



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE INDICADORES Y  
BACTERIAS PATÓGENAS EN MOLES, DURANTE SU  
VIDA DE ANAQUEL.**

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA EN ALIMENTOS  
P R E S E N T A :  
ILIANA JANETT SANTILLÁN ENRIQUEZ



MÉXICO, D. F.

2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE** Prof. Olga del Carmen Velázquez Madrazo  
**VOCAL** Prof. Maria Mercedes Palao Rincon  
**SECRETARIO** Prof. Maria de Lourdes Gómez Ríos  
**1er SUPLENTE** Prof. Rafael Carlos Marfil Rivera  
**2do SUPLENTE** Prof. Fabiola González Olguín

**Sitio en donde se desarrolló el tema:**

Laboratorio de Microbiología 1-A, Edificio A 1er piso Facultad de Química, UNAM.

**ASESORA DEL TEMA**

---

Olga del Carmen Velázquez Madrazo

**SUPERVISORA TÉCNICA**

---

Pilar Granada Macias

**SUSTENTANTE**

---

Iliana Janett Santillán Enriquez

### Agradecimientos.

Gracias Señor por esta gran bendición, por permitirme llegar hasta aquí. Esto no es más que un fruto de lo que tú me has permitido lograr. Tú me has iluminado y me has llevado de la mano con Amor y me has llenado de fortaleza.

"La paciencia, todo lo alcanza, quien a Dios tiene Nada le falta"

Gracias a mis Padres, Marina y Félix, a mi abuelita Ciria, LOS AMO y les estoy totalmente agradecida por todo ese Amor incondicional, por enseñarme los valores más hermosos que he conocido, sobre todo por el apoyo que desde que nací me han otorgado. Gracias por sus cuidados, por su paciencia, por su entusiasmo y por estar ahí siempre.

A mi hermana Esmeralda, mi "Yuyis", mi chaparrita, a quien tanto he extrañado, siempre has sido mi inspiración. Te adoro, y siempre estaremos tan unidas como hasta ahora. Agradezco tus palabras de aliento, tus regaños y tu entrega. TE QUIERO Y TE AMO.

A mi amiga-hermana Kary (manzanella) por tu escucha, por tus palabras y por tu alegría en esos momentos.

Gracias a mis amigos de siempre: Azucena, Rodrigo, Juan, César, Araceli y Alejandra, por su amistad incondicional y por esos momentos en lo que añoramos aquella época de juventud, y que aún seguimos disfrutando de excelentes momentos.

A mis hermanitas DDCL: Agus, Erika, Itzel, Carmen, Bárbara y por supuesto Sor Catita. Les agradezco sus oraciones, siempre disfruté aquellas cenas con ustedes, aquellos momentos de alegría y reflexión.

A mis amigos entrañables de la Facultad: Elizet, Román, Claus, Lupis, Juan Manuel, Raúl Maruri, Miguel Romo, Rosalba, Yolanda Cervantes, Carito, Walter

Carlitos, Julio, Saraf, Teresita y Chio. Por todos los momentos de estudio, de apoyo, pero sobretodo las aventuras y las anécdotas a lo largo de la carrera.

A los chicos "entre cuerdas": Charly, Rodris (Poncho), Inés, Benji, mis hermanitos preciosos. Los Adoro.

A los chicos "cosmo" Erik, Kike y Luis por los momentos de locura musical, por su talento y sus palabras que en algún momento fueron acertadas.

A aquellas personitas verdaderamente especiales, Lety por tu paciencia, su apoyo en el laboratorio, su confianza y sus palabras de aliento. Fernando (Terry) por esos momentos agradables, por tu inspiración, alegría y autenticidad.

A ustedes que han dejado una huella importante en mi vida, que siempre me regalaron palabras inesperadas y de aprendizaje: Alma Hernández, Monica Chessal, Marisela García, Ángeles García, Salvador Martínez y Roberto Luis.

A los legítimos amigos de dominó y alegría, Luis Alex Sánchez, Lalo (corazón de león) Mtz., Karen Ramírez, Yahir, Carlos M. (Krlöz), Gris y Gussy (Héctor) por sus sonrisas, por su energía y sobre todo por la amistad que me han brindado.

