

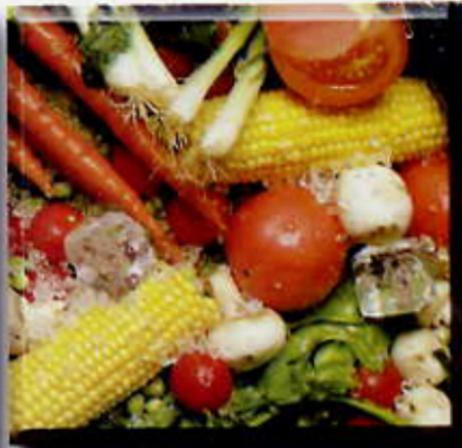
Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos



Convenio cooperativo UCR-MICT-MAG

volumen 8-2001

ISSN 1022-0321



Reviteca

Revista de Tecnología y Ciencia Alimentaria

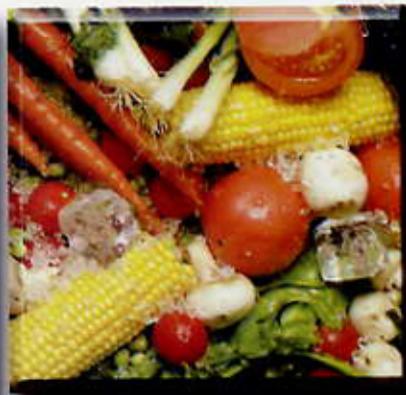
Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos



Consenso cooperativo UCR-MICT-MAG

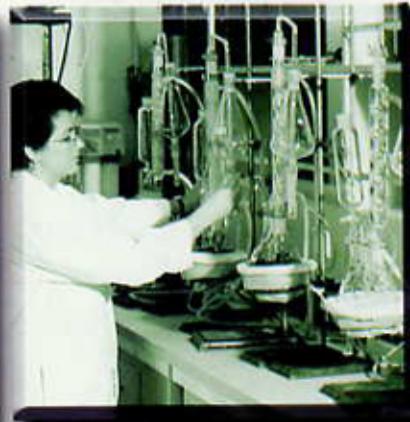
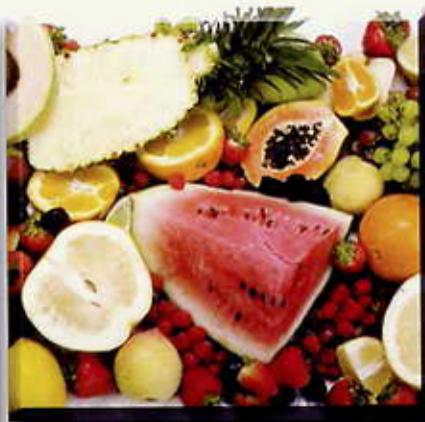
volumen 8-2001

ISSN 1022-0321



Reviteca

Revista de Tecnología y Ciencia Alimentaria



Revista anual publicada por el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora del CITA

Floribeth Viquez Rodríguez

Editor

Lic. Vera García Cortés

Consejo Editorial

M. Sc. Floribeth Viquez Rodríguez

M. Sc. Ruth De la Asunción Romero

Ph. D. Ana Ruth Bonilla Leiva

Lic. Vera García Cortés

Diseño de Portada

Carlos Fernández

Diagramación

Guiselle Cascante Salazar

La responsabilidad de los trabajos firmados es de sus autores y no del CITA, excepto cuando se indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o procedimiento patentado no supone su aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden reproducirse libremente siempre y cuando se haga mención expresa de su procedencia y se envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia para canje y suscripciones
Universidad de Costa Rica - Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos REVITECA
San José - Costa Rica

Email: cita@cita.ucr.ac.cr

Tels. 207-4701/207-3457 / 207-3431 / 207-3457

La presente edición de REVITECA es patrocinada por la Fundación para la Investigación Agroindustrial Alimentaria (FIAA).

Reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo utilizando soluciones de dióxido de cloro gaseoso

1

Wong, Eric
Linton, Richard H.

Programa de rondas interlaboratorios de análisis de alimentos (PRIDAA): evaluación del desempeño analítico en el periodo 1998-2000

7

Lois, Mónica

Efecto del almacenamiento en refrigeración sobre las características químicas del coco (*Cocos nucifera* Linn.)

15

Pineda, María Lourdes
Kopper, Gisela

Calidad sanitaria del camarón (*Penaeus brevivirostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) que se expende en el Área Metropolitana de San José

21

Zúñiga, Cira
Vargas, Elizabeth
García, Vera

Extracción y caracterización parcial del almidón de banano verde utilizando una pectinasa

28

Bonilla, Ana Ruth
Morúa, Glenn

Nota Técnica

Los "acaritos blancos" (Insecta: Psocoptera): una plaga erróneamente interpretada en la industria de Costa Rica

36

Jirón, Luis Fernando
Vargas, Mario

REDUCCIÓN DE *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* EN PIEL DE CERDO UTILIZANDO SOLUCIONES DE DIÓXIDO DE CLORO GASEOSO

Wong, Eric* y Linton, Richard H.**

ABSTRACT

REDUCTION OF *Salmonella senftenberg* AND *Escherichia coli* ON PORK SKIN USING CHLORINE DIOXIDE GAS SOLUTIONS

The reduction of *Salmonella senftenberg* and *Escherichia coli* on pork skin using chlorine dioxide gas was studied. Samples of pork skin were aseptically excised from the ham area and inoculated with approximately $8 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ of *Salmonella senftenberg* or *Escherichia coli*. Total logarithmic reductions for both microorganisms were determined after treating the samples for 60 and 600 s with chlorine dioxide gas solutions of the following concentrations: 0, 294, 588, 784 and 1046 mg/L. Total logarithmic reductions observed for *S. senftenberg* were significantly smaller than those observed for *E. coli* ($p < 0,05$). For *S. senftenberg* no significant difference was found among the reductions for 60 or 600 s ($p > 0,05$). For both contact times reductions found for chlorine dioxide gas solutions were not different from those found for the control ($p > 0,05$). All reductions found for *S. senftenberg* ranged from $0,0 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ to $0,4 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$. Reductions found for *E. coli* were significantly higher when treated during 600 s compared to a 60 s treatment ($p < 0,05$). A maximum reduction of $3,2 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ was found for a concentration of 294 mg/L applied for 600 s. This reduction was different from the one found for the control ($p < 0,05$) and not significantly different from those observed at higher concentrations ($p > 0,05$). Results presented in this study demonstrate the antimicrobial effect of chlorine dioxide gas solutions for *E. coli* on pork skin. This indicates a potential use of chlorine dioxide gas solutions to establish a pathogen reduction strategy that can allow the pork industry to comply with regulations set for *E. coli*. Since similar treatments were not useful to reduce levels of *S. senftenberg*, such a strategy will only provide a partial solution.

Key words: *Salmonella senftenberg*, *Escherichia coli*, pork skin, chlorine dioxide.

RESUMEN

Se estudió la reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo utilizando dióxido de cloro gaseoso. Se tomaron asépticamente muestras de piel de cerdo del área de la pierna y se inocularon con aproximadamente $8 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$ de *S. senftenberg* o *E. coli*. Para ambos microorganismos, se determinaron las reducciones logarítmicas totales después de tratar las muestras por 60 ó 600 s con soluciones de dióxido de cloro gaseoso con concentraciones de 0, 294, 588, 784 y 1046 mg/L. Las reducciones logarítmicas totales observadas para *S. senftenberg* fueron significativamente menores ($p < 0,05$) que las observadas para *E. coli*. Para *S. senftenberg*, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las reducciones determinadas a 60 s y 600 s. Para ambos tiempos de contacto, las reducciones logradas con todas las soluciones de dióxido de cloro gaseosos no fueron diferentes ($p > 0,05$) de la lograda con el control. Todas las reducciones encontradas para *S. senftenberg* oscilaron entre $0,0$ y $0,4 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$. En el caso de *E. coli*, las reducciones fueron mayores ($p < 0,05$) cuando los tratamientos se aplicaron por 600 s comparadas con las obtenidas por 60 s. Para este microorganismo la máxima reducción ($3,2 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$) se observó para la solución de 294 mg/L aplicada por 600 s. Esta reducción fue diferente ($p < 0,05$) a la encontrada para el control, y no difirió significativamente ($p > 0,05$) de las reducciones observadas a concentraciones mayores. Los resultados de esta investigación demuestran el efecto antimicrobiano de soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre *Escherichia coli* en la superficie de piel de cerdo. Bajo las mismas condiciones, estas soluciones no tuvieron efecto de reducción sobre *S. senftenberg*. Esto indica un posible uso del dióxido de cloro gaseoso en una estrategia parcial de reducción de patógenos que ayude a la industria a cumplir las normas

Palabras clave: *Salmonella senftenberg*, *Escherichia coli*, piel de cerdo, dióxido de cloro.

* Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica

** Department of Food Science, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47906

INTRODUCCIÓN

Una estrategia de reducción de patógenos puede definirse como el proceso que reduce o elimina microorganismos patógenos y otros microorganismos asociados presentes en los alimentos (USDA, 1996). Estas etapas utilizan agentes físicos o químicos, con efecto antimicrobiano, que permiten la eliminación o disminución de estos microorganismos a niveles aceptables.

Durante las operaciones de matanza es imposible evitar la contaminación de las canales con el contenido fecal del animal (Dickson & Anderson, 1992). Esto representa uno de los aspectos más críticos que enfrenta la industria cárnica desde el punto de vista de calidad e inocuidad. Aunque la mayoría de la flora bacteriana transferida a la canal durante las operaciones de matanza es no patógena, algunos patógenos como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Campylobacter spp.* y *Listeria monocytogenes* pueden estar presentes (Dickson & Anderson, 1992; Hardin *et al.*, 1995). Las estrategias de reducción de patógenos pueden ayudar a controlar la presencia de estos microorganismos.

Como parte de las regulaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para la industria cárnica (USDA, 1996), se han definido niveles máximos aceptables para el recuento de *E. coli* y para la incidencia de *Salmonella spp.* en canales después del proceso de matanza. A pesar de que actualmente no se requieren por ley, las estrategias de reducción de patógenos son recomendadas como complemento para los programas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP). El establecimiento de dichas estrategias en los procesos de matanza puede contribuir a reducir o mantener los niveles de *E. coli* y *Salmonella spp.* dentro de los márgenes exigidos por ley.

Por su efecto antimicrobiano comprobado, los compuestos clorinados han sido utilizados extensamente en la industria alimentaria como agentes de desinfección de superficies y equipos. Recientemente se ha reconocido al dióxido de cloro gaseoso como un agente antimicrobiano que presenta algunas ventajas sobre otros compuestos clorinados (Reina *et al.*, 1995). Entre las ventajas más importantes se pueden citar su efecto bactericida independiente del pH, mayor actividad contra esporas bacterianas, y baja peligrosidad al no reaccionar

con compuestos nitrogenados para producir cloraminas (Aieta *et al.*, 1984).

De acuerdo con Bernarde *et al.* (1967), las propiedades antimicrobianas de los compuestos clorinados se conocen desde hace mucho tiempo, y en el caso del dióxido de cloro el poder de oxidación es 2,5 veces mayor comparado con el cloro. Lillard (1979) encontró que una concentración de dióxido de cloro tiene un poder bactericida 7 veces mayor que la misma concentración de cloro en agua. El uso del dióxido de cloro va en aumento, pues el compuesto ha sido incorporado en la formulación de productos químicos que se utilizan con frecuencia en la industria alimentaria en procesos de limpieza y desinfección (Odlang, 1981).

Se han realizado varios estudios para evaluar el uso del dióxido de cloro en procesos relacionados con alimentos. Reina *et al.* (1995) estudiaron el control de microorganismos durante el procesamiento de pepino agregando dióxido de cloro al agua de enfriamiento. Estos autores encontraron que el dióxido de cloro puede utilizarse con éxito para evitar el aumento de la población bacteriana en las aguas de enfriamiento, pero no es efectivo sobre la población presente en la superficie o interior del vegetal. Foegeding *et al.* (1986) comprobaron la inactivación de las esporas de *Bacillus* y *Clostridium* utilizando dióxido de cloro gaseoso. Villareal *et al.* (1990) determinaron que la dosificación lenta y progresiva de dióxido de cloro es útil para reducir, e inclusive eliminar, *Salmonella spp.* en canales de pollo.

Lin *et al.* (1996) demostraron el efecto antimicrobiano de soluciones de dióxido de cloro gaseoso (concentraciones entre 7,5 y 15 ppm) sobre *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* Scott A en trozos de pescado. Cutter & Dorsa (1995) evaluaron el uso de la atomización con soluciones de dióxido de cloro gaseoso en procesos de lavado para reducir la contaminación fecal en canales de res. Estos autores encontraron que los lavados por atomización son efectivos en concentraciones alrededor de 20 ppm.

Las estrategias de reducción de patógenos basadas en el uso de soluciones de dióxido de cloro gaseoso podrían ser útiles para reducir la contaminación microbiana superficial en la piel de las canales de cerdo. Esto podría ayudar a que esta industria cárnica cumpla con los requisitos legales que han sido establecidos por el USDA (1996) para *Salmonella spp.* y *E. coli*. Con base en lo anterior, se planteó como objetivo de este estudio, evaluar el efecto de

soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre la reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras de piel de cerdo

Se tomaron muestras de piel de cerdo de la zona de la pierna utilizando cuchillo y pinza estériles, y siguiendo las técnicas asépticas se obtuvieron trozos de 300 cm² (30 cm X 10 cm) de superficie y 1 cm de espesor. Las muestras se tomaron de canales con menos de 2 h de refrigeración después del proceso de matanza. Todas las muestras fueron colocadas asépticamente en bolsas Whirlpack™ estériles y transportadas inmediatamente al laboratorio.

Cepas bacterianas e inoculación

Las muestras de piel de cerdo fueron colocadas sobre una superficie de acero inoxidable estéril para ser inoculadas. Las superficies de las muestras fueron inoculadas con *Salmonella senftenberg* (aislada de carne de cerdo en Virginia Polytechnical Institute, Virginia) o *Escherichia coli* GM 1829. Para ello se utilizaron cultivos en fase estacionaria propagados del cultivo madre a 37°C por 18 h de forma estática en caldo tripticasa soya (Difco Laboratories, Detroit, MI). El cultivo madre de cada cepa se mantuvo a 4°C en tubos con agar tripticasa soya (Difco Laboratories, Detroit, MI) inclinado y fue transferido al menos una vez al mes durante el desarrollo de la investigación.

Para la inoculación de las muestras de piel de cerdo se tomó una alícuota del cultivo puro sin diluir. Esta alícuota se esparció cuidadosamente sobre la superficie de las muestras con una brocha estéril para obtener una carga inicial aproximada de 8 log₁₀cfu/cm². Se dejó secar el inóculo por 15 min a 25°C antes de aplicar los tratamientos con las soluciones de dióxido de cloro gaseoso. El inóculo que se colocó en la superficie de las muestras se consideró como la única fuente del microorganismo, ya que el recuento total de bacterias mesófilas (Vanderzant y Splittstoesser,

1992) en la piel de cerdo antes de la inoculación fue menor que 10 ufc/cm².

Soluciones de dióxido de cloro gaseoso

Para generar el dióxido de cloro gaseoso se utilizó el generador CDG High Performance Chlorine Dioxide Gas Generator (CDG Technologies Inc, New York, NY). Se utilizó dióxido de cloro gaseoso balanceado con 4% de nitrógeno para generar 8% de dióxido de cloro gaseoso sobre nitrógeno con una densidad de 2840 mg/L. La solución madre de dióxido de cloro se obtuvo inyectando el gas en agua destilada y se mantuvo a 4°C en la oscuridad.

La concentración de la solución madre (1494 mg/L) se determinó utilizando el método de valoración DPD-FEAS para cloro total (HACH Co., Ames, Iowa). Se generó una curva de calibración correspondiente a la concentración de dióxido de cloro gaseoso en función del volumen del reactivo empleado en la valoración (valorante) y se obtuvo la siguiente ecuación para el mejor ajuste de dicha curva:

$$[\text{ClO}_2] = [0,02 (\text{volumen valorante en mL}) + 0,09] \text{mg/L} \quad (r^2 = 0,99)$$

Una vez determinada la concentración de la solución madre, se prepararon las soluciones con la concentración a ensayar (294, 588, 784 y 1046 mg/L) utilizando equipo volumétrico calibrado para realizar las diluciones necesarias. Estas soluciones se mantuvieron a 4°C en la oscuridad hasta su uso (menos de 1 h después de preparadas).

Determinación de las reducciones logarítmicas totales

Las reducciones logarítmicas totales para *S. senftenberg* y *E. coli* sobre piel de cerdo fueron determinadas para soluciones de dióxido de cloro gaseoso con concentraciones de 294, 588, 784 y 1046 mg/L aplicadas a la superficie por 60 ó 600 s (tiempo de contacto). Se trabajó también un control con agua destilada estéril (0,0 mg/L) para ambos tiempos de contacto.

