

**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo A. C.**

**DETERMINACIÓN DE LAS FUENTES DE  
CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICA Y  
TRATAMIENTOS DE DESINFECCIÓN EN LAS  
CADENAS PRODUCTIVAS DE CEBOLLÍN (*Allium  
fistulosum*) y ESPÁRRAGO (*Asparagus officinalis*)**

**PRESENTADA POR**

**Francisco Javier Rodríguez Leyva**

---

TESIS APROBADA POR

**COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
DE ORIGEN VEGETAL**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRIA EN CIENCIAS**

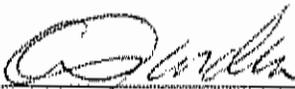
Hermosillo, Sonora

Agosto de 2004

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos a CIAD, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de la tesis.



---

Dr. Alfonso A. Gardea Béjar

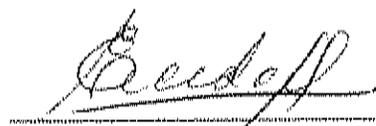
## A P R O B A C I Ó N

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Francisco Javier Rodríguez Leyva, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



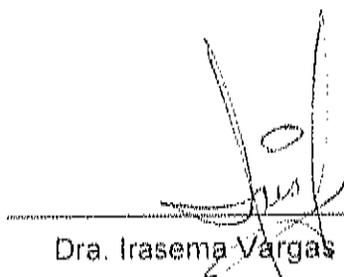
---

Dr. Miguel Ángel Martínez Téllez  
Director



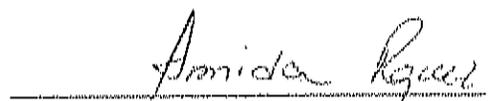
---

Dra. Evelia Acedo Félix



---

Dra. Irasema Vargas Arispuro



---

MC. Armida Rodríguez Félix

## DEDICATORIAS

A Dios por permitirme ser lo que soy.

A mis padres por haberme dado la vida

A mi amiga y esposa por su amor y comprensión

A toda mi familia por su apoyo

A todos mis amigos

## AGRADECIMIENTOS

Al CIAD, A.C. por permitirme utilizar sus instalaciones para realizar mi tesis de maestría y lograr dar un gran paso en mi preparación profesional.

Al CONACYT por su ayuda económica, sin la cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A Fundación Produce A.C. y a la Unión Regional Agrícola de Productores de Frutas y Hortalizas de San Luis Río Colorado por su ayuda económica para la realización de este trabajo.

A todos los Productores del Valle de San Luis Río Colorado por su valiosa cooperación, proporcionando las muestras y tiempo para la realización de este trabajo.

Al Dr. Miguel Ángel Martínez Téllez por su amistad y ayuda para la realización de este trabajo. Además de ser formar parte importante de mi preparación profesional y desarrollo como persona. No tengo más palabras para agradecerle.

Al Ing. Cárñez por su tiempo y ayuda para contactar a los productores y conseguir que nos permitieran tomar las muestras. Además de brindarnos su amistad.

A mi esposa y compañera de trabajo que sin su ayuda las jornadas de trabajo hubieran resultado más largas y cansadas. Muchas gracias por toda tu ayuda.

A los técnicos del laboratorio Olivia, Brenda y Panchito por su amistad y ayuda para la realización de mi trabajo.

A mis compañeros estudiantes de laboratorio Ilce, María Luisa, Nancy, Pili, Vanía, Gerardo, Rene, Ray y Jorge por su amistad y ayuda. Gracias por los momentos de reunión de **"la people"** donde la ciencia pasaba a segundo término y la mente se despejaba. Y recuerden **"No todo en la vida es ciencia"**

A mis amigos Erika y Carlos por los momentos de estudio y diversión. **"Que ondas carnal ponte a trabajar"**.

A las Doctoras Irasema Vargas y Evelia Acedo, a la Maestra Armida Rodríguez por su ayuda y comentarios para los seminarios así como para la revisión de la tesis.

A todos los maestros de programa de maestría por la aportación de sus conocimientos para poder ser mejores estudiantes y personas.

A todos los compañeros de generación por su amistad y ayuda para salir adelante.

Al personal de biblioteca por su ayuda y amabilidad para la revisión de libros y artículos.

A todas las personas que de una u otra manera participaron en la realización de esta tesis, **Gracias**.

## ABREVIATURAS

AL	Ácido láctico
ANOVA	Análisis de varianza
CDC	Centro de control de enfermedades (Estados Unidos)
col	Colaboradores
°C	Grados centígrados
CF	Coliformes fecales
Cl	Cloro
cm <sup>2</sup>	Centímetro cuadrado
CT	Coliformes totales
EC	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético
FDA	Administración de drogas y alimentos (Estados Unidos)
g	Gramos
Ha	Hectárea
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
Log <sub>10</sub>	Logaritmos base 10
MA	Mesófilos aerobios
mL	Mililitro
NMP	Número más probable
p	Probabilidad
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
UFC	Unidades formadoras de colonia
%	Porcentaje

## CONTENIDO

	Página
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	xi
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	3
Objetivos Específicos.....	3
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	4
<b>ANTECEDENTES</b> .....	6
Inocuidad Alimentaria.....	6
Salmonelosis y Hepatitis A Transmitidas por Alimentos.....	7
Microorganismos Indicadores de Contaminación Microbiológica.	8
Bacterias Mesófilas Aerobias.....	9
Coliformes.....	9
<i>Salmonella</i> sp.....	10
Fuentes de Contaminación.....	11
Normatividad de Productos Hortofrutícolas en México.....	13
Proceso de Cosecha y Empaque de Cebollín.....	14
Proceso de Cosecha y Empaque de Espárrago.....	15
Procesos de Desinfección.....	16
Desinfectantes químicos.....	17
Cloro.....	18
Ácido Láctico.....	19
Peróxido de Hidrógeno.....	20
Otros desinfectantes.....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
Lugar de Muestreo.....	22
Tipo de Muestras.....	22
Muestreo y Análisis Microbiológicos.....	22
Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.....	23

	<b>Página</b>
Determinación de Bacterias Coliformes.....	23
Análisis Estadístico.....	24
Proceso de Desinfección.....	24
Desinfectantes.....	24
Cepa control.....	24
Conservación de la cepa.....	25
Cultivo de <i>Salmonella typhimurium</i> .....	25
Preparación del inóculo.....	25
Inoculación de mazos de cebollín y espárrago.....	26
Desinfección de mazos de cebollín y espárrago.....	26
Preparación de la muestra.....	26
Análisis de la muestra.....	27
Reporte de resultados.....	27
Análisis estadístico.....	27
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
Diagnóstico Microbiológico.....	28
Cebollín.....	28
Espárrago.....	31
Proceso de Desinfección.....	34
Cebollín.....	34
Control.....	34
Ácido Láctico.....	34
Cloro.....	36
Peróxido de Hidrógeno.....	38
Espárrago.....	40
Control.....	40
Ácido Láctico.....	40
Cloro.....	42
Peróxido de Hidrógeno.....	44
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>

	<b>Página</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	48
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	51

## LISTA DE TABLAS

	<b>Página</b>
1 Presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales de producto y posibles vehículos de contaminación biológica en el proceso de producción y empaque de cebollín.....	29
2 Presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales de producto y posibles vehículos de contaminación biológica en el proceso de producción y empaque de espárrago.....	32
3 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{Log}_{10}$ UFC/g) en cebollín utilizando ácido láctico.....	35
4 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{Log}_{10}$ UFC/g) en cebollín utilizando cloro a un pH de 6.5.....	37
5 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{log}_{10}$ UFC/g) en cebollín utilizando peróxido de hidrógeno.....	39
6 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{Log}_{10}$ UFC/g) en espárrago utilizando ácido láctico.....	41
7 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{Log}_{10}$ UFC/g) en espárrago utilizando cloro.....	43
8 Eliminación de <i>Salmonella typhimurium</i> ( $\text{Log}_{10}$ UFC/g) en espárrago utilizando peróxido de hidrógeno.....	45

## RESUMEN

La exportación agrícola de México en el período 2000-2003 alcanzó un valor de 3,817 millones de dólares, los cuales representan el 2.3% de la exportación total. Las hortalizas son el principal grupo de productos al aportar el 61 % del total, seguido de las frutas con el 22%. El rendimiento de cebollín en la temporada 2002-2003 en el valle de San Luis Río Colorado, fue de 3000 cajas de cebollín/Ha, representando un ingreso de 22.9 millones de dólares, mientras que para espárrago se obtuvo una producción de 83,000 cajas representando ganancias de más de 1.1 millones de dólares. El objetivo de este trabajo fue determinar las fuentes de contaminación bacteriológica en la cadena de producción y empaque de cebollín y espárrago y evaluar tratamientos de desinfección poscosecha para estos productos. Para determinar las fuentes de contaminación se tomaron muestras de agua de riego, agua de lavado, hielo, superficies de manos de personal, tierra de cultivo y producto. Se utilizaron como desinfectantes: cloro (200 y 250 ppm), ácido láctico (1.5 y 2 %), peróxido de hidrógeno (1.5 y 2 %) y agua como control. La temperatura de desinfección fue de 10°C con tiempos de 40, 60 y 90 segundos. Los resultados muestran que los puntos de mayor riesgo de contaminación biológica en el proceso de producción y empaque del cebollín son el agua de lavado, el agua de riego, las manos del personal, el hielo y la tierra de cultivo. Mientras que para el espárrago son el agua de riego, las manos del personal y la tierra de cultivo, El desinfectante que mejores resultados presentó fue el ácido láctico al 2% disminuyendo 2.48 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium* en cebollín y 2.37 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium* en espárrago. En cebollín el cloro a 250 ppm fue capaz de reducir 2.31 Log<sub>10</sub> UFC/g mientras que en espárrago las concentraciones de 200 ppm y 250 ppm disminuyeron 2.2 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*. El agua solo bajó las cuentas en <1 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium* en el cebollín y espárrago. No encontrando diferencias estadísticas entre los tres tiempos de desinfección (p>0.05).

## INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas el comercio internacional de frutas y hortalizas frescas ha representado un negocio de miles de millones de dólares para la economía internacional. La falta de la aplicación de un programa de inocuidad durante la producción, almacenamiento, distribución y comercialización de los productos hortofrutícolas frescos, repercuten en el valor económico del producto y la imagen comercial de las regiones productoras.

México es el principal exportador de frutas y vegetales frescos a Estados Unidos. En el periodo de 2000-2003, la exportación agrícola nacional alcanzó un valor de 3,817 millones de dólares en promedio al año, los cuales representan el 2.3% de la exportación total de México. Las hortalizas son el principal grupo de productos al aportar el 61% del total, seguido de las frutas con el 22% (Bancomext, 2004).

Hortalizas como el cebollín, el espárrago y el cilantro, son producidas en importantes regiones agrícolas del Estado de Sonora. En la temporada, 2002-2003, en el valle de San Luis Río Colorado, Sonora, se sembraron 1,700 Ha de cebollín de las variedades "Southport 4004", "K-99", "Green Banner" y "Fuyuyu". El rendimiento promedio de esta hortaliza, en esa temporada, fue de 3000 cajas de cebollín/Ha, con un costo promedio de \$4.5 dólares americanos, representando un ingreso de 22.9 millones, menos los costos de producción (Cáñez, 2003).

Esta misma región agrícola, produce importantes ingresos por el cultivo de 700 Has de espárrago con una producción en el año de más de 83,000 cajas, con un valor promedio de 14 dólares por caja y 300 Has de cilantro. Además se producen otros cultivos como lechuga, coliflor, repollo, dátil, rábano, entre otros. Estas frutas y hortalizas son destinadas a la exportación a Estados Unidos de América (Carrasco, 2003).

En los últimos años las enfermedades transmitidas por alimentos y en particular las asociadas al consumo de frutas y hortalizas frescas se han incrementado. Se argumenta que las condiciones de producción, cosecha, empaque, transportación y almacenamiento representan un riesgo de contaminación de los productos hortofrutícolas frescos y con ello la falta de inocuidad (Parnell y col, 2002; Beuchat, 1995; Sapers y col, 2002).

