

FRUTAS y HORTALIZAS

Una vez que el producto es cosechado, comienza de inmediato la senescencia, haciéndolo más sensible al deterioro microbiano. El grado y la velocidad del incremento de la población de microorganismos depende del producto y las condiciones de almacenamiento. El deterioro es realmente causado por solo una pequeña proporción de la microbiota inicialmente presente y un tipo específico de alteración se desarrolla bajo las condiciones normales de almacenamiento a temperaturas apropiadas. Los factores que influyen sobre la microbiota dominante y determinan la clase de deterioro, son la contaminación inicial, las propiedades del sustrato, las condiciones ambientales y las características de los microbios.

Todos los vegetales poseen una microbiota residente que subsiste con pequeñísimas cantidades de carbohidratos, proteínas y sales inorgánicas disueltas en el agua exudada o condensada sobre la superficie del hospedante. Otros factores importantes son la contaminación a partir del suelo, el agua, los animales domésticos y salvajes, y la extensión del contacto durante la cosecha con las superficies sucias de las cosechadoras y contenedores (1).

DETERIORO

La microbiota dominante sobre las hortalizas recién cosechadas es muy variable. Está constituida por bacterias gramnegativas como *Enterobacter*, *Pantoea* y *Pseudomonas* (2), pero las partes que crecen cerca o dentro del suelo contienen bacterias grampositivas, por ejemplo *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Clostridium* (3) y organismos corineformes. Sobre la superficie de algunas verduras se propagan los *Leuconostoc* y *Lactobacillus* (4). Muchos de estos organismos son pectinolíticos o celulolíticos y originan el reblandecimiento característico de las podredumbres blandas, por ejemplo *Pectobacterium carotovorum* (5).

Los hongos filamentosos aislados de las hortalizas con más frecuencia son *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Phoma*, *Chaetomium* y en menor proporción *Aspergillus*, *Acremonium*, *Botrytis*, *Cladosporium*,

Penicillium, *Sclerotium*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, etc (6). Algunos de estos mohos son patógenos oportunistas, mientras que otros son patógenos verdaderos que pueden invadir el tejido sano.

El alto contenido acuoso de las hortalizas, así como su crecimiento en contacto con el suelo, predisponen al deterioro. Es poco común el tratamiento en la zona de empaque y son más sensibles al frío que las frutas. En el campo los puntos de contaminación son diversos: la microbiota saprobia epífita y del suelo, los frutos, ramas u hojas enfermos, los envases cosecheros, las plantas de empaque, el agua de reciclado, las cámaras de almacenamiento, desverdización o frío, el transporte y la venta (7).

Aunque los mismos tipos de microbios pueden estar presentes sobre frutas u hortalizas, las características intrínsecas del producto afectan a los organismos residentes determinando cuáles finalmente desarrollarán. Las hortalizas tienen en general un pH entre 5 y 6 mientras que las frutas muestran un valor menor a 4,5 aunque existen excepciones, por ejemplo melón. Por lo tanto las bacterias crecen más rápido que los mohos y levaduras sobre la mayoría de las hortalizas, y viceversa en el caso de las frutas.

La alteración de las frutas y hortalizas frescas se denomina enfermedad post-cosecha debido a que son partes vivas de las plantas y aunque éstas suelen poseer algunas defensas naturales contra la infección microbiana, en la práctica son de escasa importancia. Ciertas propiedades tales como una cáscara o piel gruesa, pueden proteger contra un daño superficial y el crecimiento subsecuente de los organismos saprobios. Por otra parte, también es posible que existan microbios vivos en los tejidos internos no dañados (2). La infección fúngica que causa deterioro post-cosecha puede ocurrir antes o después de la recolección.

El tipo de infección fúngica post-cosecha puede ser epicuticular o subcuticular. La primera suele encontrarse en cualquier parte del fruto. Si el hongo aún no ingresó se puede eliminar con tratamientos en el empaque. Este tipo de infección es activa apenas el hongo ingresa al tejido por heridas (*Penicillium* spp) o bien latente inactiva cuando

requiere de un ambiente apropiado para que las esporas germinen (*Phytophthora* spp) (8).