Especiales e infinitas gracias a mi asesora, Olga Velázquez Madrazo y a la Profesora Pilar Granada, por su confianza, su apoyo, sus palabras y su enseñanza, durante la realización de esta tesis.

A mis sinodales, Lourdes Gómez, Mercedes Palao, Fabiola González y Rafael Marfil, por ser parte de mi formación en la facultad.

Y no puede faltar el agradecimiento enorme a mi queridísima UNAM, por abrirme los brazos, por permitirme ser parte de ella y dejarme disfrutar de su gran belleza, aprender de sus profesores, y sobre todo, por regalarme experiencias inigualables,

**GRACIAS!!!**



## INDICE

	PÁGINA
RESÚMEN .....	4
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN .....	5
Capítulo 2. OBJETIVOS .....	6
Capítulo 3. ANTECEDENTES .....	7
3.1 El Mole .....	7
3.1.1 Características del mole	
3.1.2 Componentes	
3.2 Industrialización y manejo de alimentos .....	9
3.3 Inocuidad y seguridad alimentaria.....	10
3.3.1 Amenazas comunes para la inocuidad de alimentos	
3.4 Vida Útil - Vida de Anaquel.....	12
3.4.1 Seguridad alimentaria y vida de anaquel	
3.4.2 Factores que afectan la vida de anaquel de un alimento	
3.5 Relación entre Seguridad alimentaria y Vida de anaquel .....	14
3.5.1 Factores que afectan la vida de anaquel de un alimento	
3.6 Vida de anaquel y calidad microbiológica.....	17
3.6.1 Control microbiológico	
3.6.2 Criterios microbiológicos	
3.7 Muestreo de alimentos para su análisis microbiológico. ....	24



<b>3.8</b>	<b>Preparación de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.....</b>	<b>25</b>
3.8.1	Procedimiento para la preparación y dilución de muestras a analizar	
<b>3.9</b>	<b>Análisis microbiológico de alimentos .....</b>	<b>26</b>
3.9.1	Métodos tradicionales del análisis microbiológico	
3.9.2	Métodos rápidos para la detección, enumeración e identificación de microorganismos	
3.9.3	Placas Petrifilm	
3.9.3.1	Ventajas de placas petrifilm	
<b>3.10</b>	<b>Microorganismos específicos indicadores de calidad en alimentos.....</b>	<b>29</b>
3.10.1	Microorganismos indicadores	
3.10.2	Indicadores de calidad microbiológica	
3.10.3	Indicadores de inocuidad (patógenos y toxinas)	
<b>Capítulo 4.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>34</b>
<b>Capítulo 5.</b>	<b>DESARROLLO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>34</b>
5.1	Esquemas.....	35
5.2	Origen de las muestras.....	39
5.3	Preparación de las muestras para su análisis microbiológico.....	39
5.4	Análisis microbiológico.....	39
5.5	Métodos empleados.....	40
<b>Capítulo 6.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>Capítulo 7.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>



---

<b>Capítulo 8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo 1</b> Buenas Prácticas de Manufactura (BPM's) en Procesadora de Productos "El Ranchero" S.A. de C.V.	
<b>Anexo 2</b> Placas Petrifilm para recuento de mesófilos aerobios.	
<b>Anexo 3</b> Placas Petrifilm para recuento de coliformes totales.	
<b>Anexo 4</b> Placas Petrifilm para recuento de <i>E. coli</i> .	
<b>Anexo 5</b> Placas Petrifilm para recuento de mohos y levaduras.	
<b>Anexo 6</b> Placas Petrifilm para recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> .	
<b>Anexo 7</b> Aprobaciones y certificaciones de Placas Petrifilm 3M.	





## RESUMEN

Esta investigación se enfocó al estudio microbiológico de dos especies de moles que se producen en Procesadora de Productos El Ranchero S.A. de C.V., ya que uno de los obstáculos para exportarlos es precisamente la calidad microbiológica, por la presencia de microorganismos indicadores y de algunos patógenos como *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico.

Se estudiaron dos tipos de mole: Mole Tradicional (MT) y Mole Especial (ME). Los análisis realizados incluyeron los principales grupos que han dificultado el acceso al mercado estadounidense. Dentro de estos microorganismos indicadores, se realizó: Cuenta de mesofílicos aerobios, determinación de coliformes totales, determinación de *Escherichia coli* y cuenta de hongos y levaduras. En el caso de los patógenos, se trató de identificar: *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico y *Salmonella* spp. Finalmente se determinaron esporas totales y termorresistentes que pueden sobrevivir en los productos y causar problemas al preparar platillos.

Para las determinaciones de mesofílicos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli*, hongos y levaduras así como para *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico se utilizaron placas "Petrifilm" de 3M, aprobadas por AOAC como método alterno.

La determinación de *Salmonella* spp., se hizo como establece la NOM-114-SSAI-1994. El recuento de esporas totales y termorresistentes, se llevó a cabo por el método tradicional, con diluciones decimales y placas vertidas en agar cuenta estándar, previo tratamiento térmico para eliminación de formas vegetativas.

La calidad microbiológica de los dos tipos de mole resultó satisfactoria, ya que cumple con las especificaciones de la NMX-F-422-1982.

Éstos resultados también indican que se aplican Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad (BPHyS), abren las puertas a la exportación del producto y, sobre todo, permiten garantizar su inocuidad.



## 1. INTRODUCCIÓN

El mole es un platillo tradicional representativo de México, que se prepara para celebrar ocasiones especiales pero también puede ser el componente principal de la comida familiar. Se considera un orgullo nacional y resume la enorme tradición culinaria del país; su origen se pierde en la leyenda o se ubica en las grandes cocinas de los conventos poblanos del tiempo de la Colonia.

Lo seguro es que el mole no es producto de una casualidad, sino el resultado de un lento proceso de mestizaje culinario iniciado desde la época prehispánica y perfeccionado en la Colonia, cuando la Cocina Mexicana se enriqueció con elementos asiáticos y europeos que imprimieron en el mole su sello propio.

En la actualidad se elaboran moles en diversas empresas pequeñas y medianas, generalmente mexicanas, que conservan la tradición y dan empleo a nuestra gente, pero que tienen que competir en un mercado donde la calidad de los productos se valora cada vez más y en el cual, la seguridad para el consumidor es un atributo indispensable; no es posible pensar en la comercialización exitosa de un alimento, si no es seguro en primer lugar.

Por ello, las empresas que quieran sobrevivir en esta situación de competencia y apertura, necesitan garantizar la seguridad (y mejorar la calidad) de sus productos, con base en estudios científicos. El mole se considera un producto estable por su baja actividad acuosa y por la presencia de algunos inhibidores naturales, como la capsaicina de los chiles, pero el proceso de elaboración puede introducir muchos contaminantes. Es necesario determinar con certeza la presencia de microorganismos indicadores y patógenos, además de conocer los cambios poblacionales que pueden presentar durante la vida de anaquel del producto.

El propósito de este trabajo es investigar la presencia y permanencia de microorganismos indicadores y patógenos para conocer la calidad y sobre todo, la inocuidad) de dos formulaciones de mole. Los resultados del estudio se aplicarán al mejoramiento del producto.



## 2. OBJETIVOS

### Objetivo General:

Evaluar la calidad microbiológica durante la vida de anaquel del mole Tradicional y del Mole Especial, elaborados por El Rancho S.A. de C.V.

### Objetivos Particulares:

- ♦ Determinar en ambos tipos de mole los microorganismos indicadores: mesofílicos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y mohos y levaduras, por medio de placas *Petrifilm* de 3M.
- ♦ Determinar los cambios en los microorganismos indicadores determinados, a lo largo del almacenamiento de las muestras de mole.
- ♦ Establecer si la calidad microbiológica de los moles es aceptable, en base a los niveles máximos establecidos de la NMX-F-422-1982, para su consumo al término de 6 meses de almacenamiento.
- ♦ Contribuir para establecer la garantía de inocuidad y al proceso de mejora continua en Procesadora de Productos El Rancho S.A. de C.V.



---

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 El Mole.

El término mole hace referencia a varios platillos de la cocina mexicana. La palabra mole es de origen náhuatl, viene del término *molli* o *mulli* y en su acepción original se aplica a cualquier salsa, aunque en su significado actual se refiere específicamente a un grupo de platillos que tienen algunos elementos en común, como el hecho de prepararse a base de carnes rojas o aves, así como en salsas espesas que pueden ser relativamente simples, hasta bastante complejas en su elaboración (Chapa, 2005).