Por muchos años el lavado con agua clorada (50-200 ppm) ha sido el método más utilizado en los procesos comerciales para desinfectar frutas y vegetales frescos. El cloro es el desinfectante más comúnmente usado en forma líquida o de sal de hipoclorito, por su bajo costo y fácil manejo. Sin embargo, la eficiencia de la desinfección depende del tipo de vegetal, composición de la flora microbiana, el estado de madurez y las condiciones de aplicación. Factores como la concentración, pH, materia orgánica, temperatura y tiempo de contacto afecta la efectividad de los procedimientos de lavado y desinfección de las frutas y vegetales (Sanz y col., 2002). Por esto, en los últimos años se han estudiado otros agentes desinfectantes que pueden ser utilizados para la desinfección de frutas y hortalizas frescas como ácido láctico, peróxido de hidrógeno, ozono, mezclas de ácidos orgánicos, entre otros que puedan resultar efectivos y de fácil utilización (Wisniewsky y col., 2000).

El presente trabajo se realizó en el Valle de San Luis Río Colorado, Sonora y el objetivo fue determinar las fuentes de contaminación bacteriológica en la cadena productiva de cebollín y espárrago. Así como evaluar tratamientos de desinfección poscosecha utilizando cloro, ácido láctico y peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones y tiempos de desinfección.

## OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo es determinar las principales fuentes de contaminación bacteriológica en la cadena de producción y manejo poscosecha de cebollín y espárrago. Así como evaluar tratamientos de desinfección poscosecha de estos productos.

### Objetivos Específicos

1. Determinar las fuentes de contaminación bacteriológica durante el cultivo y manejo poscosecha de cebollín (analizando el agua de riego, la tierra de cultivo, cebollín de corte, cebollín de empaque, el agua de lavado y de desinfección y el hielo) y espárrago (analizando el agua de riego, la tierra de cultivo, espárrago de corte, espárrago de empaque y agua de lavado y de desinfección) bajo las condiciones de cultivo y manejo del Valle de San Luis Río Colorado, Sonora.
2. Evaluar condiciones de desinfección para cebollín y espárrago, utilizando cloro (200 y 250 ppm a pH 6.5), ácido láctico (1.5 y 2%), peróxido de hidrógeno (1.5 y 2%) y agua como control, a una temperatura de 10°C, en tiempos de contacto por aspersion de 40, 60 y 90 segundos.

## JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos y especialmente las que relacionan frutas y vegetales frescos se han incrementado en la última década (Beuchat, 1995). Productos como el cebollín, cilantro y espárrago no son la excepción. En el año de 1995, se presentaron dos brotes de shigelosis en el estado de California, causados por el consumo de cebollín verde procedente de México, contaminado con *Shigella flexneri* (Cook y col., 1995). En los años de 1998 al 2003, se presentaron brotes de salmonelosis y hepatitis A que se relacionaron con el consumo de cebollín verde y cilantro mexicanos (CDC, 1998; Vernon y col., 2001; Dentinger y col., 2001; CDC, 2003). Las autoridades de la FDA (Administración de Drogas y Alimentos), señalan que el agua utilizada durante la cadena de producción y las condiciones de higiene y sanidad de los trabajadores, pudieron ser el origen de la contaminación (CDC, 2004).

Debido a la gran importancia económica que representan el cebollín y el espárrago para la región de San Luis Río Colorado, se hace necesario que durante la producción, cosecha y empaque de estas hortalizas se implemente la aplicación de buenas prácticas agrícolas y de manejo. Esto con el fin de asegurar la inocuidad del producto.

Comercialmente las frutas y hortalizas frescas se desinfectan mediante el uso de cloro durante el lavado para disminuir las cargas microbianas. El cloro solo es capaz de disminuir de 2-3 ciclos logarítmicos de microorganismos patógenos en frutas y vegetales (Ukuku y col., 2001; Beuchat y col., 2001). Por lo anterior existe la necesidad de que a nivel laboratorio se estudien otros agentes desinfectantes como ácido láctico, peróxido de hidrógeno, mezclas de ácidos orgánicos, entre otros que han demostrado ser más efectivos que el cloro disminuyendo más de 3 ciclos logarítmicos de microorganismos patógenos en frutas y vegetales (Venkitanarayanan y col., 2001; Castillo y col.,

2004). Sin embargo, estos desinfectantes no han sido probados en productos como cebollín y espárrago, por lo que se requiere obtener información científica de su efecto sobre la inocuidad de estos productos para poder utilizarlos en los procesos de lavado y desinfección de los mismos.

Este estudio ayudará a determinar las fuentes de contaminación microbiológica durante el proceso de producción, cosecha y empaque. Al mismo tiempo, propondrá tratamientos de desinfección que sean efectivos en la eliminación de microorganismos en estos productos.

Con los resultados obtenidos se podrán sugerir los cambios en las condiciones de manejo del producto por parte de los trabajadores y de infraestructura necesaria tanto en el campo como en el empaque. Este estudio permitirá la elaboración de manuales de procedimientos operativos estándar de desinfección con énfasis en las prácticas sanitarias encaminadas a disminuir los peligros en los puntos del proceso con mayor riesgo de contaminación, en el cultivo y manejo poscosecha de cebollín y espárrago de las empresas productoras del valle de San Luis Río Colorado, Sonora.

## ANTECEDENTES

### Inocuidad Alimentaria

El término Inocuidad Alimentaria se refiere a que el consumo de los alimentos no cause daño al consumidor. En los últimos años se ha dado mucha importancia al tema, debido al aumento de enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos contaminados. En la transmisión de microorganismos patógenos, las frutas y vegetales frescos son productos que se han visto implicados en los últimos años. *Listeria*, *Clostridium* y *Bacillus* se encuentran presentes en el suelo y al igual que *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Vibrio*, parásitos y virus contaminan comúnmente a los productos frescos (Beuchat, 1995).

El uso de agua potable, la higiene del personal, la limpieza y la desinfección de las superficies de contacto con el producto, son prácticas que se deben de realizar para disminuir la transmisión de microorganismos patógenos a los productos frescos. La contaminación puede ocurrir por contaminación cruzada. Los microorganismos que ocasionan enfermedades a los productos vegetales, durante la poscosecha, así como, los microorganismos patógenos que ocasionan enfermedades a los humanos, pueden ser acarreados y establecidos en la superficie de los tejidos vegetales como frutos, hojas, raíces, etc. (Suslow y col., 1997).

Particularmente crítico es la ejecución de los procedimientos de lavado y desinfección de las frutas y vegetales frescos, antes de ser empacados. Prácticas sanitarias pobres por parte de los trabajadores y una inadecuada limpieza del equipo utilizado durante el procesamiento, puede fácilmente incrementar el riesgo de contaminación. El empaque, el piso, el equipo, paredes y techos así como los sistemas de drenaje son reservorios de microorganismos, incluyendo patógenos y pueden ser desinfectados con cloro o sales cuaternarias de amonio (Beuchat, 1995).

### Salmonelosis y Hepatitis A Transmitidas por Alimentos

Los avances en tecnologías de producción primaria, procesamiento, conservación, distribución y venta, capacitan a las empresas para ofrecer productos de alta calidad. Sin embargo, muchas de estas tecnologías pueden provocar un incremento en el riesgo de enfermedades humanas, asociadas a un amplio rango de microorganismos patógenos. Las frutas y los vegetales pueden contaminarse durante el crecimiento, cosecha, poscosecha, procesamiento y distribución (Beuchat, 1995).

La presencia de numerosos géneros de bacterias, levaduras, hongos y otros microorganismos patógenos en productos frescos han sido reconocidos por muchos años. Varios brotes de gastroenteritis humana se han asociado al consumo de frutas y vegetales frescos (Beuchat, 1995). Brotes de salmonelosis en humanos que se han relacionado con el consumo de tomate, germinados de frijol, melón y sandía (CDC, 1991).

Dos brotes en Estados Unidos de infección con *Shigella flexneri*, fueron asociados al consumo de cebollín verde. Los cebollines fueron rastreados en California, identificando la procedencia de México y llegando a la conclusión que la contaminación pudo haberse dado en la cosecha o durante el empaquetado (Cook y col., 1995)

Publicaciones recientes (Vernon y col., 2001; Dentinger y col., 2001) de brotes de enfermedades transmitidas por frutas y vegetales frescos en los Estados Unidos, que en ocasiones pueden provocar la muerte de los consumidores, han relacionado al cebollín y al cilantro con brotes de salmonelosis y hepatitis A. Señalando el agua, las condiciones de cultivo y el manejo poscosecha de los productos frescos, como los principales vehículos de contaminación.

En el caso del cebollín, se determinó que dos productores mexicanos y uno en California, podrían haber sido los responsables de la producción y

distribución de los cebollines contaminados con el virus de "Hepatitis A". Sin embargo, la falta de documentación en la distribución del producto, impidió la localización exacta de la fuente de contaminación (Vernon y col., 2001).

### Microorganismos Indicadores de Contaminación Microbiológica

Los organismos indicadores pueden ser utilizados para reflejar la calidad microbiológica de ciertos alimentos o productos, además de servir para predecir la vida de anaquel de un producto determinado (Fernández-Escartín, 2000; Jay, 2002).

Idealmente los indicadores de calidad sanitaria tienen que mostrar ciertas características importantes como son:

- Ser detectables fácil y rápidamente.
- Ser fácilmente distinguibles de otros miembros de la flora acompañante.
- Tener una historia de constante asociación con la presencia de microorganismos patógenos y la presencia de ellos.
- Que los requerimientos y tiempo de crecimiento sean similares a los de los patógenos.
- Estar ausentes en los alimentos que están libre de patógenos excepto quizás en un número mínimo.

Estos criterios se aplican a la mayoría de los alimentos que pueden servir como vehiculos de transmisión de enfermedades causadas por microorganismos patógenos. Dentro del uso histórico de indicadores de contaminación, los patógenos fueron reconocidos como microorganismos de origen intestinal, resultando de este reconocimiento que se consideraran de forma directa o indirecta como contaminación fecal (Jay, 2002).

### **Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA)**

Los microorganismos que pertenecen a este grupo son aquellos que son capaces de formar colonias visibles en las condiciones en que se realiza la prueba (medio de cultivo, temperatura y tiempo de incubación). Es evidente que dentro de este grupo pueden quedar incluidos microorganismos patógenos. El recuento de este tipo de microorganismos puede servir para: poner de manifiesto la exposición del alimento a fuentes de contaminación, conocer las condiciones de almacenamiento, establecer la condición de frescura, ver la eficiencia de los tratamientos antimicrobianos, predecir la vida de anaquel, determinar el cumplimiento con las normas microbiológicas establecidas y conocer la calidad microbiológica del alimento (Fernández-Escartín, 2000).

### **Coliformes**

Los coliformes son un grupo de microorganismos que se caracterizan por ser bacilos gram-negativo, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa dentro de 48 horas de incubación a 35 °C y producen colonias oscuras con brillo metálico en placas con agar rojo violeta bilis lactosa (RVBA). Los coliformes son representados por 4 géneros de la familia Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella*. Son el grupo indicador con mayor tradición dentro de la microbiología sanitaria, desde el inicio de esta rama de la microbiología se asoció con la contaminación fecal del agua. *Escherichia coli* es el típico coliforme que indica contaminación fecal debido a que es una bacteria cuyo hábitat natural es el intestino de los animales de sangre caliente. Por tal razón, su hallazgo en un alimento o en el agua es más significativo desde el punto de vista de sanidad, que el de cualquier otro coliforme. Dentro de este grupo se encuentran los

coliformes fecales que se definen por la producción de ácido y gas en caldo EC entre 44.5 y 45.5 °C (Jay, 2002).

### *Salmonella* sp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae. Los miembros de esta familia se caracterizan como gram-negativos, anaerobios facultativos, no formadores de esporas, en forma de bacilos. Son móviles por flagelos periféricos. Producen ácido y algunas veces gas por la fermentación de glucosa, son usualmente catalasa positivos y oxidasa negativos y reducen nitratos a nitritos. Muchos miembros de ésta familia están en el tracto gastrointestinal de humanos y de otros animales como patógenos o comensales (ICMSF, 1998).

