

METODOS DE INSPECCION/MUESTREO Y ANALISIS EN CAPSICUM



WHEN YOU NEED TO BE SURE



METODOS DE INSPECCION/MUESTREO Y ANALISIS EN CAPSICUM

- Muestreo consideraciones generales
- Muestreo para análisis microbiológicos
- Análisis principales para evaluar la Inocuidad del producto
- Métodos de análisis químicos y microbiológicos.

- Calidad sanitaria (**inocuidad**), referida a la ausencia de microorganismos patógenos, se logra mediante acciones que eviten o reduzcan la contaminación y la colonización:
 - Selección de materias de buena calidad.
 - Comprobación y vigilancia del funcionamiento adecuado de los tratamientos que destruyen los microorganismos, como el calentamiento, cloración.
 - Prevención de la contaminación en la línea de producción.
 - Manteniendo temperaturas ambientales reducidas.
- Patógenos
 - Análisis específicos para detectar un peligro reconocido como productor de enfermedad para el hombre o los animales.
 - Pueden ser: bacterias, hongos y sus toxinas, parásitos, virus

- Calidad higiénica (**seguridad**), referida a los organismos apatógenos , que se dividen según los cambios que producen en:
 - Deseables: Como en los alimentos fermentados, yogurt, embutidos, quesos.
 - No deseables: O alterantes, producen deterioro de los alimentos.
- Microorganismos Indicadores:
 - El objetivo principal es revelar defectos de tratamiento que lleva consigo un peligro potencial, peligro que no necesariamente esta en la muestra examinada.
 - Numeración de aerobios en placa, heterótrofos.
 - Numeración de bacterias entericas: grupo coliforme (totales, fecales, E. Coli), enterococos (estreptococos), enterobacteriaceae.
 - Otros: S. Aureus, bacterias, mohos y levaduras.

■ Muestreo:

Obtención de una muestra representativa del objeto de evaluación de la conformidad, de acuerdo con un procedimiento (ISO/IEC 17000).

Nota: El muestreo generalmente se basa en el conocimiento que se tiene del producto, proceso y los requerimientos del cliente.



■ Lote:

Un conjunto de unidades de producto del cual se debe extraer una muestra para inspección con el fin de determinar la conformidad con los criterios de aceptabilidad, y que puede diferir de otro tipo de conjunto de unidades designados como lote para otros fines.

Cada lote, en la medida de lo posible, consistirá de unidades de producto de un solo tipo, grado, clase, tamaño y composición, producidas comercialmente en las mismas condiciones y en el mismo periodo. (NTP- ISO 2859-1).

Para el caso de los productos a granel, el lote es una parte definida de una población, compuesta de una cantidad total de material a granel a considerar, y donde esta parte es considerada como una cantidad de material para el cual la característica específica va a ser determinada (ISO 11648-1).



- **Muestra:**
 Consiste de una o mas unidades de producto extraídas de un lote, son seleccionadas al azar sin tener en cuenta su calidad. (NTP-ISO 2859-1)
- **Muestra de ensayo (o muestra de laboratorio):**
 Es preparada para ser enviada al laboratorio, para ser ensayada o analizada al mismo tiempo. (ISO 10725)
- **Porción de muestra para ensayo:**
 Parte de una muestra de ensayo que será usado para el ensayo o análisis al mismo tiempo. (ISO 10725)



- Criterio microbiológico:

Son una serie de pautas y recomendaciones utilizados generalmente para asegurar la inocuidad y calidad de los alimentos y evaluar la aceptabilidad de determinado lote de alimentos.

- Todo criterio microbiológico según Codex debe considerar:

- El establecimiento de los microorganismos (bacterias, virus, mohos, levaduras) y parásitos que preocupen y/o sus toxinas.
- Los métodos analíticos para su detección y cuantificación.
- Un programa que defina el número de muestras de campo que han de tomarse, el tamaño de la unidad de muestra y cuando sea adecuado; donde y cuando? deben tomarse las muestras.
- Los límites microbiológicos que se consideren apropiados para el alimento y
- El número de unidades de muestra que deben cumplir dichos límites.

- **Norma microbiológica:**

Es un criterio microbiológico que forma parte de una ley o regulación. Es de carácter obligatorio que el organismo regulador ha de hacer cumplir dentro de su jurisdicción.

- **Especificación microbiológica:**

Es un criterio microbiológico que se aplica a un alimento o ingrediente para su aceptación por parte de un fabricante o un organismo privado o público. Es un criterio obligatorio en el sentido que su incumplimiento puede originar el rechazo del producto por parte del comprador

- **Recomendación microbiológica:**

Es un criterio microbiológico que puede usar un fabricante u organismo regulador para monitorear un sistema o proceso productivo. Sirven para el control de los PPC, son voluntarios y/o consultivos.

- Se aplican para la aceptación de los productos alimenticios más aún cuando no se conoce el proceso ni el historial de la producción.
- Programa de atributos de dos clases:
 - Forma simple de decidir la aceptación o el rechazo del lote.
 - Pone de manifiesto la presencia o ausencia de un determinado microorganismo, usado principalmente para los **patógenos**.
- Programa de atributos de tres clases:
 - Aplicable cuando se evalúa la concentración de microorganismos, aplicado principalmente para **microorganismos indicadores**.
 - Divide la calidad del producto en tres categorías: Aceptables, provisionalmente aceptables y rechazables.

Requisitos Microbiológicos RM 591 - 2008 Minsa:

XIII.4 Especies y condimentos deshidratados.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^5	10^6
Mohos	2	3	5	2	10^3	10^4
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Escherichia coli</i> (*)	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

(*) Sólo para los productos de consumo directo.

XIV. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y OTROS VEGETALES.