Después de la inoculación con el microorganismo correspondiente, los trozos de 300 cm² fueron

asépticamente divididos con un cuchillo estéril para obtener trozos de 9 cm² (3 cm X 3 cm) de área. El cuchillo fue sumergido en alcohol y flameado entre cada corte. Para cada microorganismo, cada tratamiento se aplicó por triplicado utilizando trozos que fueron inoculados de forma independiente.

Para determinar la carga inicial después de la inoculación se utilizó un trozo sin tratamiento. Los tratamientos se llevaron a cabo colocando 45 mL de la solución correspondiente en una placa de Petri y sumergiendo el trozo de piel inoculado durante el tiempo de contacto correspondiente (60 ó 600 s). Los trozos se manipularon con pinzas estériles.

Para determinar la carga inicial o la carga remanente después de cada tratamiento se siguió la técnica de recuento total aerobio según Vanderzant y Splittstoesser (1992). Cada trozo de piel fue homogeneizado en 9 mL de agua peptonada al 0,1% durante 1 min en un Stomacher (Stomacher Lab Blender 400, London). A partir del homogeneizado se prepararon diluciones decimales de las cuales 1 mL fue colocado, por duplicado, en Petrifilm™ para recuento total aerobio (3M, Minneapolis, MN), el cual se incubó a 37°C por 48 h. El recuento se expresó en log₁₀ufc/cm².

La reducción logarítmica total para cada tratamiento (combinación de concentración y tiempo de contacto) se determinó calculando la diferencia entre el logaritmo₁₀ del recuento obtenido después del tratamiento y el logaritmo₁₀ del recuento inicial.

Diseño experimental y análisis de datos

El experimento correspondió a un diseño irrestricto aleatorio en un arreglo factorial 2 X 5 X 2 (microorganismo, concentración de la solución y tiempo de contacto, respectivamente) con tres repeticiones. Para evaluar las diferencias entre las reducciones logarítmicas totales observadas para cada microorganismo, concentración de la solución y tiempo de contacto, se realizó una análisis de variancia con una prueba de Scheffe's para comparación de promedios. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si la probabilidad asociada

fue menor que 0,05 (p<0,05). Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudió el efecto del tiempo de contacto y de la concentración de diferentes soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre las reducciones logarítmicas totales de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en la superficie de piel de cerdo. Los resultados se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Reducciones logarítmicas totales promedio (log₁₀ufc/cm²) para *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en superficie de piel de cerdo expuesta a diferentes tiempos de contacto con soluciones de diferente concentración de dióxido de cloro gaseoso¹

Concentración de O ₂ (mg/L)	<i>Salmonella senftenberg</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	60 s	600 s	60 s	600 s
0	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,1 ^b
294	0,1 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,0 ± 0,1 ^b	3,2 ± 0,1 ^a
588	0,4 ± 0,4 ^a	0,2 ± 0,5 ^a	2,4 ± 1,1 ^a	3,4 ± 0,8 ^a
784	0,0 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,7 ^a	3,7 ± 0,2 ^a
1046	0,0 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,4 ^a	2,7 ± 2,7 ^a	3,3 ± 3,1 ^a

¹ Los promedios se muestran con el intervalo de confianza de 95%. Los promedios en una misma columna, con letras minúsculas diferentes, son significativamente diferentes (p<0,05).

En general, las reducciones logarítmicas totales observadas para *S. senftenberg* fueron menores (p<0,05) que las observadas para *E. coli*. No hubo diferencia significativa (p>0,05) entre las reducciones de *S. senftenberg* encontradas para ambos tiempos de contacto, por lo que un aumento de 10 veces (de 60 a 600 s) en el tiempo de exposición no produjo una reducción mayor en el caso de este microorganismo.

Para ambos tiempos de contacto, las reducciones determinadas para las soluciones de dióxido de cloro gaseoso (294, 588, 784 y 1046 mg/L) no fueron diferentes a la reducción encontrada para el control (0,0 mg/L),

por lo que esta cepa de *S. senftenberg* resiste soluciones de dióxido de cloro gaseoso de hasta 1046 mg/L. Los valores encontrados, entre 0,0 y 0,4 log₁₀ ufc/cm², indican que ninguna de las condiciones ensayadas en esta investigación podría utilizarse para establecer una estrategia de reducción de patógenos que ayude a reducir o eliminar a *S. senftenberg* en la superficie de piel de cerdo.

Para un tiempo de contacto de 60 s, no se encontró diferencia ($p > 0,05$) en las reducciones de *E. coli* obtenidas para el control (0,0 mg/L) y la solución de 294 mg/L. Por otra parte, y para este mismo tiempo de contacto, las reducciones obtenidas para las soluciones de 588, 784 y 1046 mg/L no difirieron entre sí ($p > 0,05$), pero sí fueron mayores ($p < 0,05$) que las encontradas para la solución de 294 mg/L y el control (0,0 mg/L).

Cuando las muestras inoculadas con *E. coli* se trataron por 600 s, las reducciones observadas para las soluciones de 294, 588, 784 y 1046 mg/L fueron mayores ($p < 0,05$) que las observadas para el control (0,0 mg/L). Sin embargo, esas reducciones no fueron diferentes entre sí ($p > 0,05$), indicando que la máxima reducción logarítmica total para *E. coli* (3,2 log₁₀ ufc/cm²) se alcanzó, a 600 s, con la solución de 294 mg/L. Esta última representa la condición del estudio que produjo una mayor reducción de *E. coli* en la superficie de piel de cerdo, dado que a 600 s las reducciones de *E. coli* fueron mayores ($p < 0,05$) que a 60 s.

Ya que aún no se ha definido la concentración máxima permitida para soluciones de dióxido de cloro gaseoso que se utilizan en productos de cerdo, es claro que debe recomendarse el uso de la concentración más baja que garantiza la máxima reducción.

Las condiciones antes mencionadas, que garantizan una reducción de 3,2 log₁₀ ufc/cm² de *E. coli* en la superficie de piel de cerdo, podrían utilizarse con éxito en el establecimiento de un tratamiento superficial de la canal de cerdo que ayude a esta industria cárnica a cumplir con los niveles exigidos por ley para *E. coli*. Sin embargo, por el poco éxito obtenido bajo las mismas condiciones con la cepa usada de *S. senftenberg*, ese tratamiento sería únicamente una solución parcial.

REFERENCIAS

- AIETA, E. M., ROBERTS, P. V., & HERNANDEZ, M. 1984. Determination of chlorine dioxide, chlorine, and chlorate in water. *J. Am. Water Works Assoc.* 76: 64-70.
- BERNARDE, M. A., SNOW, W.B., OLIVIERI, V. P. & DAVISON, B. 1967. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. *Appl. Microbiol.* 15:257-259.
- CUTTER, C. N. & DORSA, W. J. 1995. Chlorine dioxide spray washes for reducing fecal contamination on beef. *J. Food. Prot.* 58:1294-1296
- DICKSON, J. S. & ANDERSON, M. E. 1992. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. *J. Food Prot.* 55:133-140.
- FOEGEDING, P. M., HEMSTAPAT, V. & GIESBRECHT, F.G. 1986. Chlorine dioxide inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spores. *J. Food. Sci.* 51:197-201.
- HARDIN, M. D., ACUFF, G. R., LUCIA, L. M., OMAN, J. S. & SAVELL, J. W. 1995. Comparison of methods for decontamination from beef carcass surfaces. *J. Food Prot.* 58:368-374.
- LILLARD, H. S. 1979. Levels of chlorine and chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in poultry processing water. *J. Food. Sci.* 44:1594-1597.
- LIN, W., HUANG, T., CORNELL, J. A., LIN, C. & WEI, C. 1996. Bactericidal activity of aqueous chlorine and chlorine dioxide solutions in a fish model system. *J. Food. Sci.* 61: 1030-1035.
- ODLANG, T. E. 1981. Antimicrobial activity of halogens. *J. Food. Prot.* 44:608-611.

REINA, L. D., FLEMING, H.P. & HUMPHRIES, E.G. 1995. Microbiological control of cucumber hydrocooling water with chlorine dioxide. J. Food. Prot. 58:541-546.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 1996. Pathogen Reduction: Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule. Federal Regulation 61:38805-38855.

VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. American Public Health Association, Washington DC.

VILLAREAL, M. E., BAKER, R.C. & REGENSTEIN, J.M. 1990. The incidence of *Salmonella* on poultry carcasses following the use of slow release chlorine dioxide (Alcidae). J. Food. Prot. 53:465-501.

PROGRAMA DE RONDAS INTERLABORATORIOS DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS (PRIDAA): EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO ANALÍTICO EN EL PERÍODO 1998-2000

Lois, Mónica*

ABSTRACT

FOOD ANALYSIS PROFICIENCY TESTING PROGRAM (PRIDAA): ANALYTICAL PERFORMANCE EVALUATION DURING 1998-2000

Since 1998 a proficiency testing program (PRIDAA), designed by ISO/IEC Guide 43-1, has been operating to evaluate laboratories' analytical performance.

This article analyzes data obtained during 1998-2000, where up to 16 laboratories from Costa Rica, Panamá and Cuba participated. Four rounds were completed for performance assessment in proximate analysis (moisture, fat, protein and ash) on different foods (milk powder, whole wheat, corn and wheat flours).

Each round consisted of the preparation of a homogeneous and stable material, which was distributed among the participants every four months. In the two following months, the laboratories analyzed the components defined for any particular food, using the analytical methods they usually apply. The results and the information on the method used were sent to the program coordinator who statistically analyzed the data to calculate a Z-score that indicated if the result had been satisfactory ($|Z| \leq 2$), questionable ($2 < |Z| \leq 3$) or unsatisfactory ($|Z| > 3$). Information on performance and methods utilized was distributed to the participants assuring confidentiality of results.

Of 221 results obtained, 156 were satisfactory (71%) and 25 were questionable (11%). For moisture and fat, satisfactory results obtained were variable (30-82% for moisture, and 21-60% for fat). This indicates the need for laboratories to study possible sources of variation affecting their results. Percentages of satisfactory results for protein and ash varied between 82 and 100% in both cases, which shows that methods used for protein and ash analyses are not so sensitive to variations in different parameters reported by the laboratories.

Routine participation in a proficiency testing program is a simple, objective and reliable way for laboratories to ensure good quality analytical data. For this reason, these results should stimulate other laboratories to participate.

Key words: analytical quality, analytical performance, proficiency testing.

RESUMEN

En 1998 se diseñó un "Programa de Rondas Interlaboratorios de Análisis de Alimentos" (PRIDAA) para evaluación del desempeño analítico de laboratorios, que se desarrolla en forma continua siguiendo los lineamientos de la Guía ISO/IEC 43-1.

En este artículo se analizan los resultados del período 1998-2000, donde participaron hasta 16 laboratorios de Costa Rica, Panamá y Cuba. Se completaron 4 rondas para la evaluación del desempeño en humedad, grasa, proteína y cenizas, sobre diferentes alimentos (leche en polvo, harinas de trigo, trigo integral y maíz).

Cada ronda consistió en la preparación de un material para análisis, homogéneo y estable, que se distribuyó entre los participantes cada 4 meses. Los laboratorios analizaron los componentes definidos según el alimento, dentro de los 2 meses siguientes, utilizando el método analítico que usualmente aplican. Los resultados y la información sobre el método empleado fueron enviados al coordinador del programa. Este analizó los datos para calcular un estadístico de desempeño (Z), que indica si el resultado obtenido es satisfactorio ($|Z| \leq 2$), cuestionable ($2 < |Z| \leq 3$) o insatisfactorio ($|Z| > 3$). La información resultante se presentó a los participantes asegurando confidencialidad.

Se recibieron 221 resultados, 156 fueron satisfactorios (71%) y 25 fueron cuestionables (11%). Para los análisis de humedad y grasa se obtuvieron resultados satisfactorios en porcentajes variables (30-82% para humedad y 21-60% en grasa). Esto demuestra la necesidad de que los laboratorios estudien qué fuentes de variación están afectando los resultados. Los porcentajes de resultados satisfactorios de proteína y cenizas obtenidos variaron entre 82 y 100% en ambos casos, lo que indica que los métodos utilizados para estos análisis son poco sensibles a las variaciones en los diferentes parámetros reportados por los laboratorios.

La participación de rutina en este tipo de programas es una forma sencilla, objetiva y confiable de controlar la calidad de resultados analíticos, por lo que se espera que este artículo estimule a otros laboratorios a participar.

Palabras clave: calidad analítica, desempeño analítico, comparaciones interlaboratorios.

* Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

INTRODUCCIÓN

Con el propósito de contar con datos válidos y confiables en composición de alimentos, y de apoyar a los laboratorios del país para mejorar su capacidad analítica, el Capítulo para Costa Rica del Sistema Latinoamericano de Composición de Alimentos - CR-LATINFOODS - detectó la necesidad de organizar ensayos de aptitud de los laboratorios del país que actualmente realizan este tipo de análisis.

La participación en programas de evaluación del desempeño analítico (en inglés, "proficiency tests") es una de las formas más extendidas y reconocidas de obtener información objetiva sobre la capacidad de un laboratorio para realizar determinados análisis. Tiene la ventaja de no implicar al laboratorio ni esfuerzo ni gastos adicionales en el análisis, ya que la muestra para la evaluación se incluye como una más en la rutina de trabajo.

Existen diferentes programas de este tipo específicos para alimentos, que han tenido gran difusión y éxito en sus países de origen, como son el Food Assesment Performance Scheme (FAPAS®), del Reino Unido y el programa de AOAC. La participación de laboratorios de Costa Rica en estos programas es muy reducida, posiblemente debido a que la información no les ha llegado con suficiente detalle o por el costo anual que se paga por la participación, que tradicionalmente no ha sido contemplada en los gastos de operación.

La disponibilidad de un programa de este tipo que pueda operar a nivel regional ha sido muy bien acogida por los laboratorios, que han encontrado en esta metodología, una forma práctica y objetiva de control de la calidad de resultados analíticos.

METODOLOGÍA

El Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) inició en 1998 la organización del "Programa de Rondas Interlaboratorios de Análisis de Alimentos" (PRIDAA), con el apoyo del grupo CR-LATINFOODS como promotor y asesor. El Programa se diseñó, y se desarrolla,

siguiendo los lineamientos de la Guía ISO/IEC 43-1: 1996: Ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios (IRAM, 1997) y del "International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories" elaborado por IUPAC/ISO/AOAC (Thompson y Wood, 1993).

El funcionamiento del Programa está documentado en el Protocolo de Operación (Lois, 1998), donde se describen los detalles de la preparación de los materiales, evaluación de su homogeneidad, distribución, análisis de resultados y la forma de reportarlos.

El PRIDAA inició la primera ronda en julio de 1998 con 13 laboratorios de Costa Rica que solicitaron participar, de los cuales 11 entregaron resultados en el tiempo establecido. En los dos años de operación del PRIDAA, han participado 14 laboratorios de Costa Rica, 1 de Panamá y 1 de Cuba, destacando que siempre se han mantenido los 11 primeros participantes.

Organización

Las rondas del PRIDAA consisten en la preparación de un material de ensayo, homogéneo y estable, que se distribuye entre los participantes cada 4 meses, tal como recomiendan Thompson y Wood (1993). Los laboratorios analizan los componentes que se definan según el alimento, dentro de los 2 meses siguientes al momento de la distribución de muestras, utilizando el método analítico que usualmente aplican. Los resultados son enviados al coordinador del programa. Estos resultados son sometidos a un análisis estadístico que permite determinar el desempeño de cada laboratorio, el cual se expresa por un parámetro - Z - que indicará, para cada determinación, si este ha sido satisfactorio, cuestionable o insatisfactorio. La información sobre el desempeño de los laboratorios se presenta en un reporte de la ronda, diseñado de tal manera que se asegura la confidencialidad de la información generada por cada laboratorio (Lois, 1998). Al final de cada ronda se realiza una reunión con los participantes y el grupo asesor, donde se discuten los resultados y se plantean posibles fuentes de error que expliquen las desviaciones encontradas.

En este tipo de pruebas interlaboratorios, donde el objetivo principal es la evaluación del desempeño de los

laboratorios, los participantes utilizan el método de análisis que ellos escojan. Por eso, siempre se solicita a los participantes información breve sobre el método empleado, ya que de su correlación con el desempeño obtenido pueden sacarse conclusiones importantes para mejorar o definitivamente cambiar un método. Esta información se presenta también en el reporte a los participantes.

Antes de la distribución del material preparado para análisis, éste debe ser evaluado en cuanto a su homogeneidad, para asegurar que a todos los laboratorios les llegue una muestra de la misma composición. Esto se hace a través del procedimiento descrito en la Guía ISO/IEC 43:1 (IRAM, 1997), aplicando criterios estadísticos de aceptación del lote a distribuir (Thompson & Wood, 1993; ASTM, 1995 ; Lois, 1998).

Cálculo del estadístico de desempeño (Z)

El cálculo de Z se realiza utilizando la fórmula (1), donde x es el valor reportado por cada laboratorio para un analito, X es el valor asignado y σ es un valor meta para la desviación estándar de los resultados entre laboratorios.

$$Z = \frac{(x - X)}{\sigma} \quad (1)$$

En este tipo de programa, una forma de estimar el valor real del analito (X) en la muestra es calculando un valor de consenso de los participantes (excluyendo valores espurios) (IRAM, 1997; Thompson & Wood, 1993; Lois, 1998). De allí que sea importante mantener una participación mínima de 5-10 participantes, para obtener un valor confiable de X (Tholen, 1999).

El valor de σ se obtiene de diferentes formas según la ronda y el analito, utilizándose en la mayoría de los casos la ecuación deducida por Horwitz (1982) o, si se cuenta con información de estudios colaborativos apropiados (en una matriz igual o similar a la ensayada), se utiliza el valor allí reportado para reproducibilidad (Thompson & Wood, 1993). La clasificación del desempeño de los laboratorios, tomando como base el valor Z, para cada análisis es:

- $|Z| \leq 2$, satisfactorio
- $2 < |Z| \leq 3$, cuestionable
- $|Z| > 3$, insatisfactorio

Los valores de Z se presentan a los participantes en tablas donde la identificación de los laboratorios es codificada, y también en forma gráfica donde se visualiza el desempeño global del grupo participante. Un ejemplo de este gráfico de resultados se presenta en la Figura 1.

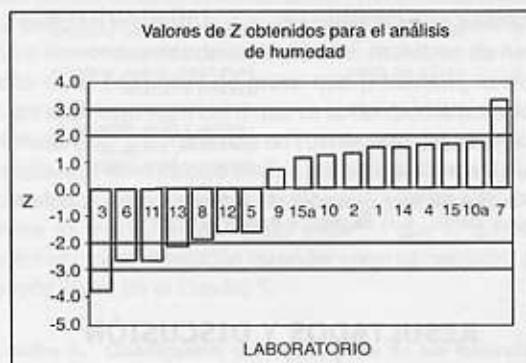


Figura 1. Ejemplo de gráfico donde se presentan los resultados de una ronda del PRIDAA, para cada uno de los analitos evaluados.

Materiales de ensayo y análisis evaluados

Desde julio de 1998 hasta abril del año 2000 se han completado 5 rondas, de las cuales 4 fueron para la evaluación del desempeño de los laboratorios en análisis proximal (humedad, grasa, proteína y cenizas). Estos son los análisis que se realizan en el mayor número de los laboratorios del país, tanto del sector privado como público (Fernández *et al.*, 2000), lo que demuestra la importancia de estas determinaciones para diferentes fines en el sector alimentario. Era entonces importante comenzar por rondas donde se evaluaran estos análisis, ya que un mayor número de participantes hace más confiable la información que se genera en este tipo de programas, donde se están

comparando entre sí los resultados de los diferentes laboratorios (Tholen, 1999).

Las rondas de evaluación de análisis proximal se han organizado sobre diferentes tipos de matrices, siempre buscando que se trate de materiales homogéneos y estables en el tiempo que dura una ronda. Las rondas que se han completado en este período se presentan en el Cuadro 1, junto con los materiales y análisis evaluados.

Cuadro 1. Materiales de ensayo y análisis evaluados en las rondas del PRIDAA completadas en el periodo 1998-2000

Ronda*	Material	Análisis evaluados
1	Harina de trigo integral	Humedad, grasa, proteína, cenizas y fibra dietética.
2	Leche en polvo	Humedad, grasa, proteína, cenizas y lactosa.
3	Harina de maíz	Humedad, grasa, proteína, cenizas y fibra dietética.
5	Harina de trigo	Humedad, grasa, proteína, cenizas y fibra dietética.

*La Ronda 4 fue para evaluación del análisis de azúcares en café tostado y molido, y no se discute en este artículo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las 4 rondas de evaluación del desempeño en análisis proximal, se obtuvieron 221 valores de Z, de los cuales 156 fueron satisfactorios (71%). Este resultado es bajo si se compara con lo obtenido en la serie de componentes nutricionales del programa FAPAS (Food Assessment Performance Scheme), del Reino Unido, en el período 1990-1996 (Key *et al.*, 1997). Este programa opera en forma muy similar al PRIDAA, pero con la diferencia de que en 1996 ya habían completado 18 rondas, con la participación de 321 laboratorios en la serie de componentes nutricionales, y en este período obtuvieron 80% de resultados satisfactorios. Es lógico esperar que con la participación de los laboratorios por un largo tiempo en un programa de este tipo, se obtenga una mejoría en los porcentajes de resultados satisfactorios. Hay que tener en cuenta que de los 321 laboratorios que participaron en FAPAS en el período mencionado, 236 fueron participantes al menos en 17 rondas.

Humedad

Los porcentajes de laboratorios que obtuvieron un desempeño satisfactorio en la determinación de la humedad para las diferentes matrices analizadas, se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación del desempeño de los laboratorios, tomando como base el valor Z, para el análisis de humedad en el período 1998-2000

Ronda	Material	Desempeño de los laboratorios (%)		
		Satisfactorio	Cuestionable	Insatisfactorio
1	Harina de trigo integral	81,8 (9 de 11)	9,1 (1 de 11)	9,1 (1 de 11)
2	Leche en polvo	53,8 (7 de 13)	7,7 (1 de 13)	38,5 (5 de 13)
3	Harina de maíz	29,7 (5 de 18)	50,0 (9 de 18)	22,2 (4 de 18)
5	Harina de trigo	80,0 (12 de 15)	6,7 (1 de 15)	13,3 (2 de 15)

Para analizar estos resultados es importante observar la evolución de las desviaciones estándar relacionadas con estas determinaciones. En el Cuadro 3 se presentan los valores empleados en el cálculo de Z (X y σ), y las desviaciones estándar entre los laboratorios participantes, $\sigma_{lab.}$ y $\sigma_{excl.}$ (sin excluir y excluyendo los valores espurios, respectivamente).

La desviación estándar meta (σ) utilizada en el cálculo de Z, fue obtenida en todos los casos por medio de la ecuación de Horwitz, que es una de las formas más utilizadas de estimar este parámetro. La ecuación es el resultado de correlacionar el valor de desviación estándar entre los resultados de diferentes laboratorios, para muchos diferentes analitos, y la concentración del analito en los materiales ensayados en un gran número de estudios colaborativos (Horwitz, 1982). De allí que para las muestras con menor contenido de humedad, como es el caso de la leche en polvo, se obtengan valores de σ más exigentes. Esto contribuyó a la obtención de bajos porcentajes de laboratorios con resultados satisfactorios en las Rondas 2 y 3.

En el caso de la Ronda 2, donde la desviación estándar entre laboratorios, luego de eliminar datos espurios, es baja en comparación con las de las Rondas 1 y 3 (0,59), la principal razón del bajo porcentaje de satisfacción obtenido

es el σ utilizado, que fue el más estricto todos (0,22). En el caso de la Ronda 3, el bajo porcentaje de resultados satisfactorios se debe realmente a una alta dispersión entre laboratorios ($\sigma=0,82$), no habiéndose encontrado valores extremos (datos espurios) que pudieran ser descartados de los cálculos estadísticos.

De esto puede concluirse que la definición del valor de σ empleado en el cálculo de Z es muy importante, y que solo la experiencia en la participación en varias rondas de este tipo puede aportar evidencia de que se está siendo muy (o poco) estricto a la hora de fijar una meta en la variabilidad entre los laboratorios.

Cuadro 3. Valores empleados en el cálculo de Z (X y σ) para el análisis de humedad, y desviación estándar entre los laboratorios participantes, con ($\sigma_{\text{est.}}$) y sin ($\sigma_{\text{lab.}}$) eliminación de datos espurios

Ronda	Material	% Humedad (X)	σ	$\sigma_{\text{lab.}}$	$\sigma_{\text{est.}}$
1	Harina de trigo integral	13,9	0,37	0,67	0,67
2	Leche en polvo	3,3	0,22	0,72	0,59
3	Harina de maíz	10,3	0,29	0,82	0,82
5	Harina de trigo	13,2	0,36	0,73	0,35

En la Ronda 2 se pudo verificar que el valor espurio descartado, un porcentaje de humedad muy bajo en comparación con los demás participantes, fue debido a que se utilizó una temperatura menor a la recomendada por los métodos reconocidos para este tipo de muestras. En la Ronda 5, la información aportada por los laboratorios sobre la metodología empleada no aporta evidencia del uso de un método no adecuado.

La evaluación de los resultados por parte del grupo de laboratorios participantes, que se realiza en las reuniones de presentación de los resultados de cada ronda, arrojó algunas conclusiones importantes acerca de las posibles causas de error en el análisis de humedad. Se mencionaron como posibles medidas correctivas para obtener mejores resultados:

- la revisión periódica del estado del desecador/desecante,
- el control de las temperaturas de las estufas,
- el mantenimiento adecuado de las estufas (buen cierre),

- la manipulación correcta de la muestra antes del análisis (muestras muy secas, con facilidad de humedecerse, principalmente en caso de leche en polvo),
- la verificación del estado de las cápsulas.

Grasa

Los resultados del desempeño de los laboratorios en la determinación de la grasa, en las diferentes matrices analizadas, se presentan en el Cuadro 4. Los porcentajes de resultados satisfactorios son un poco desalentadores. La principal razón de la gran divergencia entre laboratorios para las rondas donde se analizaron muestras de harinas está en el bajo nivel de grasa que presentan, lo que da lugar a un bajo valor del σ que se obtiene de la ecuación de Horwitz (σ_{Horwitz}). Teniendo en cuenta esto, los valores de σ empleados en el cálculo de Z, a partir de la Ronda 3, fueron calculados, como 2 veces el valor σ_{Horwitz} . Aún así, el valor meta es mucho menor (más estricto) que lo que se ha obtenido como desviación estándar entre laboratorios, como puede verse en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Clasificación del desempeño de los laboratorios, tomando como base el valor Z, para el análisis de grasa en el período 1998-2000

Ronda	Material	Desempeño de los laboratorios (%)		
		Satisfactorio	Questionable	Insatisfactorio
1	Harina de trigo integral	40,0 (4 de 10)	10,0 (1 de 10)	50,0 (5 de 10)
2	Leche en polvo	36,4 (4 de 11)	18,2 (2 de 11)	45,4 (5 de 11)
3	Harina de maíz	60,0 (9 de 15)	6,7 (1 de 15)	33,3 (5 de 15)
5	Harina de trigo	21,4 (3 de 14)	28,6 (4 de 14)	50,0 (7 de 14)

Otra razón importante en la dispersión de los resultados, es que los laboratorios están utilizando 2 métodos que analizan diferentes fracciones de la grasa. Se trata, en un caso, de métodos que solo tienen una etapa de extracción en éter o hexano, y en el otro, de métodos que incluyen además una etapa de hidrólisis ácida. En esta etapa adicional se hidrolizan muchos de los componentes de los alimentos que podrían estar imposibilitando la completa extracción de grasa, como es el caso de polisacáridos y

proteínas. Sin embargo, la hidrólisis ácida de productos con alto contenido de carbohidratos puede dar valores altos de grasa, por la extracción, también, de azúcares o derivados resultantes de la hidrólisis (Sullivan y Carpenter, 1993). En definitiva, hay varios factores que hay que tener en cuenta para mejorar el desempeño en el análisis de grasa, entre los que se pueden destacar una correcta selección del método de análisis dependiendo de la naturaleza del alimento, el tamaño de partícula y el contenido de humedad de las muestras. En todos los casos, los valores de X y σ empleados en el cálculo de Z son los obtenidos con los datos de los laboratorios que analizaron por extracción (sin hidrólisis), debido a que son la mayoría.

En la Ronda 2, en la cual se analizó leche en polvo, se encontró diferencia significativa entre la media de los laboratorios que utilizan métodos con hidrólisis ácida (Babcock y Gerber), y los que utilizan el método de Rose Gottlieb. En el caso del método Babcock, esto está de acuerdo con los resultados encontrados en el estudio colaborativo que describen Lynch *et al.* (1997), donde se comprueba una diferencia entre este método y el Rose Gottlieb, que solo puede ser evitada si se modifica el método Babcock en cuanto a la temperatura de lectura de la columna de grasa.

Cuadro 5. Valores empleados en el cálculo de Z (X y σ) para el análisis de grasa, y desviación estándar entre todos los laboratorios participantes ($\sigma_{lab.}$) y entre los que analizaron por extracción con solventes ($\sigma_{extr.}$)

Ronda	Material	% Grasa (X)	σ	$\sigma_{lab.}$	$\sigma_{extr.}$
1	Harina de trigo integral	1,9	0,07	0,28	0,25
2	Leche en polvo	26,8	0,65	2,4	2,6
3	Harina de maíz	3,7	0,24	0,80	0,66
5	Harina de trigo	1,1	0,09	0,41	0,31

Proteína

En esta determinación, los resultados entregados por los laboratorios fueron mucho más concordantes que los discutidos anteriormente, obteniéndose los porcentajes de desempeño satisfactorio que se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Clasificación del desempeño de los laboratorios, tomando como base el valor Z , para el análisis de proteína en el período 1998-2000

Ronda	Material	Desempeño de los laboratorios (%)		
		Satisfactorio	Cuestionable	Insatisfactorio
1	Harina de trigo integral	100,0 (11 de 11)	0 (0 de 11)	0 (0 de 11)
2	Leche en polvo	85,7 (12 de 14)	7,1 (1 de 14)	7,1 (1 de 14)
3	Harina de maíz	88,0 (15 de 17)	5,6 (1 de 17)	5,6 (1 de 17)
5	Harina de trigo	82,3 (14 de 17)	5,9 (1 de 17)	11,8 (2 de 17)

En el Cuadro 7 se presentan los valores de X y σ utilizados en el cálculo de Z , siendo σ en todos los casos el que se obtiene de la ecuación de Horwitz. Es importante observar que la desviación estándar entre laboratorios (excluyendo los valores espurios) fue, para todas las rondas, siempre del mismo orden que el valor meta (σ) propuesto.

De los laboratorios que analizan proteína, solo uno utiliza el método de combustión. Los restantes utilizan el método de Kjeldahl, pero con una amplia gama de diferencias entre ellos: automatizados o no, macro o micro Kjeldahl, diversos catalizadores, volúmenes de ácido y tiempos para la digestión, y tipo y volumen del ácido que recibe el NH_3 . La concordancia entre los valores obtenidos en las 4 rondas por los diferentes laboratorios, demuestra que el método es robusto frente a todas estas variaciones.

Cenizas

El desempeño de los laboratorios participantes en el análisis de cenizas también es, en general, satisfactorio (Cuadro 8). Todos los laboratorios utilizan métodos de incineración que difieren ligeramente en la temperatura de la mufla y el tiempo. El método resulta muy robusto, y la variabilidad entre laboratorios está siempre por debajo o en el mismo orden que la meta propuesta σ para cada tipo

Cuadro 7. Valores empleados en el cálculo de Z (X y σ) para el análisis de proteína, expresado como % de nitrógeno, y desviación estándar entre los laboratorios participantes, con ($\sigma_{excl.}$) y sin ($\sigma_{lab.}$) eliminación de datos espurios

Ronda	Material	% Nitrógeno (X)	σ	$\sigma_{lab.}$	$\sigma_{excl.}$
1	Harina de trigo integral	2,5	0,09	0,06	0,06
2	Leche en polvo	4,0	0,13	0,16	0,16
3	Harina de maíz	1,3	0,05	0,07	0,05
5	Harina de trigo	2,1	0,08	0,21	0,07

Cuadro 8. Clasificación del desempeño de los laboratorios, tomando como base el valor Z, para el análisis de cenizas, en el período 1998-2000

Ronda	Material	Desempeño de los laboratorios (%)		
		Satisfactorio	Cuestionable	Insatisfactorio
1	Harina de trigo integral	100,0 (10 de 10)	0 (0 de 10)	0 (0 de 10)
2	Leche en polvo	100,0 (12 de 12)	0 (0 de 12)	0 (0 de 12)
3	Harina de maíz	93,8 (15 de 16)	0 (0 de 16)	6,2 (1 de 16)
5	Harina de trigo	82,3 (14 de 17)	11,8 (2 de 17)	5,9 (1 de 17)

Cuadro 9. Valores empleados en el cálculo de Z (X y σ) para el análisis de cenizas, y desviación estándar entre los laboratorios participantes, con ($\sigma_{excl.}$) y sin ($\sigma_{lab.}$) eliminación de datos espurios

Ronda	Material	% Cenizas (X)	σ	$\sigma_{lab.}$	$\sigma_{excl.}$
1	Harina de trigo integral	1,52	0,06	0,06	0,06
2	Leche en polvo	5,74	0,18	0,10	0,10
3	Harina de maíz	1,25	0,05	0,05	0,03
5	Harina de trigo	0,55	0,02	0,03	0,03

de material (Cuadro 9).

CONCLUSIONES

Si bien el programa es aún joven y no pueden presentarse datos acerca de cuánto mejora o no el desempeño de un laboratorio en particular, sí puede concluirse que la participación en este tipo de ensayo de

aptitud aporta mucha información sobre la calidad de los resultados y sobre la robustez de los diferentes análisis evaluados, así como sobre posibles fuentes de error detectadas a partir de la información del método empleado.

