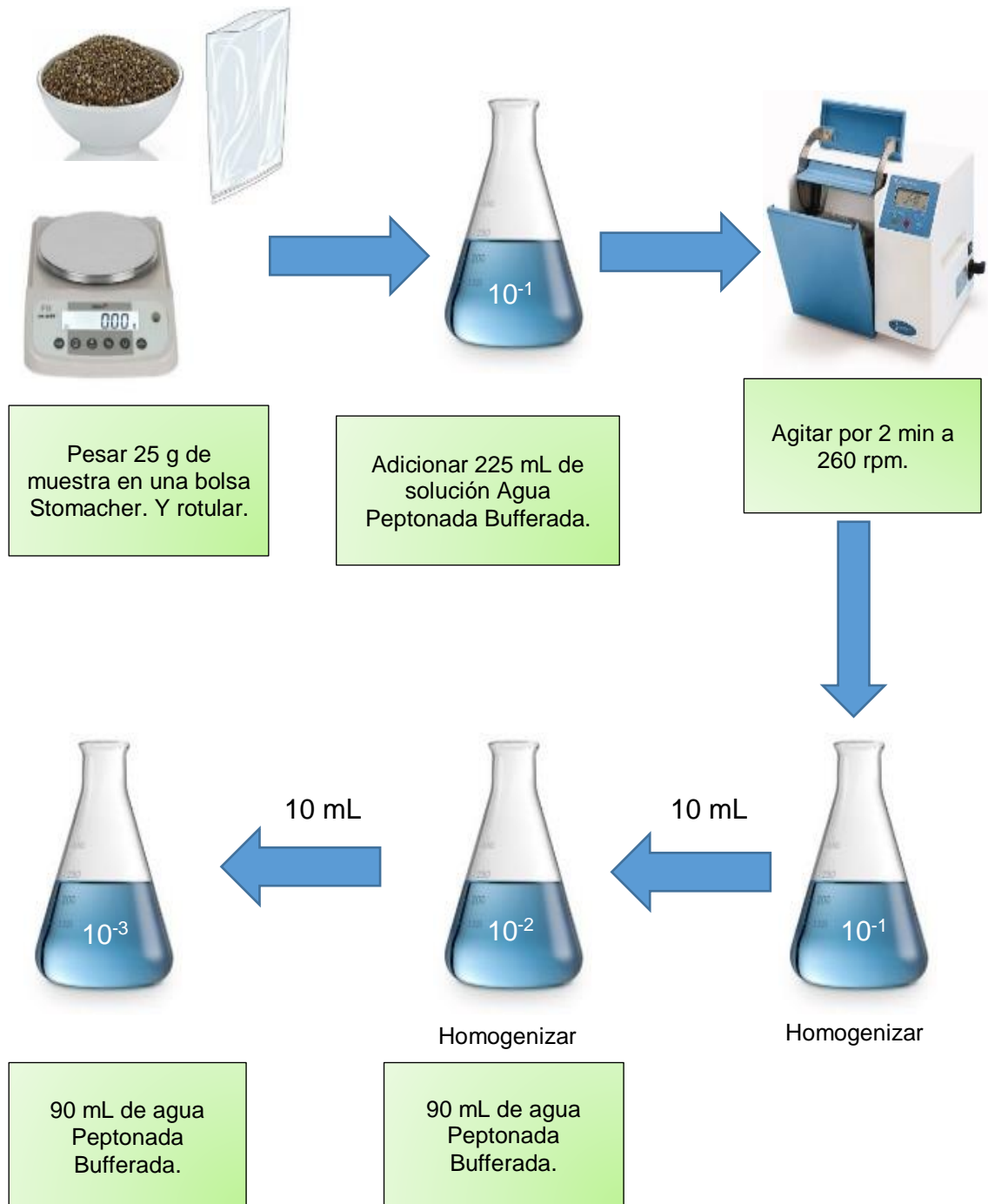


Figura N° 18. Esquema de dilución de muestras de semillas de *Salvia hispanica* L. (Chía) ⁽¹⁸⁾

ANEXO N° 10

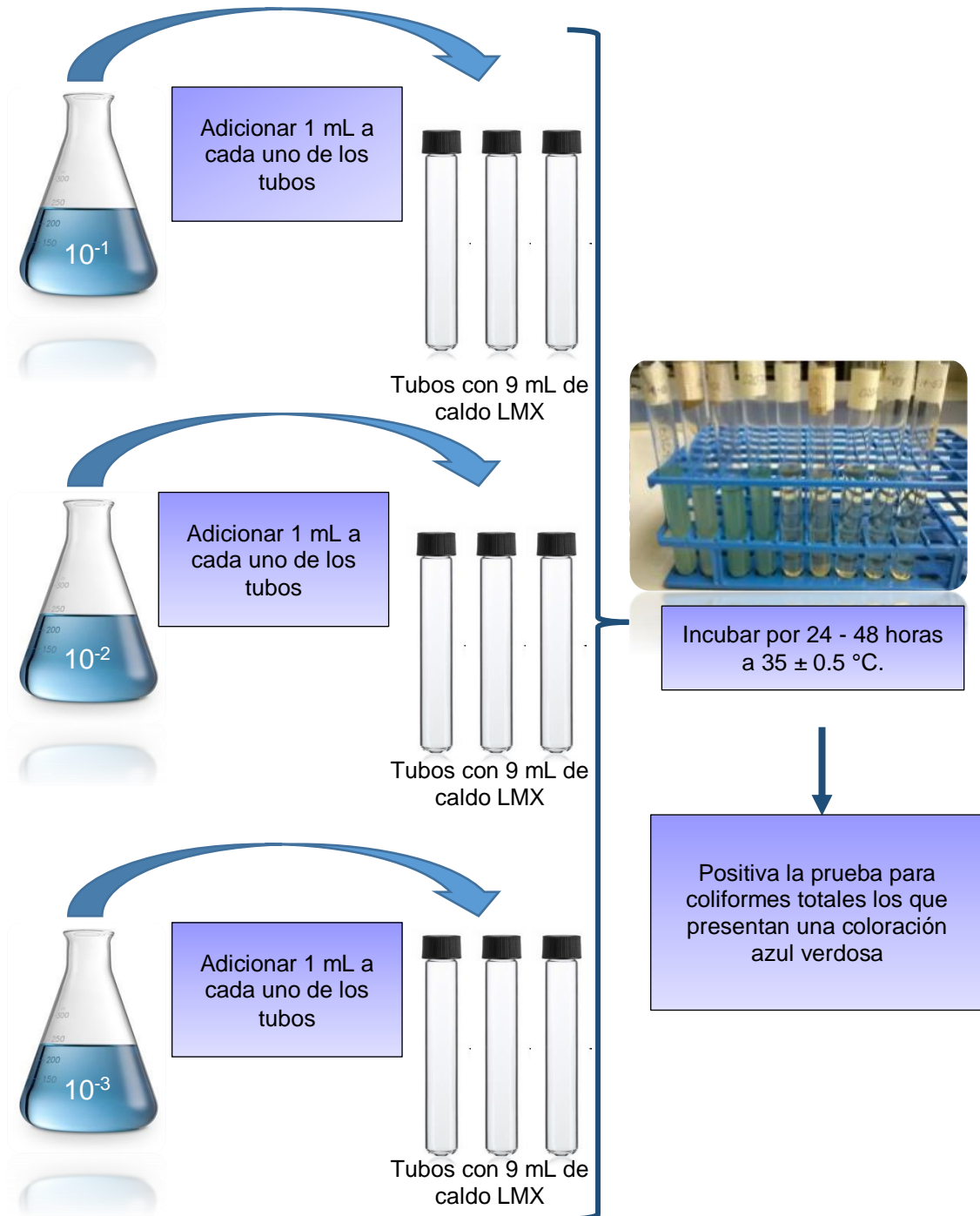


Figura N° 19. Esquema de la Técnica del Número Más Probable (NMP) para la determinación de coliformes totales. (17)