XIV.1 Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10^2	10^3
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

XIV.2 Frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas) refrigeradas y/o congeladas.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	6	3	10^4	10^6
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10^2
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<i>Listeria monocytogenes</i> (*)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

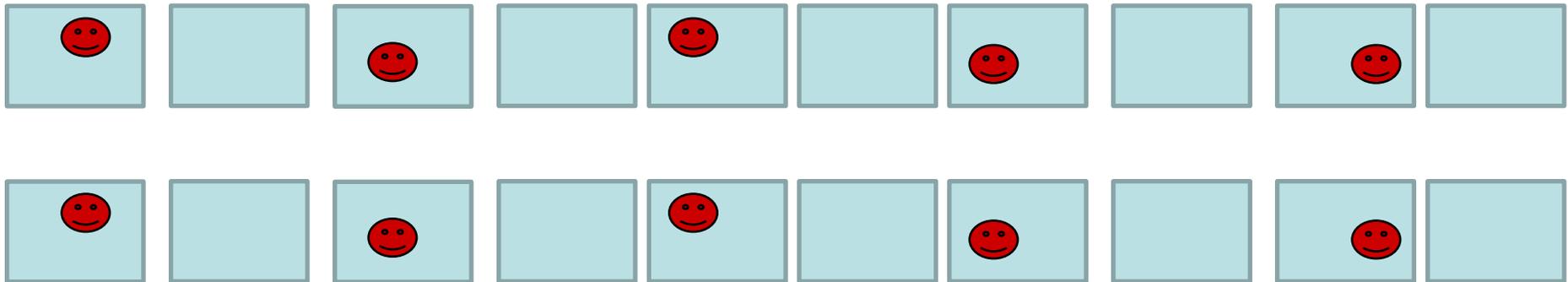
(*) Solo para frutas y hortalizas de tierra (a excepción de las precocidas)

XIV.3 Frutas y hortalizas desecadas, deshidratadas o liofilizadas.

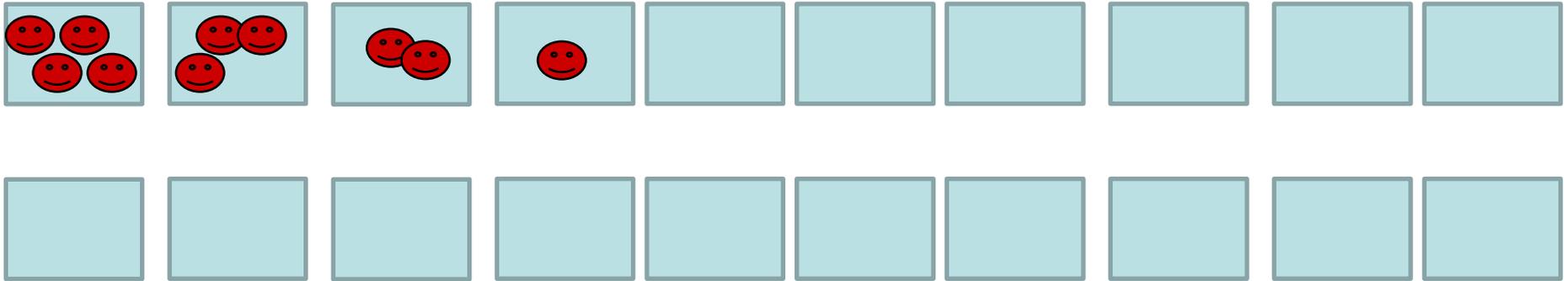
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^2	10^3
Levaduras	2	3	5	2	10^2	10^3
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	5×10^2
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

- Laboratorio A detecta el patógeno, Laboratorio B no detecta
- Primer análisis detecta el patógeno, la repetición no detecta

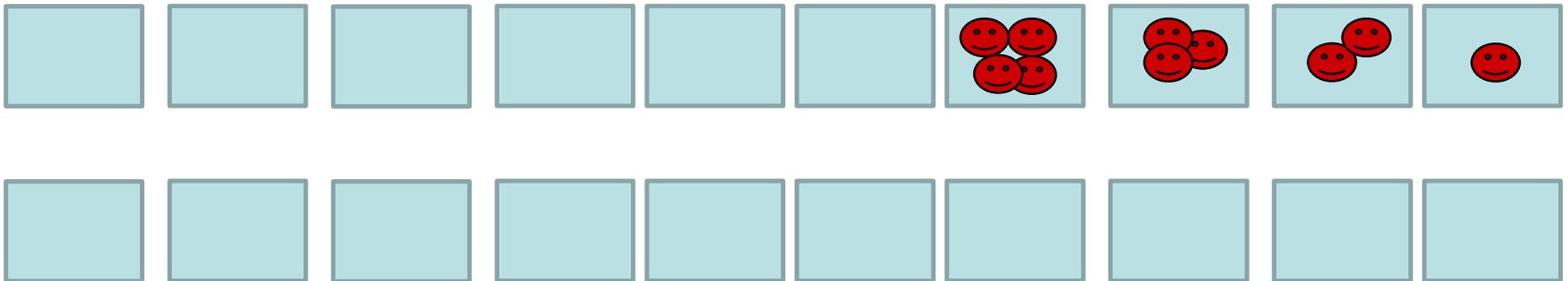
- Tipo de distribución
- Prevalencia del microorganismo
- Concentración del microorganismo