La infección subcuticular ocurre en campo y en el momento de la cosecha el hongo ya ingresó. Suele encontrarse en cualquier parte del fruto, aunque con frecuencia se halla en los extremos pedunculares y estilares. En general se trata de patógenos difíciles de eliminar con tratamientos en el empaque y la madurez acelera la expresión del deterioro (9).

Durante o después de la cosecha, los factores que predisponen a las infecciones son:

- las microheridas causadas en la manipulación pues proporcionan agua y nutrientes para la germinación de esporos,
- los golpes producen zonas necróticas mayores, por ejemplo oleocelosis en cítricos, escaldados en peras y manzanas,
- las fisiopatías originadas en el campo por deficiencia o exceso de nutrientes, por ejemplo calcio,
- los daños por frío en el almacenamiento originan una necrosis de tejidos necrótico,
- la maduración en ambientes modificados pueden causar senescencia de tejidos, por ejemplo en la inserción peduncular de cítricos debida *Diplodia* spp (10).

Las peras y manzanas se cosechan durante 4 meses y se almacenan casi un año, las podredumbres incrementan los últimos 40 días de conservación. El tipo de deterioro depende de características varietales, por ejemplo en manzana var. Golden luego de 6 meses el 83 % es debido a *Gloeosporium* (11) y en nuestro país se citan pérdidas del 10 - 14 % en manzana variedad 'red delicious' por *Penicillium expansum* (12). Los organismos causales, además de los nombrados, son *Monilinia*, *Glomerella*, *Mucor*, *Alternaria* spp, *Botrytis*, *Rhizopus*, *Phytophthora* spp y *Penicillium* spp (13).

La pérdida de cítricos por deterioro fúngico es variable según se apliquen, o no, tratamientos con fungicidas. Sólo en plantas de empaque se estiman pérdidas del 14% al 18% (14). Los organismos causales son *Penicillium* spp., *Phytophthora* spp, *Phomopsis*, *Diplodia*, *Geotrichum*, *Botrytis* y *Colletorichum* (10, 15).

Las levaduras aisladas de las frutas pertenecen a los géneros *Candida*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Pichia*,

Rhodotorula, Saccharomyces, Schizosaccharomyces, Sporobolomyces, Trichosporon, Zygosaccharomyces y otros (16).

En condiciones normales las nueces, almendras y otras frutas secas no presentan problemas de deterioro bacteriano debido a la baja actividad de agua, pero pueden ser dañadas por insectos y contaminadas por mohos (2).

ALMACENAMIENTO

La refrigeración reduce el metabolismo y mantiene el sabor y el valor nutritivo, y puede disminuir la incidencia de las podredumbres. Sin embargo las plantas tropicales y subtropicales sufren lesiones debido al frío con la consiguiente pérdida de calidad.

El aire debe circular dentro de la cámara refrigeradora y se requiere una humedad entre 90 y 95% para evitar el secado de las frutas y hortalizas, pero si se mantiene una humedad más alta aumentará el número y tipo de microbios a pesar de la baja temperatura. El ajuste de la humedad relativa permite equilibrar la disminución del crecimiento microbiano y la pérdida de humedad del producto (17).

Por otra parte el almacenamiento en una atmósfera modificada extiende la vida útil del producto mientras se mantenga la temperatura baja, por ejemplo las manzanas, pues bajo ciertos niveles de dióxido de carbono se restringe el crecimiento de organismos aerobios como los mohos (1).

En el caso de las papas, se almacenan los tubérculos limpios y secos bajo ventilación, con una humedad relativa elevada y una temperatura entre 4 y 10°C (18). Otros productos como alcaucil, apio, arveja, cebolla, coliflor, espárrago, espinaca, lechuga, nabo, perejil, repollo y zanahoria se almacenan alrededor de los 2°C, mientras que ají, berenjena, chaucha y pepino se colocan a 7°C, tomate a 10°C, calabaza y zapallo a 10 - 13°C y batata a 13 - 15°C.

La mayoría de las frutas se almacenan a 2°C, pero limón, lima, mango, papaya, banana, ananá y otras requieren mayor temperatura. El deterioro durante la comercialización es variable pudiendo llegar hasta el 50% de las hortalizas y algunas frutas.

Además de la refrigeración, las siguientes medidas antes del almacenamiento ayudan a controlar el deterioro:

- eliminación de todos los productos dañados,
- uso de un desinfectante después del lavado,
- secado del exceso de humedad,
- encerado de zapallos, calabazas y frutas cítricas,
- manipulación cuidadosa (1).

Una de las desventajas del uso de cloro como desinfectante la corrosión de los equipos y la otra, la formación de derivados clorados indeseables (19). El Código Alimentario Argentino (CAA) en su artículo 820 admite la preparación de hortalizas frescas, enteras o trozadas, lavadas con solución de ácido eritórico (= iso-ascórbico, 100 ppm) y envasadas al vacío (20).

PATÓGENOS

Las hortalizas crudas sólo participan de un modo secundario en las infecciones transmitidas por alimentos. Cuando aparecen estas infecciones, son debidas a la contaminación por estiércol (21) o aguas residuales (22), por ejemplo huevos de vermes, quistes de protozoos, bacterias y virus entéricos como el de la hepatitis A.

Las bacterias patógenas y amebas pueden sobrevivir por un tiempo en el suelo y contaminar las hortalizas que serán consumidas crudas. El lavado y desinfección de estos alimentos puede reducir algo del problema, pero no eliminarlo (1).

Con el fin de controlar estos peligros son necesarias las siguientes precauciones:

- evitar el uso de aguas fecales y de estiércol animal no compostado como abono,
- evitar el riego con agua contaminada,
- lavar previamente todas las materias primas con agua potable,
- higienizar con un agente desinfectante,
- limpiar y desinfectar adecuadamente las instalaciones y enjuagar con agua potable (18).

Las hortalizas son alimentos cuya durabilidad se suele prolongar mediante refrigeración, especialmente las cocidas. La presencia de *Clostridium botulinum* no proteolíticos (tipos B, E y F) constituye un peligro pues puede formarse la toxina en 10 días a 8°C si hay microambientes anaeróbicos en el producto almacenado (23). Por otra parte, las hortalizas y frutas frescas tratadas con bioinsecticidas que contienen

Bacillus thuringiensis suelen tener residuos de una enterotoxina formada por dicha bacteria (24).

CONSERVACIÓN

Los métodos más importantes para conservar las frutas y hortalizas son desecación, congelación, apertización, fermentación láctica y colocación en vinagre o salmuera, pero ninguno mejora la calidad de la materia prima. La selección previa ayuda a eliminar los materiales crudos deteriorados y la limpieza en seco quita el suelo del producto antes del lavado con agua clorada (2 a 5 ppm de cloro residual) (2).

El blanqueo es un paso crítico en el procesamiento de las hortalizas congeladas pues elimina la mayoría de los organismos contaminantes, y las dificultades en el control de la contaminación post-blanqueo depende del tipo de producto. La microbiota predominante en los vegetales congelados depende de la región geográfica y de la hortaliza. Suelen encontrarse bacilos gram-negativos, enterococos, especies de *Lactococcus* y *Leuconostoc*, y un bajo número de mohos (1).

Como las frutas comúnmente no son blanqueadas mantienen la microbiota adquirida en el campo, a la se suma la incorporada durante el procesamiento. Predominan las levaduras y los mohos, especialmente *Geotrichum* pues suele acumularse en las superficies del equipamiento. También se encuentran bacterias lácticas y especies de *Acetobacter*, *Gluconobacter* y *Zymomonas* (2). Las frutas a desecar deben cosecharse cuando hayan alcanzado su madurez.

Las hortalizas son blanqueadas antes de la deshidratación a una temperatura y por un tiempo que dependen de la madurez del producto. De esta manera se eliminan microbios e inactivan enzimas. El dióxido de azufre a un nivel de 1.000-3.000 ppm, previene el oscurecimiento y reduce el número de microorganismos.

El secado al sol está limitado a un clima favorable y a ciertos frutos y hortalizas. Es posible el deterioro durante el proceso de secado, el producto está también expuesto a la contaminación ulterior por polvo, suciedad, insectos y roedores, que añaden microorganismos al producto desecado (2).