Vale la pena resaltar que solo la participación en el programa no asegura la mejora en la calidad de los resultados obtenidos por un laboratorio. Lo que realmente mejora el desempeño del laboratorio será su capacidad para utilizar la información generada, en la búsqueda de las causas de los errores y de las acciones correctivas que correspondan.

En cuanto a los análisis evaluados, puede deducirse que los métodos de análisis de humedad y grasa, si bien parecen ser sencillos y conocidos, tienen muchos aspectos a los que hay que atender para mejorar la dispersión de los resultados entre los diferentes laboratorios. En cambio, los métodos utilizados para el análisis de proteína y cenizas han demostrado ser poco sensibles a variaciones en diferentes parámetros, y en general con ellos se obtienen resultados satisfactorios y concordantes.

La confiabilidad de un programa de este tipo se asegura con una alta participación y además con el cumplimiento de las recomendaciones y guías para la organización de los mismos. Los laboratorios han demostrado gran interés en continuar participando y también en aumentar el tipo de materiales y el tipo de análisis a evaluar, ya que la información generada les aporta evidencia objetiva que pueden aprovechar para orientar sus mejoras.

BIBLIOGRAFIA

- ASTM. 1995. "Standard guide for proficiency testing by interlaboratory comparisons". ASTM 1301-95.
- FAPAS SECRETARIAT. 1997. Protocol for the Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS®), 5 ed. Central Science Laboratory, UK.
- FERNÁNDEZ, M., BLANCO, A., LOIS, M., AVILA, A., FOURNIER, A. & MONTERO, M. 2000. Composición de alimentos en Costa Rica: un diagnóstico. REVITECA 7: 26-33.

- IRAM (Instituto Argentino de Normalización). 1997. Ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios. Parte 1: Desarrollo y funcionamiento de programas de ensayos de aptitud. Norma IRAM 305-1:1997 (versión en español de la Guía ISO/IEC 43-1: 1996, traducida por el IRAM), Argentina.
- HORWITZ, W. 1982. Evaluation of analytical methods used for regulations of foods and drugs. *Anal. Chem.* 54 (1), 67A-76A.
- KEY, P., PATEY, A., ROWLING, S., WILBOURN, A. & WORNER, F. 1997. International proficiency testing of analytical laboratories for foods and feeds from 1990 to 1996: The experiences of the United Kingdom Food Analysis Performance Assessment Scheme. *J. AOAC Int.* 80 (4): 895-899.
- LOIS, M. 1998. PRIDAA: protocolo de operación y análisis de datos. CITA, Costa Rica.
- LYNCH, J., BARBANO, D. & FLEMING, J. 1997. Modification of Babcock methods to eliminate fat testing bias between Babcock and ether extraction methods (modification of AOAC Official Methods 989.04 and 995.18): Collaborative Study. *J. AOAC Int.* 80 (4): 845-859.
- SULLIVAN, D. & CARPENTER D., eds. 1993. Methods of analysis for nutrition labeling. AOAC International, USA.
- THOLEN, D. 1999. Interlaboratory comparisons and proficiency testing following ISO/IEC Guides 43-1 and 43-2. Course notes. 2 ed. USA.
- THOMPSON, M. & WOOD, R. 1993. "The international harmonised protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories". *J. AOAC Int.* 76 (4): 926-940.

Deseo expresar un gran reconocimiento a los Sres. Celina Sánchez, M^º de los Ángeles Torres, Guiselle Cascante, Ramón Gerardo Solís, Alonso Contreras y Alejandro Leiva, del laboratorio de química del CITA, por su valiosa participación en la preparación, evaluación de la homogeneidad y distribución de muestras de este programa, y agradecer su buena disposición en todo momento. También, reconocer y agradecer la activa participación de los miembros de CR-LATINFOODS en la revisión del protocolo de operación, en la promoción del programa y en el aporte de su experiencia en el análisis de la información generada por las rondas: M.Sc. Adriana Blanco, Lic. Mireya Fernández, Lic. Marielos Montero, Lic. Ana M^º Fournier, Lic. Ana Lucrecia Montero y Lic. Carmen

EFFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL COCO (*Cocos nucifera* Linn.)

Pineda, María Lourdes* y Kopper, Gisela*

ABSTRACT

EFFECT OF REFRIGERATED STORAGE ON COCONUT'S (*Cocos nucifera* Linn.) CHEMICAL CHARACTERISTICS

Behavior of moisture and fat content, fat acidity, total and reducing sugars were evaluated in two different fresh hybrid coconut (*Cocos nucifera* Linn.) lots. Samples were stored during one month at 5°C, without moisture control. Differences between lots and trends in time were evaluated.

Lots presented similar trends in the evolution of all chemical parameters evaluated, but significant differences ($p < 0,05$) were found in change intensity between the two lots, except in total sugars. During storage time moisture and total sugars content did not vary significantly ($p > 0,05$) in any of the lots, but, reducing sugars content increased significantly ($p < 0,05$) in Lot 2, fat content decreased in Lot 1, and fat acidity increased in both lots.

Coconuts were considered to be rotten during the fourth week of storage, before chemical characteristics deviated from what is normal for this raw material. Consequently, it is concluded that coconut can be stored up to three weeks, under the studied conditions, before consumption or industrial processing.

Key words: coconut, storage, moisture, acidity, sugars.

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento del contenido de humedad, aceite, acidez del aceite y azúcares totales y reductores de dos lotes diferentes de nueces de coco híbrido fresco, durante su almacenamiento por un mes a 5°C sin control de la humedad. Se estimó si existían diferencias entre los dos lotes para cada parámetro químico y se evaluaron las tendencias en el tiempo para los mismos.

Todos los componentes evaluados presentaron tendencias similares en los dos lotes, pero se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los dos lotes con respecto a la intensidad de las tendencias de todos los parámetros, excepto en el contenido de azúcares totales.

Durante el periodo en estudio la humedad y los azúcares totales no variaron en forma significativa ($p > 0,05$) en ninguno de los dos lotes, pero resultaron significativos ($p < 0,05$) el aumento en el contenido de azúcares reductores del Lote 2, la disminución del contenido de aceite del Lote 1 y el aumento de la acidez del aceite de los dos lotes.

Los cocos presentaron podredumbre durante la cuarta semana de almacenamiento, antes de que las características químicas de los cocos se desviaran de lo que se considera la composición típica de esta materia prima, por lo que, bajo las condiciones estudiadas, los cocos se pueden consumir o usar para su procesamiento industrial hasta la tercera semana de almacenamiento.

Palabras clave: coco, almacenamiento, acidez, humedad, azúcares.

* Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

INTRODUCCIÓN

Woodroof (1970) indica que la humedad, el aceite, los carbohidratos, la proteína, la fibra cruda y las cenizas son los principales componentes de la carne de coco madura, constituyendo los tres primeros más del 90% de su composición.

Durante el almacenamiento a temperatura ambiente de los cocos maduros, ocurren algunos cambios favorables tanto en los componentes como en otras características de la nuez; por ejemplo, aumenta el contenido de aceite, se reduce el contenido de humedad del endospermo y se facilita el descasque. Sin embargo, cuando se genera un calentamiento excesivo de las nueces, estas están sujetas a deterioro de la calidad, pudiendo presentarse acidez elevada, rompimiento de la cáscara, actividad microbiológica y también oscurecimiento del endospermo. Por otro lado, el almacenamiento a temperaturas de refrigeración asegura una vida útil más prolongada y la obtención de productos procesados de mejor calidad (Grimwood, 1977; Date, 1970; Moreira, 1980).

El tiempo de almacenamiento para la nuez de coco maduro depende de la temperatura, siendo que, cuanto más próxima esté a los 2,2°C, por más tiempo se conservará el producto. Según la temperatura de almacenamiento va disminuyendo desde 38° hasta 2,2°C, bajo una humedad relativa de 50%, el tiempo de almacenamiento de los cocos puede abarcar desde un mes hasta 24 meses. En general, se recomienda el almacenamiento a temperaturas que oscilen entre 10 y 15,6°C y humedades relativas bajas, entre 45 y 55%; en estas condiciones los cocos pueden almacenarse de 9 a 11,5 meses sin que aparezca rancidez, amarilleamiento o podredumbre (Moreira, 1980). Sin embargo, las condiciones de humedad recomendadas no son comunes en las cámaras de refrigeración y para alcanzarlas se requiere de sistemas costosos de deshumidificación del aire.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del almacenamiento del coco fresco en refrigeración, sin control de la humedad, sobre sus principales características químicas, con el fin de establecer el tiempo máximo que puede almacenarse antes de consumirlo o de procesarlo industrialmente, sin que los cambios que sufre alteren la calidad del producto final.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos lotes recién recolectados de coco fresco (*Cocos nucifera* Linn.) de la variedad híbrida Enano Dorado de Malasia x Alto del Pacífico, provenientes de la zona de Limón; uno se tomó en enero (época seca) y el otro en julio (época lluviosa) de 1992.

Cada lote estuvo compuesto por 35 cocos que se almacenaron en refrigeración a 5°C con una humedad relativa (no controlada) superior al 80%.

Los muestreos se realizaron cada 2 a 4 días hasta completar 31-32 días. En cada muestreo se tomaron dos muestras, constituidas por un coco cada una. En total, de cada lote se analizaron 20 nueces.

Cada coco se descascó, se mondó, se lavó con agua, se le secó el exceso de humedad con una toalla de papel y se ralló al tamaño estándar (2,4 mm) en un rallador de disco. A la carne de coco obtenida de esta forma se le hicieron los siguientes análisis químicos:

- Humedad. Método 27.005 del AOAC (1984).
- Aceite. Método. 27.006 del AOAC (1984).
- Azúcares reductores y totales. Método microcolorimétrico de Nelson-Somogyi (Southgate, 1976). Para la hidrólisis de los azúcares totales se aplicó el método 31.026 (b) del AOAC (1984).
- Acidez del aceite. Se utilizó el método descrito en el Proyecto de Norma CODEX para el coco rallado desecado (ONNUM, 1990).

Además, cada muestra se evaluó informalmente en cuanto a las características sensoriales de la carne (endospermo sólido) y del agua (endospermo líquido).

Se obtuvieron los valores de cada componente como porcentaje. Para el aceite, los azúcares totales y los azúcares reductores se calcularon los valores en base seca (BS). La acidez del aceite se expresó como porcentaje de ácido láurico.

Con un análisis de covarianza se evaluaron las diferencias entre los lotes de materia prima utilizados, y la variación en los componentes del coco durante el tiempo de almacenamiento. Además se calcularon las rectas de mejor ajuste de cada componente en función del tiempo para establecer su tendencia durante el almacenamiento, y se

halló su probabilidad asociada por medio de un análisis de varianza. Se utilizó un nivel de confianza del 95% para establecer diferencias significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en el Cuadro 1, existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los dos lotes evaluados para la mayoría de los componentes químicos de la nuez de coco. Esto refleja la gran variabilidad en la composición de esta materia prima, la que, según Moreira (1980), por sí misma es muy variable y puede depender, entre otros factores, de la época del año, como en este caso, y del grado de maduración y desarrollo del fruto.

De las variables evaluadas durante el almacenamiento, los azúcares reductores, el aceite y la acidez del aceite de las nueces de coco presentaron tendencias significativas ($p < 0,05$) en el tiempo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Probabilidad asociada en el efecto del lote y del tiempo de almacenamiento a 5°C sobre los componentes del coco

Componente	Probabilidad asociada (p)	
	Lote	Tiempo
Humedad	0,0001*	0,4597
Azúcares totales	0,9818	0,0677
Azúcares reductores	0,0073*	0,0312*
Aceite	0,0007*	0,0002*
Acidez del aceite	0,0000*	0,0013*

* Efecto significativo ($p < 0,05$)

Con el fin de establecer las relaciones con el tiempo de cada componente del coco se calcularon las rectas de mejor ajuste de la concentración en función del tiempo (Cuadro 2). A pesar de que el análisis de covarianza indica una variación significativa de algunos de los componentes evaluados en función del tiempo (Cuadro 1), esta variación no se observó siempre en los dos lotes, pues sólo en algunos casos las rectas de mejor ajuste resultaron significativas. Por lo tanto, se debe considerar que las características del coco fresco, como se mencionó anteriormente, influyen en su comportamiento durante el almacenamiento.

Cuadro 2. Parámetros de las rectas de mejor ajuste de los componentes del coco en función del tiempo de almacenamiento, según lote estudiado

Componente	Lote	Pendiente	Intersección	Coef. De correlación	Prob. Asociada
Humedad	1	0,0318	57,6348	0,0783	0,7427
Humedad	2	0,0709	51,3262	0,1686	0,4774
Azúcares totales	1 y 2	-0,0586	6,6798	-0,2957	0,06395
Azúcares reductores	1	0,0155	0,6592	0,3793	0,09907
Azúcares reductores	2	0,0053	0,5562	0,4459	0,04877*
Aceite	1	-0,4336	58,1094	-0,6909	0,00074*
Aceite	2	-0,2200	48,9417	-0,4207	0,0646
Acidez del aceite	1	0,0019	0,0918	0,5340	0,0153*
Acidez del aceite	2	0,00087	0,0706	0,5229	0,01799*

* Efecto significativo ($p < 0,05$)

Aunque Grimwood (1977) ha señalado que el contenido de humedad del coco disminuye durante su almacenamiento a temperatura ambiente, la alta humedad de la cámara de refrigeración utilizada en este estudio ($> 80\%$), impidió que el coco se resecara. Lo anterior explica el hecho de que el coco no registrara una variación significativa ($p > 0,05$) en el contenido de humedad durante el almacenamiento, en ninguno de los dos lotes (Figura 1).

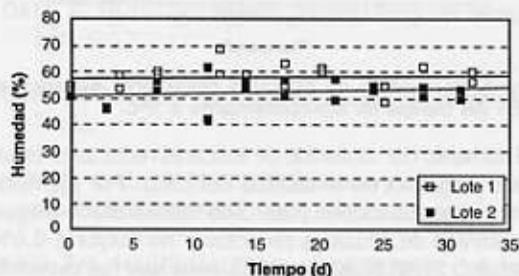


Figura 1. Porcentaje de humedad del coco en función del tiempo de almacenamiento a 5°C.

La reducción en los azúcares totales (Figura 2), aunque no significativa, y el aumento en los azúcares reductores (Figura 3), significativo ($p < 0,05$) para el Lote 2 (Cuadro 2), se debe a que la sacarosa, principal componente de los azúcares totales del coco (Bhatia, 1963), tiende a hidrolizarse durante el almacenamiento de algunas frutas como parte del proceso de maduración, para ser reemplazada por una cantidad igual de azúcares reductores (Hulme, 1978).

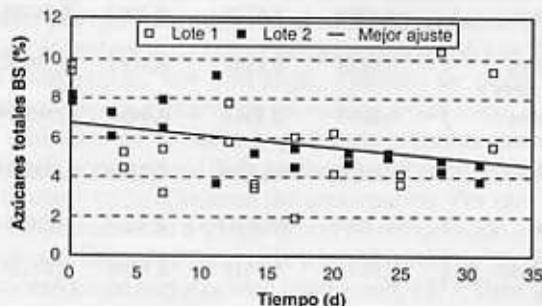


Figura 2. Porcentaje de azúcares totales del coco en función del tiempo de almacenamiento a 5°C.

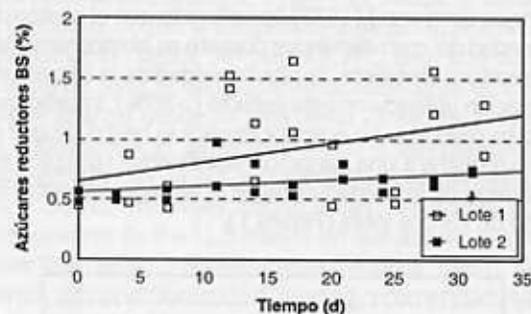


Figura 3. Porcentaje de azúcares reductores del coco en función del tiempo de almacenamiento a 5°C.

El aumento del contenido de azúcares reductores es un aspecto negativo en la calidad del coco. Por ejemplo, algunas especificaciones para coco deshidratado exigen un contenido de azúcares reductores no mayor a 0,6% (Woodroof, 1970) (0,62% en BS), valor que fue excedido por el Lote 1 desde el inicio de la investigación. Los azúcares reductores deben encontrarse en una concentración baja

pues son un sustrato de la reacción de Maillard, uno de los mecanismos del oscurecimiento no enzimático, que se puede presentar durante la deshidratación o el almacenamiento de las frutas (Cheftel y Cheftel, 1976). Sin embargo, el proyecto de "Norma para el Coco Rallado Desechado" (ONNUM, 1990) no hace ninguna referencia al contenido de azúcares reductores que debe tener el producto.