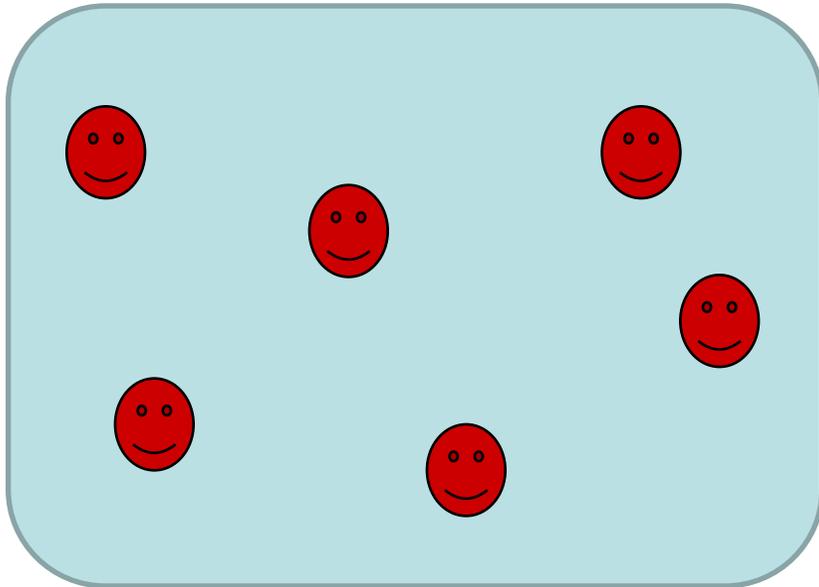
Distribución regular / homogénea (no aleatoria) a lo largo de la producción de un lote de 20 cajas



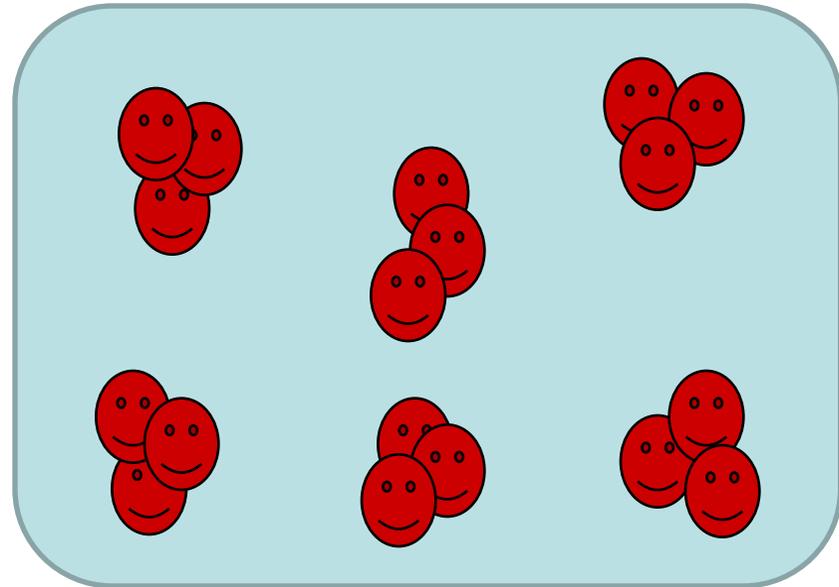
Distribución heterogénea (no aleatoria) a lo largo de la producción de un lote de 20 cajas



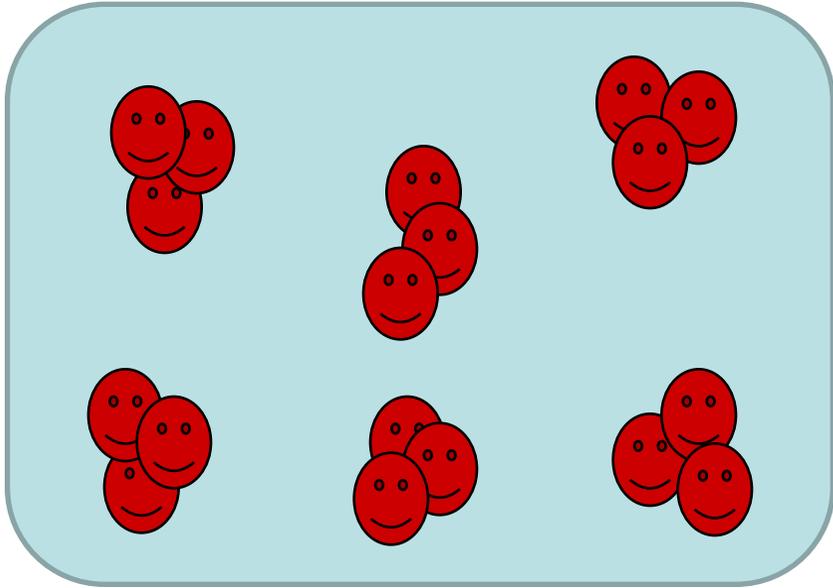
Distribución heterogénea (no aleatoria) a lo largo de la producción de un lote de 20 cajas



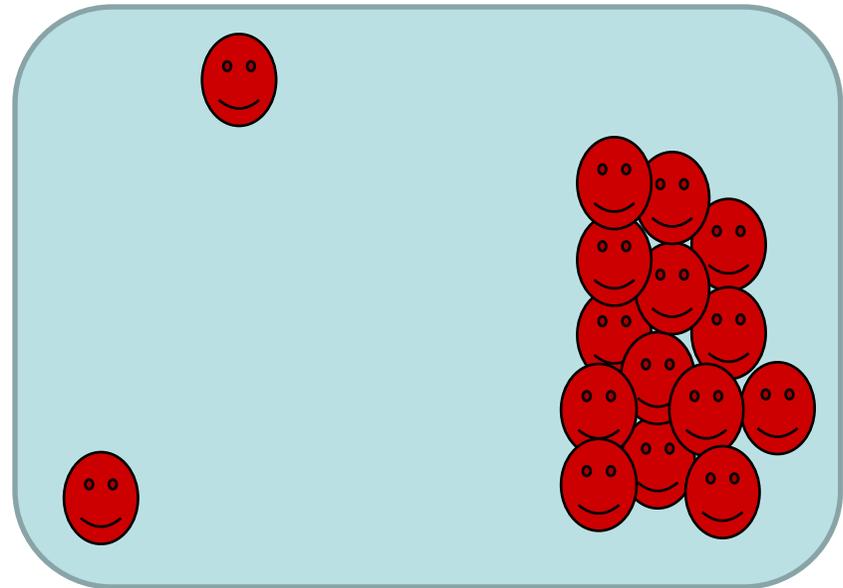
Lote A = 100 Kg
 1 célula por grupo
 Prevalencia: 6 unidades de muestra de
 1 Kg
 Concentración: 6 células/100 Kg