En las cabinas de secado los factores que influyen son la temperatura, la humedad relativa del aire, la velocidad del

flujo de aire y el tiempo. Las frutas son deshidratadas a una temperatura de 60-74°C, las hortalizas a 57-93°C. Este rango cubre los puntos de muerte térmica de algunos mohos (por ejemplo 60°C para *Rhizopus nigricans*, 52°C para *Monilinia fructicola*, 58°C para *Penicillium digitatum*). Algunas piezas del material vegetal deshidratado pueden tener mayor contenido de humedad que otras, permitiendo el desarrollo microbiano si no hay un ajuste de humedad suficientemente rápido (2). Según el artículo 824 del CAA las verduras desecadas o deshidratadas no deben presentar un contenido de humedad superior al 7% (20).

Las hortalizas tales como arvejas, papas y batatas tienen un alto contenido de almidón, pero las otras poseen menos carbohidratos (6,6%) que el promedio presentado por las frutas (12,9%). La presión osmótica es una función del número de partículas en solución. Como las frutas contienen más azúcares, hay una presión osmótica mayor en los productos frutales respecto a los hortícolas. Por esta razón las frutas desecadas pueden retener más humedad sin deterioro de la calidad. Como el pH de las frutas es más ácido que el de las hortalizas, las frutas deshidratadas son atacadas por mohos y levaduras, mientras que sobre las hortalizas deshidratadas crecen bacterias además de mohos (1).

Cuando la humedad relativa de la atmósfera sobre el alimento en un contenedor cerrado, puede alcanzar el equilibrio con la a_w del producto, se denomina humedad relativa en equilibrio (HRE). Si la humedad relativa del aire donde se almacena el alimento es mayor que la HRE correspondiente a su a_w hace que el alimento tome humedad desde el aire (25). La mayoría de las levaduras tienen una a_w mínima entre 0,90 y 0,95, sin embargo existen especies xerotolerantes como *Zygosaccharomyces rouxii* que puede crecer a una a_w de 0,62 (16).

Algunas frutas desecadas, tales como los dátiles, suelen ser pasterizadas para destruir a los patógenos (2). El artículo 919 del CAA permite el tratamiento superficial de las frutas deshidratadas con ácido sórbico o sus sales, siempre que el contenido residual sea menor a 100 ppm (20).

Los tipos y números de microorganismos hallados en los productos deshidratados dependen en gran medida del tipo de

alimento, de sus antecedentes y de su composición (18). Además de los esporos de *Bacillus* y *Clostridium* suelen encontrarse en las hortalizas deshidratadas, las bacterias *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y principalmente los mohos *Aspergillus* y *Penicillium* (1). Rara vez aparecen actinomicetos o levaduras. La microbiota de las frutas deshidratadas comprende sobre todo levaduras (*Candida*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*) y mohos (*Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Xeromyces*) (26).

Las hortalizas acidificadas por adición de ácido acético solo permitirán el crecimiento de una gama relativamente reducida de organismos acidúricos. En los trozos relativamente grandes, cuyo pH interno está bien regulado, la penetración del ácido acético puede ser lenta e incompleta, manteniendo en el centro un pH no inhibitorio. Además puede ocurrir la asimilación del ácido acético por algunos microbios, originando una alcalinización secundaria y la proliferación de los organismos inicialmente controlados (18).

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se toman las muestras llevando a cabo las técnicas apropiadas para evitar cualquier contaminación durante su obtención y la posibilidad de crecimiento o muerte de los microbios durante el transporte al laboratorio. La muestra es el material obtenido y la unidad de análisis el material realmente utilizado. Ambos pueden ser lo mismo, pero en general el tamaño de la muestra suele ser más del doble de la unidad analizada para permitir otro ensayo posterior.

Se usan recipientes limpios, secos, esterilizados y cerrados, de capacidad adecuada para el escandallo deseado, como frascos de boca ancha con tapa a rosca o bolsas plásticas desechables. Los instrumentos de muestreo requeridos también son esterilizados. Las etiquetas deben tener un tamaño adecuado para registrar todos los datos necesarios. Las muestras refrigeradas o congeladas se colocan en un recipiente aislante. En el caso de productos envasados cada paquete es la muestra (27).

Las hortalizas que se comercializan listas para el consumo inmediato o que se sirven crudas en un restaurante, deben ser analizadas para comprobar que fueron obtenidas observando buenas prácticas de cultivo y manipulación.

