

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



*CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE 5 ESPECIAS QUE SE
EXPENDEN EN EL AREA METROPOLITANA
DE MONTERREY, N. L.*

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGIA.

Q.B.P. FABIOLA ARACELY IRACHETA NUÑEZ

San Nicolás de los Garza, N. L.

Abril de 1998

PM
QR1
I7
C.1



1080087097

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE 5 ESPECIAS QUE SE EXPENDEN EN
EL AREA METROPOLITANA DE MONTERREY, N.L.**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGIA.**

Q.B.P. FABIOLA ARACELY IRACHETA NUÑEZ.

San Nicolás de los Garza, N. L.

Abril de 1998

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE 5 ESPECIAS QUE SE EXPENDEN EN
EL AREA METROPOLITANA DE MONTERREY, N.L.**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGIA

POR

FABIOLA ARACELY IRACHETA NUÑEZ

APROBADA
COMISION DE TESIS

Dra. Norma L. Heredia Rojas
Presidente

Dr. J. Santos Garcia Alvarado
Secretario

Dr. Marivel Gomez Breviño
Vocal

74
QR 160
I7



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE 5 ESPECIES QUE SE EXPENDEN EN EL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY, N.L

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas U.A.N.L bajo la dirección de la Dra. Norma Laura Heredia Rojas y la Codirección del Dr. José Santos García Alvarado.

Esta investigación formó parte de un proyecto apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

DEDICATORIA

A mis padres con mucho amor por su apoyo y ejemplo que me han brindado para alcanzar lo que deseo ser, además de mis padres, amigos y guiarme siempre junto a mis hermanos por el camino correcto. Que dios los bendiga.

A mi esposo, a quien amo, gracias por su apoyo, amor, comprensión y ayuda para seguir adelante. Espero que nunca cambies y estés a mi lado siempre.

A mis hermanos con mucho cariño y amor por ser mis mejores amigos al apoyarme, y ayudarme para lograr mis deseos.

A mi hijo con mucho amor para que le sirva como ejemplo para superar los logros de sus padres.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo institucional y económico proporcionado para llevar a cabo este trabajo de investigación.

A la Dra. Norma Laura Heredia y Dr. Santos García Alvarado por su asesoría y dedicación hacia el presente trabajo.

Al Dr. Rafael Castro Franco por su ayuda en los aspectos estadísticos de esta investigación y por su valiosa amistad e invaluables consejos.

A mis amigas con cariño Juana Ma Cantu, Genoveva Alvarez y Enriqueta Martinez por su sincera amistad y gran ayuda con sus conocimientos que fueron de gran utilidad en mi trabajo.

Con cariño para las maestras y amigas Licet Villarreal y Angeles Verastegui por su sincera amistad y consejos.

A mis amigos y compañeros del Laboratorio de Bioquímica y genética de microorganismos quienes me estiman e hicieron mi estancia agradable.

:

A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.
A quien debo mi preparación profesional.

INDICE DE CONTENIDO

Página de título	I
Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Indice de contenido	VI
Lista de tabla	VIII
Lista de abreviaturas	X
Resumen	XI
Abstract	XIII
Introducción	1
Antecedentes	3
Presencia de <i>B. cereus</i> en especias	7
Presencia de hongos y levaduras en especias	9
Presencia de enterobacterias en especias	12
Presencia de <i>Salmonella</i> en especias	15
<i>Shigella</i>	17
Hipótesis	19
Objetivo	20
Material y métodos	21
Cepas de referencia	21
Especias utilizadas	21
Análisis de la actividad antimicrobiana de las especias ...	22
Calidad microbiológica de las especias	23
a) Preparación de la dilución	23
b) Mesofílicos totales	23
c) <i>Shigella dysenteriae</i>	24
d) <i>Bacillus cereus</i>	24
e) Coliformes totales y fecales	24
f) <i>Escherichia coli</i> O157:H7	25
g) Hongos y levaduras	25

h) <i>Salmonella sp</i>	26
Análisis estadístico de datos	26
Resultados	28
Análisis de la actividad antimicrobiana de las especies ..	28
a) Mesofílicos totales	29
b) Microorganismos coliformes totales.....	33
c) Coliformes fecales	37
d) Hongos y levaduras	41
e) <i>Salmonella typhi</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>E. coli</i> O157:H7	45
f) <i>Bacillus cereus</i>	45
Resultados del análisis estadístico	46
Discusión	49
Conclusiones	54
Literatura citada	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies utilizadas	22
Tabla 2. Efecto de extractos de especias sobre el crecimiento de cepas de referencia	28
Tabla 3. Valores de microorganismos aerobicos mesofílicos encontrados en 5 especias muestreadas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de bolsa de polietileno.....	30
Tabla 4. Valores de microorganismos aerobicos mesofílicos encontrados en 5 especias muestreadas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación a granel.....	31
Tabla 5. Valores de microorganismos aerobicos mesofílicos encontrados en 5 especias muestreadas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de frasco de vidrio.....	32
Tabla 6. Determinación de microorganismos coliformes totales de 5 especias procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de bolsa de polietileno.....	34
Tabla 7. Determinación de microorganismos coliformes totales de 5 especias procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación a granel	35
Tabla 8. Determinación de microorganismos coliformes totales de 5 especias procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de frasco de vidrio.....	36

Tabla 9. Determinación de microorganismos coliformes fecales de 5 especies procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de frasco de bolsa de polietileno.....	38
Tabla 10. Determinación de microorganismos coliformes fecales de 5 especies procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de granel.....	39
Tabla 11. Determinación de microorganismos coliformes fecales de 5 especies procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de frasco de vidrio.	40
Tabla 12. Hongos y levaduras encontradas en 5 especies adquiridas en presentación de bolsa de polietileno provenientes del área metropolitana de Monterrey, N.L.	42
Tabla 13. Hongos y levaduras encontradas en 5 especies adquiridas en presentación a granel provenientes del área metropolitana de Monterrey.....	43
Tabla 14. Hongos y levaduras encontradas en 5 especies adquiridas en presentación frasco de vidrio provenientes del área metropolitana de Monterrey, N.L.	44
Tabla 15 Análisis estadístico ANOVA por rangos $P \geq 0.05$ donde se comparan las diferentes presentaciones de las especias analizadas	47
Tabla 16. Medias logaritmicasde cada especia según su presentación y microorganismos determinados.....	48

LISTA DE AVREVIATURAS

°C	Grados centígrados
g	Gramo (s)
h	Hora (s)
μl	Microlitro
ml	Mililitro
min.	Minuto (s)
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidroxido de sodio
pH	Logaritmo reciproco de la con- centración del ion hidrógeno.
%	Porciento
UFC/g	Unidades formadoras de colo- nia por gramo.

RESUMEN

Las especias y condimentos han sido utilizados a nivel mundial como sazonadores de alimentos. Sin embargo se ha determinado que son muy susceptibles a contaminación por microorganismos tanto deteriorantes como algunos dañinos a la salud. Se ha reportado la presencia de géneros de microorganismos formadores de esporas tales como *Clostridium* y *Bacillus*, además de no formadores como coliformes, los cuales son encontrados frecuentemente en algunas especias. Por otro lado, se ha determinado que los hongos varían de una especia a otra, los más abundantes *Aspergillus* y *Penicillium*, además se han reportado la presencia de algunos microorganismos patógenos entre ellos *Salmonella*, y *Escherichia coli*.

Podemos considerar que la presencia de estos microorganismos patógenos en las especias pudiera indicar si estos fueran capaces de constituir un riesgo, pudiendo entonces ser los vehículos de contaminación en los alimentos, causando enfermedad en el humano.

Se analizaron un total de 304 muestras de cinco especias comúnmente usadas como sazonadores de alimentos (ajo en polvo, comino, pimienta, orégano y laurel) en el norte de México. Se analizó la presencia de microorganismos tales como *Bacillus cereus*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae*, *E. coli* 0157:H7, coliformes totales, fecales, hongos y levaduras, así como mesofílicos totales.

La metodología a usar para determinar la presencia de cada microorganismo fue según lo especifica la norma oficial mexicana para cada fin, así como los métodos oficiales de la oficina de alimentos y drogas (FDA) de Estados Unidos de América.

Se encontró que todas las especias contenían cuentas elevadas de mesofílicos totales en las tres presentaciones. Sin embargo, se encontraron valores menores para laurel y orégano.

Los microorganismos coliformes totales y fecales variaron dependiendo de la presentación que se estudiara. Se encontró un mayor número en pimienta, ajo y comino en la presentación de polietileno. Para la presentación a granel y frasco de vidrio estos microorganismos fueron menores en las cinco especias.

Los hongos que más frecuentemente se encontraron fueron *Aspergillus niger*, *Rhizopus*, *Penicillium* y *Cunninghamella*.

Los microorganismos patógenos *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae* y *E.coli* 0157:H7 no fueron encontrados en ninguna muestra de las cinco especias analizadas.

En el caso de *Bacillus cereus* se encontró en 32 muestras, siendo 23 provenientes de presentación de bolsa de polietileno, 8 de granel y 1 de frasco de vidrio.

ABSTRACT

Spices and condiments have been widely used in the world for seasoning food. However, they are susceptible to contamination by microorganisms. Sporulated and non sporulated bacteria (such as *Clostridium*, *Bacillus* and coliforms respectively) and fungi (such as *Aspergillus* and *Penicillium*) have been reported as contaminants of this type of food. The presence of microorganisms in spices and condiments is important because could cause contamination of other food items, and spoil or cause diseases.

We analyzed 304 samples of the most common spices used in the Northern Mexico such as garlic powder, cumin seed, black pipeer, oregano and bay leaves for the prescence and quantification of *Bacillus cereus*, *Salmomella thypi*, *Shigella dysenteria*, *E. coli* O157 H:7, total and fecal coliforms, fungi yeast, and mesofilic microorganisms. Samples were packaged and non- packaged.

The method used for determination of each microorganism was according to the official Mexican regulations, and the official methods of the FDA of USA *Salmonella* was also serotyped. Fungi and yeast was identificated to genera.

We found high levels of mesofilic microorganisms in garlic powder, cumin seed, black pipeer, however lower levels found in bay leaves and oregano. The level of total and fecal coliforms was dependent of the type of packaging. We found high leavles in garlic, cumin seed and black pipeer in plastic-packaged samples. The non-packaged and glass-packaged samples showed the lowest levels of these microorganisms for the 5 spices.

Fungi found were *Aspergillus niger*, *Rhizopus*, *Penicillium* and *Cunninghamella*.

Pathogenic microorganisms such as *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae* and *E. coli* 0157: H7 were not detected in the 5 spices. However, *Bacillus cereus* was found in 32 samples (23 of plastic-packaged, 8 of non-packaged and 1 of glass packaged).

INTRODUCCION

En nuestro país las especias son usadas para sazonar alimentos o platillos en la comida regional, sin embargo se ha encontrado que estas pueden ser susceptibles a contaminación por microorganismos deteriorantes ó patógenos (Silliker, J.H.,1985). Esto pudiera ser debido a los procesos recibidos para su obtención, almacenamiento y distribución, ya que permitirían exponer las especias a agua contaminada, polvo o heces fecales de pájaros, roedores e insectos (Silliker, J.H.,1985).

De Boer *et al* en 1985 reportaron que la mayoría de las especias y hierbas tenían altos números de bacterias y sugirieron que podían contribuir al deterioro de los alimentos.

Kneifel y Berger en 1993 analizaron 160 muestras de 55 especias y hierbas. Ellos encontraron cuentas de mesofílicos alrededor de 10^7 UFC/g en pimienta negra, chiles y especia china. Además determinaron que más del 50 % de las muestras contenían mesofílicos totales entre 10^4 y 10^6 UFC/g.

De igual manera Rodríguez *et al* en 1991 evaluaron la calidad microbiológica de algunas especias de consumo en Cuba. Ellos encontraron que las especias mas contaminadas fueron la pimienta negra y el comino, los cuales alcanzaron valores de microorganismos mesofílicos de hasta 10^6 UFC/g, además los coliformes se encontraban en valores de hasta 10^5 UFC/g.

Además se han reportado microorganismos potencialmente enteropatógenos formadores de esporas tales como *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus* (Silliker,

J.H.,1985). Además de ellos, se han detectado a otros microorganismos patógenos tales como *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* los cuales son productores de aflatoxinas, *Salmonella typhi* causante de fiebre entérica y envenenamiento alimentario, *Shigella dysenteriae*, la cual es responsable de shigelosis ó disentería bacilar y *E.coli* 0157:H7 que es capaz de producir colitis hemorrágica.

El objetivo principal de este trabajo consistió en determinar y cuantificar la presencia de *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *B.cereus*, *Escherichia coli* 0157:H7, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras y mesofílicos totales en 5 especias (ajo en polvo, comino, pimienta, orégano, laurel) que se expenden en Monterrey N.L. y su área metropolitana y además son de uso común en la cocina mexicana como sazonadores.

Se han reportado estudios a nivel mundial sobre la calidad microbiológica de las especias. En nuestro país no se conoce ningún reporte acerca de esto y por lo tanto no existe normativa para especias. En este trabajo se decidió analizar 5 especias de uso común en la cocina mexicana con el fin de determinar tanto microorganismos patógenos y deteriorantes, los cuales se mencionaron anteriormente.

Este trabajo ofrecerá información de la calidad microbiológica de las especias para valorar una normativa y también para tener conocimiento de los microorganismos que se pudieran detectar en estos condimentos.

:

ANTECEDENTES

Tanto en nuestro país como en otros, desde hace mucho tiempo, se han usado las especias como sazonadores de alimentos, sin embargo se ha encontrado que estas son muy susceptibles a contaminación por microorganismos deteriorantes ó patógenos. (Silliker, J.H.,1985). Debido a lo anterior, se han realizado cada vez con mas frecuencia estudios microbiológicos de las especias mas utilizadas en cada país (Silliker, J.H.,1985).

Jensen *et al* 1934 y Castell 1944 sugirieron que la presencia de números altos de esporas en especias que condimentaron los alimentos enlatados, podrían ser la causa de alteraciones posteriores en el alimento. Se ha demostrado que algunas especias podrían contener esporas de bacterias mesofilicas aerobias, mesofilicas anaerobias y termofilicas. Dentro de ellos, los microorganismos potencialmente enteropatógenos incluyeron a *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus* (Silliker, J.H.,1985). *C. perfringens* ha sido encontrado en muestras de pimienta negra, jamaica, cilantro, hoja de laurel y nuez moscada y en menor proporción en la canela y clavo (Nikolaeva, 1967; Powers,E.M; 1975; Leitao, M.F; 1973-74; Krishnaswamy *et al*, 1971).

Mossalami y Yousef (1965) y por otro lado Julseth y Deibel (1974) reportaron que en las especias puede haber abundantes variedades de bacterias no formadoras de esporas, unas indicadoras de contaminación y otras causantes de enfermedad.

Se han realizado estudios microbiológicos en los Estados Unidos de las especias tanto locales como importadas y se encontró variabilidad en la incidencia y número de

organismos amilolíticos y proteolíticos, además de los termofílicos formadores de esporas, hongos, levaduras y microorganismos totales. En este estudio se demostró un efecto inhibitorio de *Salmonella* utilizando la cassia, cebolla y orégano (Julseth, R.M, and R.H. Delbel, 1974).

De igual manera, De Boer *et al* en 1985 reportaron que la mayoría de las especias y hierbas tenían altos números de bacterias que contribuían en el deterioro de los alimentos. De las muestras analizadas se encontraron hongos en un número mayor a 10^4 UFC/g, los más frecuentes fueron *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium citrinum*, *P. Chrysogenum*, *Absidia corymbifera* y *A. tamarii* además de la presencia de estos géneros de hongos se reportó *C. perfringens*, *Bacillus cereus* y *Salmonella* considerándose de riesgo para la salud. En Noruega la pimienta negra una especia analizada fue causa de un brote de *S. oranienburg* mientras que en Newfoundland un caldo sazonado tanto con pimienta blanca como negra contaminadas con *S. welteverden* causaron brotes de salmonelosis (Robillard, P. 1983).

Powers *et al* en 1975 determinaron el grado de contaminación de 10 marcas de especias de 16 bases militares de la armada, la fuerza naval y la aérea de los Estados Unidos. Ellos determinaron que la incidencia de *C. perfringens* fue del 15 % ya que fue posible aislar al microorganismo en 4 de 7 especias analizadas, siendo estas: hojas de laurel, pimentón, chile en polvo, canela, ajo en polvo y orégano. El orégano presentó el porcentaje de contaminación más alto, alcanzando un 53 %. Además, los autores encontraron que la microflora de las especias entre las diferentes marcas varió ampliamente. El número de coliformes fue bajo y solo se presentó en el 9% de las muestras analizadas y su presencia no indicó riesgos a la salud ya que no se encontraban

en grandes cantidades (solo en tres muestras los conteos excedieron de 100 UFC/g). En ese estudio en cinco muestras provenientes de laurel, pimientón y orégano se obtuvieron cuentas de hongos y levaduras mayores de 1×10^4 UFC/g, e incluso se encontró una muestra de laurel con 6.7×10^5 UFC/g de hongos y levaduras. *Staphylococcus coagulasa* positivos solo fueron encontrados en una muestra de orégano, sin embargo, se encontraba en bajas cantidades por lo que no representó riesgo para la salud.

Baxter y Holzapeel en 1982 analizaron 36 especias, hierbas y aditivos de alimentos en Sudáfrica, siendo obtenidas de diferentes fuentes tales como tiendas comerciales y fabricas de procesamiento de especias donde se fumigaron con dióxido de etileno. Ellos obtuvieron altos números de microorganismos esporulados, además de valores de mesofílicos aerobios totales en rangos de 10^5 ó 10^6 UFC/gr. La mayor contaminación se detectó en pimienta negra, cilantro, paprika, pimienta y pimienta blanca. No existió diferencia significativa con respecto a los organismos patógenos excepto para *B. cereus*, hongos y estreptococos fecales. La presencia de *B. cereus* fue confirmada en 7 de 19 muestras obtenidas de tiendas comerciales. Los enterococos, fueron aislados e identificados en paprika, pimienta negra y blanca, pimientón, polvo de cebolla y salamita.

En un estudio realizado por Pafumi en 1986 se analizaron algunas especias y hierbas de Australia. El encontró contaminación con microorganismos patógenos y causantes de deterioro. Los resultados mostraron la presencia de microorganismos aerofílicos totales (1.0×10^2 UFC/ g) en clavo y el pimientón y grandes cantidades (2.0×10^8 UFC/ g) en la pimienta negra. En el estudio, la pimienta blanca mostró altos niveles en todos los microorganismos probados.

En otro trabajo se estudió la calidad microbiológica de diferentes especias (asafoetida, cardamomo, canela y clavo) obtenidas de un mercado de Chandigarh en la India. Además se determinó la resistencia a antibióticos y enterotoxigenicidad de los aislados de *E. coli* y *Salmonella* obtenidos. Se encontró que la máxima resistencia fue a la penicilina (77.5%) y alrededor de un 40% de los aislados de *E. coli* y el 62% de los aislados de *Salmonella* spp fueron enterotoxigénicos. (Kaul, M and N. Taneja, 1989). En 1993 Kneifel y Berger, analizaron 160 muestras de 55 especies y hierbas. Ellos encontraron cuentas de mesofílicos alrededor de 10^7 UFC/g en pimienta negra, chiles y especia china y determinaron que más del 50 % de las muestras contenían mesofílicos totales entre 10^4 y 10^6 UFC/g. Los bacilos estuvieron en cantidades menores a 10^5 UFC /g en más del 40% de las muestras. También se encontraron (en niveles más bajos de 10^2 UFC/g) enterobacterias, pseudomonadales y aeromonadales, así como de enterococos y lactobacilos. Se encontró *S. arizonae* en una de las muestras de pimienta negra. En algunas muestras de ajo y de curry se encontró a *Bacillus cereus* en niveles de 10^5 UFC/g.

El estudio sobre la calidad microbiológica de las especias continuó y en 1991 Rodríguez. *et al* evaluaron la calidad microbiológica de algunas especias de consumo en Cuba. Determinándose que las especias más contaminadas fueron la pimienta negra y el comiño, los cuales alcanzaron valores de microorganismos mesofílicos de hasta 10^6 UFC /g, además los coliformes se encontraban en valores de hasta 10^5 UFC/g. Sin embargo, el orégano y la canela presentaron buena calidad microbiológica ya que los valores obtenidos para cada caso no sobrepasaron el límite permitido por ese país

(10⁴UFC/g). No se detectó la presencia de *Salmonella* spp ni levaduras en las muestras estudiadas.

Presencia de *B. cereus* en especias

Los miembros del género *Bacillus* es un grupo grande y variado, todos sus miembros forman esporas, y las especies difieren en la forma y tamaño de sus bacilos; en general los microorganismos de este grupo son saprófitos inofensivos, pero pueden llegar a producir casos raros de meningitis, endocarditis, neumonía o septicemia en pacientes debilitados. *B. cereus* es causa importante de envenenamiento alimentario. Es un bacilo agrupado en pares y frecuentemente en cadenas, es móvil por la presencia de flagelos peritricos, produce una espora elipsoidal central o paracentral y su distribución es amplia.

Hobbs y Gilbert en 1974, reportaron que las esporas de *B. cereus* fueron capaces de sobrevivir el cocinado y estuvieron viables en los alimentos durante el proceso. Además se estableció que el microorganismo no era riesgoso a menos que el alimento se mantuviera entre 10 y 55°C por largos periodos de tiempo. Bajo esas condiciones, el microorganismo era capaz de crecer y producir toxina, ya fuera en el alimento o en el tracto digestivo después de ingerido el alimento. (Hobbs, B.C, and R. Gilbert, 1974).

Se ha determinado que *B. cereus* causa dos tipos de enfermedades: la emética y la diarreica. Estas dos son causadas por dos enterotoxinas distintas producidas por el microorganismo.

El síndrome diarréico recuerda a aquel producido por *C. perfringens*. Los síntomas se desarrollan usualmente después de 8 a 20 h después de la ingestión del alimento. El síndrome emético ocurre a las pocas horas de la ingestión (1-5 h) y los síntomas recuerdan a los producidos por efecto de la enterotoxina de *Staphylococcus aureus*, e incluyen náusea y vómito, diarrea, espasmo abdominal y tenesmo (Melling.J., *et al*, 1976).

Ghosh, *et al* en 1978, reportan que *B. cereus* es común en suelo y plantas, y que ha sido aislado en muchos alimentos tales como productos lácteos, carnes, especias y productos secos como cereales especialmente arroz. Los alimentos implicados en las enfermedades diarréicas incluyeron cereales, alimentos que contenían almidón y maíz, puré de papa, vegetales, productos cárnicos, pudines, sopas y salsas. El tipo emético es más frecuentemente asociado a maíz frito y hervido, y al macarrón y queso (Johnson, K.M., 1984). Se requieren altos números de microorganismos para causar la enfermedad (10^5 UFC / g). Se ha comprobado que todos los brotes de ambos tipos de cuadros clínicos se han producido como resultado de temperaturas impropias de mantenimiento de los alimentos y por enfriamiento lento de grandes cantidades de ellos. (Johnson, K.M., 1984).

Se ha reportado que muestras de especias provenientes de lugares de procesamiento o en el punto de llegada de las importaciones en Norteamérica, Europa, Oriente Medio y Japón estaban contaminadas con microorganismos del género *Bacillus*, específicamente por *B. pumilus*, *B. firmis*, *B. brevis* y *B. cereus* (Goto, A., *et al*, 1971).

Powers *et al* en 1976 reportaron la incidencia de *B. cereus* en especias procesadas adquiridas por la armada y la fuerza aérea de E.U. En el estudio se analizaron 110 muestras de especias que incluyeron hojas de laurel, pimienta roja, chile en polvo, canela, ajo en polvo, mostaza en polvo y orégano. Encontraron al microorganismo en un 53 % de las especias, y las cantidades variaron de 50 a 8.5×10^3 UFC/ g; además se determinó que el 89 % de los aislados fueron toxigénicos.

De igual manera Antai en 1988, reportó el grado de contaminación por *Bacillus* en especias de Nigeria; se examinaron 230 muestras de cinco diferentes especias (pimienta aligator, pimienta roja, pimienta negra, tomillo y polvo curry). Se encontró en general que las especias estaban contaminadas, ya que la cantidad de bacterias mesofílicas se encontraba desde 1.8×10^4 hasta 1.1×10^8 UFC/g, *B. cereus* fue aislado en altas cantidades, y encontraron a *B. subtilis*, *B. polymixa* y *B. coagulans*.

Presencia de Hongos y Levaduras.

Se ha determinado que los hongos varían de una especie a otra, pero el más abundante suele ser *Aspergillus glaucus* (Chistianse.C.M., *et al*, 1967; Hadlock, R., 1969 y Hori, Y., *et al*, 1971) Se ha reportado que dos especies del género *Aspergillus* son productoras de toxinas. *A. flavus* y *A. parasiticus* estas producen sustancias conocidas como aflatoxinas las cuales se han identificado como agentes cancerígenos (Peña, D.S., *et al*, 1990). Hasta el momento todos los seres vivos han resultado susceptibles a las aflatoxinas; las dosis letales varían, pero en el caso de la aflatoxina B₁ que es la más tóxica pueden ser desde menos de 0.5 hasta 20 microgramos de

aflatoxina por kilogramo de peso corporal. El consumo humano de alimentos, con residuos de aflatoxinas, constituye un peligro para la salud. En los mamíferos, la aflatoxicosis provoca una amplia variedad de manifestaciones patológicas incluyendo necrosis hepática, disfunción hepática y extensas lesiones hemorrágicas que resultan letales. Además del hígado, también el timo puede verse afectado por las aflatoxinas (Peña, D.S., *et al*, 1990).

En 1960 se presentó el caso de una persona con pérdida de apetito y debilidad muscular. Se determinó que el responsable fue el consumo de una comida mohosa de cacahuete. Se encontró que el alimento estaba contaminado con *A. flavus*, el cual formó la aflatoxina. Este caso surgió en Inglaterra (Hayes, P.R., 1992) y casi simultáneamente en Kenya y Uganda se presentó en patos y posteriormente en Estados Unidos y Europa. Se han encontrado 4 aflatoxinas principales B₁, B₂, G₁, G₂. Estas son muy similares químicamente y todas resistentes al calor, requiriéndose 100°C por largo tiempo para destruirla. (Hayes P.R., 1992).

Ekundayo en 1987, reportó la microflora y contenido vitamínico de alimentos condimentados y secados al sol en Nigeria. Se encontró que los aislados fúngicos más frecuentes de hongos para okra fresca, frutos de pimienta y semillas de melón fueron *Botryodiplodia theobromae*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma harzianum*, *Mucor mucedo* y *Fusarium oxysporum*. En los frutos secados al sol por 20 días se encontró principalmente *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp.

En un trabajo desarrollado por Shrivastava y Jain (1992) se estudió la microflora de semillas y algunas especias, y se encontró que los principales contaminantes en hierba

del obispo, pimienta negra, cilantro y comino fueron *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *Penicillium spp*, *Rhizopus arrhizus*, *R. stolonifer* y *Syncephalastrum racemosum*.

Kady *et al* (1992) aislaron e identificaron 38 géneros y 81 especies de hongos presentes en 120 muestras de 24 tipos de especias colectadas en diferentes lugares de Egipto. Se aislaron principalmente los géneros *Aspergillus* (25 especies) y *Penicillium*, (7 especies) de los cuales *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *P. chrysogenum* y *P. corylophilum* fueron los más comunes.

Rogers y Guariano en 1986, determinaron que al agregar dicloran y rosa de bengala al medio de cultivo se estimuló el sobrecrecimiento de los hongos y se promovían morfologías coloniales distintivas.

En 1994 Delcourt *et al*, realizaron un estudio sobre el grado de contaminación por hongos y bacterias de pimientas en polvo así como la determinación de la concentración de aflatoxina B₁. La pimienta negra estuvo más contaminada que la pimienta blanca, sin embargo, no fueron aisladas bacterias causantes de enfermedad. La contaminación por hongos fue debida principalmente a *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. ochraceus*. Se detectaron concentraciones de aflatoxinas B₁ en todas las muestras y no parecieron tener correlación con la ocurrencia de *Aspergillus*. Los autores sugirieron el uso de un tratamiento esterilizador de las especias, además que la detección de aflatoxinas debía ser necesaria para mejorar la calidad de las pimientas.

Presencia de enterobacterias en especies

El tubo digestivo, en especial el intestino grueso, es el sitio de mayor colonización bacteriana en el cuerpo, la flora bacteriana normal alcanza 10^{12} bacterias por gramo de peso seco en colon y las heces. Gran parte de ésta flora es inofensiva y pasa inadvertida, aunque en ocasiones se introducen microorganismos patógenos que pueden causar infección. El grado de infección y su tolerancia se relaciona con las normas de higiene y sanidad de cada comunidad. En grandes zonas del mundo estas normas son escasas y las enfermedades diarreicas frecuentes, por lo que en muchos de estos países dichas infecciones causan un gran índice de mortalidad infantil y la debilidad que provocan complica los problemas de malnutrición (Duerden B.I .*et al*, 1993).

El hábitat natural de muchas enterobacterias es el intestino de mamíferos; algunos como *E. coli* se encuentran en el intestino como flora normal. Sin embargo, *Salmonella*, *Shigella* y ciertos serotipos de *E.coli* pueden considerarse como patógeno. Se ha establecido que aunque muchas enterobacterias forman parte de la flora intestinal, también pueden ser patógenos oportunistas, los cuales pueden causar infecciones fatales cuando las defensas normales del huésped son insuficientes, tal como en el caso de recién nacidos, pacientes en etapa terminal de su enfermedad ó pacientes que reciben tratamiento inmunosupresivo (Braude, A.I., 1984).

E. coli es una de las especies más estudiadas en la actualidad. Fue descubierta en 1887 y en 1892 comenzó a ser usada como indicador de contaminación fecal (Vanderzant C. Y D.F.Splittstocsser 1992). Es una bacteria gram negativa encontrada

sola o en pares, tiene forma bacilar y en la mayoría de los casos es móvil por la presencia de flagelos peritricos.

Kadis *et al* 1971, así como Karison y Gunderson en 1965, reportaron que era frecuente encontrar coliformes en las especias, sin embargo, *E. coli* no era tan común. Se han aislado organismos coliformes en la pimienta negra, jengibre, cilantro, hinojo, chile rojo, ajo, comino, mostaza, té masala y curry en polvo. Los autores aislaron en estas especias cepas de *E. coli* (10 aislados), *Klebsiella pneumoniae* (41), *K. ozaenae* (6) *Enterobacter hefniae* (5) *E. liquefaciens* (6) y *Pectobacterium* spp (42).

De la bacteria *E. coli* existen cinco serotipos los cuales se asocian a diferentes cuadros clínicos:

1) *E.coli* enterotoxigénica, la cual causa diarrea en cerditos y terneras, y diarrea del viajero en personas que viven en climas cálidos, principalmente en países subdesarrollados. La sintomatología es muy similar a aquella causada por *Vibrio cholera* en cuanto a producir diarrea profusa y acuosa sin sangre ni moco. Pueden aparecer cólicos abdominales, vómitos, acidosis, postración y deshidratación y puede no haber fiebre, los síntomas duran de tres a cinco días (Benenson S;1992).

2) *E. coli* enteroinvasivo, relacionado con algunos serotipos de *Shigella*. Los microorganismos poseen la capacidad de depender de plásmidos para invadir y multiplicarse dentro de las células epiteliales del colon de humano y puede causar una enfermedad análoga a la disentería. La enfermedad comienza con cólicos abdominales intensos, malestar generalizado, expulsión de las heces acuosas, tenesmos y fiebre, y

evoluciona hasta la expulsión de múltiples heces escasas y líquidas que contienen sangre y moco (Braude, A. I., 1984; Benenson S;1992).

3) *E. coli* enteropatógeno que se asocia a diarrea de lactantes menores de un año de edad, en quienes produce diarrea acuosa con moco, fiebre y deshidratación, es un serotipo especial que no se encuentra comúnmente en el intestino normal. Se ha visto que no invade las células epiteliales del intestino delgado, por lo que no produce enterotoxinas fácilmente detectables (Braude, A.I., 1984; Benenson S;1992).

4) Serotipo enterohemorrágico (0157:H7), el cual se identificó en 1982 cuando en Estados Unidos hubo una epidemia de colitis hemorrágica en varios estados. El cuadro incluye heces acuosas con sangre visible, pero sin leucocitos en las heces, estas cepas causan un síndrome hemolítico-urémico. Es capaz de producir unas citotoxinas muy potentes llamadas toxinas similares a Shiga 1 y 2 por su gran semejanza con las toxinas de *S. dysenteriae*, también fueron llamadas Vero I y II. La producción de éstas toxinas depende de la presencia de algunos fagos que transporta la bacteria, además contienen un plásmido que codifica para un tipo nuevo de fimbrias que intervienen en la adherencia de la bacteria a la mucosa intestinal. Es muy agresiva provocando una tasa de mortalidad elevada (Duncan, S., *et al*, 1994; Benenson S.A;1992). El serotipo más representativo de este grupo es el 0157:H7.

5) *E. coli* enteroagregativa, causa diarrea infantil en algunas partes del mundo y también diarrea persistente en los lactantes. El periodo de incubación estimado es de 20 a 48 horas. En modelos animales este serotipo desencadena un cuadro histopatológico característico (Benenson S.A;1992).

Presencia de *Salmonella* en especies.

El género *Salmonella* comprende a un grupo de microorganismos peligrosos debido a la frecuencia y gravedad de enfermedades que provocan. Los miembros de este grupo son bacilos gram negativos, que se encuentran en pares o solos, generalmente son móviles por la presencia de flagelos peritricos. Todos son organismos patógenos intestinales, *S.typhi*, *S.paratyphi* A, *S. paratyphi* B y *S. paratyphi* C producen la enfermedad septicémica llamada fiebre entérica. Otros miembros de este género en ocasiones producen un panorama similar, pero con frecuencia causan gastroenteritis o envenenamiento alimentario. La subdivisión de este género es poco usual ya que se basa en análisis antigénicos. De esta manera se han distinguido más de 1800 tipos de salmonellas y a muchos se les han asignado binomios que sugieren que son especies; por ejemplo *S. typhimurium* y *S. enteritidis* (Braude, A.I., 1984; Vanderzant C and D.F.Splittstocsser, 1992; Duerden B.I. *et al*, 1993).

S. typhi difiere de las otras especies en que el hombre es el único huésped natural y a nivel laboratorio tiene baja virulencia en ratones y otros animales; la fuente del microorganismo siempre es el paciente o el portador humano. En estadios tempranos la fiebre entérica es principalmente una septicemia más que un trastorno alimentario. Al igual que esta especie antes mencionada *S. paratyphi* A, B, C también produce fiebre entérica aunque por lo general menos grave que la ocasionada por *S. typhi* (Duerden B.I; *et al*, 1993).

La fiebre entérica se diferencia de las demás infecciones causadas por salmonellas en que la principal característica de presentación es la fiebre y no los síntomas intestinales.

Después de haber entrado al cuerpo del nuevo huésped por vía oral, se cree que llegan a la circulación por los vasos linfáticos intestinales, la fase bacterémica de la tifoidea es seguida por su localización, principalmente en las placas de Peyer del intestino delgado, en la vejiga urinaria y en los riñones, aunque también algunas veces en la médula ósea. El cuadro clínico de la primera semana de la enfermedad consiste en fiebre que aumenta progresivamente, cefalalgia e intenso malestar general, el diagnóstico de la tifoidea es seguido por la gravedad de la enfermedad, la intensidad de la fiebre y la presencia de confusión mental y otros signos de endotoxemia. La segunda semana aparece en muchos casos una erupción cutánea llamada rosela en el tronco, el comienzo de la diarrea y con frecuencia hepatosplenomegalia palpable. La ulceración de las placas de Peyer puede perforar el intestino o producir hemorragia. La paratifoidea es similar aunque más benigna que la tifoidea. (Duerden B.I *et al*, 1993).

El envenenamiento alimentario es la forma usual de la enfermedad causada por muchos tipos diferentes de salmonellas aparte de *S. typhi* y *S. paratyphi*, algunos serotipos en especial *S. typhimurium* son de manera persistente la causa de numerosos ataques cada año, pero la frecuencia de muchos otros varía dependiendo de las prácticas agrícolas, la importación de animales infectados y muchos otros factores. De igual manera especies como *S. enteritidis*, *S. heidelberg* y *S. adelaide* también están implicadas. (Braude A. I., 1984; Duerden B.I. *et al*, 1993).

La infección por salmonellas se encuentra ampliamente difundida entre mamíferos y aves domésticas y silvestres, y suele ser asintomática en ellos. Una vez cocinados los alimentos pueden ser contaminados posteriormente, ya sea por quienes les manipulan o por el contacto con los alimentos crudos contaminados o con superficies y/o utensilios

que se contaminan y nos son limpiados después. Para el envenenamiento alimentario se requiere que la bacteria tenga oportunidad de multiplicarse en los alimentos. Después de la ingestión de la bacteria en el alimento hay un período de incubación de 12 a 36 hrs durante el cual las salmonellas colonizan la mucosa intestinal y comienzan a dañarla, este daño en las mucosas produce una mayor secreción de líquidos y un aumento de la motilidad intestinal, lo que da como resultado la diarrea que es la principal característica clínica además se puede producir cefalalgia, dolor abdominal y posiblemente fiebre; además, puede ocurrir vómito (Duerden B.I, *et al* 1993).

Se ha reportado que la pimienta negra contaminada con *Salmonella weltevreden*, fue responsable de varios casos de salmonelosis humana (Laidley,R; *et al*, 1974).

En un trabajo desarrollado por Bruchmann en 1995, se analizaron 315 muestras de especias y mezclas de estas. Los autores pusieron una particular atención a la paprika ya que se había reportado que podría estar contaminada con *Salmonella*. De todas las muestras, analizadas 20 contenían a la bacteria (18 de paprika, 1 de curry y 1 de pimienta). Las cepas aisladas fueron predominantemente *S. typhimurium*, sin embargo también se encontraron *S. altona* y *S. bredeney*.

Shigella en especias

..
..

Shigella spp es el bacilo causante de la disentería humana. Es un bacilo gram negativo, agrupado solo ó en pares, inmóvil, es una parásito obligado del hombre y ocasionalmente de chimpancés y monos. El daño depende de la especie que participe, la más severa es *S. dysenteriae*, luego *S. flexneri*, *S. boydii* y finalmente *S. sonnei* (Rafii.F.

et al, 1995). La patogenicidad depende de la invasión destructora de la mucosa intestinal, pero la especie más violenta es *S. dysenteriae* por la producción de una enterotoxina tipo cólera.

La shigelosis ó disentería bacilar en el hombre puede producirse por las cuatro especies del género *Shigella*. Esta enfermedad se presenta como una diarrea aguda y se caracteriza por la defecación frecuente de excremento laxo que tiende a ser de poco volumen y contiene sangre, moco y pus. Con frecuencia hay dolor al defecar y tenesmo continuo. La infección por shigelas se restringe al intestino, no existe invasión de tejidos más profundos ni bacteremia. Se necesita ingerir pequeñas cantidades del microorganismo para que se establezca la infección. Se ha encontrado que los bacilos se adhieren a la superficie de la mucosa para establecer la infección. Siendo importantes los componentes de superficie como las fimbrias. Una vez fijados invaden las capas superficiales de la mucosa, causando ulceración e inflamación, lo que da como resultado sangrado, secreción de moco y producción de exudado purulento (Duerden B.I. *et al*, 1993).

La disentería bacilar es una enfermedad causada por una higiene personal deficiente, la transmisión suele ser directa por contacto persona a persona (Braude A.I., 1984; Jawetz, E; *et al*, 1990; Jokilik, W.K., *et al*, 1986; G.H Reed, 1994; and B.I Duerden, *et al*, 1993).

En base a todo lo anterior, la determinación de la calidad microbiológica de algunas especies de consumo humano resulta de interés. Creemos que los datos arrojados en este trabajo servirán para marcar pautas sanitarias al respecto.

HIPOTESIS

El ajo en polvo (*Allium sativum*), comino (*Cyanomun cynanomun*), pimienta (*Polygomum hydropiper*), orégano (*Origanum vulgare*) y laurel (*Litsea glausescens* H.B.K) que se expenden en el área metropolitana de Monterrey están contaminadas con *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *B.cereus*, *Escherichia coli* 0157:H7 coliformes totales y fecales, hongos y levaduras y mesofilicos totales.

OBJETIVO

Determinar y cuantificar la presencia de *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *B.cereus*, *Escherichia coli* 0157:H7, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras y mesofilicos totales en 5 especias (ajo en polvo, comino, pimienta, orégano, laurel) que se expenden en Monterrey N.L. y su área metropolitana.

MATERIAL Y METODOS

Cepas de referencia:

Para este trabajo se utilizaron cepas de referencia de *Salmonella typhimurium* (aislada de chocolate) *Shigella dysenteriae* (presumiblemente humano), *Bacillus cereus*, donadas por J.Y.D' Aoust, of Health and Welfare (Canadá), y *Escherichia coli* 0157:H7 ATCC 43889, donada por la Dra. Lynn McClane de la Universidad de Massachusetts, Amherst, MA EUA. Las cepas fueron conservadas en agar infusión cerebro corazón (ICC, DIFCO) en refrigeración realizándose resiembras cada 4 meses. Estas cepas recibieron un proceso de activación, inoculando una asada a caldo ICC e incubándose a 37°C por 24 hrs.

Especies Utilizadas:

Se analizaron 5 especias comúnmente utilizadas en la cocina regional: ajo (*Allium sativum*), comino (*Cyanomun cynanomun*), pimienta (*Polygomum hydropiper*), orégano (*Órigamum vulgare*) y laurel (*Litsea glausescens H.B.K*). De ellas se analizaron 225 en presentación de bolsa de polietileno (45 de cada especia), 50 de presentación a granel (10 muestras para cada especia) y 30 en presentación de frasco de vidrio (6 de cada especia), (Tabla 1).

Tabla 1 Especies utilizadas

Nombre común	Nombre científico	Parte usada (Estado)
AJO	<i>Allium sativum</i>	Fruto (polvo)
PIMIENTA	<i>Polygonum hydropiper</i>	Fruto (entero)
COMINO	<i>Cynanomon cynanomon</i>	Fruto (entero)
OREGANO	<i>Origanum vulgare</i>	Hojas – Tallos (enteros)
LAUREL	<i>Litsea glaucescens H.B.K</i>	Hojas (enteras)

Se realizó un muestreo aleatorio de las cinco especias en centros comerciales y establecimientos de 4 municipios del área metropolitana: Monterrey N.L, Guadalupe, San Pedro Garza García y San Nicolás de los Garza N.L.

Análisis de la actividad antimicrobiana de las especias utilizadas.

Debido a antecedentes reportados acerca de la actividad antimicrobiana que algunas especias presentan, fue necesario realizar un análisis para determinar si algunas de ellas no causarían algún efecto inhibitorio sobre los microorganismos buscados. Se activaron las cepas de referencia y 60 μ l de cada una se inocularon en tubos de ensayo que contenían 3 ml de extracto de cada especia, previamente diluido 1:10 con solución

salina estéril al 0.85 % y esterilizado por filtración. Los tubos se dejaron reposar por 10 a 15 min y posteriormente se realizó un plaqueo realizando diluciones decimales y sembrándolas en medio ICC. Las placas fueron incubadas a 37°C por 48 h y posteriormente se comparó el crecimiento con los controles que no contenían los extractos de las especias.

Calidad microbiológica de las especias:

La determinación de los microorganismos contaminantes de las especias se realizó conforme está especificado por la normativa mexicana para cada caso. Para *B.cereus* se siguió la metodología aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, E.U.A), debido a que no hay normativa en México.

a) Preparación de la dilución:

Se pesaron 6 g de la muestra y se colocaron en un frasco de dilución que contenía 54 ml solución salina al 0.85% estéril (dilución 10^{-1}) y se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-3} .

b) Mesofílicos totales:

Las diluciones se sembraron en placas petri y posteriormente se les agregó agar para cuenta en placa fundido. Después que las placas solidificaron fueron incubadas a 37°C por 24 a 48 h.

c) *Shigella dysenteriae*:

Se prepararon diluciones hasta 10^{-3} y se sembraron en placas contenían agar MacConkey y agar *Salmonella Shigella* (SS) mediante la técnica de distribución en superficie, utilizando una varilla de Driglasky. Las placas se incubaron a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Se tomaron las colonias típicas para *Shigella* (opacas a transparentes) las cuales se sometieron a las pruebas bioquímicas: fermentación de (glucosa, lactosa y sacarosa), descarboxilación de la lisina, descarboxilación de la ornitina y reacción de la ureasa.

d) *Bacillus cereus*.

Se transfirió 100 μl de cada dilución a placas con agar manitol yema polimixina selectivo para *B. cereus*, mediante la técnica de distribución en superficie. Las placas se incubaron a 37°C por 24 h. Pasado este tiempo las colonias típicas (redondas ó planas, de translúcidas a cremosas y presentando una precipitación en el medio de cultivo), fueron resembradas en agar ICC y se sometieron a las pruebas bioquímicas correspondientes (Voges Proskauer, fermentación de manitol, reducción de nitratos, movilidad y producción de cuerpos paraesporales).

e) Coliformes Totales y Fecales

Este ensayo se realizó mediante la técnica del número más probable, la cuál consistió en lo siguiente: a partir de la dilución 10^{-1} , se inocularon (10 ml) a una serie de 3 tubos con campana de Durham conteniendo 20 ml de caldo lactosado 1.5X. Posteriormente se tomó 1 ml y se sembró en otra serie de 3 tubos con 10 ml de caldo

lactosado 1X. Esto mismo se repitió con otra serie de 3 tubos, a los cuales se les agregó 0.1 ml de la dilución 10^{-1} .

Los tubos se incubaron a 37°C por 48h. Aquellos que presentaron producción de gas fueron transferidos a tubos que contenían caldo bilis verde con campana Durham. Se incubaron a 37°C para el análisis de coliformes totales y a 44°C para la determinación de coliformes fecales por 48 h. Los tubos que produjeran gas se registraron como positivos para cada determinación. Los resultados se interpolaron en las tablas de NMP, según la norma oficial mexicana NOM – 112- SSA1.1994.

f) *Escherichia coli* O157:H7

A partir de los tubos positivos para coliformes fecales, se tomó una asada y se transfirió a cajas que contenían agar eosina azul de metileno (EMB,DIFCO). Se incubaron a 37°C por 24h. Las colonias con brillo verde metálico, (características de *E. coli*), fueron sometidas a pruebas bioquímicas: fermentación de (glucosa, lactosa y sacarosa), descarboxilación de la lisina, descarboxilación de la ornitina, indol y reacción de la ureasa. Se incubaron a 37°C por 24 h. Las cepas positivas fueron sometidas a tipificación con suero específico para *E. coli* O157:H7.

g) Hongos y Levaduras.

Se sembraron diluciones decimales de las muestras en cajas petri, a las que posteriormente se les agregó agar papa dextrosa con 1.2% de ácido tartárico previamente esterilizado. Las cajas se incubaron a 25°C por 4 días. Las colonias

encontradas fueron identificadas mediante la morfología característica tanto macroscópica como microscópicamente.

h) *Salmonella spp.*

Se pesaron 3g de la muestra y se le agregaron 27 ml de caldo lactosado y se mezclaron. Después de reposar a temperatura ambiente por 24 h se ajustó el pH a 6.8 ± 0.4 con NaOH 1 M estéril. De la mezcla anterior se tomó 1 ml y se colocó en un tubo con 9 ml de caldo tetrionato. Se incubó a 37°C por 18 a 24 h. Posteriormente se realizaron diluciones decimales del cultivo y se sembraron en placas con agar xilosa, lactosa desoxicolato (XLD, DIFCO), por la técnica de extensión en superficie. Las placas se incubaron a 35°C por 24 h.

Las colonias típicas de *Salmonella* (trasparentes) fueron sometidas a las pruebas bioquímicas: fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, descarboxilación de la lisina, descarboxilación de la ornitina y reacción de la ureasa. Los sistemas se incubaron a 35°C por 24 h.

Las cepas de *Salmonella* encontradas fueron sometidas a serotipificación a fin de determinar la presencia de *S. thypi*.

Análisis estadístico de los datos:

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza por rangos para valorar cada especie individualmente con respecto a su presentación y determinación de microorganismos.

Además para comparar los resultados de las diferentes presentaciones se realizó un análisis de varianza de una sola vía, a partir de medias expresadas logarítmicamente.

RESULTADOS

Análisis de la actividad antimicrobiana de las especias utilizadas.

Cuando se analizó el posible efecto antimicrobiano de los extractos de las especias se encontró una mínima alteración de la viabilidad de *Salmonella typhimurium*, cuando se probó con el orégano, de igual manera para *Shigella dysenteriae*, al probarla con laurel orégano y comino, en *Bacillus cereus* al probarla con comino y *Escherichia coli*. no se encontró ningún efecto inhibitorio. Estos resultados se obtuvieron con una concentración (1:10), los extractos de especias no afectan de manera drástica a los microorganismos buscados (tabla 2).

Tabla 2 Efecto de los extractos de especias sobre las cepas de referencia

Cepas de referencia	Cantidad de microorganismos UFC/g					
	Ajo	Pimienta	Comino	Orégano	Laurel	Control
<i>Salmonella typhimurium</i>	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	7.2×10^4	$>10^5$	$>10^5$
<i>Shigella dysenteriae</i>	8.0×10^4	9.6×10^4	3.7×10^4	2.5×10^4	4.2×10^4	1.12×10^5
<i>Bacillus cereus</i>	1.47×10^5	1.45×10^5	4.4×10^4	7.7×10^4	7.5×10^4	1.4×10^5
<i>Escherichia coli</i>	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$	$>10^5$

Calidad Microbiológica de las especias

a) Mesofilicos totales:

Los resultados referentes a los mesofilicos totales se encuentran resumidos en la tabla 3, para la presentación de bolsa de polietileno, en la 4 para presentación a granel y 5 para frasco de vidrio.

Cuando analizo la presentación de bolsa de polietileno, encontramos que el 46.6% de las muestras de ajo contenían valores muy altos de mesofilicos ($>10^6$ - $<10^7$ UFC/g). En caso de comino el índice de contaminación disminuyó, sin embargo el 33.3% (15) de las muestras tuvieron valores que iban de 10^4 a 10^7 . Valores muy semejantes a los anteriores se encontraron para la pimienta. En el caso del orégano y laurel se encontró que el mayor porcentaje de muestras (29.5% de orégano y 60% de las muestras de laurel) presentaron valores menores de 10^3 UFC /g.

Cuando se analizaron las muestras expandidas a granel, se pudo observar resultados similares a los anteriores en el ajo, pimienta y comino ya que la mayoría de las muestras tuvieron una carga microbiana alta (entre 10^5 y 10^6). En el laurel y orégano el mayor porcentaje de muestras (40 % para orégano y 40 % para laurel) presentaron valores entre 10^2 y 10^3 UFC/g.

Las muestras expeditas en frasco de vidrio, resultaron con una carga microbiana muy similar a la encontrada en presentación a granel, es decir, los valores mas altos fueron de 10^4 a 10^6 UFC/g para ajo comino y pimienta. Para el orégano, el 50% de las muestras tuvieron valores entre 10^2 y 10^4 UFC/g. En el laurel el mayor porcentaje de muestras (66.6 %) presentaron una carga menor de 10^3 mesofilicos /g.

TABLA 3 Valores de microorganismos aeróbicos mesofílicos encontrados en 5 especias muestreadas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de bolsa de polietileno

Especias	Muestras totales	Número de muestras en las que se determino mesofílicos totales									
		UFC /g									
		0 - <10 ²	>10 ² - <10 ³	>10 ³ - <10 ⁴	>10 ⁴ - <10 ⁵	>10 ⁵ - <10 ⁶	>10 ⁶ - <10 ⁷	>10 ⁷ - <10 ⁸	>10 ⁸		
Ajo	45	0	0	3	4	11	21	3	3		3
Porcentaje		0	0	7	9	24	47	7	7		7
Comino	45	0	1	6	15	15	6	2	2		0
Porcentaje		0	2	13	33	33	13	4	4		0
Pimienta	45	0	0	0	4	16	16	7	7		2
Porcentaje		0	0	0	9	35	35	15	15		4
Orégano	44	13	12	8	4	4	3	0	0		0
Porcentaje		29	27	18	9	9	7	0	0		0
Laurel	45	27	13	2	2	0	1	0	0		0
Porcentaje		60	29	4	4	0	2	0	0		0
Total	224	40	26	19	29	46	41	12	12		5

TABLA 4 Valores de microorganismos aerobicos mesofilicos encontrados en 5 especias muestreadas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación a granel.

Especias	Muestras totales	Número de muestras con mesofilicos totales						
		UFC /g						
		$0 - <10^2$	$>10^2 - <10^3$	$>10^3 - <10^4$	$>10^4 - <10^5$	$>10^5 - <10^6$	$>10^6 - <10^7$	
Ajo	10	0	0	1	1	7	1	
Porcentaje		0	0	10	10	70	10	
Comino	10	0	0	0	2	7	1	
Porcentaje		0	0	0	20	70	10	
Pimienta	10	0	0	0	4	1	5	
Porcentaje		0	0	0	40	10	50	
Orégano	10	2	4	4	0	0	0	
Porcentaje		20	40	40	0	0	0	
Laurel	10	4	4	0	1	1	0	
Porcentaje		40	40	0	10	10	0	
Total	50	6	8	5	8	16	7	

TABLA 5 Valores de microorganismos aeróbicos mesofílicos encontrados en 5 especias -- muestreadas en el área metropolitana de Monterrey N.L. en presentación de frasco de vidrio

Especias	Muestras totales	Número de muestras que contienen cuenta de mesofílicos totales					
		UFC /g					
		$0 - <10^2$	$>10^2 - <10^3$	$>10^3 - <10^4$	$>10^4 - <10^5$	$>10^5 - <10^6$	$>10^6$
Ajo	6	0	0	0	3	2	1
Porcentaje		0	0	0	50	33	17
Comino	6	0	0	0	1	4	1
Porcentaje		0	0	0	17	67	17
Pimienta	6	0	0	2	3	1	0
Porcentaje		0	0	33	50	17	0
Orégano	6	1	3	2	0	0	0
Porcentaje		17	50	33	0	0	0
Laurel	6	4	2	0	0	0	0
Porcentaje		67	33	0	0	0	0
Total	30	6	8	5	7	7	7

b) Microorganismos coliformes totales

Los resultados de este punto se encuentran resumidos en la tabla 6 para la presentación en bolsa de polietileno, 7 para granel y 8 para frasco de vidrio.

Los resultados encontrados en la presentación de polietileno fueron muy semejantes al punto anterior. El mayor número de muestras de ajo, comino y pimienta contenían valores altos de coliformes. En tanto que casi el 100% de las muestras de orégano y laurel mostraron cuentas bajas de estos microorganismos. (menores de 30 UFC/g).

Analizando las muestras expedidas a granel, el ajo presentó una contaminación baja por este tipo de organismos. En cuanto al comino el 40 % de las muestras mostró valores entre 10^3 y 10^4 UFC/g. El 50% de las muestras de pimienta tuvieron cuentas de entre 10^2 y 10^3 coliformes/g.

El orégano y laurel, al igual que en la presentación de bolsa de polietileno, no mostraron contaminación aparente.

Para las muestras de frasco de vidrio solo en el comino se encontró un porcentaje de 16.6% con una carga de coliformes entre 10^2 y 10^3 UFC/g. Las 5 especias en general presentan valores bajos de estos microorganismos.

TABLA 6 Determinación de microorganismos coliformes totales en 5 especias procedentes del área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de bolsa de polietileno.

Especias		Número de muestras en las que se determino coliformes totales						
		UFC/g						
Muestras totales	<3 - <30	>30 - <10 ²	>10 ² - <10 ³	>10 ³ - <10 ⁴	>10 ⁴ - <10 ⁵	>10 ⁵		
Ajo	45	8	8	11	16	2	0	
Porcentaje	18	18	24	35	4	0	0	
Comino	45	9	8	12	10	4	2	
Porcentaje	20	18	26	22	8	4	4	
Pimienta	45	7	7	7	12	6	6	
Porcentaje	16	16	16	27	13	13	13	
Orégano	44	42	0	2	0	0	0	
Porcentaje	95	0	4	0	0	0	0	
Laurel	45	45	0	0	0	0	0	
Porcentaje	100	0	0	0	0	0	0	
Total	224	111	23	32	38	12	8	

TABLA 7 Determinación de microorganismos coliformes de 5 especias procedentes del área metropolitana de Monterrey N.L. en presentación a granel.

Especias	Muestras totales	Número de muestras con coliformes totales					
		UFC /g					
		<3 - <30	>30 - <10 ²	>10 ² - <10 ³	>10 ³ - <10 ⁴	>10 ⁴	
Ajo	10	8	2	0	0	0	
Porcentaje		80	20	0	0	0	
Comino	10	3	2	0	4	1	
Porcentaje		30	20	0	40	10	
Pimienta	10	2	0	5	2	1	
Porcentaje		20	0	50	20	10	
Orégano	10	8	1	0	1	0	
Porcentaje		80	10	0	10	0	
Laurel	10	10	0	0	0	0	
Porcentaje		100	0	0	0	0	
Total	50	31	5	5	7	2	

TABLA 8. Determinación de microorganismos coliformes -
totales de 5 especias procedentes del área metropolitana
de Monterrey, N.L. en presentación de frasco de vidrio

Número de muestras con coliformes totales			
Especias	Muestras totales	UFC /g	
		<3 - <30	>10² - <10³
Ajo	6	6	0
Porcentaje		100	0
Comino	6	5	1
Porcentaje		83	17
Pimienta	6	6	0
Porcentaje		100	0
Orégano	6	6	0
Porcentaje		100	0
Laurel	6	6	0
Porcentaje		100	0
Total	30	29	1

c) Coliformes fecales

Los resultados de esta determinación para las tres presentaciones se resumen en las tablas 9,10,11.

Aunque los valores de coliformes totales en las muestras de ajo comino y pimienta fueron significativamente altos, cuando analizamos la presencia de microorganismos coliformes fecales encontramos valores muy bajos en todas las presentaciones. Para el caso de laurel y orégano ya se habían encontrado valores bajos de coliformes totales y lo mismo ocurrió en los coliformes fecales.

TABLA 9 Determinación de coliformes fecales en 5 especias expandidas en el área metropolitana de Monterrey, N.L. en presentación de bolsa de polietileno.

Especias	Muestras totales	Número de muestras que contienen coliformes fecales					UFC/g
		<3 - <30	>30 - <10 ²	>10 ² - <10 ³	>10 ³ - <10 ⁴	>10 ⁴ - <10 ⁶	
Ajo	45	21	4	12	8	0	
Porcentaje		47	9	27	18	0	
Comino	45	28	5	10	2	0	
Porcentaje		62	11	22	4	0	
Pimienta	45	16	12	8	8	1	
Porcentaje		36	27	18	18	2	
Orégano	44	43	1	0	0	0	
Porcentaje		98	2	0	0	0	
Laurel	45	45	0	0	0	0	
Porcentaje		100	0	0	0	0	
Total	224	153	22	30	18	1	

TABLA 10 Determinación de coliformes fecales en 5 especias expandidas en el área metropolitana de Monterrey N.L. en la presentación de granel.

Especias	Muestras totales	Número de muestras con coliformes fecales					UFC /g				
		<3 - <30	>30 - <10 ²	>10 ² - <10 ³	>10 ³ - <10 ⁴	>10 ⁴	<30	30 - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	>10 ⁴
Ajo	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	
Porcentaje		100	0	0	0	0	0	0	0	0	
Comino	10	4	2	2	1	1	1	10	1	1	
Porcentaje		40	20	20	10	10	10	10	10	10	
Pimienta	10	6	2	2	0	0	0	0	0	0	
Porcentaje		60	20	20	0	0	0	0	0	0	
Orégano	10	8	1	0	1	1	0	1	0	0	
Porcentaje		80	10	0	10	10	0	10	0	0	
Laurel	10	9	0	1	0	0	1	0	0	0	
Porcentaje		90	0	10	0	0	10	0	0	0	
Total	50	37	5	5	2	2	5	2	1	1	

TABLA 11. Determinación de coliformes fecales en 5 especias expendidas en el área metropolitana de Monterrey N.L en presentación de frasco de vidrio.

Número de muestras con coliformes fecales		
Especias	Muestras totales	UFC /g
		<3 - <30
Ajo	6	6
Porcentaje		100
Comino	6	6
Porcentaje		100
Pimienta	6	6
Porcentaje		100
Orégano	6	6
Porcentaje		100
Laurel	6	6
Porcentaje		100
Total	30	30

d) Hongos y levaduras.

Los resultados de la determinación de los principales hongos y levaduras se muestran en las tablas 12,13, y 14.

Para la presentación de bolsa de polietileno el mayor número de muestras de las 5 especias estaban contaminadas con géneros como *Aspegillus niger*, *Rhizopus*, *Penicillum*, *Cunnighamella*. En menor proporción se encontraron otros géneros tales como *Mucor*, *Absidia*, *Fusarium*, *A.fumigatus*, *A. aureolus*, *A. candidum*, *Rhodotula*.

De las especias expendidas en la presentación a granel los resultados encontrados se muestran en la tabla 13. Los géneros predominantes en las muestras fueron *Rhizopus*, y *Aspergillus niger*. Otros géneros encontrados en menor proporción incluyeron a *Cuninnghamella*, *Absidia* y *Nigrospora*.

En ésta presentación (granel) se pudo observar diferencia de la presentación en bolsa de polietileno ya que aquí la cantidad de géneros encontrados fue menor.

Los resultados de los principales hongos encontrados en la presentación de frasco de vidrio fueron *Cuninnghamella*, *Penicillum* y *A. niger* además otros géneros como *Fusarium*, *A. aureolus* (tabla 14).

:

TABLA 13. Hongos y levaduras encontrados en 5 especias adquiridas en presentación a granel provenientes del área metropolitana de Monterrey N.L.

Número de muestras que contienen hongos y levaduras							
Especias	Muestras totales	Géneros de hongos y levaduras					
		<i>Cunninghamella</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>A. niger</i>	<i>Absidia</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Nigrospora</i>
Ajo	10			3	2	4	
Porcentaje				30	20	40	
Comino	10	1		2	1	4	1
Porcentaje		10		20	10	40	10
Pimienta	10	3	2	6		1	
Porcentaje		30	20	60		10	
Orégano	10			7		2	
Porcentaje				70		20	
Laurel	10			8			
Porcentaje				80			
Total	50						

TABLA 14 Hongos encontrados en 5 especias adquiridas en presentación de frasco de vidrio provenientes de Monterrey, N.L.

Número de muestras que contienen hongos y levaduras						
Especias	Muestras totales	Géneros de hongos y levaduras				
		<i>Penicillium</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. aureolus</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Fusarium</i>
Ajo	6					
Porcentaje						
Comino	6	2	2		1	
Porcentaje		33	33		17	
Pimienta	6	2	2	1		
Porcentaje		33	33	17		
Orégano	6		4			1
Porcentaje			67			17
Laurel	6		3			
Porcentaje			50			
Total	30					

e) *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* O157:H7.

No se encontraron microorganismos enteropatógenos en ninguna de las muestras analizadas, en ninguna presentación.

f) *Bacillus cereus*

Se obtuvieron 32 aislados identificados como *B.cereus* siguiendo la metodología aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, E.U.A).

De la presentación de bolsa de polietileno fueron 23 aislados, 10 se encontraron en el ajo lo que representa un 22.2%, 4 en la pimienta y comino (8.8%). Los valores detectados para estas muestras iban de 10^2 - 10^5 UFC/g. En el orégano se encontraron tres aislados (6.8 %) y en laurel 2 (4.49%) los valores iban de 10^3 - 10^5 UFC/g.

En la presentación a granel se encontraron 8 aislados, 2 se detectaron en muestras de ajo y orégano (20%), 1 en una muestra de pimienta (10%) y 3 en comino (30%). Los valores detectados iban de 10^4 - 10^5 UFC/g.

En la presentación de frasco de vidrio solo un aislado se encontró en un a muestra de comino (16.6%) los valores detectados 10^2 UFC/g.

Resultados del análisis estadístico

Tal como se menciono anteriormente los resultados se sometieron a un análisis de varianza por rangos para valorar cada una de las 5 especies individualmente comparando las tres presentaciones que fueron analizadas (bolsa de polietileno, granel, frasco de vidrio) y para cada determinación (mesofílicos totales, coliformes totales y fecales). Estos resultados se muestran en la tabla 15. (Confiability fue de un 95%), observándose que existía diferencia significativa al comparar la prestación bolsa de polietileno contra vidrio para la determinación de mesofílicos totales en las 5 especies, así esta diferencia existió en las otras dos determinaciones (coliformes totales y fecales) al realizar comparaciones de las diferentes presentaciones.

También se valoraron los resultados de las medias de cada especie, especificadas en logaritmos por medio de un análisis de varianza de una sola vía, para valorar las diferencias significativas con respecto a las tres presentaciones y para cada determinación. Los datos se muestran en la tabla 16.

Los resultados indicaron que si existió una diferencia significativa para las tres presentaciones valorando las medias de las 5 especies con respecto a mesofílicos totales, cosa que no ocurrió para la determinación de coliformes totales y fecales donde no se observó diferencia significativa para las tres presentaciones.

Tabla 15 Análisis estadístico (ANOVA por rangos, $P > 0.05$) donde se compara las diferentes presentaciones de las especias analizadas

Especia	Mesofílicos totales			Coliformes totales			Coliformes fecales		
	Poliétileno x Vidrio	Poliétileno x granel	Granel x vidrio	Poliétileno x Vidrio	Poliétileno x granel	Granel x vidrio	Poliétileno x Vidrio	Poliétileno x granel	Granel x vidrio
Ajo	Si	Si	No	Si	Si	No	Si	Si	No
Comino	Si	No	No	Si	No	No	Si	No	Si
Pimienta	Si	No	No	Si	No	No	Si	No	No
Orégano	Si	No	No.	No	No	No	No	No	No
Laurel	Si	No	No	No	No	No	No	No	No

Nota: (Si) Existe diferencia significativa
(No) No existe diferencia significativa

Tabla 16 Medias logarítmicas de cada especia según su presentación y microorganismos determinados

Especia	Bolsa de polietileno			Granel			Frasco de vidrio		
	Mesofílicos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Mesofílicos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Mesofílicos Totales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
Ajo	7.32	3.65	3.3	5.83	1.5	1.47	5.41	1.39	1.39
Comino	7.15	4.28	2.6	5.92	3.4	3.18	5.79	1.7	1.21
Pimienta	7.65	4.7	3.53	6.18	3.35	2.21	5.08	0.47	0.47
Orégano	5.79	1.38	0.84	4.41	2.06	1.36	2.92	0.47	0.47
Laurel	4.13	0.6	0.6	4.54	0.47	0.47	2.06	0.47	0.47
Media	6.4	2.92	2.1	5.37	2.15	1.7	4.25	0.9	0.8

DISCUSION

Desde hace mucho tiempo se ha reportado que algunas plantas tales como el ajo podian poseer un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de algunos microorganismos patógenos (Delaha, E.C and Garagusi, V.F, 1985).

Nosotros realizamos un análisis para determinar si algunas especias utilizadas pudieran tener algún efecto inhibitorio sobre los microorganismos a analizar. Los resultados indicaron que a la dilución usada, las especias producian un efecto inhibitorio mínimo sobre el crecimiento de los microorganismos probados.

Esto concuerda con reportes que indican que la actividad antimicrobiana de las especias debida a su contenido de aceites esenciales es de poca importancia para la preservación de los alimentos. Se ha sugerido que esto es debido a que la concentración de estos aceites en los productos a los que se les añadan las especias, es generalmente demasiado baja como para que llegase a impedir el crecimiento microbiano (Silliker, J.H, *et al* 1985).

Cuando se analizó la cantidad de microorganismos mesofilicos aerobios encontramos rangos que iban 10^3 - $>10^8$ Cuando analizamos la presentación en que se expedian las especias utilizadas, pudimos observar diferencia significativa entre ellas, siendo la bolsa de polietileno la mas contaminada. Cuando analizamos la presencia de coliformes en las muestras, encontramos valores semejantes a los reportados por otros autores (Powers, E.M, *et al* 1975). En el caso de los coliformes fecales los valores alcanzados fueron menores o casi nulos a los coliformes totales, esto nos indicó que pocos microorganismos fecales estuvieron presentes ademas que no se encontró *E.coli*.

No encontramos reportes en donde se analizó la presencia de coliformes fecales en muestras de condimentos.

En general para coliformes y mesofílicos, las cuentas encontradas fueron semejantes a aquellas reportadas en otros países, solo que en ellas no se analizó la presentación en que ellas se encontraban (Powers, E.M; *et al* 1975; Rodríguez, M.M; *et al*, 1991; and Kneifel, W. and E. Berger 1993).

Varios grupos de investigadores han trabajado analizando la calidad sanitaria de especias (Powers, E.M; *et al* 1975; Rodríguez, M.M; *et al*, 1991; and Kneifel, W. and E. Berger 1993). En algunos de estos estudios se ha podido encontrar que la contaminación de las especias varía de acuerdo al tipo de especia, ya que se han encontrado que algunas son muy susceptibles a contaminación como es el caso de la pimienta (Pafumi, J; 1986).

Nosotros encontramos que la muestra que estaba más contaminada fue el ajo en polvo, el comino y la pimienta. Aunque en otros países se han detectado cantidades semejantes principalmente en pimienta (Baxter y Holzapeel 1982, Pafumi 1986 y Rodríguez *et al* 1991).

En general detectamos que la presentación más contaminada fue la de polietileno y la mejor fue la de frasco de vidrio. Esta diferencia pudiera deberse al manejo y tratamiento rudimentario a los que son sometidas las especias durante su distribución y almacenaje. En el caso de la presentación en frasco de vidrio, esta posee estándares de calidad más elevados ya que algunos de ellos se exportan, de ahí la diferencia en la calidad sanitaria.

En nuestro trabajo encontramos que el laurel y el orégano son las especias menos contaminadas. Esto pudiera deberse a algún efecto antimicrobiano que pudiera tener en forma natural las especias, y que impidiera la proliferación de la flora en ellas. En un trabajo donde se estudio el efecto antimicrobiano de especias y plantas medicinales contra *Clostridium perfringens* se encontró al laurel como una de las plantas que mejor efecto antimicrobiano tuvieron (Sanchez G.C 1995). Además en un trabajo realizado en nuestro laboratorio buscando *C. perfringens* en especias, se detectó que el laurel posee niveles muy bajos de la bacteria (Rodríguez.R.L 1997).

Cuando analizamos la presencia de hongos y levaduras detectamos que los géneros más comunes de hongos fueron *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Cuninnghamella*, de levaduras solo se determinó el género *Rhodotorula*. Al comparar nuestros resultados con los reportes encontramos que existe una similitud (De Boer *et al* 1985).

Sin embargo Ekundayo en 1987, detectó algunos géneros no determinados en nuestro trabajo y otros no muy frecuentes pero que si se determinaron en un número bajo de muestras tales como *Botryodiplodia*, *Trichoderma*, *Mucor* y *Fusarium*. Shrivastava y Jain (1992) además encontraron también a *Syncephalastrum*.

De estos hongos determinados consideramos que un genero de importancia para la salud es *Aspergillus* ya que existen dos especias tales como *A. flavus* y *A. parasiticus* los cuales son productores de aflatoxinas (Peña, D.S; *et al*,1990). Sin embargo los mas comúnmente encontrados en este trabajo fueron *A. niger* y *A.ochraceus* las cuales no se ha reportado que sean productores de estas toxinas(Larone, H.D.)

Aunque en general, los hongos detectados no indican un aparente riesgo a la salud, si pudieran tener importancia en el deterioro del producto (Delcourt A; *et al*, 1994).

Cuando buscamos la presencia de microorganismos patógenos solamente pudimos detectar a *B. cereus*. Esto quizá pudo haberse debido a que este es un microorganismo esporulado y se ha demostrado que las esporas pueden resistir condiciones desfavorables tales como desecación y alta temperatura. (Hobbs, B.C y R. Gilbert, 1974)

En trabajos similares se ha encontrado también a *B. cereus* como contaminante de especias (Powers, E.M, *et al* 1976). Sin embargo en estos trabajos el porcentaje de muestras positivas fue de 53% y en nuestro trabajo fue de 10.5 % lo cual no concuerda con el porcentaje reportado el cual fue mas alto.

Encontramos además que las muestras mas contaminadas resultaron ser las de granel pensamos que esto se debe al manejo que se da a la especia en esta presentación, ya que esta mas expuesta a medio ambiente en los mercados y el polvo de alguna manera pudiese transportar las esporas, pudiendo sobrevivir estas condiciones desfavorables a que se pudieran someter las especias posteriormente.

No detectamos otros microorganismos patógenos como *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *E.coli* 0157:H7. Esto pudiera indicar que la calidad de las especias es buena en comparación con otros países, ya que hay reportes en donde se ha encontrado a *Salmonella* en muestras de pimienta (Laidley,R *et al* 1974, Bruchmann1995 and Kneifel y Berger 1993).

En general aun con todo esto consideramos que la calidad de las especias analizadas puede ser semejante a las especias usadas en otros países (Rodríguez *et al* 1991) en relación con microorganismos deteriorantes y de mejor calidad en relación con microorganismos patógenos.

Con todo lo anterior, podemos considerar que aceptamos parcialmente la hipótesis inicial de nuestro trabajo ya que encontramos mesofílicos aerobios, coliformes totales, hongos y levaduras y *Bacillus cereus*. Sin embargo no encontramos microorganismos patógenos como *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *E.coli* 0157:H7.

CONCLUSIONES

- 1) Se encontraron valores elevados de mesofílicos aerobios en las 5 especias de todas las presentaciones analizadas y microorganismos coliformes en menor proporción.
- 2) La presentación que resulto mas contaminada fue la de bolsa de polietileno seguida por la de granel y la de menor contaminación fue el frasco de vidrio.
- 3) Las especias mas contaminadas fueron pimienta, comino y ajo en polvo.
- 4) Los hongos mas frecuentemente encontrados fueron *Aspergillus niger*, *Rhizopus*, *Penicillium* y *Cunnighamella*.
- 5) Se encontró a *B. cereus* en 32 muestras la mayoría provenientes de la presentación en bolsa de polietileno.
- 6) No se encontró a *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Eschericha coli* 0157:H7 en ninguna especia, ni presentación estudiada.

LITERATURA CITADA

- Antai S.P. 1988. Study of the *Bacillus* flora of Nigerian spices. Int. J. Food. Microbiol. 6: 259-61.
- Baxter R. and H. Holzapfel.1982. A microbial investigation of selected spices, herbs, and additives in South Africa. J. Food. Sci. 47: 570-574.
- Barnett, H.L and B.H. Barry. Illustrated genera of imperfect fungi. 3^{er} Ed. Burgess Publishig Co, E.U. 239 p.
- Benenson, S.A 1992. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15^{ava} Ed. Organización Mundial de la Salud. 618 p.
- Bruchmann, M 1995. *Salmonella* contamination of spices. Results of studies carried out in Brandenburg in 1993 Arch. Lebensmittelhygiene. 46: 17-19.
- Braude, A. I. 1984. Microbiologia Clínica. Ed. Media Panamericana. 972 p.
- Delaha,E.C. and V.F,Garagusi,1985. Inhibition of Mycobacteria by garlic extract (*Allium sativum*).Antimicrob. Ag. and Chemother. 27:485

Duerden, B.I, T.M.S Reid, J.M. Jewsbury and D.C Turk 1993. *Microbiologia de Enfermedades Infecciosas*. Ed. Limusa S.A de C.V. Mexico. 515 p.

Delcourt, A., A. Rousset and J.P. Lemaître. 1994. Microbial and mycotoxic contamination of peppers and food safety. *Boll Chem Farm.* **133**: 235-238.

De Boer, E. W, M. Spiegelberg and F. W. Janssen. 1985. Microbiology of spices and herbs. Netherlands Society for Food Microbiology. *Antonie van Leeuwenhoek* **51**: 435-438.

Duncan S. E. and C.R. Hackney. 1994. Relevance of *Escherichia coli* 0157:H7 to the dairy industry. *Dairy Food Environ. Sanitation.* **14** : 656-660.

Ekundayo, C.A. 1987. Mycoflora and vitamin content of sun-dried food condiments in Nigeria. *Plant Food Hum. Nutr.* **37**: 247-252.

Fatemeh R., M.A.Holland , W.E. Hill and C.E. Cerniglia. 1995. Survival of *Shigella flexneri* on vegetables and detection by polymerase chain reaction. *Food Protec.* **58**: 727-731.

Ghosh, A.C. 1978. Prevalence of *Bacillus cereus* in the faeces of healthy adults. *J. Hyg. Camb.* **80**: 233.

Hayes, P.R.1992. Food Microbiology and hygiene. Second Edition, Elsevier Publihsers. London and New York. 516 p.

Hobbs, B.C and R. J. Gilbert. 1974. Microbiological counts in relation to food poisoning. Proc. IV Intl. Cong. Food Sci. Technol. 3:159.

Mac Faddin, J.F.1984. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed Panamericana México D.F. 301 p.

Johnson, K. M.1984. . *Bacillus cereus* foodborne illness-An update. J. Food Protect. 47:145.

Julseth R.M., and R.H. Deibel., 1974. Microbial profile of selected spices and herbs at import. J.Milk Food Technol 37: 414-419.

El Kady, I.A., S.S. Mohamed, E.L .Maraghy and E. Mostafa-M, 1992. Contribution of the mesophilic fungi of different spices in Egypt. Mycopahology. 120: 93-101.

Kaul M.,and N. Taneja., 1989. A note on the microbial quality of selected spices. Food Sci. Technol. 26:169-170.

- Kneifel W. and E. Berger. 1993. Microbiological criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian market. *J.Food Protec.* 57: 893-901.
- Larone, H.D. Medically important fungi A guide to identification. American Society for Microbiology, Washington, D.C. E.U.A. 229 p.
- Melling J.B., J. Capel, P.C.B. Turnbull, and R.J. Gilbert. 1976. Identification of a novel enterotoxigenic activity associated with *Bacillus cereus*. *J.Clin Pathol.* 29:938.
- Pafumi J. 1986. Assessment of the microbiological quality of spices and herbs. *J.Food Protect.* 49 : 958-963.
- Patel, J.D., M.A.Krishnaswamy, and K.K.S.Nair. 1976. Biochemical characteristics of some of the coliforms isolated from spices. *J.Food Sci.Technol.* 13: 37-40.
- Powers, E.M., T.G. Latt; and T. Brown. 1976. Incidence and levels of *Bacillus cereus* in processed spices. *J.Milk and Food Technol.* 39: 668-670.
- Powers, E. M., R. Lawyer and Y. Masuoka. 1975. Microbiology of processed spices. *J Milk Food Technol.* 38: 683-687.
- Peña, D.S. 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. *Ciencia y Desarrollo.* XVI: 61-69.

- Rippon, W.J. 1990. Tratado de Micología Médica 3ª Edición, Interamericana McGRAW-HILL. 855 p.
- Reed, G. 1994. Foodborne Illness: Shigellosis. Dairy, Food and Environ. Sanitation. 14: 591.
- Rodríguez, M., M. Álvarez y M. Zayas 1991. Calidad microbiológica de especias consumidas en Cuba. Rev Latinamer. Microbiol 33: 149-151.
- Rodríguez.Romo; L.A, N.L. Heredia, R.L. Labbé y J.S García. Alvarado. 1997. Detection enterotoxigenic of *Clostridium perfringens* in spices used in Mexico by dot blotting used A-DNA probe. J. Food Protec. 61: 201-204.
- Rogers, J.H., and P.S. Guariano. 1986. Comparison of antibiotic-containing media and media supplemented with Dichloran and Rose Bengal for isolation and enumeration of fungi in spices. J. Food Protect. 49: 815-817.
- Sánchez García, C.A, 1995. Efecto de extractos de 33 plantas sobre el crecimiento de 11 especies bacterianas causantes de enfermedades gastrointestinales. Tesis Fac. de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. 89 p.
- Shrivastava, A, and P.C. Jain. 1992. Seed mycoflora of some spices. J. Food Science. Technol. 29: 228-230.

Silliker J.H, R.P. Elliot, A.C.Baird-Parker, F.L Brayan, J.H.B. Christian, D.S. Clark, J.C.Olson, and T.A. Roberts.1985. *Ecologia Microbiana de los Alimentos 2. Productos alimenticios*. International Comission on Microbiological, Specifications for food of the International Association of Microbiological Societies. Ed. Acribia, Zaragoza España. 739-757 p.

Vanderzant, C., and D.F. Splittstocsser. 1992. *Compendium of methods for the microbial examination of foods*. 2nd ed. American Public Health Association. Washington, D.C. U.S.A. 1219 p.