Lote B = 100 Kg
 100 células por grupo
 Prevalencia: 6 unidades de muestra de
 1 Kg
 Concentración: 600 células/100 Kg



Situación teórica Concentración ideal



Situación normalmente encontrada en la práctica

- Micotoxina : "mykes" (hongos) y "toksicons" (veneno).
- Son moléculas relativamente pequeñas, que se forman al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria.
- Contaminan alimentos de origen vegetal como animal.
- Pueden ser producidas: antes o después de la cosecha, durante el almacenaje, transporte, procesamiento o en el momento de ser utilizados en alimentación.
- En 1960 se presentó la primera epidemia de aflatoxicosis en el Reino Unido que ocasiono la muerte de 10000 pavipollos, se encontró responsable a la harina de cacahuate empleado como suplemento proteíco del pienso.
- La FAO (1991) define a las micotoxinas como:
Metabolitos de hongos que provocan cambios patológicos tanto en seres humanos como animales. Micotoxicosis

- Crónica.
- Mutágena
- Cancérgena a largo plazo
- Inmunosupresoras
- Teratogénicas
- Gastrointestinales

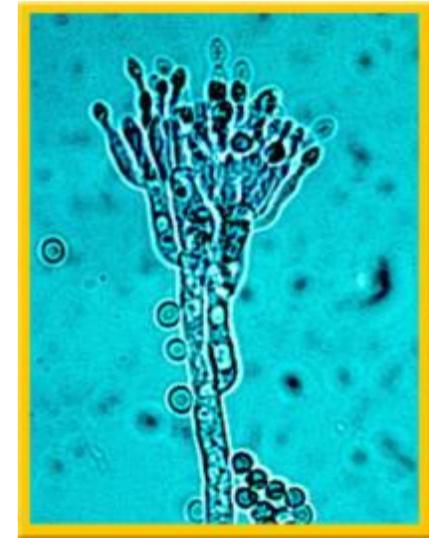
**NO SON DETECTADOS POR LOS SISTEMAS
INMUNOLOGICOS**



Fusarium spp



Aspergillus spp



Penicillium spp

Son de fácil cultivo en el laboratorio y su identificación es por el tipo de conidios que presentan.

FORMACION

- De la composición del sustrato.
- La capacidad genética de los hongos para producirlas.
- Factores ecológicos

CONDICIONES

- Tamaño muy pequeño de los hongos.
- Condiciones ambientales de contaminación.
- Factores físicos: humedad, agua disponible, temperatura, zonas de microflora,
- Factores químicos: composición del sustrato, pH, nutrientes, minerales, disponibilidad de O₂
- Integridad física del grano o del alimento
- Factores biológicos: presencia de invertebrados, insectos, ácaros.

- La presencia del hongo no asegura la producción de la toxina.
 - Una toxina puede persistir en el alimento aun cuando el hongo no esté presente.
-
- Un determinado hongo puede producir más de una micotoxina: Fusarium graminearum puede producir Zerealenona y Deoxinivalenol (DON).
 - Una micotoxina puede ser producida por diferentes clases de hongos: Aflatoxinas: A. flavus y A. parasiticus

Temperatura y aw exigidas para el desarrollo de algunos mohos y para la producción de algunas micotoxinas

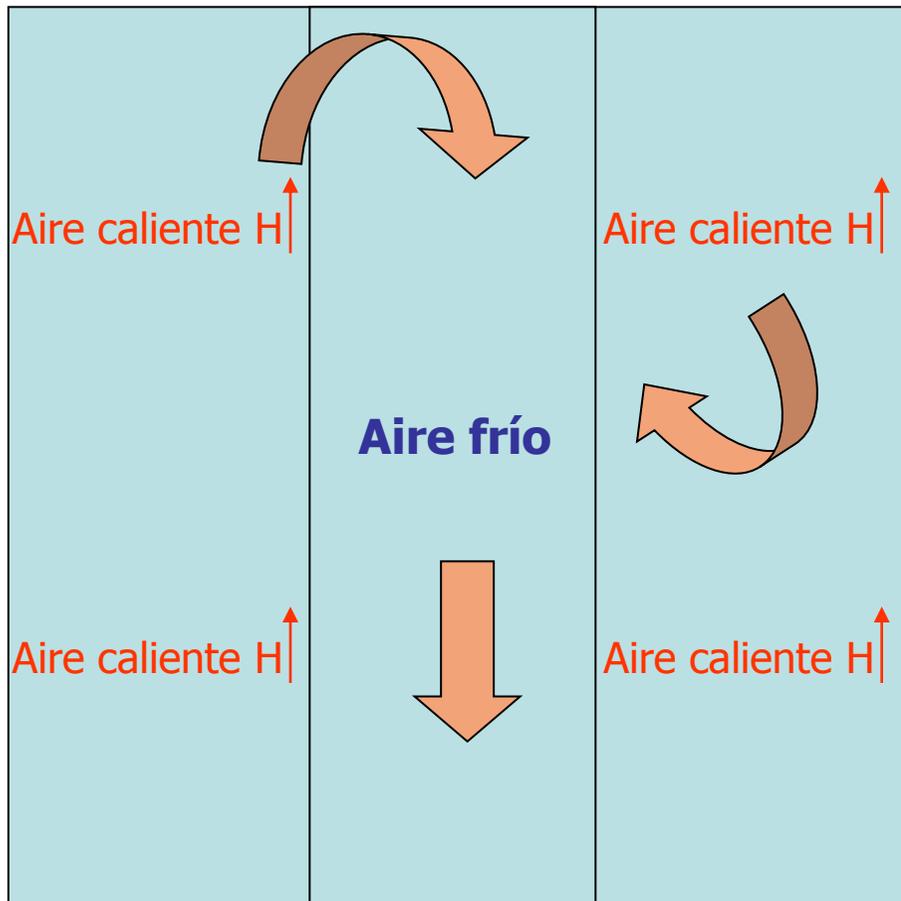
Mohos	Crecimiento		Micotoxinas	Producción	
	Temp.°C	Aw		Temp.°C	Aw
Aspergillus flavus	10	0,78	Aflatoxinas	10 - 25	0,83
Aspergillus clavatus	10	0,85	Patulina	12	0,99
Aspergillus ochraceus	10-12	0,77	Ochratoxinas	12	0,99
Penicillium expansum	0	0,85	Patulina	0-24	0,99
Penicillium cyclopium	0	0,82	Ochratoxinas	4-31	0,90