El género *Salmonella* consiste en un grupo de microorganismos que se adaptan fácilmente a condiciones medioambientales extremas. Crece óptimamente a 37 °C, sin embargo, puede desarrollarse a temperaturas que van desde los 2 hasta los 54 °C, puede crecer en pH de 3.8 hasta 9.5 con un crecimiento óptimo entre 6.5-7.5 y a una actividad de agua de 0.94 hasta 0.99. Cataboliza D-glucosa y otros carbohidratos, con la producción de ácido y gas, son oxidasa negativa y catalasa positiva, crecen en citrato como única fuente de carbono, generalmente producen ácido sulfhídrico, descarboxilan lisina y ornitina y no hidrolizan urea (ICMSF, 1998; D'Aoust, 1997). *Salmonella* sp. cuenta con tres antígenos que son: el lipopolisacárido O (LPS) en la superficie externa de la membrana bacteriana, el antígeno H asociado con los flagelos y el antígeno capsular (Vi) (D'Aoust, 1997).

Reportes de la prevalencia de *Salmonella* sp. resistente a antibióticos, provenientes de fuentes humanas y animales, reflejan claramente el uso inadecuado de antibióticos y la preocupación de la comunidad científica y las agencias regulatorias por evitar el uso indiscriminado de estos antibacterianos para controlar enfermedades en animales y humanos. Se han encontrado cepas

multi-resistentes a cloranfenicol, ampicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, entre otros (D'Aoust, 1997).

Investigaciones de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos han indicado que solo se requiere la ingestión de una pequeña cantidad de bacterias de *Salmonella* sp. para causar la infección, algunos trabajos sugieren que la ingestión de 1-10 células es suficiente para causar la enfermedad (D'Aoust, 1997). La evidencia de que la ingestión de unas pocas células de microorganismos patógenos pueda desarrollar una gran variedad de condiciones clínicas, que pueden ser desde una simple diarrea hasta la muerte, hace a los productores, procesadores y distribuidores de alimentos tomar conciencia de que encontrar pocas bacterias de *Salmonella* sp. en el producto final pueden causar serios problemas de salud pública (Doyle, 1997).

### Fuentes de Contaminación

Cuando se habla de contaminación microbiológica se debe entender como el ingreso de microorganismos a un material. En general, contaminación se refiere al nivel de carga microbiana que presenta un material (Fernández-Escartin, 2000).

La contaminación se puede presentar a través de compostas mal tratadas, agua contaminada tanto de riego como de lavado de manos del personal, superficies de cajas de empaque y tierra (Beuchat y col., 1998; Castillo y col., 2004a; Espinoza y Rodríguez, 2002).

Las superficies de las frutas y vegetales son expuestas a los contaminantes naturales durante el tiempo de cultivo (agua de riego, suelo, etc.) y durante el tiempo que tardan en llegar a los empaques, muchos de estos productos retienen poblaciones de microorganismos que van de  $1 \times 10^4$  hasta  $1 \times 10^6$  UFC/g. La contaminación, muchas veces es originada directa o indirectamente de materia fecal antes o después de la cosecha (Ukuku y col., 2004). La Internacional Comision on Microbiological Specifications for Food en

1998 tiene reportes de cuentas iniciales de microorganismos mesófilos aerobios (MA) para vegetales frescos que van de  $10^3$  hasta  $10^6$  UFC/g de acuerdo al tipo de producto que se trate (ICMSF, 1998 citada por Simon y col., 2004).

Para que se de la contaminación, deben considerarse dos aspectos fundamentales, la fuente de contaminación y el mecanismo por el cual ésta se lleva a cabo. La primera se encuentra presente ordinariamente en el entorno del alimento y se puede evitar tomando medidas pertinentes, como prácticas de aseo personal y procesos de desinfección. La segunda se refiere a la manera y forma en la que la contaminación se lleva a cabo. Es necesario conocer y familiarizarse con las fuentes y los mecanismos por los que se produce la contaminación microbiológica para poder tomar medidas de prevención y control (Fernández-Escartín, 2000).

En general, entre las principales fuentes de contaminación de los alimentos se encuentran el agua, la tierra, los utensilios y equipo, las materias primas, los ingredientes y aditivos, los envases, la fauna y el humano (Beuchat, 1995; Coquard y col., 1999). Con respecto a las principales fuentes de contaminación de frutas y vegetales frescos se encuentra el agua en sus diferentes formas (líquido, sólido) y fuentes (pozo, canal, río, represo, etc.) (Beuchat y col., 1998). El agua es un vehículo potencial de transmisión de microorganismos en forma directa ya que se utiliza para riego, lavar productos, en la elaboración de hielo, utilizado para el enfriamiento del producto, entre otros usos que se le puedan dar.

La tierra de cultivo es otro vehículo de transmisión de microorganismos debido a que es reservorio natural de un gran número de ellos. La cantidad puede variar desde unos miles hasta miles de millones por gramo y depende de las condiciones de la tierra, además de que puede contaminar el producto cuando este entra en contacto directo con ella (Beuchat, 1995; Mukkherjee y col., 2004). Todos los utensilios y equipos que entren en contacto directo con

los alimentos se convierten en una fuente de contaminación, es por eso, que se hace necesaria la limpieza y desinfección de todas las superficies que entran en contacto con el alimento (Espinoza y Rodríguez, 2002; Castillo y col, 2004b).

La fauna nociva principalmente artrópodos (insectos, roedores y aves), perros, gatos y otros animales representan un vehículo potencial de contaminación en forma directa o indirecta ya que son portadores de microorganismos patógenos para el humano (*Salmonella*, *E. coli*, etc.) (Fernández-Escartín, 2000).

Sin duda alguna, una de las mayores fuentes de contaminación de los alimentos y particularmente de las frutas y vegetales frescos es el personal involucrado en el manejo. La diseminación hacia los alimentos se realiza a partir de infecciones en la piel, aparato digestivo, aparato urinario y el oído medio. Las manos es una de las vías de contaminación más frecuentes y peligrosas, por eso se recomienda que se laven y desinfecten para controlar el peligro de contaminación de los alimentos (FDA/CFSAN, 1998).

Como parte de los esfuerzos dirigidos a controlar la contaminación con patógenos de frutas y vegetales en general, se hace necesaria la identificación de las fuentes potenciales de contaminación de los productos. Con esto se puede permitir, con bases científicas desarrollar controles para evitar la contaminación durante la producción y empaquetado de productos hortofrutícolas frescos (Castillo y col., 2004b).

#### Normatividad de Productos Hortofrutícolas en México

Actualmente en México existen protocolos y normas emergentes para productos hortofrutícolas como cebollín, melón, mango y tomate, todas ellas vigiladas por el Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria (SENASICA, 2003). Para el caso de cebollín, el "Protocolo para la implantación de buenas prácticas agrícolas y buenas prácticas de manejo en los procesos de

producción, cosecha y empaçado de cebollín" entrará en vigor en Octubre de 2004, con el objeto de disminuir los riesgos de contaminación microbiológica, química y física en esta cadena productiva. Para tomate existe la Norma Oficial Mexicana NOM-EM-039-FITO-2002 (con carácter de emergencia) por la que se establecen los "Requisitos para la inscripción al programa de inducción, aplicación y certificación de buenas prácticas agrícolas y de manejo para la producción y empaque de tomate fresco de exportación". En el caso de mango, se encuentra vigente el "Protocolo para la implantación de buenas prácticas agrícolas y buenas prácticas de manejo en los procesos de cosecha, tratamiento hidrotérmico y empaçado de mango". Con lo que respecta a melón se encuentra la Norma Oficial Mexicana con carácter de emergencia NOM-EM-038-FITO-2002, "Requisitos para la aplicación y certificación de buenas prácticas agrícolas y de manejo para la producción y empaque de melón cantaloupe". Para el caso de espárrago hasta el momento no se cuenta con ninguna norma o protocolo que establezca los requisitos que debe cumplir para la certificación de buenas prácticas agrícolas y de manejo, sin embargo se debe seguir los lineamientos establecidos por el Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria. Estas normas y protocolos se basan en los lineamientos para la aplicación de "buenas prácticas agrícolas y de manejo de frutas y vegetales frescos". Todas son con carácter voluntario.

Con esta normatividad se pretende que los productores garanticen la inocuidad de sus productos y puedan acceder a los mercados internacionales sin ninguna restricción que tenga relación con la inocuidad alimentaria.

#### Proceso de Cosecha y Empaque de Cebollín

Cuando el cebollín llega a su punto óptimo para ser cosechado, este es aflojado de la tierra utilizando rastras tiradas por un tractor. Este proceso se realiza con el fin de aflojar la tierra y hacer más fácil la recolección. Una vez que

el cebollín es aflojado, se procede a la recolección manual realizada por el personal contratado para esta actividad. El producto recolectado es apilado en lugares destinados para realizar la limpieza que es el paso siguiente. La limpieza consiste en quitar la mayor cantidad de tierra posible, retirar la primera capa de tejido, así como cortar las raíces y una parte del rabo. Una vez limpios los cebollines se procede a formar los mazos que constan de aproximadamente 10 piezas colocando ligas de plástico a los extremos, los mazos son colocados en cajas de plástico, en cantidad de 4 docenas por caja. Una vez que las cajas están llenas se apilan en los remolques para ser transportados al empaque.

Al momento de llegar los camiones al empaque, las cajas son descargadas y colocadas en un área específica para realizar un prelavado utilizando tinajas ó mangueras con agua a presión. Terminado este lavado, los cebollines son colocados en bandas transportadoras, las cuales primeramente pasan por una sección donde se encuentran las cuchillas que cortan parte del rabo, para hacer uniformes los mazos, posterior a el corte, los mazos pasan por la sección de lavado y desinfección que se realiza utilizando espumas que asperjan agua clorada a presión. Este recorrido dura aproximadamente 1 minuto. Pasado el lavado y desinfección, las personas encargadas de llevar a cabo el empaque toman los mazos y los colocan en cajas de cartón encerado (4 docenas). Las cajas pasan al área de enhielado, se les coloca una palada de hielo a cada caja y se cierran. Una vez enhieladas se forman las tarimas y se almacenan en cuartos fríos de donde se procederá a cargar los camiones que las llevarán a su destino.

#### Proceso de Cosecha y Empaque de Espárrago

Cuando el espárrago llega a su tamaño ideal es cosechado manualmente por el personal utilizando navajas para cortar los turiones y

colocarlos en una bolsa que traen colgada al brazo para después pasarlos a las cajas de plástico donde se transportaran al empaque.

Al momento de llegar los camiones al empaque, las cajas son descargadas y colocadas en un área específica para realizar un prelavado utilizando tinajas ó mangueras con agua a presión. Terminado este lavado, se procede a la formación de mazos de aproximadamente 10 espárragos, los mazos son colocados en bandas transportadoras, las cuales primeramente pasan por una sección donde se encuentran las cuchillas o personal con navajas, que cortan parte del espárrago para hacer uniformes los mazos, el recorrido continúa y los mazos pasan por la sección de lavado y desinfección que se realiza utilizando espreas que asperjan agua clorada a presión. Este recorrido dura aproximadamente 1 minuto. Pasado el lavado y desinfección las personas encargadas de llevar a cabo el empaque toman los mazos y los colocan en cajas de cartón encerado. Una vez empacado se forman las tarimas y se almacenan en cuartos fríos de donde se procederá a cargar los camiones que las llevarán a su destino.

#### Procesos de Desinfección

La superficie natural de las plantas y sus productos, las aperturas naturales como los estomas y las heridas, provocadas durante el manejo poscosecha y del procesado mínimo, pueden ser un excelente punto de entrada de los microorganismos patógenos y fitopatógenos, a un sitio seguro para su desarrollo dentro del fruto. Esta situación incrementa las pérdidas de calidad en los productos y las de seguridad alimentaria. El establecimiento de microorganismos en estos sitios seguros, dentro de los vegetales, evitan que los desinfectantes comúnmente utilizados en poscosecha, como el hipoclorito de sodio, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, ozono y ácido peroxiacético, sean ineficientes para la eliminación de este tipo de contaminación. Sin

embargo, para evitar estos problemas, es esencial que los niveles de desinfectante sean determinados, para que eliminen a los microorganismos antes de que proliferen la contaminación en los diferentes productos, por la adhesión a la superficie o la internalización en el tejido. Este procedimiento es determinante en el manejo poscosecha, donde se utilice agua, incluyendo el lavado, enfriado, transporte en agua y cepillado (Suslow y col., 1997).