ANEXO N° 11

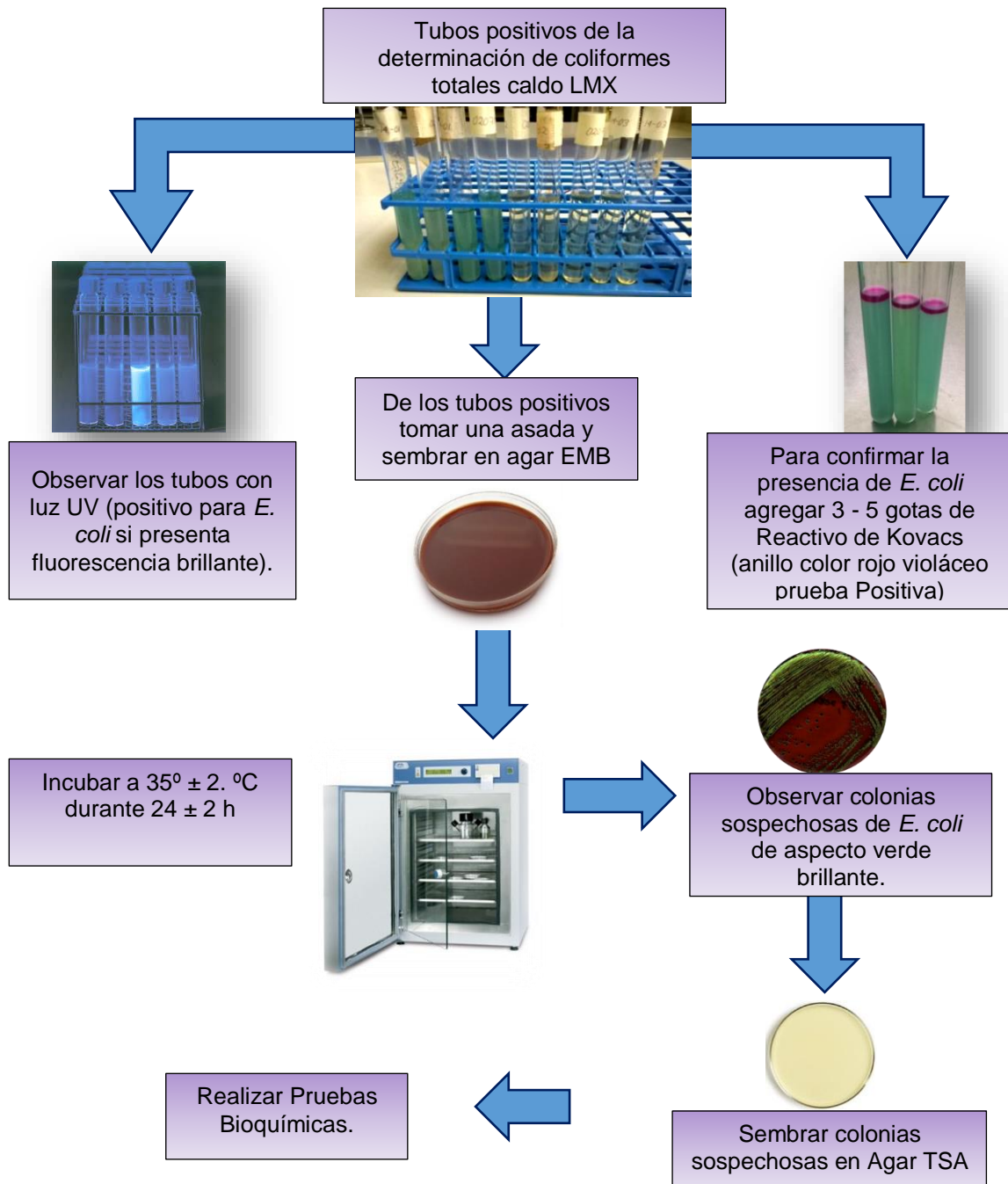


Figura N° 20 Esquema del procedimiento para la determinación de *Escherichia coli*. (18)