Relación entre la humedad (%) de varios cereales y semillas y las diferentes HRE a 25-30°C.

HRE %	Maíz Trigo, Sorgo	Soja Integral	Girasol Integral
65	12,5 - 13,5	11,5	8,5
70	13,5 - 14,5	12,5	9,5
75	14,5 - 15,5	13,5	10,5
80	15,5 - 16,5	16,0	11,5
85	18,0 - 18,5	18,0	13,5

El almacenamiento de un alimento no puede ser efectuado con el mismo valor de humedad

Zonas de Microflora



[Volver](#)

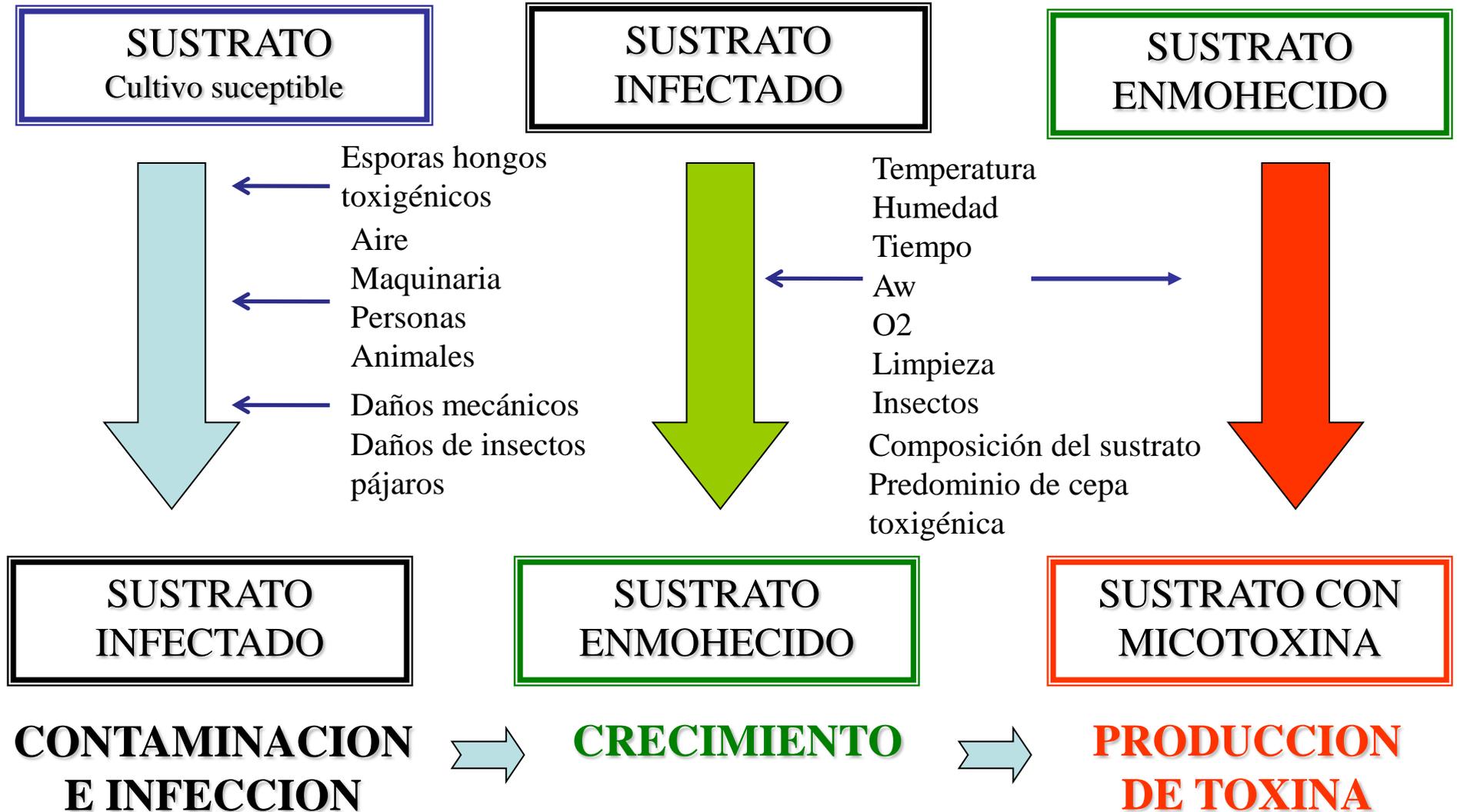
MICOTOXINAS - FORMACION

Producción de aflatoxina (ppm) por el *Aspergillus parasiticus* en diversas semillas (sustratos)