La FDA (Administración de Drogas y Alimentos) de los Estados Unidos, propuso que los tratamientos utilizados para desinfección, deberían ser capaces de reducir al menos 5.0 Log<sub>10</sub> de UFC/g de microorganismos patógenos. Más aún, indicó que la temperatura del agua de lavado debería ser mayor a 5.5 °C, previniendo la penetración del agua y la contaminación del producto (Venkitanarayanan y col., 2002).

Aplicación de tratamientos físicos y químicos son utilizados en los procesos de desinfección de frutas y vegetales frescos para eliminar o reducir al mínimo la presencia de microorganismos patógenos. La cloración del agua cercanos a las 200 ppm, es rutinariamente utilizado para reducir la contaminación. Sin embargo, el uso de cloro puede formar productos peligrosos para la salud como los trihalometanos y solo logra reducir de 2-3 Log de la flora nativa (Ukuku y col., 2002).

El uso de desinfectantes, la determinación de las dosis en los procesos de sanitización de los productos y de las superficies de contacto, en las condiciones de manejo del cebollín y el espárrago permitirán controlar la contaminación microbiológica, incrementando la vida poscosecha y la inocuidad de estos productos de gran valor en el mercado internacional.

### **Desinfectantes Químicos**

Muchos investigadores han evaluado la efectividad de un amplio rango de desinfectantes químicos en frutas y hortalizas enteras y cortadas (Beuchat y

col., 2001b). Entre estos se encuentran la utilización de agua clorada, peróxido de hidrógeno, ozono, dióxido de cloro y otros agentes químicos (Wisniewsky y col., 2000). Sin embargo, estos tratamientos han resultado parcialmente efectivos eliminando microorganismos causantes de enfermedades de la superficie de frutas y vegetales frescos (Harris y col., 2001).

Venkitanarayanan y col. (2002) realizaron estudios para desarrollar tratamientos prácticos y efectivos capaces de eliminar *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes* de frutas. Igualmente Beuchat y col. (2001a) desarrollaron métodos estándar para asegurar la eficacia de los desinfectantes utilizados en productos frescos.

**Cloro.** La aplicación del agua clorada se realiza de diferentes maneras, ya sea sumergiendo el producto en el agua o por aspersion (Brackett y col., 1987). Los tratamientos con agua clorada, deben de ser manejados con el objetivo de minimizar la dosis de desinfectante, justo dentro de los rangos donde puede mantener control de los patógenos y fitopatógenos reconocidos.

La actividad antimicrobiana de los productos clorados, depende ampliamente de la cantidad de ácido hipocloroso (HOCl) presente en el agua, antes de la aplicación del tratamiento a los frutos u hortalizas. A su vez, este depende del pH del agua y de la cantidad de materia orgánica, y de la temperatura del agua. Un pH superior a 7.5, solamente permite que una pequeña cantidad de cloro permanezca en su forma activa (HOCl), la cual es rápidamente convertida a hipoclorito (OCl<sup>-</sup>), este requiere de un tiempo muy largo para tener actividad antimicrobiana, por lo que no puede considerarse como un resultado benéfico para el control de microorganismos en los sistemas de manejo poscosecha. Un pH inferior a 6.0 se induce a la formación de gas nocivo (Cl<sub>2</sub>), que no sirve como un desinfectante de agua efectivo. De las diferentes formas del cloro, el HOCl, es el más fácilmente transferible a través

de las paredes celulares, para iniciar el proceso de muerte de los microorganismos (Suslow, 2001).

Sapers y col., (2000) realizaron estudios donde demostraron la ineficiencia de agentes desinfectantes comerciales conteniendo cloro para frutas y vegetales. Este desinfectante solo disminuyó 1-2 Log<sub>10</sub> de *E. coli* en manzanas sumergidas durante un minuto. En contraste lavados con peróxido de hidrógeno eliminaron de 3-4 Log<sub>10</sub> de *E. coli*.

Tratamientos a manzanas con una solución de un agente desinfectante comercial, donde el ingrediente activo es el cloro, aprobado para frutas y vegetales generalmente disminuye de 2-3 Log<sub>10</sub> UFC por fruto (Venkitanarayanan y col., 2002). Tratamientos aplicados a col de brucas con una solución de cloro a 200 ppm redujo la cuenta de *Listeria monocytogenes* en 2 Log<sub>10</sub> UFC/g (Brackett y col., 1987). Sapers y col. (2000) encontraron una disminución de 2 log<sub>10</sub> UFC/g al aplicar en manzanas una formulación comercial de cloro equivalente a 200 ppm, mientras que en alcachofas se encontró una disminución <1.0 log<sub>10</sub> UFC/g (Sanz y col., 2002). En melón cantaloupe una disminución de 3.44 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> se encontró al aplicar cloro a 200 ppm (Ukuku y col., 2002). Como se puede observar la utilización de cloro como sanitizante no reduce las cuentas más de 3.5 Log UFC en ninguno de los productos estudiados.

**Ácido Láctico (AL).** Se ha propuesto que la utilización de ácidos orgánicos para la desinfección de canales de carne es efectiva. El ácido láctico y el ácido acético son los compuestos más comúnmente utilizados para eliminar microorganismos patógenos y otros organismos de origen fecal de la superficie de las canales. Estudios recientes indicaron que la utilización de ácido láctico a 55 °C resultó ser efectivo en la eliminación de *Salmonella* y *E.coli* O157:H7 en canales (Castillo, 2001). En tomates la utilización de AL al 2% disminuyó 2.9 Log<sub>10</sub> UFC/g la contaminación de *Salmonella* (Castillo y col., 2004b).

En diferentes estudios, se ha demostrado que la temperatura de la solución que contiene el ácido tiene un efecto en la magnitud de la eliminación de bacterias (Anderson y col., 1990), encontrándose que a temperaturas calientes es más efectivo (Dickson, 1992). Además, la aplicación no requiere altas presiones y los residuos que quedan siguen actuando como agentes antimicrobianos (Ramirez y col., 2001). Sin embargo, para frutas y vegetales frescos no se recomienda utilizar una solución que contenga el desinfectante a una temperatura caliente ya que afectaría la calidad y la vida poscosecha del producto.

**Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).** En contraste con la utilización de cloro que disminuye la población de 1-2 Log<sub>10</sub> UFC/g en manzanas, soluciones conteniendo peróxido de hidrógeno son capaces de bajar las cuentas en 3 a 4 Log<sub>10</sub> UFC/g (Sapers y col., 2000). Estudios en manzanas utilizando una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 5% durante 1 minuto, se encontró que era capaz de disminuir la población microbiana en 2.81 Log<sub>10</sub> UFC/g (Sapers y col., 2002). Ukuku y col. (2002) encontraron una eliminación de 3.2 Log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> al aplicar la misma solución y el mismo tiempo en melón cantaloupe. En fresas, se logró bajar 2.18 Log<sub>10</sub> UFC/g las cuentas de *Escherichia coli* O157:H7 al utilizar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% (Yu y col., 2001).

**Otros Desinfectantes.** Además del cloro, y del peróxido de hidrógeno, se han estudiado una gran variedad de compuestos químicos. Entre ellos se encuentran fosfato trisódico, Tween 80, ácido acético, mezcla de ácido láctico con peróxido de hidrógeno, Nisin-EDTA y ácido peroxiacético. La utilización de fosfato trisódico al 15%, cuando se aplicó a tomates, eliminó 2 Log<sub>10</sub> UFC/g (Zhuang y col., 1996). Yu y col. (2001) encontraron que el Tween 80, ácido acético y fosfato trisódico aplicado a fresas disminuyeron las poblaciones en 2 Log<sub>10</sub> UFC/g. La utilización de una mezcla de ácido láctico con peróxido de

En diferentes estudios, se ha demostrado que la temperatura de la solución que contiene el ácido tiene un efecto en la magnitud de la eliminación de bacterias (Anderson y col., 1990), encontrándose que a temperaturas calientes es más efectivo (Dickson, 1992). Además, la aplicación no requiere altas presiones y los residuos que quedan siguen actuando como agentes antimicrobianos (Ramírez y col., 2001). Sin embargo, para frutas y vegetales frescos no se recomienda utilizar una solución que contenga el desinfectante a una temperatura caliente ya que afectaría la calidad y la vida poscosecha del producto.

**Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).** En contraste con la utilización de cloro que disminuye la población de 1-2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g en manzanas, soluciones conteniendo peróxido de hidrógeno son capaces de bajar las cuentas en 3 a 4  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Sapers y col., 2000). Estudios en manzanas utilizando una solución de  $H_2O_2$  al 5% durante 1 minuto, se encontró que era capaz de disminuir la población microbiana en 2.81  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Sapers y col., 2002). Ukuku y col. (2002) encontraron una eliminación de 3.2  $\text{Log}_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> al aplicar la misma solución y el mismo tiempo en melón cantaloupe. En fresas, se logró bajar 2.18  $\text{Log}_{10}$  UFC/g las cuentas de *Escherichia coli* O157:H7 al utilizar  $H_2O_2$  al 3% (Yu y col., 2001).

**Otros Desinfectantes.** Además del cloro, y del peróxido de hidrógeno, se han estudiado una gran variedad de compuestos químicos. Entre ellos se encuentran fosfato trisódico, Tween 80, ácido acético, mezcla de ácido láctico con peróxido de hidrógeno, Nisin-EDTA y ácido peroxiacético. La utilización de fosfato trisódico al 15%, cuando se aplicó a tomates, eliminó 2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Zhuang y col., 1996). Yu y col. (2001) encontraron que el Tween 80, ácido acético y fosfato trisódico aplicado a fresas disminuyeron las poblaciones en 2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. La utilización de una mezcla de ácido láctico con peróxido de

En diferentes estudios, se ha demostrado que la temperatura de la solución que contiene el ácido tiene un efecto en la magnitud de la eliminación de bacterias (Anderson y col., 1990), encontrándose que a temperaturas calientes es más efectivo (Dickson, 1992). Además, la aplicación no requiere altas presiones y los residuos que quedan siguen actuando como agentes antimicrobianos (Ramírez y col., 2001). Sin embargo, para frutas y vegetales frescos no se recomienda utilizar una solución que contenga el desinfectante a una temperatura caliente ya que afectaría la calidad y la vida poscosecha del producto.

**Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).** En contraste con la utilización de cloro que disminuye la población de 1-2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g en manzanas, soluciones conteniendo peróxido de hidrógeno son capaces de bajar las cuentas en 3 a 4  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Sapers y col., 2000). Estudios en manzanas utilizando una solución de  $H_2O_2$  al 5% durante 1 minuto, se encontró que era capaz de disminuir la población microbiana en 2.81  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Sapers y col., 2002). Ukuku y col. (2002) encontraron una eliminación de 3.2  $\text{Log}_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> al aplicar la misma solución y el mismo tiempo en melón cantaloupe. En fresas, se logró bajar 2.18  $\text{Log}_{10}$  UFC/g las cuentas de *Escherichia coli* O157:H7 al utilizar  $H_2O_2$  al 3% (Yu y col., 2001).

**Otros Desinfectantes.** Además del cloro, y del peróxido de hidrógeno, se han estudiado una gran variedad de compuestos químicos. Entre ellos se encuentran fosfato trisódico, Tween 80, ácido acético, mezcla de ácido láctico con peróxido de hidrógeno, Nisin-EDTA y ácido peroxiacético. La utilización de fosfato trisódico al 15%, cuando se aplicó a tomates, eliminó 2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g (Zhuang y col., 1996). Yu y col. (2001) encontraron que el Tween 80, ácido acético y fosfato trisódico aplicado a fresas disminuyeron las poblaciones en 2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. La utilización de una mezcla de ácido láctico con peróxido de

hidrógeno (1.5%) aplicado en manzanas, naranjas y tomates, resultó efectivo eliminando  $\geq 5 \text{ Log}_{10}$  UFC por fruto (Venkitanarayanan y col., 2002). Mientras que la mezcla de Nisin-EDTA aplicada en melón solo removió  $2.27 \text{ Log}_{10}$  UFC/g (Ukuku y col., 2002). Como muestran estos resultados, la mezcla de ácido láctico-peróxido de hidrógeno podría ser una alternativa en los procesos de desinfección de frutas y vegetales frescos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de Muestreo

Los muestreos se realizaron en 5 campos con sus respectivos empaques para cebollín y 3 campos y empaques para espárrago, establecidos todos en el Valle de San Luis Río Colorado, Sonora.

### Tipo de Muestras

Se tomaron muestras de cebollín y espárrago del campo de cultivo y del empaque. Se analizó el agua de riego, lavado y desinfección, superficies de manos del personal, hielo y tierra de cultivo. Se realizó el análisis microbiológico, de todas las muestras, antes de transcurrir 24 horas de su recolección, en el Laboratorio de Fisiología Vegetal, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Hermosillo.

### Muestreo y Análisis Microbiológicos

Para realizar la toma de las muestras se utilizó material estéril, como guantes, bolsas y espátulas. Después de tomadas las muestras se colocaron en hielo para trasladarse al laboratorio y realizar los análisis, que consistieron en la cuenta de bacterias aerobias en placa de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994. (Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa), coliformes totales y coliformes fecales por la técnica descrita en la NOM-112 - SSA1-1994. (Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica de número más probable (NMP).

Se tomaron al azar 15 muestras de cada punto analizado para: cebollín de corte, cebollín de empaque, agua de riego, agua de lavado, superficies de

manos, tierra y hielo. Para espárrago se evaluaron 9 muestras para cada uno de los puntos señalados en cebollín, excepto hielo que no es utilizado para este producto.

#### Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa

Se realizó siguiendo la técnica de la Norma Oficial Mexicana 092, "Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa" que consiste en tomar 10 g ó 10 mL de muestra y homogeneizarla con 90 mL de agua peptonada al 0.1 % (Becton Dickinson, Spark, MD) y agitar durante un minuto. Se preparan diluciones seriadas en 9 mL de agua peptonada al 0.1 % (Becton Dickinson, Spark, MD) y de cada dilución se utiliza 1 mL para sembrar por duplicado placas de Agar Plate Count (Difco Lab., Detroit, MI). Se incuban las placas (Yamato IC 600) a  $35\pm 2$  °C por 24-48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación las colonias fueron contabilizadas utilizando un contador de colonias (Leica Inc., Buffalo, NY).

#### Determinación de Bacterias Coliformes

Se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 112. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable". Que consiste en tomar 10 g ó 10 mL de muestra y homogeneizarla con 90 mL de agua peptonada al 0.1 % (Becton Dickinson, Spark, MD) y agitar durante un minuto. Se preparan diluciones seriadas en 9 mL de agua peptonada al 0.1 % (Becton Dickinson, Spark, MD) y de cada dilución se siembra 1 mL por triplicado en tubos de ensaye (Pyrex, México) con 10 mL de Caldo Lactosado (Difco Lab., Detroit, MI) y tubos Durham (Kimble Glass Inc., USA). Los tubos se colocan en la incubadora (Yamato IC 600) a  $35\pm 2$  °C por 24-48 horas. Posteriormente de los tubos que presentaron formación de gas se toman 2 asadas y se siembran en tubos de ensaye utilizando tubos Durham y 10 mL de Caldo Verde Brillante

2% (VB) (Becton Dickinson, Spark, MD) y 10 mL de medio EC (Becton Dickinson, Spark, MD). Las muestras que están en VB se incuban a  $37\pm 2$  °C de 24-48 horas y las muestras del medio EC a  $45\pm 2$  °C de 24-48 Horas. De los tubos que salen positivos en la producción de gas se sacan los resultados comparándolos con una tabla de resultados proporcionada por la misma norma.

### Análisis Estadístico

Para obtener los resultados de la evaluación del riesgo, se realizó un muestreo completamente al azar. A los resultados obtenidos se les efectuó estadística descriptiva por medio del paquete estadístico NCSS (Heintze, 2001).

### Proceso de Desinfección

#### **Desinfectantes**

Para realizar los procesos de desinfección se utilizaron cloro al 6% (Cloralex, Santa Catarina, NL), Ácido Láctico 85% (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO) y Peróxido de Hidrógeno 20% (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO).

#### **Cepa control**

Como control positivo se utilizó una cepa de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, proporcionada por el Laboratorio de Microbiología Molecular del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Hermosillo. Se comprobó la identidad de la cepa mediante la identificación bioquímica.

### **Conservación de la cepa**

De un cultivo de 24 horas de la cepa control, se tomaron alícuotas de 2 mL y se adicionó 0.4 mL de glicerol al 16%, se emulsificó y congeló a -20°C para conservarla.

### **Cultivo de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028**

El microorganismo se sacó del ultra congelador y se reactivó en caldo lactosado (Difco Lab., Detroit, MI), se mantuvo en refrigeración a 4°C. Tres días antes de utilizarlo para preparar el inóculo, se resembró dos veces consecutivas en Agar Xilosa Lisina Descarboxilasa (XLD) (Difco Lab., Detroit, MI) adicionado con 50 µg/mL de ácido nalidixico (Spectrum Inc., Gardena, CA.). Las placas se colocaron en la incubadora (Yamato IC 600) a 35±2 °C por 24 horas. La utilización de ácido nalidixico fue con el objetivo de hacer resistente a la bacteria a esta concentración para asegurarnos de que no crecieran otras bacterias en el medio al momento de realizar el experimento, ya que se utiliza como suplemento antimicrobiano en este tipo de estudios (Beuchat y col.2001b).

### **Preparación del inóculo**

De las placas de XLD (Difco Lab., Detroit, MI) se tomaron tres asadas del cultivo de *Salmonella typhimurium* y se colocaron en un matraz (Pyrex, USA) conteniendo un litro de Caldo Lactosado (Difco Lab., Detroit, MI.) adicionado con 50 µg/mL de ácido nalidixico (Spectrum Inc., Gardena, CA.). El matraz se incubó a 35±2 °C durante 18 horas en una incubadora Yamato IC 600. El inóculo utilizado fue de aproximadamente 1x10<sup>6</sup> UFC/mL y se midió haciendo cuentas de las diluciones en placa vaciada.

### **Inoculación de mazos de cebollín y espárrago**

Para realizar la inoculación de los mazos de cebollín y espárrago fueron necesarios tres litros de Caldo Lactosado (Difco Lab., Detroit, MI.) previamente inoculados con *Salmonella typhimurium*. El contenido de los matraces se pasó a un recipiente (Cambro, Huntington Beach, CA). Los mazos de cebollín y espárrago se inocularon por inmersión durante un minuto. Se sacaron y colocaron en gradillas durante 30 minutos para drenar el excedente de inóculo. Se formaron grupos de 4 mazos para la aplicación de los tratamientos.

### **Desinfección de mazos de cebollín y espárrago**

Ésta se realizó por aspersión durante 40, 60 y 90 segundos con las soluciones de cloro (Cloralex, Santa Catarina, NL) a 200 y 250 ppm a pH 6.5, ácido láctico (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO) al 1.5 y 2.0 peróxido de hidrógeno (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO) al 1.5 y 2.0 % y agua estéril como control. La temperatura de las soluciones y del agua fue de 10 °C. Después de aplicado el tratamiento se dejaron drenar durante 20 minutos.

### **Preparación de la muestra**

De cada mazo de cebollín y/o espárrago, se tomaron 10 gramos y se colocaron en bolsas estériles (Nasco, USA), se le adicionaron 90 mL de agua peptonada al 0.1% (Becton Dickinson, Spark, MD) y se agitaron durante un minuto. Las muestras se colocaron en hielo para su posterior siembra en placas.

### **Análisis de la muestra**

De las muestras preparadas como se explica en el párrafo anterior, se realizaron diluciones seriadas 1/10 utilizando agua peptonada al 0.1% (Becton Dickinson, Spark, MD). De cada dilución se tomó 1 mL y se sembraron por duplicado placas con agar XLD (Difco Lab., Detroit, MI) adicionado con 50 µg/mL de ácido nalidixico (Spectrum Inc., Gardena, CA.). Las placas se colocaron en la incubadora (Yamato IC 600) a  $35\pm 2$  °C por 24 horas. Posteriormente las colonias fueron contadas utilizando un contador de colonias (Leica Inc., Buffalo, NY).

### **Reporte de resultados**

Los resultados se expresaron como disminución de ciclos logarítmicos por gramo de *Salmonella typhimurium*, con respecto a la cuenta inicial en cada mazo de cebollín y espárrago inoculado, a los cuales no se les aplicó ningún tratamiento.

### **Análisis estadístico**

El muestreo fue completamente al azar. El diseño estadístico fue un arreglo factorial 2x3 donde los factores fueron la concentración (cloro 200 y 250 ppm, ácido láctico 1.5 y 2.0% y peróxido de hidrógeno 1.5 y 2.0 %) y el tiempo de desinfección (40, 60 y 90 segundos). Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico NCSS (Heintze, 2001). Se realizó un ANOVA a un nivel de probabilidad del 95%. En caso de haber diferencias se realizó prueba de comparación de medias de Duncan a una  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### Diagnóstico Microbiológico

#### **Cebollín**

Los resultados encontrados para la cuenta de mesófilos aerobios (MA) en muestras de agua de riego, lavado, hielo, tierra de cultivo, manos de personal, cebollín de corte y cebollín de empaque (Tabla 1) concuerdan con lo reportado para otros productos frescos (Espinoza y Rodríguez, 2002; Curtis y col., 2002). Las cuentas encontradas en cebollín de corte como de empaque concuerdan con las reportadas por Curtis y col. (2002) quien encontró en muestras de lechuga cortada cuentas de  $10^4$  UFC/g. En melón se encontraron cuentas de  $10^6$  UFC/g (Ukuku y col., 2002) y en alcachofas se reportan cuentas de  $10^5$  UFC/g (Sanz y col., 2002). En tierra de cultivo para melón y cilantro Espinoza y Rodríguez (2002) encontraron cuentas de  $10^6$  UFC/g de MA, estos mismos autores encontraron en agua de lavado de melón cuentas de  $10^6$  UFC/mL.

Las cuentas bacterianas encontradas para las manos del personal y el hielo utilizado en las cajas empacadas con cebollín, son mayores que lo establecido por la NOM-093-SSA1-1994, que establece límites máximos de  $<3000$  UFC/cm<sup>2</sup> para manos y la NOM-042-SSA1, que establece límites máximos de 100 UFC/mL para hielo de MA.

Los resultados encontrados para las cuentas de coliformes totales y fecales en cebollín de corte y empaque (Tabla 1) se encuentran por encima de lo establecido por la NOM-093-SSA1-1994, cuyos límites máximos son de 100 NMP/g de coniformes totales y ausencia de coliformes fecales.

**Tabla 1. Presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales de producto y posibles vehículos de contaminación biológica en el proceso de producción y empaque de cebollín.**

<b>MUESTRA</b>	<b>MA</b> <b>(UFC/mL ó g)</b>	<b>CT</b> <b>(NMP/mL ó g)</b>	<b>CF</b> <b>(NMP/mL ó g)</b>
Agua de riego	28x10 <sup>5</sup>	1435	12.4
Tierra de cultivo	35x10 <sup>5</sup>	18.9	1.9
Cebollín de corte	53x10 <sup>5</sup>	2284	100
Agua de lavado	16x10 <sup>5</sup>	19210	1731
Manos del personal	24x10 <sup>5</sup>	228.9	1.8
Hielo	83x10 <sup>4</sup>	8.3	0.8
Cebollín de empaque	65x10 <sup>5</sup>	285	2.8

n= 15

MA= Mésofilos aerobios

CT= Coliformes totales

CF= Coliformes fecales

UFC/mL ó g = Unidades formadoras de colonia por mililitro ó gramo

NMP/mL ó g = Número más probable por mililitro ó gramo

Sin embargo, los resultados obtenidos coinciden con los reportados por De Curtis y col. (2002) quienes encontraron en muestras de lechuga cortada más de 1100 NMP/g de coliformes totales y fecales, mientras que en cebollas reportaron 7,943 NMP/g de coliformes totales (Mukherjee y col., 2004).

La NOM-093-SSA1-1994, establece una tolerancia de  $<10$  UFC/cm<sup>2</sup> de coliformes totales y ausencia de coliformes fecales para manos de personal, por lo tanto, los resultados obtenidos están fuera de lo establecido. Situación similar ocurre con el hielo y el agua de lavado, en los cuales no se permite la presencia de coliformes totales ni fecales. La falta de limpieza y desinfección en los contenedores y en las fábricas de hielo además de la no utilización de agua potable para su fabricación, pueden ser la causa de su contaminación.

Estudios realizados anteriormente, señalan que en manos de personal de empaque de melón cantaloupe (Espinoza y Rodríguez, 2002) y de uva de mesa Silva (2001), se detectó la presencia de coliformes totales y fecales en cuentas superiores a las tolerancias de la NOM-093-SSA1-1994. Los resultados encontrados en este estudio, pueden deberse a una deficiente o nula práctica de higiene y lavado de manos del personal, así como la falta de control en el uso de los desinfectantes utilizados en el proceso de lavado y desinfección de hortalizas.

Estudios realizados por Silva (2001) y Espinoza y Rodríguez (2002) muestran que el agua utilizada para el riego puede ser una fuente directa de contaminación ya que encontraron cuentas altas de coliformes totales y coliformes fecales. En este estudio todas las muestras analizadas para coliformes totales y fecales dieron resultados positivos y además en algunos casos se obtuvieron cuentas más elevadas. Lo anterior se puede deber a que el sistema de riego utilizado es por medio de canales que atraviesan por lugares donde existe asentamientos humanos que vierten los desechos orgánicos a los mismos. Esto ocasiona que se contamine el agua y a su vez las parcelas y el cebollín al tener contacto directo con el agua de riego.

De acuerdo a los resultados antes discutidos, podemos observar que los puntos analizados durante la etapa de producción y empaque de cebollín presentan peligros de contaminación microbiológica. Tanto el agua de riego, el agua de lavado, la tierra, las manos del personal y el hielo tienen contacto directo con el cebollín. Para poder evitar la contaminación se hace necesario la aplicación de buenas prácticas agrícolas y de manufactura, además de un eficiente y efectivo control en el agua utilizada para el lavado y desinfección. Ya que al momento de realizar el estudio los empaques no contaban con programas de higiene y sanidad de los trabajadores, del equipo y mobiliario necesario para la producción y empaque de cebollín.

### **Espárrago**

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos durante el proceso de producción, cosecha y empaque de espárrago verde. Se encontró que las cuentas de mesófilos aerobios para agua de riego, tierra de cultivo, manos del personal, espárrago de corte y empaque, sobrepasan lo establecido por la NOM-093-SSA1-1994, que es de  $<3000$  UFC/cm<sup>2</sup> de MA para manos y la NOM-042-SSA1, que establece 100 UFC/mL de MA para hielo.

Los resultados encontrados para espárrago son superiores a los reportados por Simón y col. (2004) quienes obtuvieron de 5.42 Log<sub>10</sub> UFC/g de MA en espárrago blanco y en espárrago verde se han reportado cuentas de MA de 5 Log<sub>10</sub> UFC/g (García-Gimeno, 1998).

En lo que respecta al agua de lavado, los resultados encontrados no son iguales a los encontrados en cebollín en este mismo estudio y en melón cantaloupe donde se encontraron cuentas muy altas de coliformes totales y fecales (Espinoza y Rodríguez, 2002). Esto señala la correcta aplicación de las buenas prácticas de manufactura en la dosificación del cloro lo que logró el control de los microorganismos.

**Tabla 2. Presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales de producto y posibles vehículos de contaminación biológica en el proceso de producción y empaque de espárrago.**

<b>MUESTRA</b>	<b>MA</b> <b>(UFC/mL ó g)</b>	<b>CT</b> <b>(NMP/mL ó g)</b>	<b>CF</b> <b>(NMP/mL ó g)</b>
Agua de riego	22x10 <sup>5</sup>	10.8	1.1
Tierra de cultivo	56x10 <sup>6</sup>	380000	4000
Espárrago de corte	26x10 <sup>7</sup>	620000	2440
Agua de lavado	93x10 <sup>2</sup>	0.3	0
Manos del personal	73x10 <sup>5</sup>	2436	0.7
Espárrago de empaque	15x10 <sup>7</sup>	490000	0

n=9

MA= Mésofilos aerobios

CT= Coliformes totales

CF= Coliformes fecales

UFC/mL ó g = Unidades formadoras de colonia por mililitro ó gramo

NMP/mL ó g = Número más probable por mililitro ó gramo

Los números encontrados para coliformes totales en todas las muestras analizadas, excepto el agua de lavado, para la producción y cosecha de espárrago (tabla 2), se presentaron por encima de la tolerancia de la NOM-093-SSA1-1994, que es de 100 NMP/g de coliformes totales y ausencia de coliformes fecales para frutos y  $<10$  UFC/cm<sup>2</sup> de coliformes totales y ausencia de coliformes fecales para manos del personal. Para agua de riego y tierra de cultivo los resultados encontrados pueden considerarse como normales, ya que la tierra es una fuente importante de esta clase de microorganismos. Sin embargo, de acuerdo al protocolo para cebollín, el agua de riego debería estar libre de coliformes fecales.

El agua de lavado presentó un grado bajo de contaminación, debido a la concentración de cloro libre que tenía al momento del muestreo. De Curtis y col. (2002) encontraron más de 1100 NMP/g de coliformes totales en lechuga picada, al igual que Espinoza y Rodríguez (2002) en cilantro empacado y de campo.

De acuerdo a las normas y recomendaciones existentes para frutas y vegetales frescos, así como para el agua de riego y las manos del personal, estos deben estar libres de coliformes fecales (CF). Esto debido a que dentro de este grupo se pueden encontrar microorganismos patógenos para el humano como son *E.coli* y *Salmonella*, entre otros.

Por esto las cuentas elevadas en tierra de cultivo, agua de riego y espárrago de corte, representan un elevado riesgo de contaminación directa de posibles microorganismos patógenos. Sin embargo cabe señalar que en el proceso de lavado y desinfección, logró reducir al mínimo la cantidad de CF.

## Proceso de Desinfección

### **Cebollín.**

**Control.** En este estudio se encontró que para el caso de cebollín, el lavado con agua potable, es capaz de disminuir  $<1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  (Tabla 3). Cabe aclarar que no se encontraron diferencias ( $p>0.05$ ) entre los tiempos de aplicación del agua y los diferentes productos utilizados para desinfectar el producto. Los resultados del lavado con agua concuerdan con lo reportado por Yu y col. (2001) que en fresas inoculadas con *E. coli*, el lavado con agua, eliminó  $0.75 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ . De la misma forma, Sapers y col. (2001) encontraron en melón minimamente procesado una disminución de  $0.45 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ .

**Ácido Láctico (AL).** La utilización de 2% de AL no mostró diferencias significativas ( $p>.0.05$ ) en la de *Salmonella typhimurium* en los mazos de cebollín, por efecto del tiempo (40, 60 y 90 segundos). Sin embargo por efecto de la concentración, se pudo observar que la aplicación de 1.5% de AL en la desinfección de cebollín durante 90 segundos fue la más efectiva y significativamente igual ( $p<0.05$ ) que la utilización de 2% de AL en los tres tiempos, con una eliminación mayor de  $2 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ . La concentración de 1.5% a los 40 y 60 segundos disminuyó de  $1-1.5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  aproximadamente, no encontrando diferencias significativas entre los dos tiempos (Tabla 3).

**Tabla 3. Disminución de *Salmonella typhimurium* (Log<sub>10</sub> UFC/g) en cebollín utilizando ácido láctico.**

<b>Tratamiento (AL % / tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.1	5.45	0.65 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.1	5.53	0.57 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.1	5.35	0.75 <sup>a</sup>
1.5% /40s/10°C	6.3	5.11	1.19 <sup>b</sup>
1.5% /60s/10°C	6.3	4.71	1.59 <sup>b</sup>
1.5% /90s/10°C	6.3	3.98	2.32 <sup>c</sup>
2.0% /40s/10°C	6.3	3.82	2.48 <sup>c</sup>
2.0% /60s/10°C	6.3	4.00	2.30 <sup>c</sup>
2.0% /90s/10°C	6.3	4.11	2.19 <sup>c</sup>

n=4

<sup>a, b, c</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias (p<0.05)

AL= ácido láctico

Log<sub>10</sub>UFC/g= Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

El mejor tratamiento para eliminar la contaminación por *Salmonella typhimurium* en cebollín fresco, fue la utilización de una solución al 2% de AL durante 40 segundos, con una disminución de 2.48 Log<sub>10</sub> UFC/g. En manzanas Parnell y col. (2003) disminuyeron en 2.1 Log<sub>10</sub> UFC/por fruto la contaminación de *Salmonella enterica* utilizando ácido acético al 5%. En fresas, se logró bajar 2.18 Log<sub>10</sub> UFC/g las cuentas de *Escherichia coli* O157:H7 al utilizar AL al 3% (Yu y col., 2001). En tomates la utilización de AL al 2% disminuyó 2.9 Log<sub>10</sub> UFC/g la contaminación de *Salmonella* (Castillo y col., 2004b). Con esto podemos corroborar que los resultados obtenidos para cebollín en este estudio, están dentro de los encontrados por otros investigadores, en diferentes productos.

**Cloro.** En la Tabla 4 se presentan los resultados de la desinfección de cebollín utilizando cloro. La utilización de 200 ppm estuvo en el rango de 1.36 a 1.74 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*, no encontrándose diferencias significativas entre los tiempos de desinfección ( $p > 0.05$ ). Estos resultados son similares a los encontrados por Sapers y col. (2002) quienes encontraron una disminución de 1.74 Log<sub>10</sub> UFC/g al inocular manzanas con *E. coli* en una concentración de inóculo de  $1 \times 10^6$  UFC/mL y con lo reportado por Ukuku y col. (2002) de 1.86 Log<sub>10</sub> UFC/g de gram (-) en melón. Sin embargo para el caso de *Salmonella* en manzanas utilizando una concentración de 200 ppm de cloro libre, Parnell y col. (2003) reportan una disminución de 3.2 Log<sub>10</sub> UFC/g.

Las diferencias entre los resultados encontrados en este estudio con los de Parnell y col. (2003) pueden deberse al tipo de producto, las manzanas tienen superficie lisa y es más fácil eliminar los microorganismos, en cambio el cebollín tiene estructuras donde los microorganismos se pueden alojar y se hace más difícil la desinfección. Además de que las manzanas se desinfectan en forma individual y el cebollín en mazos.

**Tabla 4. Disminución de *Salmonella typhimurium* (Log<sub>10</sub> UFC/g) en cebollín utilizando cloro a un pH de 6.5.**

<b>Tratamiento (Cloro Libre/ tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.1	5.45	0.65 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.1	5.53	0.57 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.1	5.35	0.75 <sup>a</sup>
200 ppm /40s/10°C	5.64	3.79	1.36 <sup>b</sup>
200 ppm /60s/10°C	5.64	3.64	1.74 <sup>b</sup>
200 ppm /90s/10°C	5.64	3.39	1.37 <sup>b</sup>
250 ppm /40s/10°C	5.64	3.42	2.05 <sup>c</sup>
250 ppm /60s/10°C	5.64	3.37	2.12 <sup>c</sup>
250 ppm /90s/10°C	5.64	3.39	2.31 <sup>c</sup>

<sup>a, b, c</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias (p<0.05)

Log<sub>10</sub>UFC/g= Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

Cuando se utilizó 250 ppm de cloro libre las cuentas disminuyeron en  $>2 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  sin embargo, en los tiempos de exposición no hubo diferencias significativas. Reportes donde se utilizan concentraciones de más de 200 ppm para controlar *Salmonella* y *E.coli* O157:H7 se han encontrado disminuciones de  $2.3 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/cm}^2$  en manzanas, tomates y lechugas (Beuchat y col., 1998).

**Peróxido de Hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).** No se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) al utilizar las concentraciones de 1.5% y 2% de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para disminuir la contaminación de *Salmonella typhimurium* en cebollín, pero sí con la utilización de agua. Tampoco se encontraron diferencias entre los diferentes tiempos de exposición al desinfectante. Los resultados encontrados muestran disminuciones en un rango de  $1.0\text{-}1.43 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ . Esto muestra que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  no resultó ser efectivo en la eliminación de *Salmonella typhimurium* en cebollín en las concentraciones utilizadas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Yu y col., 2001 quienes encontraron disminuciones de  $1.2\text{-}1.4 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *E. Coli* en fresas al utilizar una concentración del 1% y  $2.18 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  al utilizar 3% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Sapers y col., (2000) al utilizar concentraciones de 5% de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en manzanas encontraron una disminución de  $2.34 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *E. coli* con respecto al control. Sin embargo este tratamiento considera la aplicación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en caliente ( $50\text{-}70 \text{ }^\circ\text{C}$ ), lo cual es conveniente investigar, ya que para el cebollín esto podría alterar la calidad y reducir su vida poscosecha.

**Tabla 5. Disminución de *Salmonella typhimurium* ( $\log_{10}$  UFC/g) en cebollín utilizando peróxido de hidrógeno.**

<b>Tratamiento (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.1	5.45	0.65 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.1	5.53	0.57 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.1	5.35	0.75 <sup>a</sup>
1.5% /40s/10°C	6.2	5.07	1.13 <sup>b</sup>
1.5% /60s/10°C	6.2	4.77	1.43 <sup>b</sup>
1.5% /90s/10°C	6.2	4.89	1.31 <sup>b</sup>
2.0% /40s/10°C	6.2	5.20	1.00 <sup>b</sup>
2.0% /60s/10°C	6.2	4.87	1.33 <sup>b</sup>
2.0% /90s/10°C	6.2	4.84	1.36 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias ( $p < 0.05$ )

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = Peróxido de Hidrógeno

Log<sub>10</sub>UFC/g = Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

## Espárrago

**Control.** En espárrago el agua solo logró disminuir  $<1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *Salmonella typhimurium* (Tabla 6). No se encontraron diferencias significativas entre los tiempos utilizados para el lavado con agua, ni para los diferentes desinfectantes utilizados. Los resultados del lavado con agua concuerdan con lo reportado por Yu y col. (2001) quienes reportaron una disminución de  $0.75 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  al lavar con agua fresas inoculadas con *E. coli*. De la misma forma, Sapers y col. (2001) encontraron en melón mínimamente procesado una disminución de  $0.45 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ . Así mismo los resultados del presente estudio concuerdan con lo reportado por Simón y col. (2004) quienes encontraron en espárragos blancos una disminución de  $1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de mesófilos aerobios.

**Ácido Láctico (AL).** En la Tabla 6 se muestran los resultados del proceso de desinfección de espárrago utilizando ácido láctico. Puede observarse que la desinfección con AL al 1.5% y agua presentó resultados similares disminuyendo aproximadamente  $1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *Salmonella typhimurium*. En espárrago el AL al 2% fue el tratamiento que resultó más efectivo, eliminando *Salmonella typhimurium* en  $>2 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  y resultando diferente al tratamiento de 1.5% de AL ( $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de desinfección. Los resultados obtenidos en la desinfección de espárrago con AL al 2% concuerda con lo reportado por diferentes investigadores tales como Parnell y col. (2003) quienes en manzanas inoculadas con *Salmonella enterica* encontraron una disminución de  $2.1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  por manzana al utilizar ácido acético al 5%, en fresas Yu y col. (2001), obtuvieron una disminución de  $2.18 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *E. coli* O157:H7 al utilizar AL al 3%, de igual forma, Castillo y col. (2004 b) al utilizar AL al 2% en la desinfección de manzanas encontraron una disminución de  $2.9 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  de *Salmonella typhimurium*.

**Tabla 6. Disminución de *Salmonella typhimurium* (Log<sub>10</sub> UFC/g) en espárrago utilizando ácido láctico.**

<b>Tratamiento (AL % / tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.97	6.02	0.90 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.97	6.12	0.85 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.97	6.17	0.80 <sup>a</sup>
1.5% /40s/10°C	5.07	3.97	1.10 <sup>b</sup>
1.5% /60s/10°C	5.07	4.07	1.00 <sup>b</sup>
1.5% /90s/10°C	5.07	4.34	0.73 <sup>a</sup>
2.0% /40s/10°C	5.07	2.60	2.47 <sup>b</sup>
2.0% /60s/10°C	5.07	2.70	2.37 <sup>b</sup>
2.0% /90s/10°C	5.07	2.72	2.35 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias (p<0.05)

AL= ácido láctico

Log<sub>10</sub>UFC/g= Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

**Cloro.** Los resultados encontrados durante el proceso de desinfección de espárrago utilizando cloro (Tabla 7) muestran que las concentraciones de 200 y 250 ppm no mostraron diferencias significativas entre ellas pero sí con la utilización de agua ( $p > 0.05$ ). La eliminación fue en el rango de 1.85 a 2.27  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. El tratamiento de 250 ppm de cloro durante 60 segundos presentó los mejores resultados de eliminación de *Salmonella typhimurium* con valor de 2.27  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. No se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de desinfección evaluados. Estos resultados son similares a los encontrados por Sapers y col. (2002) quienes reportaron una disminución de 1.74  $\text{Log}_{10}$  UFC/g al inocular manzanas con *E. coli* y a los de Ukuku y col. (2002) quienes reportaron una disminución de 1.86  $\text{Log}_{10}$  UFC/g de gram (-) en melón. Sin embargo, para el caso de *Salmonella enterica* en manzanas utilizando una concentración de 200 ppm de cloro libre, Parnell y col. (2003) reportaron una disminución de 3.2  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. Estudios donde se utilizan concentraciones de más de 200 ppm para controlar *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 han reportado disminuciones de 2.3  $\text{Log}_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> en manzanas, tomates y lechugas (Beuchat y col., 1998).

**Tabla 7. Disminución de *Salmonella typhimurium* (Log<sub>10</sub> UFC/g) en espárrago utilizando cloro.**

<b>Tratamiento (Cloro Libre/ tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.97	6.07	0.90 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.97	6.12	0.85 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.97	6.17	0.80 <sup>a</sup>
200 ppm /40s/10°C	6.97	5.12	1.85 <sup>b</sup>
200 ppm /60s/10°C	6.97	4.97	2.00 <sup>b</sup>
200 ppm /90s/10°C	6.97	4.72	2.25 <sup>b</sup>
250 ppm /40s/10°C	6.97	4.75	2.22 <sup>b</sup>
250 ppm /60s/10°C	6.97	4.72	2.27 <sup>b</sup>
250 ppm /90s/10°C	6.97	4.75	2.22 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias (p<0.05)

Cl= cloro

Log<sub>10</sub>UFC/g= Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

**Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).** Los resultados para este desinfectante demuestran que ninguna de las concentraciones y tiempos utilizados es capaz de eliminar al menos 2 Log<sub>10</sub> UFC/g, sin embargo, estadísticamente resultó más efectivo utilizar 2% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Tabla 8). No se encontraron diferencias estadísticas entre los diferentes tiempos de desinfección utilizados. Estudios realizados en manzanas utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 5% encontraron una eliminación de 2.81 Log<sub>10</sub> UFC/g de *E. coli* (Sapers y col., 2002); en melón mínimamente procesado utilizando la misma concentración encontraron una disminución de 1.44 Log<sub>10</sub> UFC/g de MA (Sapers y col., 2001). Como podemos observar, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por si solo no resulta ser un buen desinfectante. Sin embargo se ha observado que en mezclas con ácido láctico en proporciones de 1.5% de cada desinfectante en tiempos de 15 minutos, es capaz de disminuir las cuentas hasta en 6 Log<sub>10</sub> de *Salmonella*, *Listeria* y *E. coli* en manzanas, naranjas y tomates (Venkitanarayanan y col., 2002).

**Tabla 8. Disminución de *Salmonella typhimurium* (Log<sub>10</sub> UFC/g) en espárrago utilizando peróxido de hidrógeno.**

<b>Tratamiento (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ tiempo de exposición/ temperatura)</b>	<b>*Cuenta Inicial Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Cuenta Final Log<sub>10</sub> UFC/g</b>	<b>Disminución Log<sub>10</sub> UFC/g</b>
Agua /40s/10 °C	6.1	5.45	0.65 <sup>a</sup>
Agua /60s/10 °C	6.1	5.53	0.57 <sup>a</sup>
Agua /90s/10 °C	6.1	5.35	0.75 <sup>a</sup>
1.5% /40s/10°C	6.2	5.07	1.12 <sup>b</sup>
1.5% /60s/10°C	6.2	4.77	1.37 <sup>b</sup>
1.5% /90s/10°C	6.2	4.89	1.12 <sup>b</sup>
2.0% /40s/10°C	6.2	5.20	1.42 <sup>c</sup>
2.0% /60s/10°C	6.2	4.87	1.52 <sup>c</sup>
2.0% /90s/10°C	6.2	4.84	1.55 <sup>c</sup>

<sup>a, b, c</sup> Diferente literal entre columna indica diferencias (p<0.05)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = Peróxido de Hidrógeno

Log<sub>10</sub>UFC/g= Logaritmos base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo

\*Cuenta inicial= Inóculo utilizado al inicio del experimento

## CONCLUSIONES

- Las fuentes de mayor riesgo de contaminación bacteriológica encontradas durante el cultivo y empaque del cebollín fueron: el agua utilizada para lavar y desinfectar, el agua de riego, las manos del personal, el hielo y la tierra de cultivo. Para espárrago, las fuentes de mayor riesgo de contaminación bacteriológica encontradas fueron: el agua de riego, las manos del personal y la tierra de cultivo.
- Para la desinfección del cebollín y espárrago, el desinfectante que mejores resultados presentó fue el ácido láctico a una concentración de 2% disminuyendo 2.48 Log<sub>10</sub> UFC/g y 2.37 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*, respectivamente. En tanto el peróxido de hidrógeno al 2% no resultó ser efectivo en los procesos de desinfección para estos productos ya que solo fue capaz de disminuir alrededor de 1.5 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*. No encontrándose diferencias estadísticas entre los tiempos de desinfección de 40, 60 y 90 segundos.
- Para cebollín el cloro a la concentración de 250 ppm fue capaz de disminuir 2.31 Log<sub>10</sub> UFC/g mientras que para espárrago las concentraciones de 200 ppm y 250 ppm disminuyeron 2.2 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*.
- En general se puede concluir que las condiciones de manejo del cebollín y espárrago en el momento de la realización de este estudio no eran las indicadas tanto por el gobierno mexicano, como por otros lineamientos internacionales como los de Codex Alimentarius y FDA en la aplicación de buenas prácticas agrícolas y de manejo. Esto se refleja en la presencia de coliformes fecales en algunas de las muestras analizadas

del producto final y en las cuentas altas de coliformes fecales encontradas en otros puntos analizados, como el agua de riego y el agua de lavado, que pueden representar un peligro potencial para la salud de los consumidores de estos productos.

- Se encontró falta de capacitación al personal tanto de campo como de empaque en buenas prácticas agrícolas y de manejo del producto, así como, de conocimiento de los productos químicos utilizados por parte del personal encargado de los procesos de desinfección. Además no se contaba con documentación, como manuales de procedimientos operativos estándar de desinfección, bitácoras de las concentraciones de desinfectante utilizado para la desinfección del producto y de las superficies de contacto con el mismo.

## RECOMENDACIONES

### **Evitar la contaminación de las fuentes de agua (pozos y canales)**

- Restringir que las personas se bañen en los canales de riego.
- Prohibir las descargas de aguas negras y residuales.
- No permitir el acceso de animales a las fuentes de agua.

### **Evitar la contaminación de los terrenos de cultivo**

- No permitir el acceso de animales domésticos utilizando barreras físicas como cercos, canales, bordos, etc.
- Prohibir la defecación al aire libre en los terrenos de cultivo, proporcionando a los trabajadores baños portátiles en cantidades adecuadas para el número de personas.
- Prohibir las labores de pastoreo de ganado.

### **Mantener el agua de lavado y desinfección en condiciones bacteriológicas aptas para la realización de éste procedimiento**

- Utilizar agua potable.
- Realizar un prelavado al producto antes de entrar a la banda de lavado y desinfección.
- Filtrar el agua para retirar la materia orgánica y evitar la inactivación del cloro.
- Cambiar el agua de las tinas periódicamente.
- Mantener las concentraciones de desinfectante y pH necesarias para lograr la desinfección del producto.

**Mantener las manos del personal libre de contaminación bacteriológica**

- Lavar y desinfectar las manos y guantes del personal antes de entrar a trabajar y después de realizar cualquier otra actividad no relacionada con el trabajo (comer, fumar, ir al baño, etc.).
- Prohibir el contacto de las manos del personal con las superficies inertes dentro del empaque (pasamanos, bandas, etc.).

**Utilizar hielo libre de microorganismos patógenos y coliformes fecales**

- Utilizar agua potable para la fabricación del hielo
- Lavar y desinfectar las superficies que entran en contacto directo con el hielo.

**Utilizar ácido láctico a una concentración de 2%****Ventajas:**

- Es capaz de eliminar más de 2.5 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*
- No se inactiva con materia orgánica
- No depende del pH del agua de lavado
- No necesita monitoreo constante

**Desventajas:**

- No ha sido utilizado en procesos de desinfección de frutas y vegetales frescos, solo en canales de carne.
- Su precio es más alto que el del cloro y es más difícil de encontrar en el mercado.

**Utilizar cloro a una concentración de 200-250 ppm****Ventajas:**

- Es barato, de fácil utilización y se encuentra fácilmente en el mercado.
- Es capaz de eliminar cerca de 2.5 Log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella typhimurium*.

**Desventajas:**

- Presenta las desventajas que depende del pH del agua, se inactiva con materia orgánica y requiere monitoreo constante.
- Si no se utilizan las concentraciones adecuadas, los gases del cloro son tóxicos y pueden ocasionar intoxicaciones a los trabajadores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, M.E. y R.T. Marshall. 1990. Reducing microbial populations on beef tissues: concentration and temperature of lactic acid. *J. Food Saf.* 10:181-190.
- Bancomext, 2004. Sector Alimentos Frescos. <http://www.bancomext.gob.mx/Bancomext/publicasecciones/secciones/5900/AlimentosFrescosJunio2004.pdf>  
Consultado 20 Julio 2004.
- Beuchat, L. R. 1995. Pathogenic microorganism associated with fresh produce. *J. Food Prot.* 59:204-216.
- Beuchat, L. R., B. V. Nail, B. B. Adler, y M. R. S. Clavero. 1998. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. *J. Food Prot.* 61:1305-1311.
- Beuchat, L. R., J. F. Farber, E. H. Garrett, L. J. Harris, M. E. Parish, T. V. Suslow, y F. Busta. 2001a. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganism on raw fruit and vegetables. *J. Food Prot.* 64:1079-1084.
- Beuchat, L. R., L. J. Harris, T. E. Ward, y T. M. Kajs. 2001b. Developments of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers. *J. Food Prot.* 64:1103-1109.
- Brackett, R. E. 1987. Antimicrobial effect of chlorine on *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 50:999-1003.
- Cáñez, M. R. 2003. Comunicación Personal. Unión Agrícola Regional de Productores de Hortalizas y Frutas de San Luis Río Colorado. San Luis Río Colorado, Sonora.
- Castillo, A., I. Mercado, L.M. Lucía, D.B. Roberson, T.H. Stevenson, y G.R. Acuff. 2001. Lactic acid sprays reduce bacterial pathogens on cold beef

- carcass surfaces and in subsequently produced ground beef. *J. Food Prot.* 64:58-62.
- Castillo, A., I. Mercado, L.M. Lucía, Y. Martínez-Ruiz, J. Ponce de León, E.A. Murano, y G.R. Acuff. 2004a. *Salmonella* contamination during production of cantaloupe: A binational study. *J. Food Prot.* 67:713-720.
- Castillo, A., L.S. Ibarra-Sánchez, S. Alvarado-Casillas, M.O. Rodríguez-García, y N.E. Martínez-González. 2004b. Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals. In Press.
- Carrasco, E. 2003. Unión Agrícola Regional de Productores de Hortalizas y Frutas de San Luis Río Colorado. San Luis Río Colorado, Sonora.
- Center for Disease Control. 1991. Multistate outbreak of *Salmonella* Poona infections. United States and Canada. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 40:549-552.
- Center for Disease Control. 2003. Hepatitis A Outbreak Associated with Green Onions at a Restaurant Monaca, Pennsylvania, 2003. Consultado el 18 Junio de 2004. [http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/a/fiore\\_\\_ha\\_transmitted\\_by\\_\\_food.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/a/fiore__ha_transmitted_by__food.pdf)
- Center for Disease Control and Prevention. 2004. Hepatitis A transmitted by food. Consultado 19 Julio 2004. [http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/a/fiore\\_\\_ha\\_transmitted\\_by\\_\\_food.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/a/fiore__ha_transmitted_by__food.pdf)
- Cook, K.A., T. Boyce, C. Langkop, K. Kuo M. Swartz, D. Ewert, E. Sowers, J. Wells, y R. Tauxe. 1995. Scallions and shigellosis: a multistate outbreak traced to imported green onions, p.36. *Epidemic Intelligence Service 44<sup>th</sup> Annu. Conf.*, Mar. 27-31, CDC, Atlanta GA. (Citado por Beuchat y col., 1995).

- D'Aoust, J.Y. 1997. *Salmonella* Species. pp 129-152. In M.P. Doyle (ed). Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. American Society for Microbiol. USA.
- De Curtis, M.L., O. Franceschi y N. de Castro. 2002. *Listeria monocytogenes* en vegetales mínimamente procesados. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 52:1-12.
- Dentinger C., W. Bower, O. Nainan, S. Cotter, G. Myers, L. Dubusky, S. Fowler, E. Salehi, y B. Bell. 2001. An Outbreak of Hepatitis A Associated with green onions. J. Infec. Dis. 183:1273-6.
- Duckson, J.S. 1992. Acetic acid action on beef tissue surfaces contaminated with *Salmonella typhimurium*. J. Food Sci. 57:297-301.
- Doyle, M.P. 1989. Foodborne Bacterial Pathogens. Ed. Marcel Dekker, Inc. pp 345-382. USA.
- Doyle, M.P., L.R. Beuchat y T.J. Montville. 1997. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Ed. American Society for Microbiology. pp 129-158. Washington D.C.
- Espinoza, I., y F. Rodríguez. 2002. Identificación de los peligros biológicos, presencia de *Salmonella spp.* en la producción, cosecha y empaque de melón cantaloupe y cilantro. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora, México.
- FDA/CFSAN. 1998. Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada. Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, el caso de frutas y vegetales frescos. <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/sprodgui.html>
- Fernández Escartín, E. 2000. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
- García-Gimeno, R.M., A.M. Castillejo-Rodríguez, E. Barco-Alcalá, y G. Zurera-Cosano. 1998. Determination of packaged green asparagus shelf life. Food Microbiol. 15:191-198.

- Harris, L. J., L. R. Beuchat, T. M. Kajs, T. E. Ward, y C. H. Taylor. 2001. Efficacy and reproducibility of a produce wash in killing *Salmonella* on the surface of tomatoes assessed with a proposed standard method for produce sanitizers. *J. Food Prot.* 64:1477-1482.
- International Commission on Microbiological Specification for Food. 1998. Microorganism in food 5. Characteristic of microbial pathogens. Ed. Blackie Academic and Professional. London.
- Jay, J.M. 2002. *Modern Food Microbiology*. 6<sup>th</sup> edición. Ed. An Aspen Publication. Maryland, USA.
- Mukherjee, A., D. Speh, E. Dyck, y F. Diez-González. 2004. Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by minnesota farmers. *J. Food Prot.* 67:894-900.
- Norma Oficial Mexicana NOM-042-SSA1-1993. Hielo potable y hielo purificado. Especificaciones sanitarias. Consultado Junio de 2004.  
<http://www.economia-noms.gob.mx>
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Junio del 2004.  
<http://www.economia-noms.gob.mx>
- Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Junio de 2003. <http://www.economia-noms.gob.mx>
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica de número más probable (NMP). Junio de 2003. <http://www.economia-noms.gob.mx>
- Parnell, T.L., y L.J. Harris. 2003. Reducing *Salmonella* on apples with wash practices commonly used by consumers. *J. Food Prot.* 66:741-747.

- Ramirez, A.J., G.R. Acuff, L.M. Lucia y J.W. Savell. 2001. Lactic acid and trisodium phosphate treatment of lamb breast to reduce bacterial contamination. *J. Food Prot.* 64:1439-1441.
- Sanz, S., M. Jiménez, C. Olarte, C. Lomas y J. Portu. 2002. Effectiveness of chlorine washing disinfection and effects on the appearance of artichoke and borage. *J. Appl. Microbiol.* 93:986-993.
- Sapers, G. M., R. L. Miller, y A.M. Mattrazo. 1999. Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples. *J. Food Sci.* 64: 734-737.
- Sapers, G. M., R. L. Miller, M. Jantschke, y A.M. Mattrazo. 2000. Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli*. *J. Food Sci.* 65:529-532.
- Sapers, G. M., R. L. Miller, v. Pilizota, y A.M. Mattrazo. 2001. Antimicrobial treatments for minimally processed cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 66:345-349.
- Sapers, G. M., R. L. Miller, B. A. Annous y A. M. Burke. 2002. Improved antimicrobial wash treatments for decontamination of apples. *J. Food Sci.* 67:1886-1891.
- SENASICA, 2003. Protocolo para la implantación obligatoria de Buenas Prácticas Agrícolas y Buenas Prácticas de Manejo en los procesos de producción, cosecha y empaclado de cebollín verde en el estado de Baja California y el valle de San Luis Río Colorado, Sonora. <http://www.web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/inocd/inagri/Doc966/protocolocebollin.pdf>
- (Consultado 12 Julio 2004).
- Simón, A., E. González-Fandos y V. Tovar. 2004. Influence of washing and packaging on the sensory and microbiological quality of fresh peeled white asparagus. *J. Food Sci.* 69:FMS6-FMS9.

- Silva, B. H. 2001. Análisis e identificación de las principales etapas del proceso de producción, cosecha y conservación de uva de mesa. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora, México.
- Suslow T. 1997. Postharvest chlorination: Basic properties and key points for effective disinfection. Univ. California-Davis. Div. Agr. Natl. Res. Pub. 8003.
- Suslow T. 2001. Water Disinfection. A practical approach to calculating dose values for preharvest and postharvest applications. University of California. Agriculture and Natural Resources. Pub. 7256.
- Ukuku, D. O., y G. M. Sapers. 2001. Effect of sanitizer treatment on *Salmonella stanley* attached to the surface of cantaloupe and cell transfer to fresh-cut tissues during cutting practices. J. Food Prot. 64:1286-1291.
- Ukuku, D. O. y W. F. Fett. 2002. Effectiveness of chlorine and nisin-EDTA treatments of whole melons and fresh-cut pieces for reducing native microflora and extending shelf-life. J. Food Saf. 22:231-257.
- Ukuku, D. O., V. Pilizota, y G. M. Sapers. 2004. Effect of hot water and hydrogen peroxide treatments on survival of *Salmonella* and microbial quality of whole and fresh-cut cantaloupe. J. Food Prot. 67:432-437.
- Vernon J., J. Mohle-Boetani, R. Reporter, S. Abbott, J. Farrar, M. Brandl, R. Mandrel, y S.B. Werner. 2001. An outbreak of salmonella serotype Thompson associated with fresh cilantro. J. Infec. Dis. 183:948.
- Venkitanarayanan, K. S., Ch. Lin, H. Bailey, y M. P. Doyle. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide. J. Food Prot. 65:100-105.
- Wisniewski, M. A., B. A. Glatz, M. L. Gleason, y C. A. Reitmeier. 2000. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizers. J. Food Prot. 63:703-708.

- Yu, K., M. C. Newman, D. D. Archbold, y T. R. Hamilton-Kemp. 2001. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on strawberry fruit and reduction of the pathogen population by chemical agents. *J. Food Prot.* 64:1334-1340.
- Zhuang, R. Y. y L. R. Beuchat. 1996. Effectiveness of trisodium fosfate for killing *Salmonella montevideo* on tomatoes. *Lett. Appl. Microbiol.* 22:97-100.