ANEXO N° 12

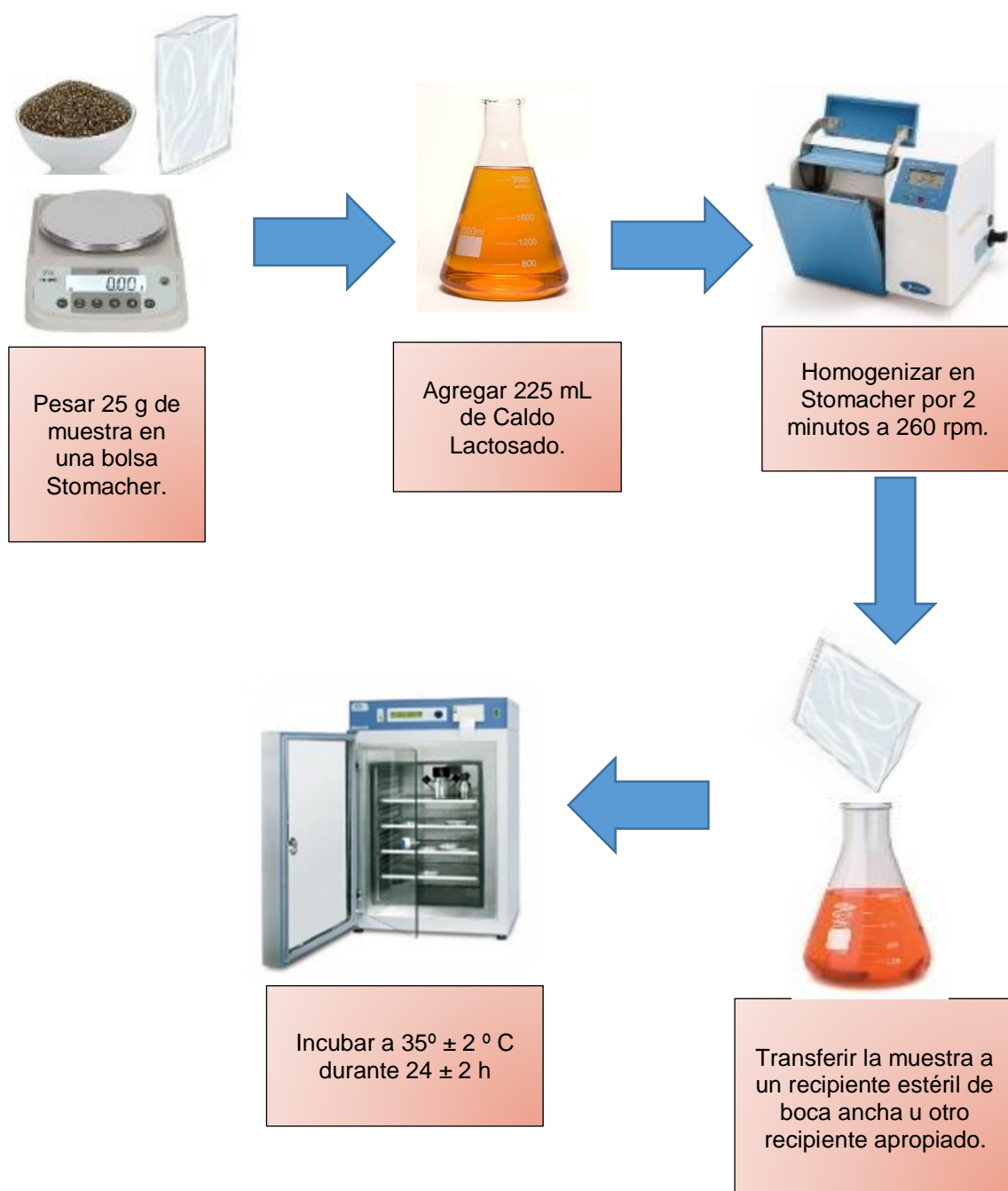


Figura N° 21. Esquema del tratamiento de muestra para la determinación de la especie *Salmonella spp.* (19)

ANEXO N° 13

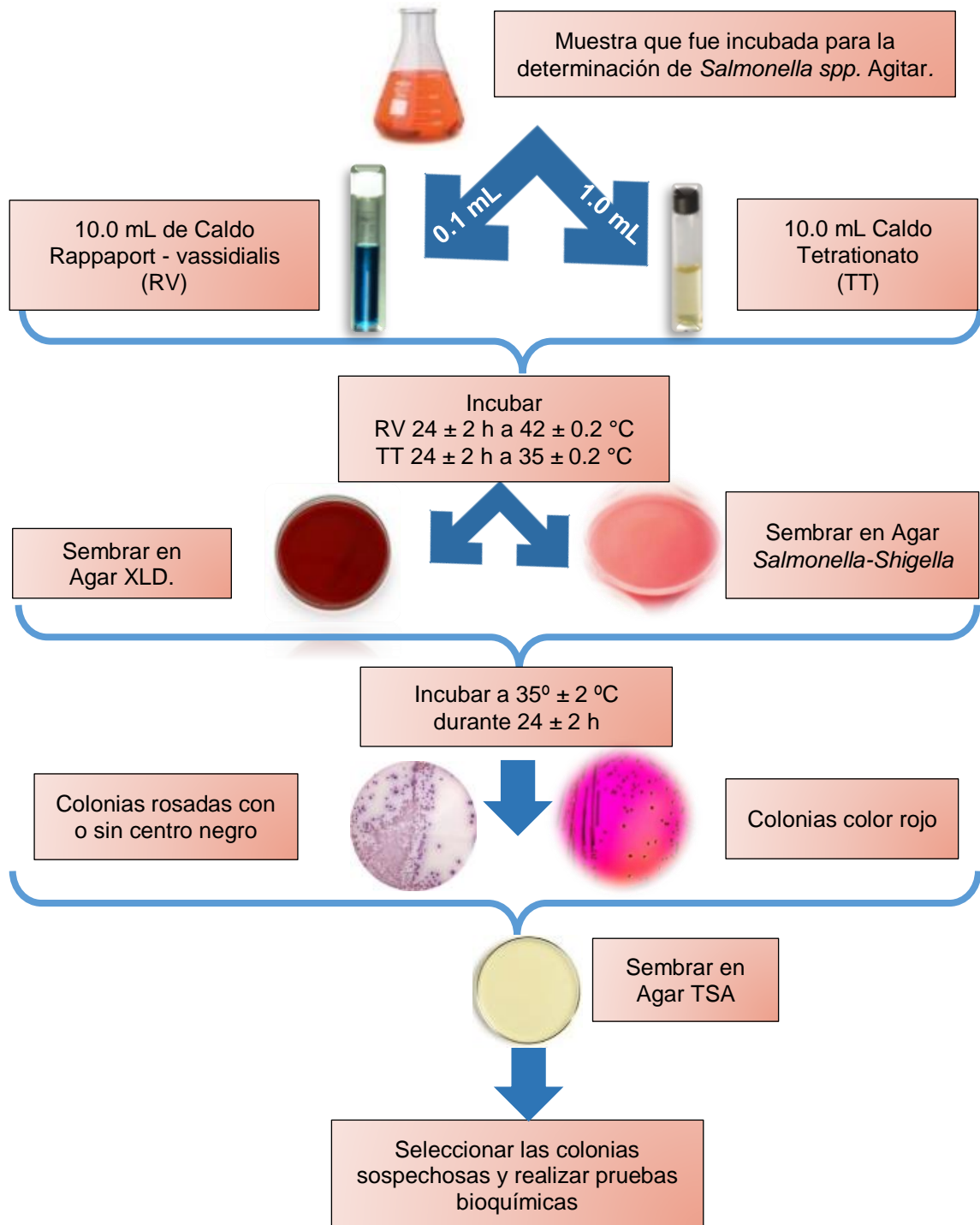


Figura N° 22. Esquema de procedimiento para la determinación de *Salmonella spp.* (19)