Semilla	NRRL 3000	NRRL 2999	NRRL 3145
Cacahuete	107	104,0	8,50
Soja	19	2,8	0,06
Maíz	53	47,0	5,50
Trigo	72	19,0	7,10
Arroz	107	185,0	10,60
Sorgo	72	88,0	57,60

[Volver](#)

MICOTOXINAS – FASES DE PRODUCCION



- Producidas por *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*.
 - Son onnipresentes, comunes de regiones tropicales y subtropicales.
 - Pueden crecer a temperaturas entre 10°C a 43°C, con un óptimo de 32 a 33°C.
 - La Aw optima es de 0.99, hasta un mínimo entre 0.80 a 0.83
-
- Tienen afinidad por las semillas oleaginosas.
 - Contaminantes naturales en los cereales (esencialmente el maíz) y subproductos, turtos de oleaginosas (algodón, cacahuete, colza, coco y girasol), mandioca, frutas, frutos secos, productos de salchichería, especias, leguminosas, leche y derivados
 - Las invasiones están asociadas a estados de estrés de la planta.
 - En los cereales de grano pequeño se atribuye a una inadecuada manipulación relacionada con la limpieza y desinfección.

CARACTERISTICAS:

- Se producen en un amplio rango de temperaturas que va entre 13 a 37°C, con un óptimo de 30 a 35°C.
- A mayor actividad de agua en el producto (humedad) mayor producción de aflatoxinas.
- La Aw optima está en el rango de 0.95 – 0.99, con un mínimo de 0.82
- Son resistentes al calor por lo que pueden permancer después del proceso de secado o tostado, peletización. El rango de temperatura va entre los 200 a 300°C.

Producida por dos géneros de hongos: *Aspergillus* y *Penicillium*.

- *Aspergillus ochraceus* es la principal especie productora, saprófita y de amplia distribución geográfica.
 - Se conoce que produce hasta tres tipos de toxinas: **A**, **B** y **C**.
 - Su crecimiento es de entre 8 a 37°C, con un óptimo de entre 24 a 37°C
 - La ocratoxina se produce de modo óptimo entre 22-30°C.
 - Crece en escasa presencia de agua como A_w de 0.77 (xerófilo) y produce OTA en A_w de alrededor de 0.80.
 - Presenta alta incidencia en el café y el cacao.
 - Cepas productoras aprox 50%
- *Aspergillus carbonarius*, *A. niger*
 - Produce OTA en el rango de temperatura 15 a 37°C.
 - La A_w va entre 0.95 a 0.99

Producida por dos géneros de hongos: *Aspergillus* y *Penicillium*.

- Producida por *Penicillium verrucosum*, *P. viridicatum*, .
 - Hongos casi exclusivos de zonas templadas (psicotrófico) por ello están muy presentes en los países escandinavos de Europa.
 - Rangos de crecimiento van entre 0 a 31°C.
 - Los rangos óptimos de temperatura para la producción de la toxina van entre 5 a 15°C, esto condiciona el crecimiento lento del hongo.
 - Crecen optimamente en A_w 0.85 y produce la toxina entre 0.90 a 0.99
 - Con regular incidencia en cereales, uvas.

- Se ha encontrado de manera natural en pasas, café en sus diferentes presentaciones.
- A partir de los años 90 se ha detectado su presencia en vinos por el ataque en la uva de *A. carbonarius* (100%) y últimamente se ha identificado también a *A. niger* var *niger*.
- *P. verrucosum* asociado a la cebada que por ser un ingrediente de la cerveza hace que su presencia en este producto sea probable si no se realizan los controles adecuados en las materias primas.
- Se ha encontrado residuos en carne y tejidos de cerdos
- Las rumiantes tienen la habilidad de hidrolizar la toxina a un metabolito no tóxico debido a la acción de la flora intestinal natural.

Determinación de de Ocratoxina A Columna de Inmunoadinidad y Cuantificación por HPLC - Método SGS-INO-ME-20

Preparación de la Muestra	Muestreo realizando un cuarteo Tomar aprox. 200 para el análisis Picar en trozos pequeños Secar en estufa a 50 °C x 3 horas Pulverizar la muestra seca
Procedimiento (Extracción)	Pesar 10 g de muestra molida Adicionar Bicarbonato de Sodio al 1% Licuar por 2 min. a velocidad media Filtrar (utilizar papel de fibra de vidrio)
Limpieza En columna OCHRAPREP	Tomar 20 mL del filtrado y pasar por la columna Lavar buffer fosfato Eluir con metanol/ac. acético(98/2) y agua destilada. Inyectar en el HPLC

Determinación de Aflatoxinas B1, B2, G1 and G2 Por derivatización post columna y Cuantificación por HPLC. ASTA Methods 24.2 4Th Ed. 1997

<p>Preparación de la Muestra</p>	<p>Muestreo realizando un cuarteo Tomar aprox. 200 para el análisis Picar en trozos pequeños Secar en estufa a 50 °C x 3 horas Pulverizar la muestra seca.</p>
<p>Procedimiento (Extracción)</p>	<p>Pesar 25 g de muestra molida Agregar Cloruro de Sodio y Metanol Licuar por 1 min. a alta velocidad Filtrar (papel de fibra de vidrio) Tomar 20 mL del filtrado y enrasar con a.p. Filtrar y usar para la limpieza en la columna</p>
<p>Limpieza En columna Inmunoafinidad</p>	<p>Tomar 10 mL del filtrado y pasar por la columna Lavar con agua Eluir con metanol y acetonitrilo : agua. Inyectar en el HPLC.</p>