La población microbiana sobre los productos frescos puede variar mucho y el recuento suele estar en el rango de 10^4 - 10^6 ufc/g, aunque a veces puede alcanzar las 10^9 ufc/g. Con frecuencia estos organismos no están distribuidos uniformemente, por ejemplo suele hallarse 10^4 ufc/g en las hojas externas de una planta de lechuga sin sobrepasar las 30 ufc/g en las internas (2). *Listeria monocytogenes* puede sobrevivir en tomates enteros o cortados (28).

La población de mohos aislados de hortalizas está influenciada por las condiciones climáticas, la proximidad al suelo de las partes comestibles y el tiempo transcurrido desde la cosecha. La micotoxina patulina producida por *P. expansum* y otros mohos suele encontrarse en el jugo de manzanas (2).

Los valores microbiológicos de referencia en las hortalizas crudas listas para el consumo, acordes con las buenas prácticas de manipulación son: recuento de colonias a 17°C de 10^5 ufc/g, recuentos de *E. coli* y de *Enterococcus* spp. de 10 ufc/g en cada caso, y ausencia de *L. monocytogenes* en 1 g. Estos valores son accesibles cuando se llevan a cabo correctamente el abonado, el riego, la recolección, el lavado y el procesamiento posterior (18).

El análisis de hortalizas refrigeradas que se consumirán crudas, según el ICMSF, implica la investigación de *E. coli* mediante un programa de 3 clases ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10$ /g y $M = 10^3$ /g) y la de *Salmonella* con un programa de 2 clases ($n = 10$, $c = 0$ y $m = 0$), mediante métodos normalizados (27).

Los coliformes y enterococos son contaminantes comunes de las hortalizas congeladas, pero *E. coli* es relativamente raro en los vegetales blanqueados por lo que su presencia es índice de contaminación fecal. La presencia de coliformes en las frutas congeladas no suele ser índice de peligro para la salud pública (2).

El análisis de hortalizas congeladas destinadas al consumo en crudo comprende recuento de bacterias heterótrofas ($<10^5$ /g), la investigación de coliformes ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10$ /g y $M = 10^3$ /g) y la de *E. coli* (NMP = <3 /g), mediante métodos normalizados (1).

El examen de la microbiota de alimentos desecados suele incluir los recuentos de bacterias heterótrofas, mohos y levaduras, bacterias coliformes, *E. coli*, bacterias esporuladas mesofílicas y termofílicas, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, bacterias lácticas, y la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella*, según el producto analizado y el destino del mismo (2).

El análisis de verduras desecadas, según el ICMSF, incluye la investigación de *E. coli* mediante un programa de 3 clases donde $n = 5$, $c = 2$, $m = <3 /g$ (o sea ningún tubo positivo en la técnica del NMP con 3 tubos) y $M = 10^2 /g$, y de *Salmonella* con un programa de 2 clases donde $n = 10$, $c = 0$ y $m = 0$.

El análisis frutas secadas, como dátiles e higos, implica la investigación de *E. coli* mediante un programa de 3 clases donde $n = 5$, $c = 2$, $m = <3 /g$ y $M = 10^2 /g$. El análisis de otras frutas secadas al sol comprende la investigación mediante un programa de 3 clases de levaduras osmófilas ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10 /g$, $M = 10^3 /g$), mohos ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10^2 /g$, $M = 10^4 /g$) y *E. coli* ($n = 5$, $c = 2$, $m = <3 /g$, $M = 10^2 /g$) (27).

RECUESTO MICROSCÓPICO DE MOHOS

Colocar en el círculo central de la cámara de Howard 1 gota de la muestra bien mezclada y diluída con agua o azul-láctico, de tal manera que la concentración de residuo sólido de la suspensión sea 8-9%.

Depositar el cubreobjetos de tal manera que el material se distribuya por todo el círculo y se formen los anillos de Newton en las franjas laterales. El material examinado en cada campo microscópico tiene un volumen definido.

Se observan al menos 25 campos microscópicos separados en cada carga de la cámara. Si tres trozos de hifas sumados miden 1/6 del campo, se considera positivo dicho campo. Si se necesitan más de tres trozos para lograr esa longitud, se considera como un campo negativo.