ANEXO N° 14

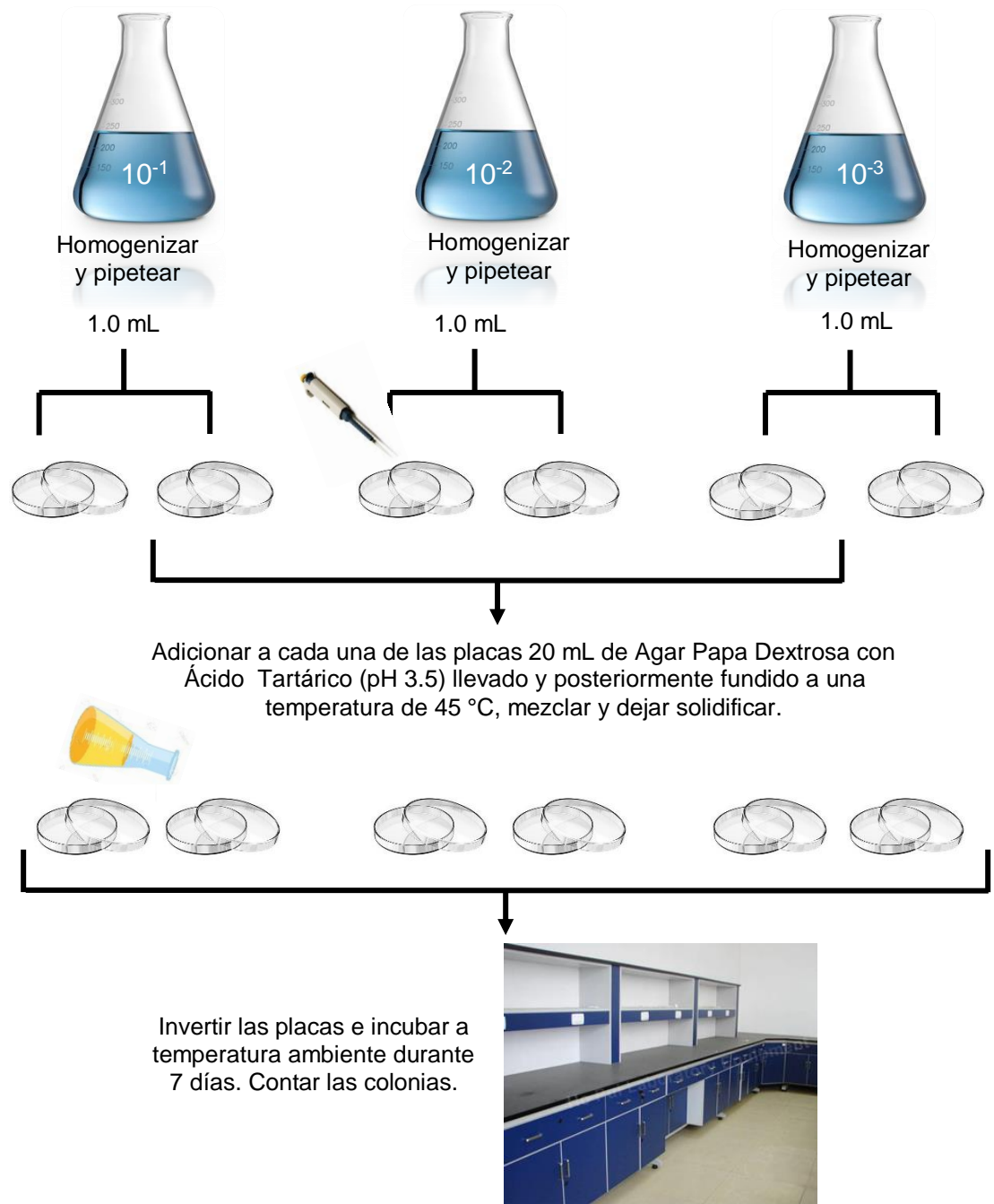


Figura N° 23. Esquema para determinar la presencia de Hongos y Levaduras en la muestra. (20)

ANEXO N° 15

Tabla N° 15: Número Más Probable (NMP) detección de coliformes totales. Para 3 tubos cada uno con 0.1, 0.01 y 0.001 g de inóculo, con límites de confianza de 95%. ⁽¹⁷⁾

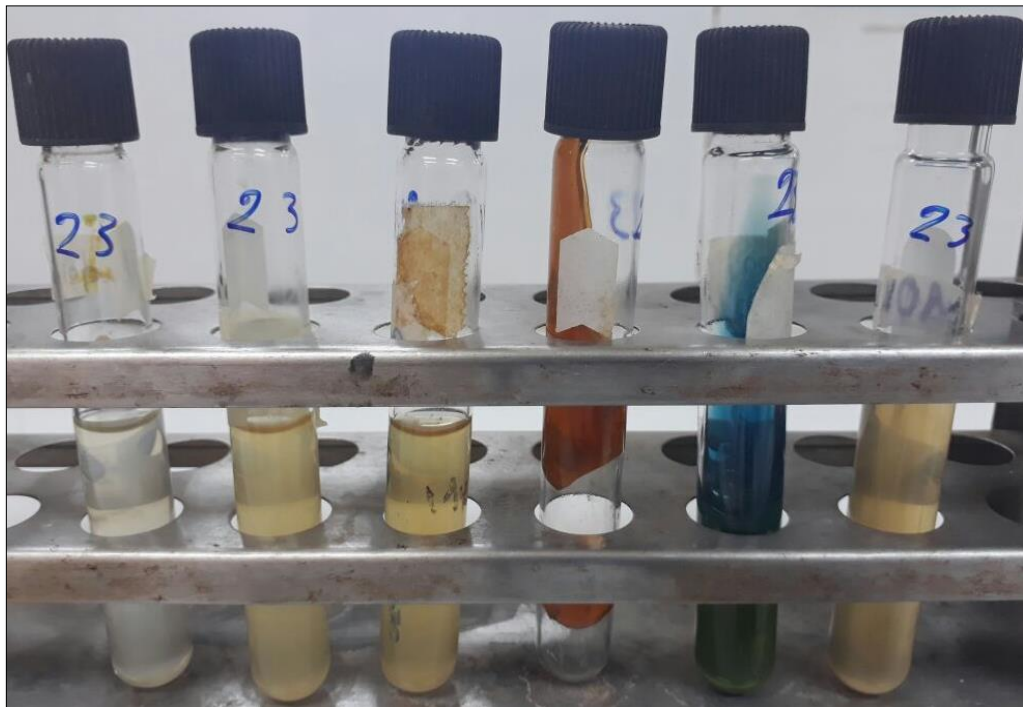
Combinación de tubos positivos			NPM/g	Límites de confianza		Combinación de tubos positivos			NPM/g	Límites de confianza	
0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	<3.0	-	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	4,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	-

ANEXO N°16

a)

Cuadro N°15. Pruebas Bioquímicas para *Escherichia coli*.⁽³⁰⁾

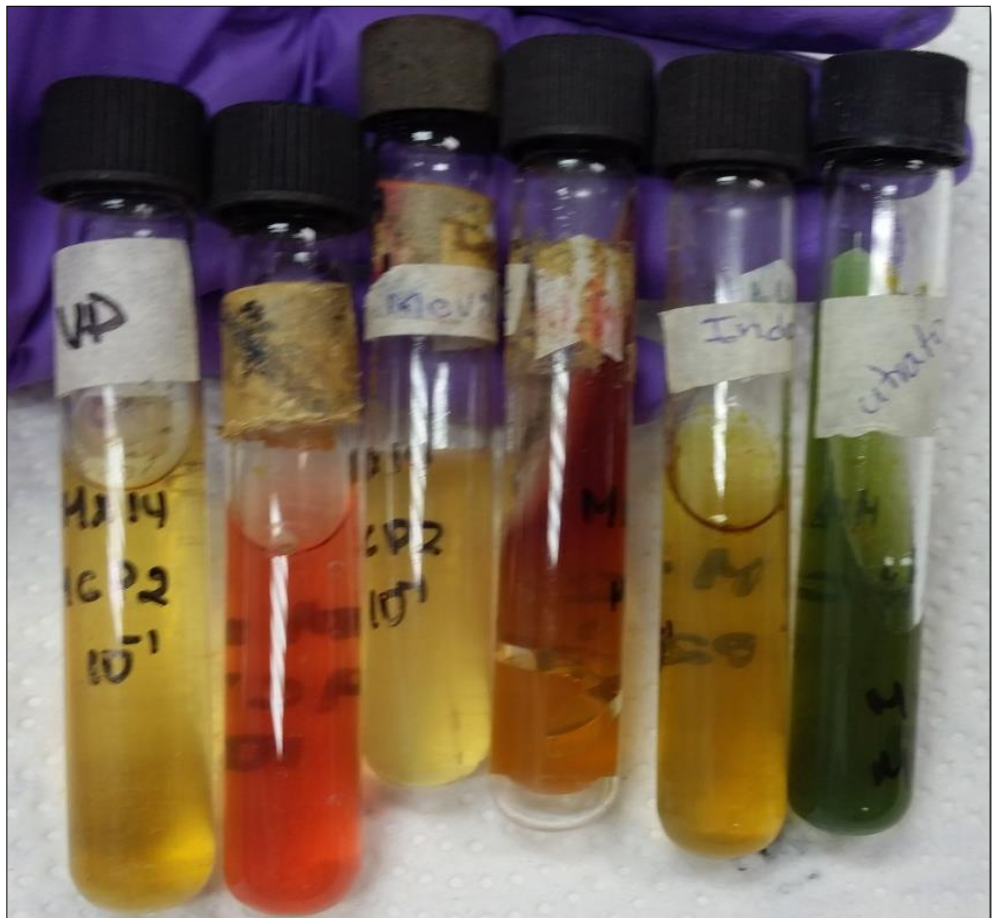
Bacteria	TSI				Indol	Rojo de Metilo	VP	Citrato	Movilidad
	Bisel	Fondo	Gas	H ₂ S					
<i>Escherichia coli</i>	A o K	A	+ o -	-	+	+	-	-	+ o -
Resultados en el laboratorio									
<i>Klebsiella sp</i>	A	A	+	-	-	-	-	+	-

Figura N° 24. Fotografía de resultados de bioquímicas para *Klebsiella sp*

b)

Cuadro N°16. Pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp.* (30)

Bacteria	TSI				Indol	Rojo de Metilo	VP	Citrato	Movilidad
	Bisel	Fondo	Gas	H ₂ S					
<i>Salmonella</i>	K	A	+	+	-	+	-	+	+
Resultados en el laboratorio									
<i>Shigella spp.</i>	K	A	-	-	-	+	-	-	-

Figura N° 25. Fotografía de resultados de bioquímicas para *Shigella*

ANEXO N°17

Cuadro N°17. Resultado de las pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.⁽²⁾

#	Prueba o sustrato	Reactivos	Resultado		Resultado obtenido
			Positivo	Negativo	
1	Indol	5 gotas de éter etílico + 5 gotas de reactivo de Ehrlich.	Se forma un anillo violeta en la superficie del caldo.	Anillo de color amarillo en la Superficie	Negativo
2	Rojo de Metilo	Agregar 5 gotas de rojo de metilo.	El medio cambia a Rojo difuso	Difusa de color amarillo	Negativo
3	Voges Proskauer	1 mL de KOH + 1 mL de alfa-naftol.	El medio cambia a Rosado rojo	No hay cambio de color	Negativo
4	Simmons Citrato	Medio color verde inicial.	El medio cambia a color azul	No hay crecimiento; Ningún cambio de color.	Positivo
5	Movilidad	Observar movilidad	Se observa Movilidad en el medio solo a lo largo de la línea de punción.	Sin movilidad mostrando un crecimiento difuso que se disemina a partir del punto de inoculación.	Negativo
6	TSI	Ver coloración de Bisel y fondo. Observar producción de gas y H ₂ S.	Fondo amarillo con ennegrecimiento y producción de gas en el medio.	Sin ennegrecimiento	Positivo

ANEXO N° 18

Cuadro N° 18. Resultado de las pruebas bioquímicas de *Salmonella spp.* (2)

#	Prueba o sustrato	Reactivos	Resultado		Resultado obtenido
			Positivo	Negativo	
1	Indol	5 gotas de éter etílico + 5 gotas de reactivo de Ehrlich.	Se forma un anillo violeta en la superficie del caldo.	Anillo de color amarillo en la Superficie	Negativo
2	Rojo de Metilo	Agregar 5 gotas de rojo de metilo.	El medio cambia a Rojo difuso	Difusa de color amarillo	Positivo
3	Voges Proskauer	1 mL de KOH + 1 mL de alfa-naftol.	El medio cambia a Rosado rojo	No hay cambio de color	Negativo
4	Simmons Citrato	Medio color verde inicial.	El medio cambia a color azul	No hay crecimiento; Ningún cambio de color.	Negativo
5	Movilidad	Observar movilidad	Se observa Movilidad en el medio solo a lo largo de la línea de punción.	Sin movilidad mostrando un crecimiento difuso que se disemina a partir del punto de inoculación.	Negativo
6	TSI	Ver coloración de Bisel y fondo. Observar producción de gas y H ₂ S.	Fondo amarillo con ennegrecimiento y producción de gas en el medio.	Sin ennegrecimiento	Positivo

ANEXO N°19

Criterios Microbiológicos

a)

Cuadro N° 19. Criterios microbiológicos del Grupo15: bocadillos o boquitas de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 ⁽⁴⁹⁾

15.2 Subgrupo del alimento: Semillas y nueces			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	B	< 3 NMP/g
<i>Salmonella spp/25 g</i>	10		Ausencia

Se presenta los límites microbiológicos de las semillas en general, las cuales no deben contener microorganismos en un número no mayor de lo especificado.

b)

Cuadro N°20. Criterios microbiológicos de Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 ⁽³⁵⁾

Especificaciones	Límite máximo
Mesófilos aerobios	10000UFC/g
Hongos	300 UFC/g
Coliformes totales	< 30 UFC/g

ANEXO N° 20



 <p style="text-align: center;">Universidad de El salvador Facultad de Química y Farmacia Datos de la muestra de <i>Salvia hispánica</i> L (Chía)</p> 	
Lugar de muestreo	
<input type="checkbox"/> Mercado:	<input type="checkbox"/> Supermercado:
Fecha de muestreo:	
Hora de recolección de muestra:	
Código de muestra:	
Número de puesto:	
Nombre del Analista:	

Figura N° 26. Etiqueta de identificación de cada una de las muestras

ANEXO N° 21

Cuadro N°19. Códigos de las muestras del Mercado Central

Puestos de Venta		Código de muestras
Puesto 1	Toma de muestra 1	MCP1-M1
	Toma de muestra 2	MCP1-M2
Puesto 2	Toma de muestra 1	MCP2-M1
	Toma de muestra 2	MCP2-M2
Puesto 3	Toma de muestra 1	MCP3-M1
	Toma de muestra 2	MCP3-M2
Puesto 4	Toma de muestra 1	MCP4-M1
	Toma de muestra 2	MCP4-M2
Puesto 5	Toma de muestra 1	MCP5-M1
	Toma de muestra 2	MCP5-M2
Puesto 6	Toma de muestra 1	MCP6-M1
	Toma de muestra 2	MCP6-M2
Puesto 7	Toma de muestra 1	MCP7-M1
	Toma de muestra 2	MCP7-M2
Puesto 8	Toma de muestra 1	MCP8-M1
	Toma de muestra 2	MCP8-M2

MC: mercado central

PX: puesto X

MX: muestreo X

ANEXO N° 22

Cuadro N° 20. Códigos de las muestras del Mercado San Miguelito

Puestos de Venta		Código de muestras
Puesto 1	Toma de muestra 1	MSMP1-M1
	Toma de muestra 2	MSMP1-M2
Puesto 2	Toma de muestra 1	MSMP2-M1
	Toma de muestra 2	MSMP2-M2
Puesto 3	Toma de muestra 1	MSMP3-M1
	Toma de muestra 2	MSMP3-M2
Puesto 4	Toma de muestra 1	MSMP4-M1
	Toma de muestra 2	MSMP4-M2

MSM: Mercado San Miguelito

PX: puesto X

MX: muestreo X

ANEXO N° 23

Cuadro N° 21. Códigos de las muestras de los Supermercados

Puestos de Venta Súper Selectos		Código de muestra
Sucursal 1	Toma de muestra 1	SSM-M1
	Toma de muestra 2	SSM-M2
Sucursal 2	Toma de muestra 1	SSM6a-M1
	Toma de muestra 2	SSM6a-M2
Sucursal 3	Toma de muestra 1	SSL-M1
	Toma de muestra 2	SSL-M2
Sucursal 4	Toma de muestra 1	SSMO-M1
	Toma de muestra 2	SSMO-M2
Sucursal 5	Toma de muestra 1	SSM8a-M1
	Toma de muestra 2	SSM8a-M2
Sucursal 6	Toma de muestra 1	SSMi-M1
	Toma de muestra 2	SSMi-M2
Puestos de Venta de Despensa de Don Juan		Código de muestra
Sucursal 1	Toma de muestra 1	DJM-M1
	Toma de muestra 2	DJM-M2
Sucursal 2	Toma de muestra 1	DJEN-M1
	Toma de muestra 2	DJEN-M2

SS: Súper Selectos

DJ: Despensa de Don Juan

MX: muestreo X

ANEXO N° 24

Tabla N° 16. Tabla de Distribución Normal Estándar. ⁽³⁴⁾

Z	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,500	0,5040	0,5080	0,5120	0,5160	0,5199	0,5239	0,5279	0,5319	0,5359
0,1	0,5398	0,5438	0,5478	0,5517	0,5557	0,5596	0,5636	0,5675	0,5714	0,5753
0,2	0,5793	0,5832	0,5871	0,5910	0,5948	0,5987	0,6026	0,6064	0,6103	0,6141
0,3	0,6179	0,6217	0,6255	0,6293	0,6331	0,6369	0,6406	0,6443	0,6480	0,6517
0,4	0,6554	0,6591	0,6628	0,6664	0,6700	0,6736	0,6772	0,6808	0,6844	0,6879
0,5	0,6915	0,6950	0,6985	0,7019	0,7054	0,7088	0,7123	0,7157	0,7190	0,7224
0,6	0,7257	0,7291	0,7324	0,7357	0,7389	0,7422	0,7454	0,7486	0,7517	0,7549
0,7	0,7580	0,7611	0,7642	0,7673	0,7703	0,7734	0,7764	0,7794	0,7823	0,7852
0,8	0,7881	0,7910	0,7939	0,7967	0,7995	0,8023	0,8051	0,8078	0,8106	0,8133
0,9	0,8159	0,8186	0,8212	0,8238	0,8264	0,8289	0,8315	0,8340	0,8365	0,8389
1,0	0,8413	0,8438	0,8461	0,8485	0,8508	0,8531	0,8554	0,8577	0,8599	0,8621
1,1	0,8643	0,8665	0,8686	0,8708	0,8729	0,8749	0,8770	0,8790	0,8810	0,8830
1,2	0,8849	0,8869	0,8888	0,8907	0,8925	0,8944	0,8962	0,8980	0,8997	0,9015
1,3	0,9032	0,9049	0,9066	0,9082	0,9099	0,9115	0,9131	0,9147	0,9162	0,9177
1,4	0,9192	0,9207	0,9222	0,9236	0,9251	0,9265	0,9279	0,9292	0,9306	0,9319
1,5	0,9332	0,9345	0,9357	0,9370	0,9382	0,9394	0,9406	0,9418	0,9429	0,9441
1,6	0,9452	0,9463	0,9474	0,9484	0,9495	0,9505	0,9515	0,9525	0,9535	0,9545
1,7	0,9554	0,9561	0,9573	0,9582	0,9591	0,9599	0,9608	0,9616	0,9625	0,9633
1,8	0,9641	0,9649	0,9656	0,9664	0,9671	0,9678	0,9686	0,9693	0,9699	0,9706
1,9	0,9713	0,9719	0,9726	0,9732	0,9738	0,9744	0,9750	0,9756	0,9761	0,9767
2,0	0,9772	0,9778	0,9783	0,9788	0,9793	0,9798	0,9803	0,9808	0,9812	0,9817
2,1	0,9821	0,9826	0,9830	0,9834	0,9838	0,9842	0,9846	0,9850	0,9854	0,9857
2,2	0,9861	0,9864	0,9868	0,9871	0,9875	0,9878	0,9881	0,9884	0,9887	0,9890
2,3	0,9893	0,9896	0,9898	0,9901	0,9901	0,9906	0,9909	0,9911	0,9913	0,9916
2,4	0,9918	0,9920	0,9922	0,9925	0,9927	0,9929	0,9931	0,9932	0,9934	0,9936
2,5	0,9938	0,9940	0,9941	0,9943	0,9945	0,9946	0,9948	0,9949	0,9951	0,9952
2,6	0,9953	0,9954	0,9956	0,9957	0,9959	0,9960	0,9961	0,9962	0,9963	0,9964
2,7	0,9965	0,9966	0,9967	0,9968	0,9969	0,9970	0,9971	0,9972	0,9973	0,9974

ANEXO N° 25

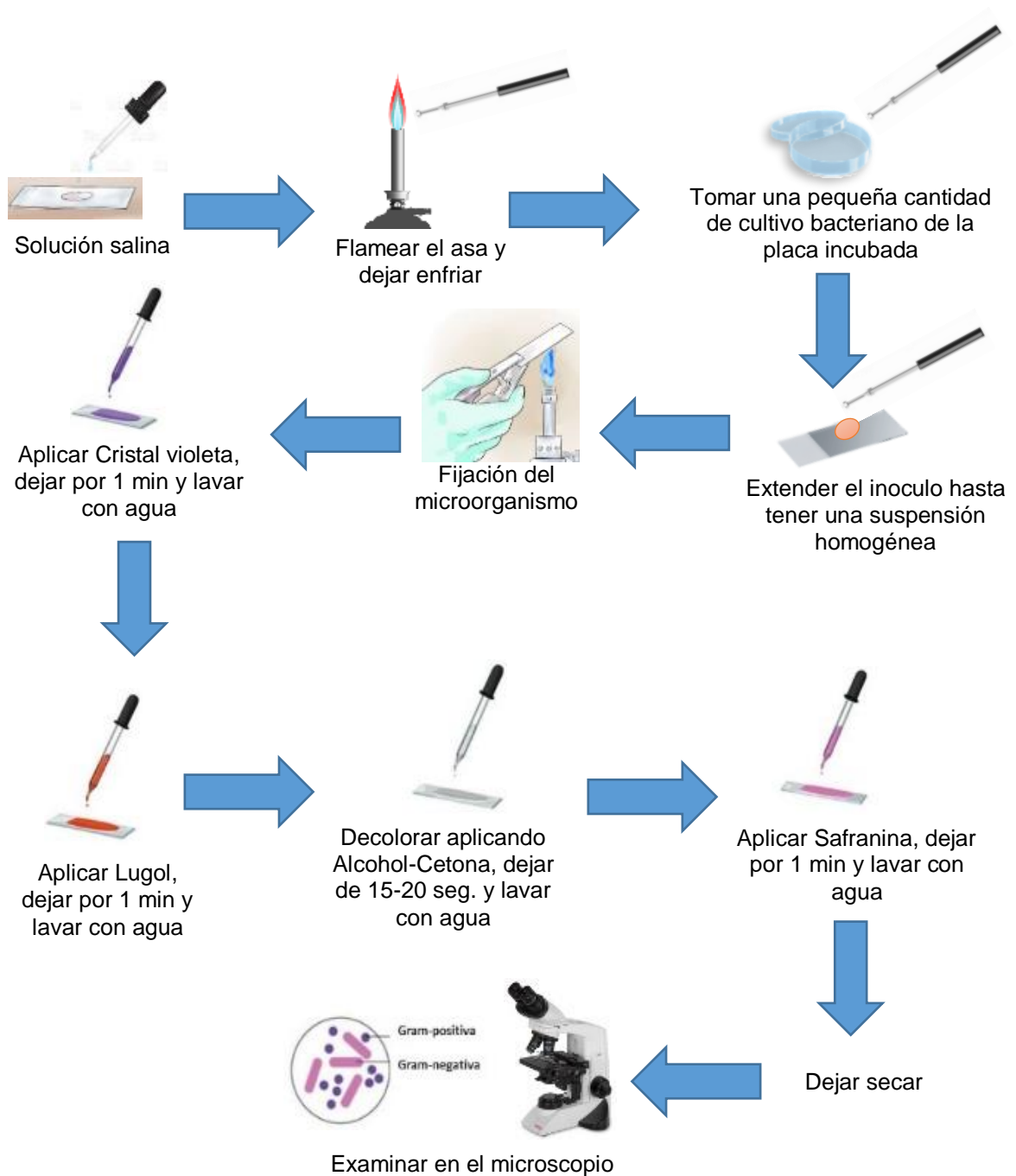


Figura N° 27. Esquema de realización de Tinción al Gram

ANEXO N°26

Material para el análisis microbiológico.

Medios de cultivo

- Agar Citrato
- Agar EMB
- Agar movilidad (prueba SIM)
- Agar Papa Dextrosa
- Agar *Salmonella-Shigella*
- Agar TSA
- Agar TSI
- Agar XLD
- Caldo Indol
- Caldo Lactosado
- Caldo LMX
- Caldo Rappapor-Vassiladis
- Caldo Rojo de Metilo
- Caldo Tetrionato
- Peptona Bufferada

Reactivos

- Ácido Tartárico
- Alcohol-cetona
- Alfa-Naftol
- Cristal violeta
- Éter etílico
- Hidróxido de Potasio (KOH)
- Lugol

- Reactivo de Ehrlich
- Reactivo de Kovacs
- Rojo de metilo
- Safranina
- Solución salina
- Yodo

Material:

- Agitador magnético
- Asas
- Balón volumétrico 50ml
- Bolsas de Stomacher
- Erlenmeyer de 1000ml
- Erlenmeyer de 125 mL
- Erlenmeyer de 500 mL
- Gradillas para tubos
- Mechero
- Pipeta Morh 1.0 mL
- Pipeta Morh 5.0mL
- Pipeta Morh despuntadas 10.0 mL
- Placas petri
- Portaobjeto
- Probeta de 1000 mL

- Probeta de 500 mL
- Tubos de ensayo de 16 x 150 mm
- Tubos para pruebas Bioquímicas

Equipo:

- Autoclave
- Balanza granataria
- Baño Maria
- Cabina de flujo laminar
- Cuenta colonia
- Equipo de Stomacher
- Hot plate
- Incinerador
- Incubadora
- Lámpara de Luz UV
- Mechero
- Microscopio
- Refrigerera

ANEXO N° 27

a)

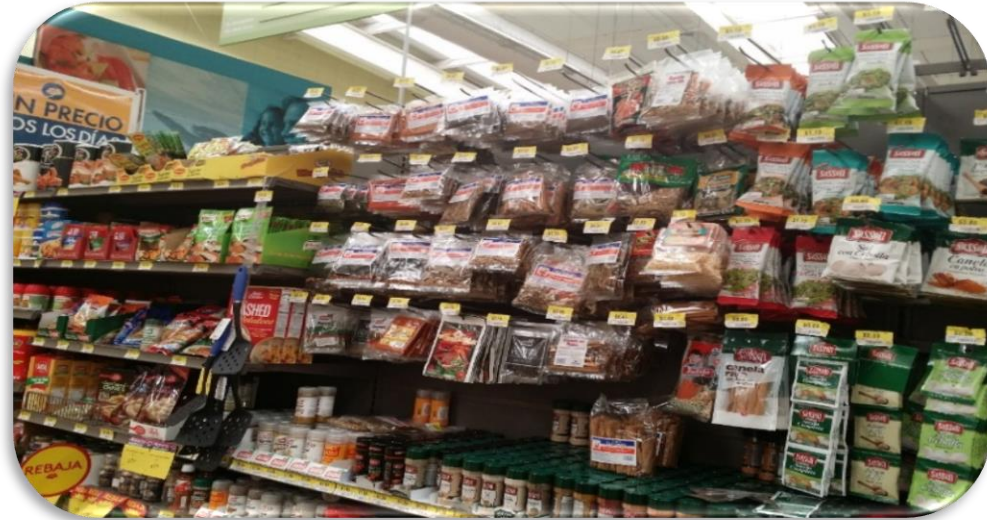


Figura N° 28. Fotografía de las condiciones de almacenamiento de las muestras de la Despensa de Don Juan de Boulevard los Héroes.

b)



Figura N° 29. Fotografía de las condiciones de almacenamiento las muestras recolectada en Súper Selectos 8ª Etapa de Metrocentro.

ANEXO N° 28
Procesamiento de muestras



Figura N° 30. Fotografías del procesamiento de muestras de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía) en el laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación y desarrollo en Salud (CENSALUD)

ANEXO N° 29

Colonia de bacterias sospechosa

a)

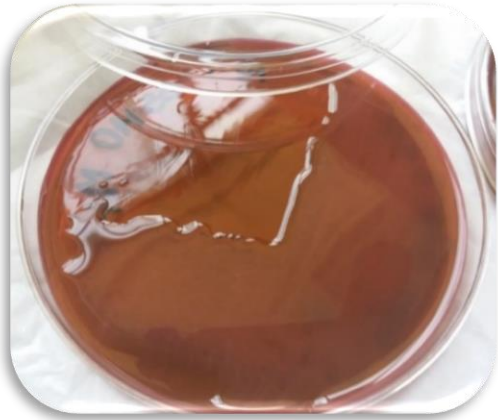


Figura 31. En agar EMB colonias mucosas, rosa purpura características para *Klebsiella*.

b)

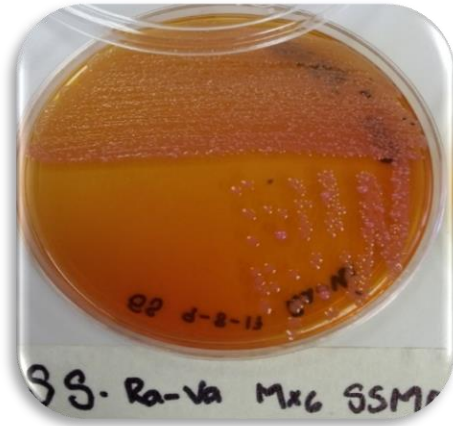


Figura 32. En agar S-S presento colonias pequeña, transparentes color rosa.

c)

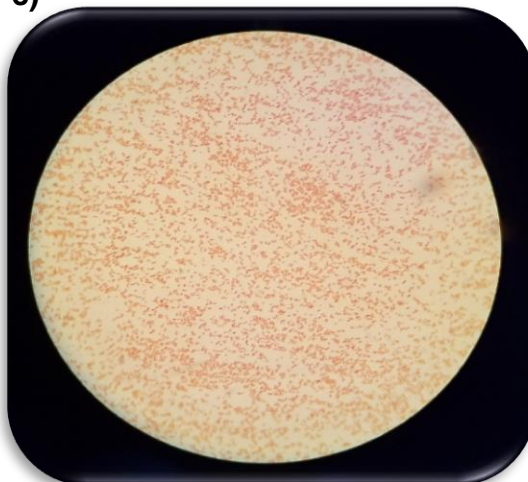


Figura N° 33. Tinción Gram vista al microscopio 100x. Bacilos cortos.

ANEXO N° 30

Carta de confirmación de la especie emitida por el Jardín Botánico

Asociación Jardín Botánico La Laguna



Antiguo Cuscatlán, 28 de febrero de 2017

MSc. Coralia González
Docente Asesora
Facultad de Química y Farmacia
Universidad de El Salvador
Presente.

Aprovecho la oportunidad para saludarla y desearle éxitos al frente de las actividades que realiza.

Hago de su conocimiento que el día 28 de febrero del presente año, se hicieron presentes a las instalaciones del herbario LAGU, las estudiantes universitarias, Br. Armida Judith Hidalgo Sanabria e Ingrid Marisol Cruz de Guevara, con muestras de semillas conocidas comúnmente como "chan" o "chía", ellas explicaron la necesidad de identificación de estas, para realizar su trabajo de tesis de grado, por tanto los resultados obtenidos, utilizando la literatura correspondiente para tal fin y observación de imágenes tipo para la certera clasificación, son los siguientes:

ESPECIE	FAMILIA
<i>Salvia hispanica</i> L.	Lamiaceae

En tal sentido, se extiende la presente nota, para que los interesados hagan buen uso y para lo que se estime conveniente dentro de su trabajo de grado.

Atte.

Pablo G. Olmedo Galán
Lic. en Biología
Curador de Herbario y
Encargado de Educación Ambiental



ANEXO N°31

a)

Requisitos solicitados por Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) para las semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía).importada.

HOJA INFORMATIVA DE REQUISITOS FITOZOOSANITARIOS	
	
MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL DIVISION DE CERTIFICACION FITOZOOSANITARIA PARA EL COMERCIO	
Código Arancelario - Sanitario	12.11.90.90-0208
Descripción	CHIA EN GRANO (SALVIA HISPANICA)
Naturaleza	VEGETAL
País de Origen	USA
DOCUMENTOS QUE DEBEN PRESENTARSE EN ORIGINAL	
<input checked="" type="checkbox"/> CERTIFICADO DE ORIGEN OFICIAL	
<input checked="" type="checkbox"/> CERTIFICADO FITOSANITARIO OFICIAL	
REQUISITOS SANITARIOS	
<input checked="" type="checkbox"/> INDICAR EN EL CERTIFICADO FITOSANITARIO QUE EL PRODUCTO VIENE LIBRE DE PLAGAS INSPECCION EN EL PUNTO DE ENTRADA.	
NOTA IMPORTANTE	
<i>Esta hoja de requisitos no es una autorización oficial para la importación de productos y sub-productos de origen animal y/o vegetal. Es una hoja informativa para facilitar al importador, el trámite de la Certificación Fitozoosanitaria, cumpliendo con los requisitos sanitarios que aquí se detallan.</i>	

HOJA INFORMATIVA DE REQUISITOS FITOZOOSANITARIOS



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL
DIVISION DE CERTIFICACION FITOZOOSANITARIA PARA EL COMERCIO

Código Arancelario - Sanitario	12.07.99.00-0008
Descripción	CHAN EN SEMILLA PARA CONSUMO
Naturaleza	VEGETAL
Pais de Origen	NICARAGUA

DOCUMENTOS QUE DEBEN PRESENTARSE EN ORIGINAL

- CERTIFICADO FITOSANITARIO OFICIAL

REQUISITOS SANITARIOS

- INDICAR EN EL CERTIFICADO FITOSANITARIO QUE EL PRODUCTO HA SIDO INSPECCIONADO Y ENCONTRADO LIBRE DE PLAGA SE INSPECCIONARA EN EL PUNTO DE ENTRADA Y ESTARA SUJETO A TRATAMIENTO CUARENTENARIO SI DURANTE LA INSPECCION SE DETECTAN PLAGAS VIVAS. -

NOTA IMPORTANTE

Esta hoja de requisitos no es una autorización oficial para la importación de productos y sub-productos de origen animal y/o vegetal. Es una hoja informativa para facilitar al importador, el trámite de la Certificación Fitozoosanitaria, cumpliendo con los requisitos sanitarios que aquí se detallan.

b)

**País y Cantidad importada de semillas de *Salvia hispánica* L. (Chía)
registrado en la base de datos del MAG**

IMPORTACIONES DE CHIA EN GRANO (SALVIA HISPANICA) EN EL PERIODO
ENERO 2016 A SEPTIEMBRE 2017 FUENTE DE LA INFORMACIÓN: SISTEMA DE
INFORMACION EN SANIDAD AGROPECUARIA SISA-MAG

FECHA	ORIGEN	PROCEDENCIA	CANTIDAD KGR.
03/01/16	USA	USA	1047.61
04/01/16	USA	USA	104.76
05/01/16	USA	USA	419.05
06/01/16	USA	USA	209.52
07/01/16	USA	USA	104.76
08/01/16	USA	USA	314.28
09/01/16	USA	USA	209.52
10/01/16	USA	USA	419.04
*11/01/16	USA	USA	419.04
01/01/17	USA	USA	314.28
02/01/17	USA	USA	314.28
05/01/17	USA	USA	104.76
07/01/17	USA	USA	209.52
08/01/17	USA	USA	209.52
09/01/17	USA	USA	104.76

ANEXO N° 32
Esquema de toma de muestra