LABORATORIO DE INSTRUMENTAL Análisis de Aflatoxins y Ocratoxina A

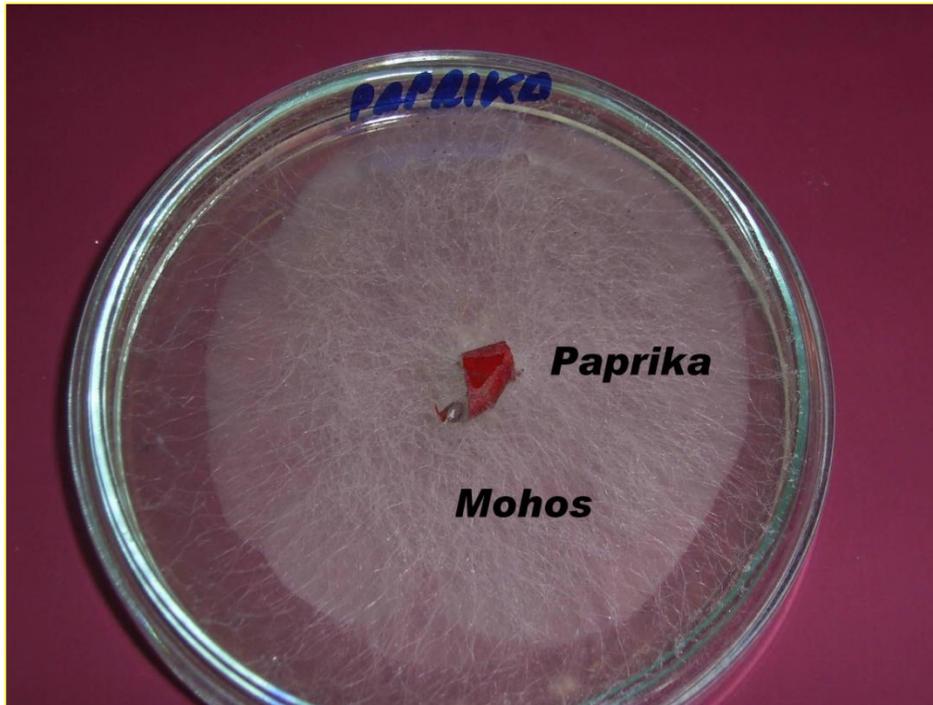


Cinco equipos HPLC

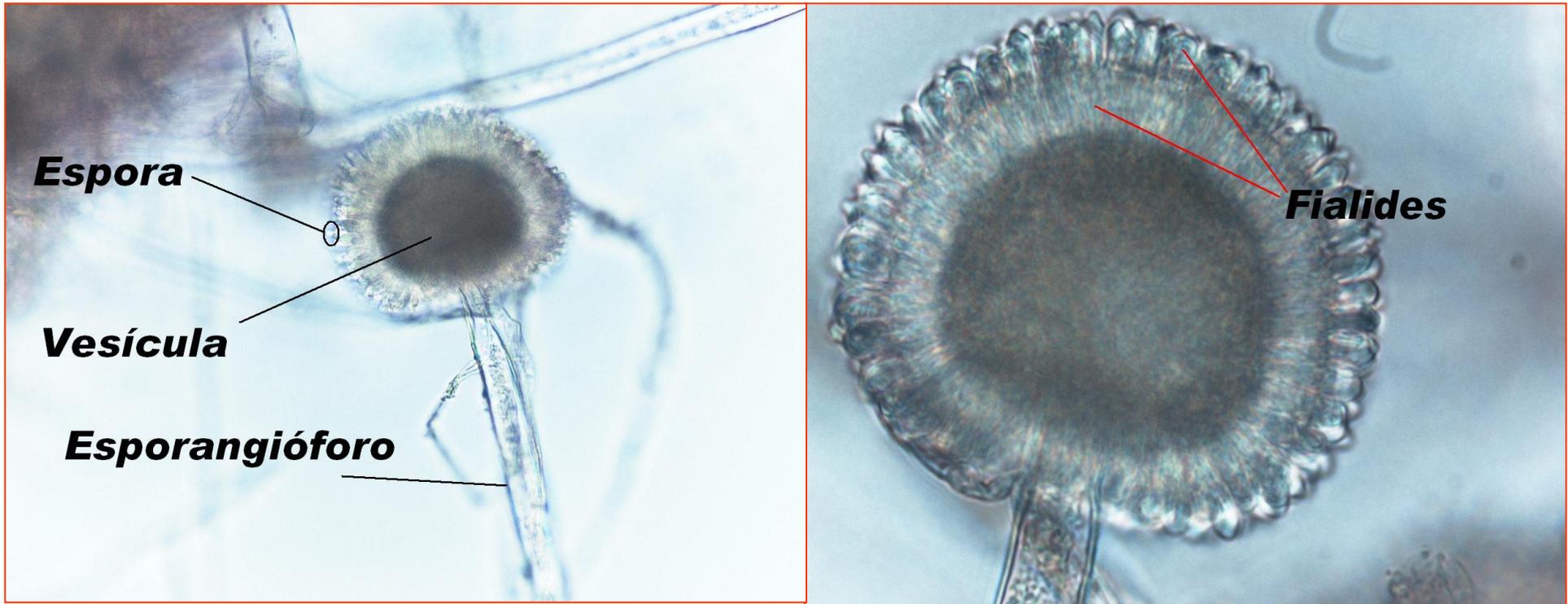


Equipos LECO y NIRS

MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

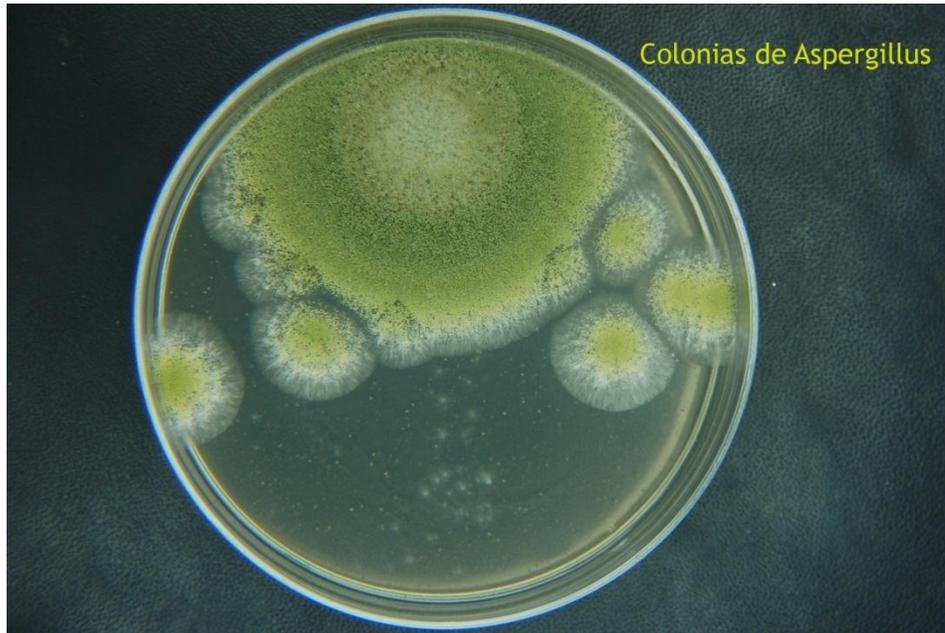


MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA-

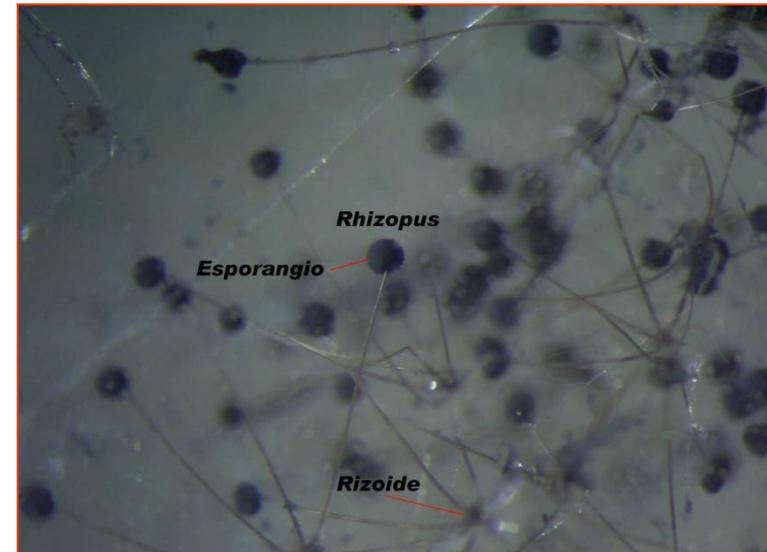


ASPERGILLUS SPP

MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

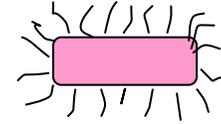


MICOTOXINAS -HONGOS AISLADOS DE PAPRIKA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA-

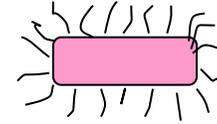


FUSARIUM SPP

SALMONELLA



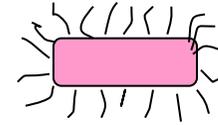
- Causa el 70% de casos de intoxicación alimentaria.
- Considerado 100% patógeno para el hombre y animales.
- Hábitat : En el intestino del hombre y animales / Superficie de los huevos, piel y patas de roedores y moscas.
- Transmisión: La vía de contaminación es oro-fecal.
- En alimentos, aguas, por contaminación cruzada.
- Síntomas : Diarrea y vómito, fiebre, dolor de cabeza, abdominal.
- Características fisiológicas principales:
 - **Aw** : límite 0.95, uno de los valores más bajos de las gram (-) su adaptación a crecer o mantenerse en productos con baja Aw es mediante la producción de solutos celulares.



■ Temperatura:

- Considerado como organismo termótrofo con temperatura óptima de 42 – 46 °C
- La exposición continúa o reiterada al calentamiento puede aumentar su termo resistencia.