El contenido de aceite del coco fresco disminuyó durante el almacenamiento (Figura 4); la disminución fue significativa ($p < 0,05$) únicamente para el Lote 1 (Cuadro 2). La leve disminución observada no es deseable porque el aceite desempeña un papel fundamental en las características organolépticas del coco y, según Grimwood (1977), constituye el principal factor de calidad del coco para fines de comercialización. Sin embargo, el valor de aceite más bajo encontrado en todo el estudio (41%) se encuentra dentro del ámbito reportado por Vargas (1992) para el coco híbrido fresco ($43,29\% \pm 2,77$), por lo que el cambio observado no afectaría la calidad de los productos que se elaboraran con el coco almacenado en refrigeración.

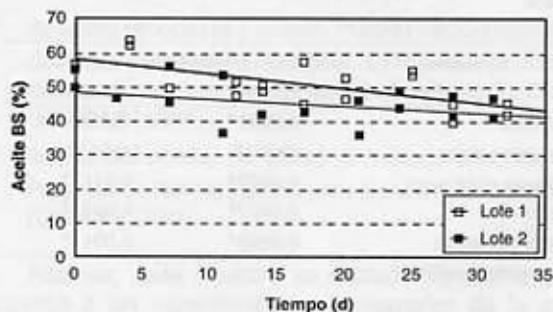


Figura 4. Porcentaje de aceite del coco en función del tiempo de almacenamiento a 5°C.

La acidez del aceite contenido en el coco fresco es uno de los más importantes determinantes en la calidad de la nuez y sus productos industriales. En las semillas oleaginosas crudas, tal como las nueces, las lipasas catalizan la desesterificación de los triglicéridos, digiriendo los aceites durante la germinación (Braverman, 1967; Primo, 1982). Por lo tanto, conforme la semilla madura, la acidez del aceite va aumentando, situación que, según muestra la Figura 5,

se presenta también bajo condiciones de refrigeración y ocurrió en forma significativa ($p < 0,05$) en los dos lotes evaluados (Cuadro 2).

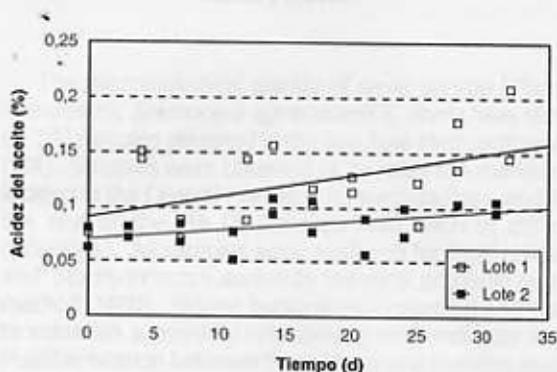


Figura 5. Porcentaje de acidez del aceite del coco en función del tiempo de almacenamiento a 5°C.

Cabe mencionar que el porcentaje de acidez máximo permitido en el aceite del coco deshidratado es de 0,15% como ácido láurico (ONNUM, 1990) y que un porcentaje de acidez superior al 0,15% se distingue por producir sabor a jabón (Woodroof, 1970). Evaluando las ecuaciones de regresión lineal para la acidez del aceite (Cuadro 2), este valor se alcanzaría a los 31 y 91 días, respectivamente, para los Lotes 1 y 2.

Para establecer cual es el tiempo máximo de almacenamiento del coco, se debe considerar que su calidad no depende sólo de la composición química, sino también de las características sensoriales y microbiológicas. De forma tal que si el coco se almacenara por un periodo inferior a un mes, la acidez del aceite no sería la limitante al periodo de almacenamiento pues, antes de cumplido este plazo, otros factores como la propia pudrición del producto limitarían el tiempo de almacenamiento. Durante los últimos días del estudio (días 27 a 32) la carne de coco no tuvo buen sabor ni textura aceptable y el agua presentó características de descomposición. Por lo tanto, luego de la tercera semana de almacenamiento los cocos no se pueden considerar aptos para el consumo humano.

Aunque la concha (endocarpio) del coco contiene grandes poblaciones de varios tipos de microorganismos, la superficie interna de la semilla de un coco sano debería

ser estéril. Las condiciones de la concha, el tipo de manejo y las condiciones de almacenamiento pueden determinar que los microorganismos penetren y contaminen la carne y el agua (Kajs *et al.*, 1976).

Se puede concluir que durante el almacenamiento del coco en refrigeración el control de la humedad es esencial, tal y como lo indica Salunkhe (1976), y que cuando la humedad es alta se desarrollará podredumbre en el transcurso de pocas semanas. Se considera un periodo máximo de tres semanas de almacenamiento (a 5°C y con una humedad relativa superior al 80%) como adecuado para el consumo o el procesamiento industrial del coco, pues en ese periodo no se observarán cambios excesivos en su composición química.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1984. Official methods of analysis. 14 ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- BHATIA, D.S. 1963. Modified Krauss-Maffei process for wet processing of coconut. *Coconut Bull XVII* (5):153-160.
- BRAVERMAN, J.B.S. 1967. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Ediciones Omega, Barcelona.
- CHEFTEL J.C. & CHEFTEL, H. 1976. Introducción a la bioquímica y tecnología de alimentos. Acribia, Zaragoza. v.1.
- DATE, A. 1970. Coco re seco. Tropical Products Institute report. G.12.
- GRIMWOOD, B.E. 1977. Los productos del cocotero. FAO, Roma.
- HULME, A. C. 1978. The biochemistry of fruits and their products. Academic Press, London. v.1.
- KAJS, T.M., HAGENMAIER, R., VANDERZANT, C. & MATTIL, K.F. 1976. Microbiological evaluation of coconut and coconut products. *J. Food Sci.* 41 (2) 352-356.

-
- MOREIRA G., J. L. 1980. Materia prima. Instituto de Tecnologia de Alimentos, São Paulo. *In* Frutas Tropicais. Coco: da cultura ao processamento e comercialização. (5):173-182.
- ONNUM, 1990. Proyecto de norma para el coco rallado desecado. Oficina Nacional de Normas y Unidades de Medida, Ministerio de Economía Industria y Comercio. San José.
- PRIMO, E. 1982. Química agrícola III: alimentos. Alhambra, Madrid.
- SALUNKHE, D. K. 1976. Storage, processing, and nutritional quality of fruits and vegetables. CRC, Cleveland.
- SOUTHGATE, D.A.T. 1976. Determination of food carbohydrates. Applied Science, London.
- VARGAS M., J. A. 1992. Formulación de un producto a partir de coco (*Cocos nucifera* L.) mediante la mezcla de cuatro variedades. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica, Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos, San José, Costa Rica.
- WOODROOF, J.G. 1970. Coconuts: production, processing, products. AVI, Connecticut.

CALIDAD SANITARIA DEL CAMARÓN (*Penaeus brevisrostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) QUE SE EXPENDE EN EL ÁREA METROPOLITANA DE SAN JOSÉ

Zúñiga, Cira^{*}; Vargas, Elizabeth^{**} y Vera García^{*}

ABSTRACT

The microbiological quality of small shrimp (*Penaeus brevisrostris*, *Solenocera agassizi* and *S. florea*) was studied on 130 samples obtained in the San José Metropolitan Area (MA). Samples were obtained at 26 retail fish markets, 13 located in the Central Market or its surroundings, and 13 in the rest of the MA (5 samples from each at different occasions). All samples were analyzed for fecal coliforms and *Staphylococcus aureus* by the most probable number method (MPN). Stores' hygiene was assessed and scored to establish a possible relationship with indicator levels. Possible relation between these levels and samples positive for *Listeria monocytogenes* (65,4% established on the same samples and reported previously) was also studied.

Microbiological quality was satisfactory since 100% of the samples did not exceed the maximum limit proposed by the ICMSF (2000/g) for *S. aureus*, and 96,2% were below the maximum limit (400/g) established for fecal coliforms. No significant differences ($p > 0,05$) were found due to market location for levels of both indicator organisms.

Markets' hygiene was scored between "medium" and "very bad" for 20 of them, and only for 6 as "very good" or "excellent". The latter were located in the rest of the MA. No significant differences ($p > 0,05$) were found for indicator levels due to markets' hygiene score.

Indicator organisms studied were not suitable to predict the potential risk due to the presence of *L. monocytogenes* since no significant difference ($p > 0,05$) was found for indicator levels in positive or negative samples. The search for the pathogen itself is necessary to insure product's safety.

Key words: shrimp, microbiological quality, *Listeria monocytogenes*.

RESUMEN

Se estudió la calidad sanitaria del camarón pequeño (*Penaeus brevisrostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) que se expende en el Área Metropolitana (AM) de San José. Se analizaron 130 muestras provenientes de 13 pescaderías ubicadas en el Mercado Central y sus alrededores, y 13 en el resto del AM (5 muestras de cada una en diferentes oportunidades). En todas las muestras se cuantificó, los coliformes fecales y *Staphylococcus aureus* por el método de número más probable. Se calificó la higiene de los expendios en cinco categorías para establecer si existía diferencia entre los niveles de los indicadores en los camarones según la calificación. Además se analizó si existía relación entre el nivel de los indicadores y la presencia de *Listeria monocytogenes* establecida en las mismas muestras (65,4%) y reportada anteriormente.

La calidad sanitaria evidenciada por el nivel de los indicadores resultó satisfactoria ya que el 100% no sobrepasó el límite máximo (2000/g) propuesto por la ICMSF para *S. aureus* y el 96,2% cumplió con la norma ($\leq 400/g$) para coliformes fecales. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los resultados de ambos indicadores en relación con las dos zonas estudiadas.

La higiene de los expendios fue calificada entre "regular" y "muy mala" en 20 de ellos y solo en 6 como "muy buena" o "excelente", estos últimos estaban ubicados en el resto del AM. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el nivel de los indicadores de las muestras de camarón según la calificación de la higiene de los expendios donde se adquirieron.

Ninguno de los indicadores resultó adecuado para predecir el riesgo potencial que representa la presencia de *L. monocytogenes* en este producto, ya que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el nivel de los indicadores, entre las muestras positivas y negativas por el patógeno. El análisis específico se hace necesario para garantizar su inocuidad.

Palabras clave: camarón, calidad sanitaria, *Listeria monocytogenes*.

* Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

INTRODUCCIÓN

Durante muchos años la calidad higiénica de los alimentos ha sido determinada a través del contenido de los denominados "microorganismos indicadores", por medio de los cuales se puede tener una estimación de la higiene seguida durante su producción y manejo posterior. En el camarón que se expende fresco o congelado la "Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para Alimentos" (ICMSF, 1978) ha recomendado límites para los niveles de coliformes fecales y de *Staphylococcus aureus* como parámetros indicativos del control sanitario ejercido durante su captura, procesamiento, distribución y almacenamiento. En Costa Rica la mayor parte del camarón que se consume proviene de aguas profundas (Valverde, 1994) donde la presencia de los indicadores antes mencionados es poco probable, por lo que se considera que éstos se adquieren durante la manipulación y procesos posteriores a la captura.

La presencia de niveles altos de estos indicadores, además de reflejar condiciones higiénicas deficientes, es también considerada como indicativa de un riesgo aumentado de la presencia de patógenos en el alimento (Jay, 1992). En años recientes, una de las bacterias patógenas que con más interés se ha estudiado en productos del mar es *Listeria monocytogenes*. Varios autores informaron de la presencia de esta bacteria en diversos mariscos, incluyendo camarón, y han considerado que éstos se constituyen en vectores de la misma (Kimberg, 1988; Farber, 1991; Fuchs y Reilly, 1992). Asimismo, Beñ-Embarek (1994), señala que se han presentado brotes y casos esporádicos de listeriosis atribuidos al consumo de alimentos de origen marino.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad sanitaria del camarón que se expende en el Área Metropolitana de San José, utilizando como indicadores los niveles de coliformes fecales y de *S. aureus*. Además, establecer si existe relación entre el nivel de los indicadores en las muestras de camarón según la calificación de la higiene de los expendios, así como con la presencia de *L. monocytogenes*, establecida en las mismas muestras y reportada en un trabajo anterior por Zúñiga *et al.* (2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

Se analizaron 130 muestras de camarón fresco (*Penaeus brevirostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) provenientes de 26 pescaderías del área metropolitana de San José, 13 ubicadas en el Mercado Central y sus alrededores y 13 distribuidas en el resto del área, las cuales fueron tomadas para un estudio paralelo que determinó la incidencia de *L. monocytogenes* (Zúñiga *et al.*, 2000). El número y la ubicación de las pescaderías se estableció para obtener un muestreo estadísticamente significativo.

De cada expendio se tomaron 5 muestras de aproximadamente 200 g en distintas oportunidades. Se pusieron en una hielera, sin sacarlas del empaque en que las colocó el vendedor y se transportaron al laboratorio para ser analizadas el mismo día.

Higiene de los expendios

En todos los expendios se realizó una encuesta para calificar la higiene. Para esto se tomó en cuenta los siguientes parámetros: (1) higiene del producto: uso adecuado del equipo (tablas acrílicas, bandejas de acero inoxidable, tenazas o cucharas adecuadas); presentación al público (separado físicamente de otros productos, con o sin hielo, temperatura adecuada de refrigeración) y manipulación totalmente separada del dinero. (2) higiene del personal: uso de gorras, gabacha y guantes y la apariencia de éstos, uso de anillos, pulseras u otro tipo de accesorios inadecuados; (3) higiene de las instalaciones: estado físico, limpieza de pisos, paredes, mostrador, ventanas, etc., abastecimiento de agua apropiado para el lavado de manos del personal y de las instalaciones y el equipo; ventilación y presencia o ausencia de moscas. Se clasificó la higiene de cada expendio como excelente, muy buena, buena, regular, mala o muy mala.

Análisis microbiológicos

De cada muestra traída al laboratorio se tomaron partes de diferentes camarones hasta completar 20 g, los cuales se homogeneizaron en una licuadora con 180 mL de agua peptonada al 1% (AP) por 1-2 min. A partir de esta dilución se realizaron diluciones decimales seriadas en AP hasta 10^{-4} , las cuales se utilizaron para realizar las pruebas de número más probable (NMP) que se señalan a continuación.

Para el análisis de los coliformes fecales se utilizó el método descrito por Vanderzant y Splittstoesser (1992) utilizando series de tres tubos con caldo lauril sulfato triptosa para la prueba presuntiva. Para la prueba confirmativa se utilizó caldo EC con incubación a $44,5 \pm 0,2$ °C por 24 h \pm 2h. Para realizar el cálculo del NMP se tomó como positivos por coliformes fecales aquellos tubos que presentaron gas en el caldo EC.

Para cuantificar *S. aureus* se utilizó el método descrito por Vanderzant y Splittstoesser (1992) utilizando series de tres tubos con caldo tripticosa soya con 10% de NaCl para la prueba presuntiva. Para la prueba confirmatoria se transfirió una asada de los tubos que presentaron crecimiento en la prueba presuntiva, sobre placas de agar Baird Parker (ABP), rayando para obtener colonias aisladas.

Posteriormente, a por lo menos tres colonias típicas de *S. aureus*, se les realizó una tinción de Gram y la prueba de coagulasa en tubo. Para el cálculo del NMP se tomó como positivos por *S. aureus* los tubos que presentaron colonias típicas en el ABP, que eran cocos Gram positivos en racimos y que dieron la prueba de coagulasa positiva.

Análisis estadístico

Se realizó la prueba t de Student (comparación de promedios) para determinar si existía diferencia significativa, al 95% de confianza en los niveles de coliformes fecales y *S. aureus*, entre los camarones del mercado y alrededores y los del resto del AM. La misma prueba se utilizó para determinar si existía diferencia significativa ($p=0,05$) en el nivel de los indicadores según la calificación de la higiene de los locales, así como en el nivel de éstos entre las muestras positivas y negativas por *L. monocytogenes*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad sanitaria

El Cuadro 1 muestra los resultados de los análisis de *S. aureus* y coliformes fecales (termotolerantes) realizados a las muestras de camarón, donde destaca el promedio tan bajo ($< 100/g$) en el caso de ambos indicadores en las dos zonas estudiadas. Por otra parte en el Cuadro 2 se puede observar que al aplicar las normas para estos indicadores (límite máximo aceptado) propuestas por la ICMSF (1978) todas las muestras la cumplen para *S. aureus* ($< 2000/g$) y solo 5 sobrepasan el límite de 400/g para coliformes fecales. No hubo diferencia significativa ($p>0,5$) para ambos indicadores, en cuanto al cumplimiento de la norma, según la ubicación de los locales.

Cuadro 1. Promedio y rango del NMP/g de *S. aureus* y coliformes fecales de 130 muestras de camarón fresco obtenidas en pescaderías de dos zonas del Área Metropolitana de San José¹

	NMP <i>S. aureus</i>		NMP coliformes fecales	
	Mercado Central	Resto Área Metropolitana	Mercado Central	Resto Área Metropolitana
Promedio ²	71/g ^a	25/g ^b	28/g ^a	46/g ^a
Rango	<3 a 150	<3 a 1100	<3 a 460	<3 a 750

¹ 13 expendios por zona; 5 muestras de c/u

² Letras diferentes indican diferencia significativa ($p\leq 0,05$)

Cuadro 2. Cumplimiento de las normas para coliformes fecales y *S. aureus* (ICMSF, 1978) de 130 muestras de camarón fresco obtenidas en pescaderías de dos zonas del Área Metropolitana de San José¹

Bacterias indicadoras	Mercado Central	Resto Área Metropolitana	Total
<i>S. aureus</i> ²	100%	100%	100%
Coliformes fecales ³	98,5%	93,8%	96,2%

¹ 13 expendios por zona; 5 muestras de c/u

² Límite máximo $2 \times 10^3/g$

³ Límite máximo $4 \times 10^3/g$

En 1977 Foster *et al.* obtuvieron resultados bajos de estos indicadores al analizar 51 muestras de camarón fresco de expendios en California, EUA. Cincuenta de las muestras presentaron NMP inferiores a 20/g de *S. aureus* y 50 presentaron <3 *E. coli*/g. En otro estudio, Hackney *et al.* (1980), analizaron 45 muestras de camarón fresco en Carolina del Norte, EUA, encontrando promedios de 17 coliformes fecales/g y de 9/g de *S. aureus*. Sin embargo, en un estudio realizado por Candanedo (1980), en el cual analizó 33 muestras provenientes de pescaderías ubicadas, también, en el Área Metropolitana de San José, los resultados difieren significativamente ($p < 0,5$) con los nuestros. El 91% de las muestras presentó niveles de *S. aureus* superiores a 10³/g; y solo un 46% de las muestras presentó niveles de coliformes fecales menores a 30/g lo que contrasta con el 84,6%, que presentó ese nivel, en este estudio. Estas diferencias indican que ha habido una mejoría en el manejo del camarón desde 1980 a la fecha, lo cual puede estar relacionado con el uso de agentes antimicrobianos para desinfectar el producto, mejoras en la cadena de frío, y en general con un mayor conocimiento de los aspectos relacionados con la calidad sanitaria del producto. Además se debe mencionar que, actualmente en algunas pescaderías, el camarón se mantiene en congelación por largos períodos de tiempo, dependiendo de la demanda, lo cual impide la multiplicación de las bacterias y puede afectar su viabilidad.

En el Cuadro 1 se puede apreciar que existe una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los promedios del NMP/g de *S. aureus* de las muestras recolectadas en el Mercado Central y sus alrededores (MC) y las del resto del Área Metropolitana (AM), siendo el promedio más bajo el de los expendios ubicados en el resto del AM. Lo anterior sugiere que este parámetro puede ser un buen indicador con respecto a la higiene de los expendios pues, como se muestra en el Cuadro 3, el 85% (11/13) de los ubicados en el MC se calificaron con higiene "mala" o "muy mala" y las otras 2 como "regular"; mientras que las ubicadas en el resto del AM solo 23% (3/13) se encuentran en la clasificación de higiene de "mala" a "muy mala" y 46% (6/13) fueron catalogadas como "muy buenas" o "excelentes".

Cuadro 3. Resultados de la clasificación de 26 pescaderías¹ del Área Metropolitana de San José según su higiene

	Excelente	Muy Bueno	Bueno	Regular	Malo	Muy Malo
Mercado	0	0	0	2	10	1
Resto AM ²	2	4	0	4	1	2
Total	2	4	0	6	11	3
%	7,7	15,4	-	23,1	42,3	11,5

¹13 expendios por zona

²Área Metropolitana

Un análisis de los resultados obtenidos para *S. aureus* en las 2 zonas estudiadas nos indica que el 80% de las muestras obtenidas en el MC presentan niveles superiores a 10/g mientras que solamente el 41,5% de las obtenidas en el AM mostraron ese nivel, diferencia que es estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Con respecto a lo anterior es interesante señalar que la norma para *S. aureus* de la ICMSF (1978) propone como límite superior (M) 2000/g y esa misma comisión en 1986 establece un plan de muestreo con un solo límite de 10³/g (ICMSF, 1986). En este estudio, de las 130 muestras analizadas, solo una superó el límite de 10³/g (1100/g) y el 90% presentó niveles inferiores a 10²/g lo que, aunado a las diferencias significativas ($p < 0,05$) antes mencionadas en las dos zonas estudiadas en relación con los promedios de NMP/g de *S. aureus* (Cuadro 1), y el número de muestras que presentan <10/g de esta bacteria, permite pensar que niveles más bajos a los señalados por la ICMSF (1978, 1986) podrían reflejar deficiencias en el manejo del producto.

Por otra parte únicamente 5 de las 130 muestras analizadas sobrepasaron el límite de 400/g NMP para coliformes fecales (ICMSF, 1978) de las cuales 4 presentaron 460/g y una presentó 750/g. Estas muestras provenían de 4 expendios, uno ubicado en el MC y 3 en el resto del AM; en estos casos la higiene se calificó como "mala" en la del MC y las del resto del AM calificaron, una como "regular" y dos "muy mala", siendo en una de estas últimas donde se encontró 2 muestras (de las 5 obtenidas) que superaron la norma. Sin embargo no se encontró una relación entre el

no cumplimiento de la norma y la higiene pues de las 26 pescaderías estudiadas 6 fueron calificadas con higiene "regular" y 14 con higiene entre "mala" y "muy mala".

Relación entre indicadores y la presencia de *L. monocytogenes*

Ya desde 1974 Read y Baer diferenciaron claramente entre lo que se conoce como seguridad microbiológica de los alimentos y su calidad microbiológica o sanitaria. El primer concepto se relaciona con la ausencia de microorganismos patógenos o sus toxinas en el alimento, mientras que el segundo se refiere a los niveles de microorganismos indicadores, los cuales no deben exceder ciertos límites. Como se ha señalado, en este estudio la gran mayoría de las muestras cumple con las normas establecidas para coliformes fecales y *S. aureus*, sin embargo un estudio realizado sobre estas muestras reveló la presencia de *L. monocytogenes* en el 65,4% (Zúñiga *et al.*, 2000), lo que representa un riesgo potencial para la salud pública. El análisis estadístico indicó que no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) en el nivel de los indicadores entre las muestras positivas y negativas por *L. monocytogenes*, así pues ninguno de los dos indicadores utilizados resultó adecuado para predecir el riesgo potencial que representa la presencia de este patógeno en el camarón.

El uso histórico de los coliformes fecales como indicadores de "seguridad microbiológica" asumía que los patógenos de interés eran de origen intestinal y el resultado de una contaminación fecal directa o indirecta, lo cual es cuestionado actualmente por diversas razones. En el caso de *L. monocytogenes* por no ser este un patógeno de origen intestinal, aunque se ha determinado que existe entre 1% y 18% de portadores (Farber, 1991; Ahmed, 1991; Varnam y Evans, 1992; Rocourt y Bille, 1997) cabía esperar que no existiera tal relación. Sin embargo, actualmente los coliformes fecales se utilizan como indicadores de la higiene seguida durante el manejo del producto, especialmente en relación con la reintroducción de patógenos de fuentes ambientales y el mantenimiento adecuado de la refrigeración (Buchanan, 1991). Desde esta perspectiva el resultado obtenido, puede explicarse debido a que *L. monocytogenes*

se multiplica a temperaturas de refrigeración, se mantiene viable por largos periodos de congelación y puede sobrevivir en la presencia de ciertos preservantes (Fuchs y Riley, 1992), mientras que los coliformes fecales no se reproducen en refrigeración y los otros factores afectan su viabilidad.

La fuente primaria de *S. aureus* en los alimentos es el contacto humano, ya que más del 50% de las personas lo alberga en la piel o en el sistema respiratorio. Su presencia en los alimentos se interpreta como evidencia de manipulación excesiva. Aún más, como esta bacteria no se multiplica a temperaturas de refrigeración, si el producto ha sido mantenido bajo condiciones apropiadas de frío no debe haber aumento en su número durante la distribución y la venta al detalle (Buchanan, 1991). El no haber encontrado diferencia significativa en los niveles de *S. aureus*, entre las muestras de camarón positivas y negativas por *L. monocytogenes* está relacionado, al igual que para los coliformes fecales, con la capacidad del patógeno para reproducirse en frío.

BIBLIOGRAFÍA

- AHMED, F. 1991. Seafood safety. National Academy Press, Washington DC.
- BEN-EMBAREK, P.K. 1994. Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. Int. J. Food Microbiol. 23: 17-34.
- BUCHANAN, R.L. 1991. Microbiological criteria for cooked, ready to-eat shrimp and crabmeat. Food Technol. 45 (4): 157-160.
- CANDANEDO, G. 1980. Análisis microbiológico del camarón. Tesis M. Sc. en Microbiología de Alimentos. Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología. San José.
- FARBER, J. 1991. *Listeria monocytogenes*. AOAC J. 74 (4): 701-703.

- FOSTER, J.F., FOWLER, J.L. & DACEY J. 1977. A microbial survey of various fresh and frozen seafood products. *J. Food Protect.* 40 (5): 300-303.
- FUCHS, R. S. & REILLY, A.P.J. 1992. The incidence and significance of *Listeria monocytogenes* in seafoods. In HUSS, H. H. *et al.*, eds. Quality assurance in the fish industry. Elsevier, United Kindom. p. 217-229.
- HACKNEY, C.R., RAY, B. & SPECK, M. L. 1980. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in and the microbiological quality of seafoods in North Carolina. *J. Food Protect.* 43: 769- 773.
- ICMSF. 1978. Microorganisms in foods, vol 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. University of Toronto Press, Toronto.
- ICMSF. 1986. Microorganisms in foods, vol 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. 2 ed. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. University of Toronto Press, Toronto.
- JAY, J. 1992. Modern food microbiology. 4 ed. AVI, New York.
- KVENBERG, J. E. 1988. Outbreaks of listeriosis/*Listeria*-contaminated foods. *Microbiol. Sci.* 5 (12): 355-358.
- READ, R.B. & BAER, E. F. 1974. Role of the regulatory in setting microbiological quality standards. *Food Technol.* 28 (10): 42-46.
- ROCOURT, J. & BILLE, J. 1997. Foodborne listeriosis. *World Health Statistics Quarterly* 50 (1-2): 67-73.
- VALVERDE, J. 1994. El manejo del camarón durante la captura y traslado a San José. Ministerio de Salud, San José. Comunicación personal.
- VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA, Washington DC.
- VARNAM A. & EVANS, M. 1991. Foodborne pathogens. Wolfe Publishing, London.
- ZÚÑIGA, C., VARGAS, E. & GARCÍA, V. 2000. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en camarón fresco (*Penaeus brevisrostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) que se expenden en el área metropolitana de San José. *Reviteca* 7: 8-12.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al M. Sc. Eric Wong G. Por su ayuda en el análisis estadístico y la revisión del manuscrito.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL ALMIDÓN DE BANANO VERDE UTILIZANDO UNA PECTINASA

Bonilla, Ana Ruth* y Morúa, Glenn**

ABSTRACT

Extraction and partial characterization of green banana starch using a pectinase

Yields of starch from green banana pulp (*Musa cavendish*) utilizing a pectinase were determined. Extractions with and without addition of sodium bisulfite (0,5%) before adding the enzyme (500 and 1000 ppm) were tested. Pectinase concentrations 0, 250, 500, 750, 1000 and 2000 ppm, and the following hydrolytic conditions: pH 6,0 and 4,5; temperature 25 °C and 35 °C and time of 1 h and 5 h, were evaluated on the starch extractions. Starch obtained using optimal conditions was partially characterized.

Addition of sodium bisulfite prior to treatment with pectinase showed optimal yields. Starch extraction increased from 46%, without addition of sodium bisulfite, to 78% with sodium bisulfite, utilizing 500 ppm pectinase ($p < 0,05$). With 1000 ppm pectinase concentration, yield increased from 49% without bisulfite to 83% with bisulfite ($p < 0,05$). From the five enzyme concentrations an equation relating percentage of extracted starch and enzyme concentration was established. There was no significant difference in starch extraction yields due to different pH concentrations, temperature and time ($p > 0,05$). Optimal conditions for extraction were: addition of sodium bisulfite (0,5%), pectinase (1000 ppm), 25 °C, pH 6,0 and 1h incubation. Starch damage value was 0,5% and estimated starch size ranged from 10 μ m to 23,3 μ m. Thermal properties were: $T_0 = 73,2$ °C, and $T_p = 76,5$ °C and an enthalpy change of 23,0 J/g. The Brabender viscoamlograph at 8% was similar to patterns produced by cereal starches. The extracted starch showed a C-type X-ray diffraction pattern.

Key words: banana, bisulfite, starch, pectinase.

RESUMEN

Se estudió el efecto que produce el tratamiento de la pulpa de banana verde (*Musa cavendish*) con una enzima pectinolítica sobre el rendimiento de la extracción de almidón. Inicialmente se evaluó el rendimiento agregando o no una disolución de bisulfito de sodio 0,5% previo a la adición de la enzima pectinolítica (500 y 1000 ppm). Posteriormente, utilizando bisulfito de sodio, se evaluó el efecto que produjeron cinco concentraciones de enzima (0, 250, 500, 750, 1000 y 2000 ppm) y las siguientes condiciones de hidrólisis enzimática: pH 6,0 y 4,5; temperatura 25 °C y 35 °C y tiempo 1 h y 5 h, sobre la cantidad de almidón extraído. El almidón extraído utilizando las mejores condiciones establecidas se caracterizó parcialmente.

Al tratar la pulpa con 500 ppm de enzima, el rendimiento de extracción aumentó de 46%, sin la adición de bisulfito, a 78 % con adición de bisulfito ($p < 0,05$) y de 49%, sin bisulfito, a 83% ($p < 0,05$) con bisulfito, al utilizar 1000 ppm de pectinasa.

A partir de las cinco concentraciones de enzima utilizadas se estableció una ecuación que explica la relación entre el porcentaje de almidón extraído y la concentración de la enzima empleada. No se encontró diferencia entre los rendimientos de extracción obtenidos al utilizar las diferentes condiciones de pH, temperatura y tiempo de acción enzimática ($p > 0,05$). Las mejores condiciones de extracción fueron: adición de bisulfito de sodio (0,5%), pectinasa (1000 ppm), pH 6,0, 25 °C y 1 h de hidrólisis. Bajo estas condiciones el valor de almidón dañado fue 0,5 % y el ámbito global de los gránulos estimado a través de microscopía electrónica de barrido fue de 10 μ m a 23,3 μ m. Los resultados de las propiedades térmicas analizadas fueron: $T_0 = 73,2$ °C y $T_p = 76,5$ °C y un cambio en entalpía de 23,0 J/g. La curva de viscosidad de Brabender al 8 % se asemeja al del almidón de cereales. El estudio de difracción por rayos X señaló que el almidón muestra un patrón de tipo C.

Palabras claves: almidón, banana, pectinasa, bisulfito.

* Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos
** Escuela de Tecnología de Alimentos

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la actividad bananera constituye una de las operaciones agrícolas más importantes y tecnificadas del mundo, presenta grandes cantidades de excedentes no utilizados que los países exportadores no pueden valorar en un alto porcentaje. En Costa Rica el banano es el segundo producto de exportación y el primero del sector agrícola, representando el 40% de las exportaciones totales de este sector (Procomer, 2001). A pesar de esto, esta actividad tradicionalmente ha generado aproximadamente un 16% de desecho (Viquez, 1995). Esta situación ha empeorado debido a la actual crisis bananera que ha hecho que la exportación de banano disminuya drásticamente en los últimos años (Procomer, 2001).

El almidón es un componente importante del banano verde (Bello *et al.*, 2000), encontrándose en concentraciones de 14-23 % (Da Mota *et al.*, 2000), por lo que se puede considerar como una buena fuente de almidón para la industria alimentaria (Da Mota *et al.*, 2000; Aguilar, 1995). Además, debido a que carece de gluten este almidón podría ser ampliamente utilizado en la industria farmacéutica (Abadía, 1979).

En el banano los gránulos de almidón se encuentran en el interior de las células que constituyen la pulpa, las cuales se ubican principalmente en la parte central y a todo lo largo del fruto. Estas células se unen unas con otras por medio de sustancias pécticas, polímeros que las rodean proporcionándoles rigidez y textura; por consiguiente, los gránulos de almidón también se encuentran rodeados o atrapados por estos polímeros, lo cual dificulta su extracción (Von Loesecke, 1950; Siddappa y Shantha 1970; Soto, 1992).

La hidrólisis de las sustancias pécticas ha sido utilizada como alternativa para mejorar el rendimiento de extracción del almidón de banano verde. Chiang *et al.* (1987) obtuvieron rendimientos de extracción de almidón del 46% sin utilizar enzimas pectinolíticas y, por otra parte, Abadía (1979) obtuvo un 78% de extracción utilizando una enzima pectinolítica. Sin embargo, las extracciones de almidón de banano verde con enzimas pectinolíticas presentan un inconveniente debido a la presencia de compuestos polifenólicos (taninos) que tienen un efecto inhibitorio sobre las enzimas, pues forman complejos estables con polipéptidos y proteínas (Hulme, 1970; Gous *et al.*, 1987).

Estos compuestos polifenólicos también reaccionan con otros compuestos como el bisulfito de sodio, lo que permite utilizarlo en la extracción para eliminar el efecto inhibitorio sobre la acción enzimática (Abadía, 1979; Amerine y Ough, 1980).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tratamiento de la pulpa de banano verde con una enzima pectinolítica, sobre el proceso de extracción del almidón, así como la caracterización parcial del almidón extraído.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizó banano (*Musa cavendish*) cosechado 14 semanas a partir de la florescencia (Chacón *et al.*, 1987; Soto, 1992) provenientes de una sola finca bananera situada en Pococí, Limón.

Determinación de la concentración de almidón

Inicialmente se determinó la concentración de almidón en 6 lotes de banano verde después de un día de cosechado. Para la determinación del contenido de almidón se utilizó el método descrito por Tomkinson (1986), que consiste en hidrolizar el almidón hasta moléculas de glucosa utilizando una enzima α -amiloglucosidasa por un tiempo de 24 h. La concentración de glucosa se determinó en muestras hidrolizadas y sin hidrolizar mediante un método enzimático (Tico Lab SA, 1995) que produce un complejo color fucsia (fenol más 4-aminofenazona oxidada) al reaccionar con la glucosa, el cual se midió a 505 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-240. Se preparó una curva de calibración con glucosa. La diferencia en concentración de glucosa entre la muestra sin hidrolizar e hidrolizada proporcionó la concentración de glucosa debida a la hidrólisis del almidón. El porcentaje de almidón en la muestra se determinó multiplicando la concentración de glucosa por un factor de 0,9 (AOAC, 1990).

Se pesó 1,0 g de muestra y se homogeneizó con 10 mL de agua destilada. La muestra se gelatinizó en baño de agua hirviendo por 3 min. Se agregó 10 mL de NaOH (1N) y 10 mL de HOAc (1N), homogeneizando por 2 min, posterior

a la adición de cada reactivo. Se ajustó el pH a 4,5 adicionando HCl al 3% y se adicionó 10 mL de una disolución amortiguadora de acetato de sodio/ácido acético 0,04M de pH 4,5. Se trasvasó a un balón de 200 mL. Se agregó 0,3mL de enzima α -amiloglucosidasa (NOVO AMG-300L, Novo Nordisk) y se incubó en baño de agua a 55 °C con agitación por 24 h. Se aforó y se filtró. Simultáneamente se trató una muestra sin adicionar α -amiloglucosidasa. Se determinó la concentración de glucosa en los filtrados. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Evaluación de la adición de bisulfito de sodio sobre la extracción del almidón

La extracción de almidón se llevó a cabo utilizando dos concentraciones de la enzima pectinolítica (500 y 1000 ppm), en tres lotes de banano y por duplicado, con un día de cosechado, aplicando el método mecánico propuesto por Kayisu *et al.* (1981). La extracción sin agregar bisulfito de sodio se realizó como se describe a continuación, pero sustituyendo la disolución de bisulfito por agua. Se licuó aproximadamente 100,0 g de muestra (banano verde) con 300 mL de una disolución de bisulfito de sodio al 0,5 % durante 5 min. La pulpa licuada se trasvasó a frascos (500 mL) de centrífuga y se centrifugó por 10 min (877 x g). El líquido sobrenadante se descartó y el residuo sólido se mezcló de nuevo con 300 mL de la disolución de bisulfito de sodio. Posteriormente se centrifugó (1972 x g) durante 10 min y se descartó nuevamente el líquido sobrenadante. El residuo sólido se mezcló con 300 mL de agua destilada y se centrifugó (1972 x g). El líquido sobrenadante se descartó y el residuo sólido se trasvasó a un erlenmeyer de 1,0 L con 300 mL de agua destilada, el cual se colocó en un baño de agua a 35 °C con agitación. Cuando este alcanzó la temperatura de 35 °C se le adicionó la enzima pectinolítica, Pectinex Ultra SP-L (Novo Nordisk, 1994).

Después de 1 h de hidrólisis enzimática, la pulpa se tamizó utilizando una malla de 100 mesh (150 mm). El residuo sólido que se depositó sobre la malla fue lavado con 900 mL de agua desionizada en tres lavados de 300 mL cada uno. Posteriormente el sólido remanente sobre la malla se descartó y el líquido lechoso se volvió a tamizar utilizando una malla de 270 mesh (53 mm). El residuo sólido que se depositó sobre la malla fue lavado nuevamente con 900 mL de agua desionizada en tres lavados de 300 mL

cada uno. El sólido remanente sobre la malla (270 mesh) fue descartado y el líquido de apariencia lechoso se dejó sedimentar por 24 h. Una vez decantado, el residuo extraído (precipitado) se secó en estufa de vacío a 45°C y una presión de $8,5 \times 10^4$ N/m² hasta peso constante.

Evaluación de las condiciones para la hidrólisis enzimática sobre la extracción del almidón

Una vez establecido el efecto de la adición del bisulfito sobre la extracción del almidón se procedió a evaluar, utilizando el mismo método de extracción (Kayisu *et al.*, 1981), el efecto de las variables que se mencionan a continuación. Las pruebas se realizaron con tres lotes de banano, por duplicado y utilizando en todos los casos la disolución de bisulfito de sodio al 0,5%.

Concentración de la enzima: se estudió la extracción de almidón utilizando cinco diferentes concentraciones de enzima (250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm y 2000 ppm) y como control, se realizó una extracción sin utilizar enzima. La hidrólisis enzimática se llevó a cabo a 35 °C durante 1 h. El experimento se realizó según un diseño de bloques aleatorios. La variable independiente fue la concentración de enzima y la variable respuesta fue la cantidad de almidón extraído. Los resultados fueron evaluados estadísticamente por medio de un análisis de varianza utilizando un nivel de confianza del 95 %. Además se determinó la correlación entre la concentración de enzima y el porcentaje de almidón extraído (Montgomery, 1991).

pH, temperatura y tiempo de hidrólisis enzimática: para la determinación de estas condiciones se hizo la extracción de almidón utilizando una concentración de enzima de 1000 ppm. Se procedió a comparar la cantidad de almidón que se extrae al aplicar el método a dos diferentes condiciones de pH (4,5 y 6,0) y temperatura (25 °C y 35 °C) según un diseño factorial completo de 2² en un modelo de efectos fijos, donde la variable respuesta fue el contenido de almidón extraído. Posteriormente se comparó la cantidad de almidón extraído a pH 6 y 25 °C después de 1 h y 5 h de tratamiento enzimático. Para determinar el efecto del tiempo de acción enzimática, se contrastaron los valores de la cantidad de almidón extraído para ambos tiempos utilizando una prueba t con un nivel de confianza del 95% (Montgomery, 1991).

Caracterización del almidón extraído

Evaluación del tamaño promedio de los gránulos de almidón: esta evaluación la llevó a cabo la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica. Se disolvió 1 mg de muestra en agua destilada, y se observó una alícuota de 10 mL en un microscopio electrónico de barrido Hitachi 2360N operado a 10 KV. Se tomaron 5 micrografías con una ampliación de 150X, se cuantificó la población de gránulos en cada micrografía y se estimó el tamaño promedio de los gránulos.

Propiedades térmicas, almidón dañado y patrón de difracción de rayos X: los siguientes análisis los realizó el Departamento de Ciencia de Alimentos de la Universidad de Iowa, EUA. El porcentaje de almidón dañado se determinó según el método 76-30A de la AACC (1983). Las propiedades térmicas del almidón se determinaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC-7, Perkin Elmer). Se tomaron 3,00 mg de almidón y 6,00 mg de agua desionizada y se sellaron herméticamente en utensilios de aluminio. Estos recipientes se dejaron de 2 a 4 h a 25 °C para equilibrar la distribución de la humedad en las muestras (Jane *et al.*, 1992a). Se usó como referencia un recipiente de aluminio vacío. Para obtener el viscoamilograma de una solución de almidón al 8% se utilizó un viscoamilógrafo Brabender, modelo VA-VE equipado con un cartucho de 700 cm-g (CW Brabender Instruments). Se utilizó agua destilada para hacer una dispersión de 400 g de almidón. La fuerza de corte fue establecida a 75 rpm y la dispersión se calentó de 29 °C a 95 °C a una velocidad de 1,5 °C/min, se mantuvo por 30 min a 95 °C y se enfrió hasta 50 °C a una velocidad de 1,5 °C/min. El perfil obtenido por difracción de rayos X se determinó utilizando un difractor de rayos X, D-500 (Siemens) usando radiación de Cu K α . Se registró la señal del ángulo de reflexión 2 θ , de 4 a 30°. La muestra de almidón se equilibró en una cámara de humedad relativa saturada por un día a 25 °C (Zobel, 1964).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El banano verde con 14 semanas de edad presentó una humedad promedio de 71,58%, (σ_{n-1} 0,33) y una concentración promedio de almidón de 22% (σ_{n-1} 10,7).

Otros autores (Da Moto *et al.*, 2000; Guaman, 1997) han representado valores similares a los obtenidos en este estudio.

La Figura 1 señala el efecto que tiene el bisulfito de sodio en la eliminación de los compuestos polifenólicos (inhibidores de la actividad enzimática) presentes en la pulpa de banano verde. Al utilizar 500 ppm de pectinasa la extracción del almidón aumentó, de 46,21% sin la adición de bisulfito, a 78,40% con la adición de este ($p < 0,05$). De igual manera al utilizar 1000 ppm de enzima, la extracción aumentó de 48,87%, sin la adición de bisulfito, a 82,98% cuando se agregó éste ($p < 0,05$). Gous *et al.* (1987) encontraron un efecto similar al tratar puré de banano con una enzima pectinolítica comercial, logrando una reducción en la viscosidad de un 36% respecto al control, mientras que cuando trataron puré de banano al que se le había eliminado los compuestos polifenólicos se produjo una reducción en la viscosidad de 71% respecto al control.

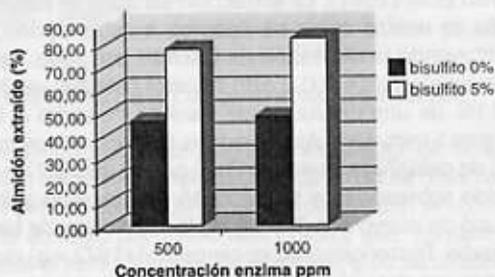


Figura 1. Efecto de la adición de bisulfito de sodio (0,5%) sobre el rendimiento de extracción de almidón de banano verde utilizando dos concentraciones de pectinasa (Pectinex Ultra SP-L) por 1 h a 35°C. Promedio de 3 lotes.

Como se observa en la Figura 2 con la adición de todas las concentraciones de la enzima pectinolítica utilizadas, después de agregar la disolución de bisulfito de sodio al 0,5%, se produjo un aumento en el porcentaje de almidón extraído con respecto al 42% obtenido sin la adición de la enzima ($p < 0,05$). Con las concentraciones de enzima de 1000 ppm y 2000 ppm se obtuvieron los mayores porcentajes de extracción 82,98% y 82,50% respectivamente, pero no hubo diferencia significativa entre estos valores ($p > 0,05$). Además, con los resultados que

se presentan en la Figura 2 se logró establecer que los rendimientos de extracción de almidón, al variar la concentración de la enzima, pueden ser explicados con un ajuste polinomial por la ecuación: % almidón extraído = (conc. enzima)^{0,08089} * 46,8339 (r=0,9892) para concentraciones de la enzima pectinolítica mayores a 0 ppm.

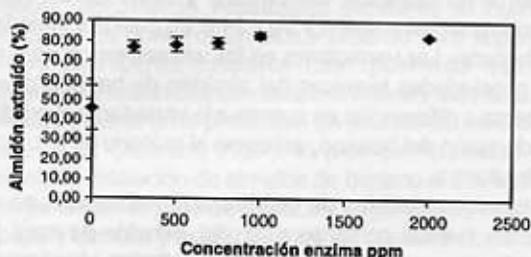


Figura 2. Efecto de la concentración de pectinasa sobre el rendimiento de la extracción de almidón de banano verde en muestras tratadas previamente con bisulfito de sodio (0,5%), después de 1 h de hidrólisis a 35 °C. Promedio de 3 lotes.

Al comparar los resultados obtenidos para las diferentes condiciones de pH y temperatura (Cuadro 1), no se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los rendimientos del almidón extraído utilizando las condiciones recomendadas por el fabricante para la enzima Pectinex Ultra SP-L (pH 4,5 y temperatura 35 °C) y las condiciones de pH 6,0 y temperatura 25 °C estudiadas. Este resultado es favorable para el proceso de extracción de almidón de banano verde en el nivel industrial, ya que no sería necesario controlar ni la temperatura ni el pH. Cabe mencionar que la pulpa de banano verde utilizada para esta investigación presentó un pH entre 5,8 y 6,0.

Cuadro 1. Rendimientos de extracción de almidón de banano verde utilizando 1000 ppm de pectinasa durante 1 h y dos diferentes condiciones de pH y temperatura

Temperatura (°C)	pH	Rendimiento de extracción %*
25	4,5	75,16 (4,26)
25	6,0	74,15 (1,53)
35	4,5	74,93 (2,00)
35	6,0	76,06 (0,62)

*Promedio de 3 repeticiones y (desviación estándar)

Por otra parte al comparar los resultados del almidón extraído después de 1 h y 5 h de hidrólisis enzimática (Cuadro 2) no se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los rendimientos de extracción con los tiempos evaluados. Esto también es de beneficio en el nivel industrial, ya que no sería necesario prolongar el tiempo de la hidrólisis enzimática más allá de una hora.

Cuadro 2. Rendimientos de extracción de almidón de banano verde utilizando 1000 ppm de pectinasa durante 1 h y 5 h, a pH 6,0 y a 25°C

Tiempo de hidrólisis h	Rendimiento de extracción %*
1	81,96 (3,61)
5	84,28 (2,69)

*Promedio de 3 repeticiones y (desviación estándar)

Con base en los resultados obtenidos se establecieron como las mejores condiciones para la extracción del almidón las siguientes: tratamiento de la pulpa del banano verde con una enzima pectinolítica (1000 ppm), previa adición de una disolución de bisulfito de sodio (0,05%), a pH 6,0, una temperatura de 25 °C y un tiempo de hidrólisis de 1 h.

Caracterización del almidón extraído bajo las condiciones establecidas

El valor de almidón dañado fue de 0,5%, (σ_{n-1} 0,2) lo que indica que el proceso de extracción no causó mucho daño a los gránulos. Valores similares fueron reportados por Kayisu *et al.* (1981) y Lii *et al.* (1982) utilizando procesos de extracción mecánica.

Al evaluar cinco micrografías obtenidas por medio de microscopía electrónica de barrido (de las cuales se presenta una en la Figura 3), se pudo observar que los gránulos de almidón presentaron formas irregulares de óvalo o de óvalo elongado. Formas similares a estas han sido reportadas por otros autores (Lii *et al.*, 1982, Bello *et al.*, 2000). Además se estimó que el ámbito global de los gránulos fue de 10 µm a 23,3 µm. Lii *et al.* (1982) reportan valores entre 6 y 80 µm, con la mayoría entre 20 µm y 60 µm y Bello *et al.*

(2000) encontraron que los gránulos medían de 20 μm a 60 μm . El tamaño promedio del gránulo del almidón de banano verde encontrado en este estudio (16,6 μm) se asemeja al reportado para el almidón de maíz 15 μm , y se encuentra en un rango menor que el reportado para el del trigo (20-35 μm) por Jane *et al.* (1992b).



Figura 3: Micrografía del almidón de banano. Ampliación: 150 X. Ámbito global del tamaño de los gránulos 10 μm a 23,3 μm . Barra = 200 μm .

Los almidones nativos son insolubles en agua a temperaturas inferiores a la de gelatinización (Swinkels, 1985). La temperatura de gelatinización es un rango pequeño de temperatura en el cual el gránulo de almidón empieza a hincharse, pierde cristalinidad y la viscosidad del medio aumenta. Una técnica ampliamente utilizada para evaluar el fenómeno de la gelatinización es la calorimetría diferencial de barrido (Ghiasi *et al.*, 1982; Swinkels, 1985). El rango de temperaturas de gelatinización se define entre la temperatura de inicio, T_o ; la temperatura pico, T_p ; y la temperatura final, T_c . El calor de gelatinización (ΔH , J/g) se calcula como el área bajo la endoterma obtenida (Da Mota *et al.*, 2000).

Las propiedades térmicas del almidón analizadas en este estudio (Cuadro 3) muestran que la temperatura de inicio de la gelatinización (T_o) es 73,2 $^{\circ}\text{C}$, la temperatura pico (T_p) es 76,5 $^{\circ}\text{C}$ y que hay un cambio en entalpía (ΔH) de

23,0 J/g. Diversos autores han encontrado variaciones en cuanto al rango de temperatura de gelatinización del almidón de banano que oscilan entre 64-72 $^{\circ}\text{C}$ para T_o y 69-72 $^{\circ}\text{C}$ para T_p (Da Mota *et al.*, 2000; Bello *et al.*, 2000). En cuanto a los valores en el cambio de entalpía, Faisant *et al.* (1995) reportaron cambios de 17,1J/g y Bello *et al.* (2000) encontraron valores de 13 J/g y 14,8 J/g para dos variedades de banano. Las variaciones en los valores reportados para las propiedades térmicas del almidón de banano pueden deberse a diferencias en cuanto a la variedad y el grado de maduración del banano, así como al método de extracción utilizado.

Las temperaturas de gelatinización obtenidas en este estudio fueron cercanas a las del almidón de maíz (62-72 $^{\circ}\text{C}$), y un poco mayores que las de los almidones de trigo (57-64 $^{\circ}\text{C}$) y papa (59-68 $^{\circ}\text{C}$). El cambio en entalpía es mayor que el reportado para los almidones de maíz (12 J/g), trigo (12 J/g) y papa (20 J/g) (Jane *et al.*, 1992c).

Cuadro 3: Propiedades térmicas del almidón de banano verde determinadas por calorimetría de barrido diferencial

$T_o^{1,2}$ $^{\circ}\text{C}$	$T_p^{1,3}$ $^{\circ}\text{C}$	$\Delta H^{1,4,5}$ J/g
73,2 (0,3)	76,5 (0,2)	23,0 (0,7)

Fuente: Departamento de Ciencia de Alimentos de la Universidad de Iowa, EUA
 1.- Promedio y (desviación estándar de 6 medidas).
 2.- Temperatura inicial de gelatinización.
 3.- Temperatura pico de gelatinización.
 4.- Cambio de entalpía. 5 En base seca.

Los cambios de viscosidad que sufren los engrudos de almidón al cocinarse debido al hinchamiento y posterior rompimiento de los gránulos son muy importantes desde el punto de vista tecnológico ya que suministran información, tanto acerca de las características de gelatinización del almidón, como de la pasta enfriada. Estos cambios de viscosidad se analizan generalmente con un viscoamilografo Brabender y se expresan en unidades arbitrarias Brabender (BU, por sus siglas en inglés) (Thomas y Atwell, 1999).

El viscoamilograma obtenido para el almidón de banano al 8 % (Figura 4) se asemeja al de los almidones de cereales.

Presentó un pico pronunciado de viscosidad a 1550 BU, seguido de un descenso moderado. El pico representa la mayor viscosidad que se logra durante la cocción de un engrudo de almidón y es un indicador del poder de espesamiento. Varios investigadores (Kayisu *et al.*, 1981; Lii *et al.*, 1982), utilizando la misma concentración de almidón, obtuvieron resultados similares al nuestro reportando los primeros un pico a 1200 BU y los segundos a 1500 BU. Otros estudios han mostrado que las evaluaciones realizadas con concentraciones más bajas de almidón de banano no presentan un pico de viscosidad (Lii *et al.*, 1982; Guaman, 1997). El pico de viscosidad que presenta la disolución de almidón de banano al 8% es similar al de los almidones de tapioca y sagú, menor al de los de papa y camote y mayor que los de cereales no cerosos (Kayisu *et al.*, 1981). La última parte de la curva Brabender muestra como se comporta el engrudo al enfriarse de 95 °C a 50 °C. Un aumento en la viscosidad durante el enfriamiento es un indicador de la retrogradación debido a la asociación de las moléculas de almidón. Al igual que los cereales, el almidón de banano presenta una pronunciada retrogradación durante el enfriamiento. La tasa de retrogradación depende de la cantidad de amilosa presente en el almidón (Guaman, 1997), la cual ha sido reportada para el de banano como el 20% del almidón total (Da Mota, 2000).

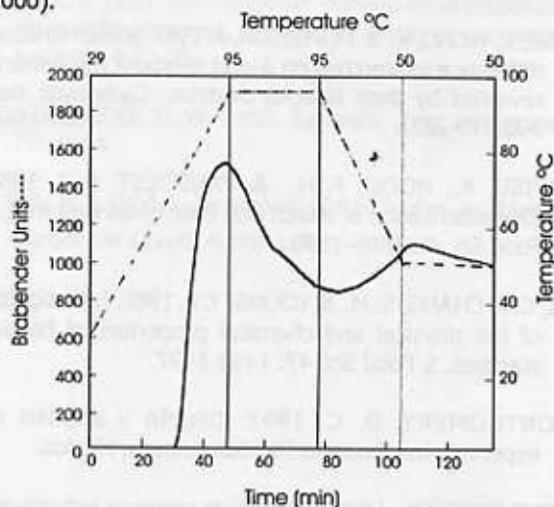


Figura 4. Viscoamilograma de una muestra al 8 % de almidón extraído de banano verde. Fuente: Departamento de Ciencia de los Alimentos, Universidad de Iowa.

Cuando un cristal es irradiado con rayos X, estos se separan produciendo un patrón distintivo de la estructura cristalina. El patrón general de rayos X de los almidones nativos se ha identificado por medio de este método (Thomas y Atwell, 1999). En este estudio (Figura 5) se encontró que el almidón de banano mostró un patrón de tipo C. En general los almidones de cereales tales como maíz, arroz, trigo y avena presentan patrones de tipo A y el de papa de tipo B. Los tipos A y B son considerados independientes, pero se ha sugerido que el tipo C representa una mezcla de A y B. La mayoría de los almidones provenientes de leguminosas presentan patrones de tipo C (Hizukuri, 1996; Bello *et al.*, 2000). Los estudios de difracción por rayos X realizados en almidón de banano verde han mostrado diferentes resultados. Algunos lo reportan como tipo A (Bello *et al.*, 2000), otros como tipo B (Lii *et al.*, 1982; Faisant *et al.*, 1995) y otros como tipo C (Jane *et al.*, 1997).

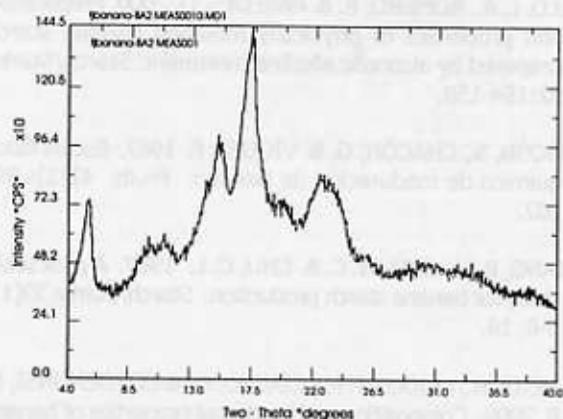


Figura 5: Difracción por rayos X del almidón extraído de banano verde. Fuente: Departamento de Ciencia de los Alimentos, Universidad de Iowa.

Como puede apreciarse, los resultados de los estudios de caracterización del almidón de banano difieren entre sí, lo que indica la necesidad de llevar a cabo estudios para definir si la variedad, el grado de maduración y el método de extracción afectan estas propiedades. Es importante también llevar a cabo estudios sobre la modificación del almidón de banano y evaluar su uso en productos industriales.

BIBLIOGRAFIA

- ABADÍA, 1979. Producción de almidón de banano por método enzimático. Tesis Lic. en Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica, Escuela de Ingeniería Química. San José.
- AGUILAR, F. 1995. Posibilidades de utilizar el rechazo bananero. *ASBANA* 12(29): 14-17. Costa Rica.
- AMERINE, M. A. & OUGH, C. S. 1980. Methods for analysis of must and wines. Wiley-Interscience, New York.
- AACC. 1983. Approved Methods of the AACC, 8 ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15 ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia.
- BELLO, L. A., ROMERO, R. & PAREDES, O. 2000. Preparation and properties of physically modified banana starch prepared by alcoholic alkaline treatment. *Starch/Stärke* 52:154-159.
- CHACÓN, S., CHACÓN, G. & VÍQUEZ, F. 1987. Escala físico químico de maduración de banano. *Fruits* 42(2): 95-102.
- CHIANG, B. H., CHU, W. C. & CHU, C. L. 1987. A pilot scale study for banana starch production. *Starch/Stärke* 39(1): 5-8, 16.
- DA MOTA, R., LAJOLO, F. M., CIACCO, C. & CORDENUNSI, B. R. 2000. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Stärke* 52(2-3):63-68.
- FAISANT, N., BULEON, P., COLONNA, P., MOLIS, C., LARTIGUE, S., GALMICHE, J. P. & CHAMP, M. 1995. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. *Br. J. Nutri.* 73. 111-123.
- GHIASI, K., HOSENEY, R. & VARRIANO, E. 1982. Gelatinization of wheat starch. III. Comparison by differential scanning calorimetry and light microscopy. *Cereal Chem.* 59:258-262.
- GUAMAN, R. 1997. Paste viscosity and retrogradation of banana starch. M.Sc. thesis. Department of Food Science and Technology. University of Georgia. Athens.
- GOUS, F., WYK, P. & MCGILL, A. 1987. The use of commercial enzymes in the processing of bananas. *Lebensm. -Wiss. U. Technol.* 20: 229-232.
- HIZUKURI, S. 1996. Starch: Analytical Aspects. In Eliasson, A.C., ed. *Carbohydrates in Food*. Marcel Dekker, New York.
- HULME, A. C. 1970. The biochemistry of fruits and their products. v I y II. Academic Press. New York.
- JANE, J. L., SHEN, L., CHEN, J., LIM, S., KASEMSUWAN, T. & NIP, W.K. 1992a. Physical and chemical studies of taro starch and flours. *Cereal Chem.* 69(5):528-535.
- JANE, J., SHEN, L., WANG, L. & MANNINGAT, C. 1992b. Preparation and properties of small-particle corn starch. *Cereal Chem.* 69 (3):280-283.
- JANE, J., SHEN, L. & AGUILAR, F. 1992c. Characterization of pejobaye starch. *Cereal Chem.* 69(1):96-100.
- JANE, J., WONG, K. & MCPERSON, A. 1997. Branch-structure difference in starches on A-and B-type X ray patterns revealed by their Naegeli dextrins. *Carbohydr. Res.* 300:219-227.
- KAYISU, K., HOOD, F. H. & VANSOEST, P. J. 1981. Characterization of starch and fiber of banana fruit. *J. Food Sci.* 46:1885-1890.
- LII, C.Y., CHANG, S. M. & YOUNG, Y. L. 1982. Investigation of the physical and chemical properties of banana starches. *J. Food Sci.* 47: 1493-1497.
- MONTGOMERY, D. C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana, México.
- NOVO NORDISK. 1994. Enzimas de procesos industriales. Ficha técnica para AMG 300L, α -amiloglucosidasa Novo. Representantes para Costa Rica, Trisan SA.

- PROCOMER. 2001. Promotora del comercio exterior de Costa Rica. Directorio de Exportadores e importadores de Costa Rica. San José.
- SIDDAPPA, G. S. & SHANTHA, H. S. 1970. Accumulation of starch in banana pseudostem and fruit. *J. Food Sci.* 35: 74-77.
- SWINKELS, J. J. 1985. Sources of starch, its chemistry and physics. *In* Van Beynum, G. and Roels, eds. *Starch conversion technology*. Marcel Dekker, New York.
- SOTO, M. 1992. Bananos: cultivo y comercialización. 2 ed. Litografía e Imprenta Lil. San José, Costa Rica.
- THOMAS, D. J. & ATWELL, W. A. 1999. Starches. *Handbook Series*. Eagan Press, Minnesota.
- TICO LAB. S. A. 1995. Kit enzimático de análisis de glucosa. Hoja descriptiva. Apdo. 360. Tibás, Costa Rica.
- TOMKINSON, R. A. 1986. Studies on the indigestible and fermentable components of dry bean grains. M.Sc. thesis. Michigan State University.
- VÍQUEZ, F. 1995. Utilización de banano en la elaboración de mezclas de jugos, néctares de frutas y concentrado. *Reviteca* 4:23-29.
- VON LOESECKE, H. W. 1950. Bananas. 2 ed. Interscience, New York.
- ZOBEL, H. F. 1964. X-ray analysis of starch granules. *Methods Carbohydr. Chem.* 4:109-113.

RECONOCIMIENTO

Esta investigación fue financiada por el CONICIT a través del préstamo de recuperación contingente N° 90-377-BID (383-RC).

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento a la Lic. Vera García por todo el apoyo recibido en la revisión del manuscrito.

LOS "ACARITOS BLANCOS" (INSECTA: PSOCOPTERA): UNA PLAGA ERRÓNEAMENTE INTERPRETADA EN LA INDUSTRIA DE COSTA RICA

Jirón, Luis Fernando* y Vargas, Mario*

Se informa sobre la presencia por primera vez, como plaga en Costa Rica, del psócido *Liposcelis* spp. (*Troctomorpha: Liposcelidae*), Mockford, 1991.

Las plagas asociadas con la materia prima, procesos de fabricación o el producto terminado, es un tema relativamente bien conocido por los especialistas en aseguramiento o control de calidad, en la industria alimentaria de nuestro país. Es así como problemas por moscas, palomitas, pulgas y roedores están asociados al concepto o idea de "fumigación", término que es simplista y que representa una "solución química" a la presencia de las plagas. Lo anterior no contempla la alternativa de conocer primeramente las características del problema y de cambiar o modificar algunos elementos que prevengan o eliminen una determinada plaga.

El primer paso lógico para lograr una buena estrategia de manejo del problema es la identificación del organismo responsable. En términos económicos el industrial interpreta a una plaga como "su enemiga" y si no conoce de la identidad del organismo, ni sus hábitos y ciclo de vida, no sabrá tampoco acerca de sus puntos débiles para atacarlo eficientemente.

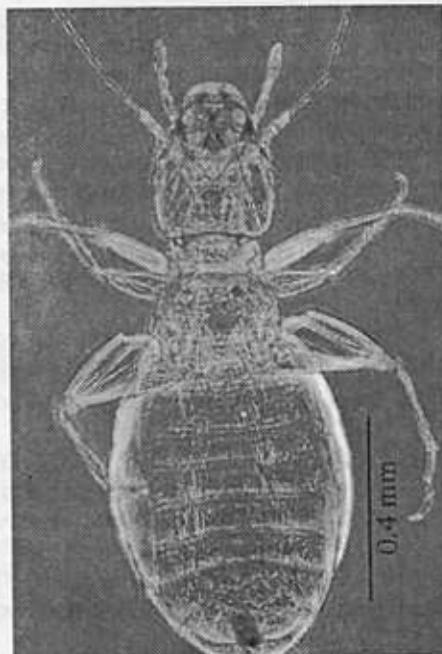
Los "acaritos blancos" constituyen un buen ejemplo de lo comentado anteriormente. Se trata de una plaga que aparece comúnmente en envases, tapas y otros materiales plásticos, de vidrio o cualquier otro material que sea ingresado y almacenado en las bodegas de materias primas.

El industrial se ve obligado a rechazar o recurrir a un lavado de tales implementos o a utilizar los servicios de una empresa "fumigadora", la que aplicará un insecticida que los eliminará, obteniendo como resultado que los organismos plaga queden adheridos y muertos en la pared interna de los envases.

¿En qué consiste el problema de los "acaritos blancos"? No se trata de ácaros (artrópodos que típicamente poseen ocho patas) sino de insectos (que poseen seis patas y antenas) y que pertenecen al orden de los psócidos, también llamados psocópteros o corrodentios. Estos pequeñísimos insectos de alrededor de 1 mm, tienen una dieta especializada consistente en líquenes y hongos.

(moho), por lo que su papel ecológico en el reciclaje de la celulosa (hojas, cortezas, maderas, papel) es extremadamente valioso.

Asociados con el humano hay varias especies que se alimentan de las pastas de los libros, restos de animales, harinas y cereales. En los museos se encargan de arruinar las colecciones de insectos. Las hembras colocan de 20 a 100 huevecillos de los cuales emergen las fases ninfales y por último las formas adultas. En algunas especies sólo se encuentran hembras (partenogénesis), con una producción de generaciones durante todo el año, condición que es conocida como multivoltinismo (Borror & White, 1970; Romoser, 1973).



Forma adulta de *Liposcelis* spp. (Psocoptera)

* Interplagas, Costa Rica

** Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

El control de los psócidos mediante la aplicación de insecticidas no siempre es conveniente por las razones ya explicadas. La mejor opción es un manejo integrado, con medidas de carácter preventivo como las siguientes:

- Pintar el cielorraso de la bodega, con pintura antihongos.
- Eliminar filtraciones de agua en techo y paredes de la bodega.
- Utilizar tarimas de madera, pintarlas e impedir que se mojen a la intemperie.
- Exigir óptimas condiciones internas de los contenedores de transporte y lograr que no se introduzcan en los furgones palos, rollizos o corteza suelta, ya que es material usualmente contaminado con los psócidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Borror, D. J. & White, R. E. 1970. A field guide to the insects of America North of Mexico. The Peterson field guide series. Houghton Mifflin, Boston.
- Mockford, E. L. 1991. Psocids (Psocoptera). In J. R. Gorham, ed. Insects and mite pests in food v. 2. p. 371-402.
- Romoser, W. S. 1973. The science of entomology. Mac Millan, New York.
- USDA. ARS. USDHHS. PHS. FDS. FDÅ. 1991. Agricultural handbook No. 655.

Se terminó de imprimir en la Sección
de Impresión de la Editorial de la Uni-
versidad de Costa Rica, en el mes de
setiembre del 2002.

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San José, Costa Rica, A.C.