Examinar al menos dos cargas y calcular el porcentaje de campos positivos (2).

AZUL-LACTICO. Azul de algodón (= azul de anilina) 0,1 g, ácido láctico (85%) 100 mL (29).

RECUESTO DE MOHOS Y LEVADURAS

Suspender 10 g del alimento en 90 mL de diluyente tensoactivo (10^{-1}), pasar 1 mL a un tubo con 9 mL de diluyente (10^{-2}).

Colocar 0,1 mL de cada dilución en la superficie de una placa de medio de cultivo y extender con una varilla de vidrio doblada en L. Incubar durante 5 días a 22-25°C. Observar las placas que tengan entre 10 y 100 colonias de mohos o levaduras.

Suspender los productos secos en una solución de sacarosa al 20% p/v. Emplear un diluyente con 5% p/v de NaCl para los productos salados. Si la muestra es muy ácida, ajustar el pH de la suspensión a 3,5-4,0 (26).

DILUYENTE TENSOACTIVO. Peptona 1 g, polisorbitano 80 (tween) 0,5 mL, agua 1 litro. Esterilizar a 120°C durante 15 minutos (31).

AGAR-DICLORÁN-CLORANFENICOL (general). Glucosa 10 g, peptona 5 g, extracto de levadura 5 g, fosfato monopotásico 1 g, sulfato de magnesio heptahidrato 0,5 g, agar 20 g, agua 1 litro, cloranfenicol 0,1 g, diclorán (0,2% p/v en etanol) 1 mL. Esterilizar a 120°C durante 15 minutos.

AGAR-GLUCOSA-TRIPTONA-LEVADURA (para levaduras en ausencia de mohos). Glucosa 100 g, triptona 5 g, extracto de levadura 5 g, cloranfenicol 0,1 g, agar 20 g, agua corriente 1 litro. [Puede adicionarse 0,03 g de azul tripán al medio neutro]. Esterilizar a 120°C durante 10 minutos (30).

AGAR-DICLORÁN-GLICEROL (productos secos). Glucosa 10 g, peptona 5 g, fosfato monopotásico 1 g, extracto de levadura 5 g, sulfato de magnesio heptahidrato 0,5 g, agar 20 g, cloranfenicol 0,1 g, diclorán (0,2% p/v en etanol) 1 mL, glicerol 220 g, agua csp 1 litro ($a_w=0,955$). Esterilizar a 120°C durante 15 minutos.

AGAR-MALTA-GLUCOSA-SAL (productos salados). Extracto de malta 20 g, extracto de levadura 5 g, cloruro de sodio 100 g, glucosa 120 g, agar 20 g, agua 1 litro, $a_w=0,88$. Se calienta en autoclave con vapor fluente durante 30 minutos o en baño de agua hirviente.

AGAR-MALTA-ACÉTICO (productos ácidos). Extracto de malta 20 g, extracto de levadura 5 g, agar 20 g, agua 1 litro. Esterilizar a 120 °C durante 15 minutos. Agregar 5 mL de ácido acético glacial al medio estéril, fundido y tibio (pH aprox. 3,8) (26).

El recuento de mohos de Howard-Stephenson se usa para determinar si un producto apertizado tiene un alto número de hifas de mohos por campo microscópico. Si hay una cantidad excesiva de mohos, indica pobre selección del producto crudo (2). El CAA tolera, por ejemplo un recuento de mohos del 20% de campos positivos para jugo de tomates y ananá (art 1061 y

1064). Los artículos 943 a 948 no admiten más de 50 % de campos positivos en el líquido de tomates pelados o no (enteros, cubeteados o triturados), ni más de 60 % en la dilución con 8,37-9,37% de residuo sólido libre de cloruro de sodio para el concentrado de tomates o chucrut (art 976) (20).

El análisis de las hortalizas conservadas en vinagre requiere la comprobación de los valores de pH, especialmente en los sitios donde la penetración del ácido podría haber sido lenta, además de la inspección del olor, el aspecto y la investigación de las enterobacterias (<10 ufc/g), las bacterias lácticas y levaduras (<10⁴ ufc/g) y de *Acetobacter* que puede crecer y alcalinizar el producto (18).

El art 1251 del CAA se especifica que la fase líquida de los encurtidos con vinagre y salados, debe tener un pH no mayor que 3,5 (20).

El análisis microbiológico de las especias puede ser azaroso debido a los componentes antimicrobianos naturales. La acción inhibitoria en los alimentos está limitada por las cantidades en que se usan estos productos. La pimienta negra muestra los recuentos de bacterias más altos (>10⁶ ufc/g) seguida por albahaca, coriandro, paprika, pimienta blanca y timol. La nuez moscada presenta recuentos bajos y los valores menores se observan en el clavo de olor.

Los mohos suelen alcanzar 10⁵ ufc/g en apio, canela, cardamomo, pimienta blanca, romero, salvia, timol, mientras que otras especias tienen recuentos muy bajos. Predominan los *Aspergillus*, seguidos de *Penicillium* y *Mucorales*.

B. cereus no ha sido aislado de clavo de olor, pimienta de Cayena y cebollín, pero en otras los recuentos son menores que 10⁴ ufc/g. *C. perfringens* fue aislado de una amplia variedad de especias con valores inferiores a 500 ufc/g (2).

REFERENCIAS

1. Jay JM *et al.* 2005. Modern Food Microbiology. 7° ed. Springer, New York, p 125.
2. Downes FP, Ito K, eds. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA, Washington, p 515, 533, 561.
3. Guinebretiere MH *et al.* 2001. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4520.
4. Berrang ME *et al.* 1989. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2167.
5. Hernández Y, Trujillo G. 2004. Interciencia 29: 447.
6. Webb TE, Mundt JO. 1978. Appl. Environ. Microbiol. 35: 655.

7. Palazón I, Palazón C. 2000. Patología Vegetal. Vol. 2. Sociedad Española de Fitopatología, Madrid, cap. 32.
8. Brown G, Petracek P. 1997. *Phytoma* 90: 59.
9. Soriano M *et al.* 1992. Cuadernos de Fitopatología (Valencia) 32: 26.
10. Mazzuz C. 1996. Calidad de Frutos Cítricos. Mundi-Prensa, Madrid, cap. 2.
11. Mlaiki A. 1970. *Annls. Inst. Nat. Rech. Agron. Tunis.* 43:1.
12. Dobra A. 1993. Curso Internacional de Sanidad de Frutales (INTA, Río Negro) 11: 1.
13. Herrero A, Guardia J. 1992. Conservación de frutos. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 35.
14. Planells J. 1997. *Phytoma* 90:13.
15. Timmer L *et al.* 2000. *Compendium of Citrus Diseases* 2ª ed. APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 37.
16. Déak T, Beuchat LR. 1996. *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. CRC Press, Boca Raton, p 62.
17. Shewfelt RL, Prussia SE, eds. 1993. *Postharvest Handling. A Systems Approach*. Academic Press, San Diego, p 211.
18. Mossel DAA *et al.* 2003. *Microbiología de los Alimentos*. Acribia, Zaragoza, cap 537
19. Roberts RG *et al.* 1994. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:2864.
20. Código Alimentario Argentino. <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm>, cap.11
21. Natvig EE *et al.* 2002. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2737.
22. Hamilton AJ *et al.* 2006. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 3284.
23. Carlin F, Peck MW. 1996. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3069.
24. Frederiksen K *et al.* 2006. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 3435.
25. ICMSF. 1980. *Ecología Microbiana de los Alimentos*. Vol. 1. Acribia, Zaragoza, p 74.
26. Pitt JI, Hocking AD. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. 2ª ed. Blackie Academic & Professional., London, p 21, 509.
27. ICMSF. 1981. *Microorganismos de los Alimentos*. Vol. 2. Acribia, Zaragoza, cap. 104, 109.
28. Beuchat LR, Brackett RE. 1991. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1367.
29. Kirk PM *et al.* 2001. *Dictionary of the Fungi*. 9ª ed. CAB International, Wallingford, p 332.
30. Andrews WH. 1995. *Microbiological Methods*. en: *AOAC Official Methods of Analysis*. Washington. p 11
31. Beuchat LR, ed. 1987. *Food and Beverage Mycology*. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 599.