- Su termo resistencia es notablemente mayor cuando los solutos son incapaces de penetrar en la célula.
- *S. tiphymurium* en A_w 1.0 tiene un valor D_{65} de aproximadamente 0.07 minutos.

En A_w 0.85 en el poliol glicerol que penetra en las células, su D_{65} asciende a 0.26 minutos, mientras que en sacarosa que no penetra y a una A_w 0.86 su valor D_{65} sube a unos 31 minutos



- **Influencia de la composición del medio de tratamiento,**
 - En presencia de péptidos o de proteínas los microorganismos pueden presentar una ligera termo resistencia aumentada en razón que evitan: pérdida de solutos, estabilizan la membrana y evitan la baja del ph.
 - Las grasas también ejercen un efecto sobre la A_w y pueden aumentar considerablemente la termo resistencia.
- **Formación de biofilms:** (National Veterinary Institute de Oslo, Noruega)
 - El biofilm bacteriano son comunidades microbianas que se pegan a una sustancia, una superficie o entre ellas.
 - Salmonella es capaz de crear biofilm sobre diferentes superficies de contacto como vidrio, polímeros o acero así como sobre superficies orgánicas.
 - Serovar Agona y Montevideo son persistentes en las fábricas de piensos y son buenos productores de biofilm

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA y PRODUCTOS ORGANICOS





**FRUTOS EN CAMPO
CONTAMINADOS POR HONGOS**



**ETAPA DE SECADO CON
PRESENCIA DE AVES**

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCION

