

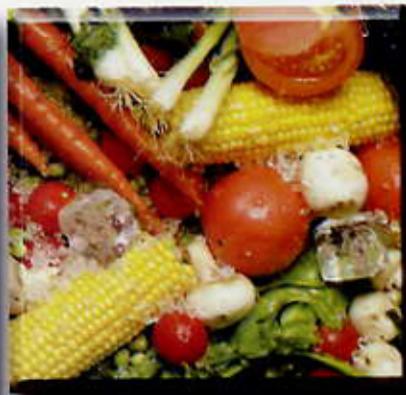
Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos



Consenso cooperativo UCR-MICT-MAG

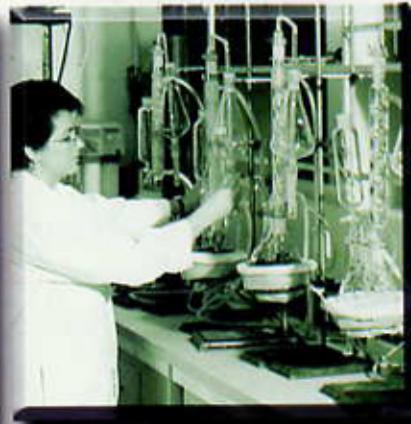
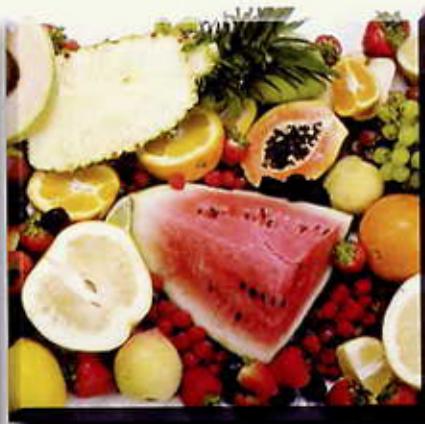
volumen 8-2001

ISSN 1022-0321



Reviteca

Revista de Tecnología y Ciencia Alimentaria



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

Directora del CITA

Floribeth Viquez Rodríguez

Editor

Lic. Vera García Cortés

Consejo Editorial

M. Sc. Floribeth Viquez Rodríguez

M. Sc. Ruth De la Asunción Romero

Ph. D. Ana Ruth Bonilla Leiva

Lic. Vera García Cortés

Diseño de Portada

Carlos Fernández

Diagramación

Guiselle Cascante Salazar

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

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

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

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

Email: cita@cita.ucr.ac.cr

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

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

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

1

Wong, Eric
Linton, Richard H.

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

7

Lois, Mónica

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

15

Pineda, María Lourdes
Kopper, Gisela

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

21

Zúñiga, Cira
Vargas, Elizabeth
García, Vera

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

28

Bonilla, Ana Ruth
Morúa, Glenn

Nota Técnica

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

36

Jirón, Luis Fernando
Vargas, Mario

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

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

ABSTRACT

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

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

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

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

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

RESUMEN

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

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

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

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

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

* Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

INTRODUCCIÓN

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

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

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

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

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

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

Higiene de los expendios

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

Análisis microbiológicos

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

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

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

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

Análisis estadístico

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad sanitaria

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

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

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

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

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

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

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

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

² Límite máximo $2 \times 10^3/g$

³ Límite máximo $4 \times 10^3/g$

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

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

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

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

¹13 expendios por zona

²Área Metropolitana

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

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

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

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

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

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

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

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

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

BIBLIOGRAFÍA

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

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

AGRADECIMIENTO

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