El mole tiene origen prehispánico, pero su ámbito actual más importante está en el estado central de Puebla (de allí lo de "mole poblano"), donde se disfrutó en los conventos coloniales antes de salir a conquistar el paladar del resto del país.

Es por eso que el mole poblano es el más conocido en México, aunque está lejos de ser el único, ya que existen otros como:

- Mole especial
- Mole verde
- Mole almendrado
- Mole oaxaqueño
- Pipian verde
- Pipian rojo
- Mole negro
- Mole amarillo
- Mole de piñón
- Mole michoacano
- Mole prieto

Y muchas otras variedades. (Muñoz, 1998)



### 3.1.1 Características del mole

El mole es un producto que se caracteriza por la abundancia de chiles y de especias con las que es preparado. Generalmente se requieren de más de 20 ingredientes, que van desde diversos chiles hasta el chocolate para atemperar el grado de picor, y los turistas foráneos en México suelen considerarlo un gusto adquirido (Gironella, 2006).

### 3.1.2 Componentes

Durante la época de la Colonia, el mole se convirtió en un platillo mestizo al que se le añadieron ingredientes asiáticos y europeos que trajeron los españoles, como clavo, canela, pimienta y almendra.

El lento proceso culinario iniciado desde la época prehispánica y perfeccionado en la Colonia ha permitido el surgimiento de variedades célebres de este platillo.



Fig. 1.1 Wikipedia (2009). Wikipedia.org. Mole recuperada 1 Marzo 2009.



### **3.2 INDUSTRIALIZACIÓN Y MANEJO DE ALIMENTOS.**

Desde los orígenes de la raza humana, los alimentos han sido producidos para satisfacer las necesidades biológicas de la humanidad. El aumento de la población mundial, la concentración urbana y como consecuencia el incremento en la demanda de alimentos hicieron que se aplicaran nuevas tecnologías para lograr una elaboración a gran escala (Cantú, 2001).

En el mundo actual, la cadena de producción y distribución de alimentos es cada vez más larga y en la mayoría de los casos los productos primarios agrícolas, pecuarios y pesqueros llegan hasta el consumidor luego de haber recorrido una larga serie de adiciones y transformaciones (FAO, 2007)

En muchas de las empresas dedicadas a estos procesos de transformación de materias primas en alimentos procesados, los empleados carecen de adiestramiento y de supervisión en prácticas de Higiene, por parte de gerentes capacitados.

Esto y la creciente exigencia de los consumidores, han llevado a una mayor vigilancia por parte de las agencias gubernamentales, lo cual pone bajo la lupa, problemas que siempre han existido y a los cuales no se les había dado la importancia que tienen para la salud pública, entre otros ámbitos.

Actualmente la inocuidad de los alimentos se ha convertido en uno de los temas de mayor preocupación debido a la información que brindan las agencias locales, federales e internacionales y, sobre todo, a los alcances que pueden tener las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) en virtud de la amplísima distribución de alimentos procesados. Dichas agencias regulan la inocuidad en los alimentos y han desarrollado nuevas leyes y reglamentos para eliminar, reducir o controlar las enfermedades ETA's y en general, los riesgos derivados del consumo de los alimentos (Weitzman, 2001).



Existen datos recopilados durante la última década que revelan un aumento en la incidencia de enfermedades causadas por la ingestión de alimentos procesados (Weitzman, 2001).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) consideran que la inocuidad de los alimentos es una responsabilidad que involucra a todos los participantes de la cadena alimentaria, desde los productores primarios (agricultores, ganaderos), procesadores, envasadores, transportistas, almacenistas, operadores de los puntos de venta y por último los consumidores. (OPS/OMS. 2002)

### **3.3 INOCUIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA.**

Un alimento inocuo es aquel que tiene la garantía de que no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado de acuerdo con los requisitos higiénico-sanitarios, e ingerido de acuerdo con el uso a que se destine. Evidentemente la garantía proviene de todos los involucrados en su elaboración. (Codex Alimentarius, 2009).

La garantía de inocuidad en los alimentos implica la adopción de metodologías que permitan identificar y evaluar los potenciales peligros de contaminación de los alimentos y/o de proliferación, así como la implementación de medidas de control para prevenir, eliminar o al menos reducir dichos riesgos hasta niveles aceptables. (Alonso, 2009).

El alimento puede ser considerado seguro si cualquier constituyente o contaminante potencialmente peligroso (físico, químico o biológico incluyendo microbiológico) está en una cantidad tan baja que, con el uso esperado no presentará efectos adversos significativos para la salud, ni a largo ni a corto plazo (USDA, 2003).



### 3.3.1 Amenazas comunes para la inocuidad de alimentos.

Los alimentos pueden presentar tres tipos de peligros:

- Biológicos (los cuales están asociados con las enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos contaminados)
- Químicos (pesticidas, hormonas, antibióticos, aditivos, lubricantes, pinturas, etc.)
- Físicos (metal, vidrio, cabello, insectos, excremento de roedor, tornillos, colillas de cigarro, etc.)

#### TIPOS DE PELIGROS



Fig 3.1 TIPO DE PELIGROS.  
Fuente: Programa Universitario de Alimentos,  
Inducción al Sistema HACCP. (CONACYT-CIATEJ)

El efecto de la globalización ha ocasionado transportar grandes cantidades de mercancías, incluidos alimentos, entre países que antes tenían poca relación, genera exposición de consumidores a serotipos microbianos que no eran frecuentes en sus regiones. Por esto las autoridades sanitarias están tomando medidas cada vez más rigurosas para la importación de alimentos y otros bienes de consumo. Sin embargo, para el presente trabajo se tomarán en cuenta sólo los biológicos.





Cuando los alimentos son contaminados en niveles inadmisibles, aumentan los riesgos para la salud de los consumidores y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones (Keller, 2005).

Los alimentos son una de las principales fuentes de transmisión de agentes patógenos, tanto químicos como biológicos (virus, parásitos y bacterias); este riesgo existe para todos los consumidores, en países en desarrollo al igual que en los desarrollados (USDA, 2003).

### **3.4 VIDA ÚTIL - VIDA DE ANAQUEL.**

La vida útil, llamada también Vida de Anaquel de un alimento indica el tiempo que transcurre desde su elaboración hasta que deja de ser adecuado para el consumo. Se define con más precisión como: el tiempo durante el cual el alimento puede almacenarse en condiciones específicas y permanecer en condiciones óptimas y adecuadas para el consumo (Food processing technology, 2010).

Todas las agresiones que puede sufrir un alimento deben ser controladas mediante técnicas de conservación como refrigeración o congelación, entre otras, para mantenerlo en buen estado durante un período más o menos largo, que cualquiera puede conocer a través de la fecha de caducidad o de consumo preferente del producto (Desrosier, 2004).

Se acostumbra marcar con “**fecha de caducidad**” a los productos más perecederos, es decir, con más riesgos de deterioro, por ejemplo, los cárnicos.

En tanto que la “**fecha de consumo preferente**” se usa para aquellos alimentos cuyo deterioro es más lento y que no implica riesgos para la salud, por ejemplo, los cereales (Man, 2004).



Por ley, existen algunos alimentos exentos de indicar la fecha de caducidad o consumo preferente, como son los vinos o bebidas alcohólicas de más de 10°. Esto no quiere decir que el paso del tiempo no deteriore su composición, aunque ello no ocasiona riesgos para la salud (Man, 2004).

Generalmente se asocia la frescura de un producto con la seguridad del mismo y, desde luego, con la calidad. Actualmente el consumidor valora la frescura de los productos procesados y la toma en cuenta como un factor importante para comprar, considerando el tiempo del que dispone para almacenar el producto en su hogar con la certeza de que cuando lo consuma, estará en óptimas condiciones (Desrosier, 2004).

Paralelamente, a la industria alimentaria también le preocupa el tiempo que puede tener el alimento en anaquel, ya que si no se vende y se consume antes de la fecha indicada, la empresa estará perdiendo, ya sea porque los comerciantes devuelvan el producto o porque el consumidor utilice algo que no está en condiciones adecuadas y por lo tanto, tendrá un impacto negativo en la imagen del producto y de la empresa. La industria tiene la obligación de informar tanto las condiciones para la mejor conservación del producto, como la fecha de caducidad. Como se puede ver, tanto para la industria como para el consumidor es muy importante cuidar la seguridad de los alimentos (Man, 2004).

Según la vida útil del alimento, la fecha de caducidad se introduce de distintas maneras (Ellis, 2000):

- Para los alimentos que no pueden conservarse más de tres meses se debe indicar «consúmase preferentemente antes de» o «fecha de caducidad» seguido del día y el mes.
- Los alimentos que pueden conservarse más de tres meses pero menos de 18, deben indicar «consúmase preferentemente antes de» o «fecha de caducidad» seguido del mes y del año.



- Los alimentos que pueden conservarse más de 18 meses deben indicar «consúmase preferentemente antes del final de» o «fecha de caducidad» seguido del año.

### **3.5 RELACIÓN ENTRE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y VIDA DE ANAQUEL.**

Todos los alimentos expuestos a la venta deben ser seguros, aunque no necesariamente deben ser de la máxima calidad.

La seguridad de los alimentos representa la garantía de que éstos no causarán perjuicios a los consumidores cuando sean preparados y / o ingeridos de acuerdo con su uso previsto (FAO/WHO, 1997). Así, la garantía de la seguridad alimentaria implica la reducción de los riesgos que puedan surgir con los alimentos.

Por otro lado, la calidad de un producto es el conjunto de atributos que le permiten satisfacer necesidades explícitas o implícitas del consumidor. En estas necesidades hay gran diversidad de expectativas por parte de los consumidores, en cambio, todos contamos con que los alimentos que ingerimos sean inocuos, independientemente de sus demás atributos.

En cualquier legislación alimentaria se prohíbe la comercialización de alimentos que:

- Sean peligrosos para la salud
- Sean inadecuados.
- Estén tan contaminados que no sea razonable su consumo.
- No tengan las características o calidad esperadas.
- El etiquetado induzca a error o sea falso.

Podemos darnos cuenta que la vida de anaquel no tiene sentido en un alimento cuya seguridad haya sido puesta en duda. Por tanto la vida de anaquel y la seguridad alimentaria están íntimamente unidas (Man, 2004).



Además, muchos de los factores que controlan la seguridad de los alimentos, sobre todo los relacionados con el crecimiento microbiano, son a menudo idénticos a los que permiten evitar el deterioro (Man, 2004).

Hoy en día, la manera más eficaz de garantizar la seguridad de un alimento es, por supuesto, mediante un enfoque preventivo que incluya el control de la planificación, la formulación del producto, aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM's) en todas las etapas, hasta la distribución, el almacenamiento, la venta, la preparación y el consumo.

Entre estos sistemas, el más reconocido internacionalmente es el Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (APPCC ó HACCP por sus siglas en inglés) (OMS/FAO, 2009).

Sin embargo no existe una respuesta de cual será la vida de anaquel de un producto, ya que son muchos los factores que pueden afectar la caducidad de los alimentos, independientes de las BPM y de la aplicación del Sistema HACCP.

Queda claro que los proveedores de materias primas e ingredientes y los productores de alimentos, pueden superar los problemas potenciales relacionados con la vida de anaquel, si se tiene una colaboración estrecha desde el primer momento.

No obstante, en el otro extremo de la cadena: los consumidores, tienen un importante papel, ya que ellos garantizan que la vida de anaquel esperada de los alimentos que compran, no se vea reducida por prácticas inconvenientes en sus hogares o empresas.

### **3.5.1 Factores que afectan la Vida de anaquel de un alimento.**

Todos los alimentos se estropean y lo hacen de modo distinto y con diferente ritmo, aunque existen casos excepcionales como el vino o algunas variedades de quesos.



El modo en que los alimentos se deterioran y la duración de su vida útil depende de varios factores, como las características del producto final y las circunstancias del ambiente en el que se elaboró, almacenó, distribuyó y utilizó. (OMS/FAO, 2009).

Estos factores se pueden dividir en varios grupos:

1. Factores intrínsecos

- Materias primas
- Composición y formulación del producto
- Estructura del producto
- Presentación del producto
- Actividad de agua ( $a_w$ )
- Valores del pH y acidez total
- Disponibilidad de oxígeno y potencial redox

2. Factores extrínsecos

- Elaboración
- Higiene
- Sistema y materiales de envasado
- Almacenamiento, distribución y exposición en punto de venta, en particular: exposición a la luz, nivel y variaciones de temperatura y humedad.

3. Otros factores

- Manipulación y utilización por el consumidor
- Consideraciones comerciales.



Además de estos factores, para determinar la vida de anaquel de un producto deben conocerse los mecanismos por los cuales pueden deteriorarse y por supuesto, se deben utilizar las siguientes fuentes (AGNS Publications, 2010):

1. Legislación alimentaria
2. Servicio de Laboratorios de Salud Pública (Guías para la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para comer)
3. Criterios microbiológicos para los alimentos.
4. Literatura científica relacionada publicada

“Procesadora de Productos El Ranchero S.A. de C.V” se dio a la tarea de confirmar la Vida de anaquel de dos de sus productos con mayor demanda, del modo más preciso posible, definiendo las condiciones de almacenamiento, para estar en capacidad de asegurar el tiempo durante el cual el producto será seguro y aceptable para los consumidores.

### **3.6 VIDA DE ANAQUEL Y CALIDAD MICROBIOLÓGICA.**

Calidad es el conjunto de atributos o el grado de excelencia que posee un producto, y el grado en que cumple su finalidad. Un producto será de buena calidad cuando:

- Cubra los requisitos establecidos por el cliente
- Reúna las características esperadas por los consumidores,
- Se apegue a la Legislación vigente e incorpore a lo largo del tiempo todas las nuevas y cambiantes exigencias

La calidad puede medirse desde distintos puntos de vista:

- En términos sensoriales u organolépticos
- En términos de su composición química
- En términos físicos
- En términos de su microbiota, sea cuantitativa o cualitativamente.



Para fines de este trabajo, se ha destacado lo relacionado con la calidad microbiológica, por varias razones. Una de ellas es que la calidad microbiológica es una de las principales dificultades para la aceptación de producto en algunos mercados, incluyendo los de exportación.

Cuando los alimentos son contaminados en niveles inadmisibles por agentes patógenos, contaminantes químicos u otros, aumentan los riesgos para la salud de los consumidores y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones (Stephen 2003).

Otra razón es la relación directa entre calidad microbiológica y la garantía de inocuidad de los productos. Cabe destacar que una de los principales consecuencias químicas del deterioro de un producto como en el caso del mole es la rancidez de las grasas, pero ésta genera inmediatamente el rechazo del producto por el consumidor, que ya no lo consume y no arriesga su salud; en cambio, muchas de las variaciones en la calidad microbiológica no son detectables y pueden tener grandes implicaciones para la seguridad del consumidor, por ejemplo, presencia de bacterias patógenas como *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* considerados los agentes causantes más importantes de enfermedades transmitidas por alimentos. (Jay, 2009)

Finalmente, la microbiota presente es muy importante en el deterioro de los productos pues aún si su actividad metabólica es muy lenta por las características del producto, llegará el momento en que cause alteración.

Y también hay que considerar que las condiciones que mantienen inhibida a la microbiota en un producto como el mole, cambian drásticamente cuando éste se usa para preparar un platillo, por ejemplo: si aumenta la  $a_w$  ó cambia el pH o hay mayor disponibilidad de nutrientes, que favorecen el desarrollo de los microorganismos que antes estaban inhibidos (Walker, 2004).



La manipulación excesiva en la elaboración de un producto puede representar un peligro a la salud y aumentar los riesgos que se desarrolle una mayor contaminación microbiana, ya que no solo se trata de la densidad microbiana sino de la cantidad de microorganismos que se incorporan a través de las etapas del procesamiento (ICMSF, 2004).

### **3.6.1 Control Microbiológico**

Los microorganismos, en particular las bacterias, tienen una extraordinaria ubicuidad por la facilidad con que se diseminan, por la variedad de tipos fisiológicos y metabólicos y por su adaptabilidad a diferentes ambientes; por ello, su presencia en las materias primas y alimentos es constante e inevitable.

Sin embargo debemos mantener dicha microbiota dentro de límites cualitativos y cuantitativos de tal manera que no llegue a causar deterioro de los alimentos durante su vida útil y, sobre todo, de manera que no represente un riesgo para la salud de los consumidores.

Para obtener productos con buena calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de la cadena de producción. A lo largo de esta cadena pueden sumarse fallos que llevan a obtener un producto con características distintas a las deseadas por el consumidor y por la empresa.

Por esta razón, la garantía de esta calidad se basa en el control de la presencia y multiplicación de los microorganismos en el nicho ecológico peculiar constituido por el sustrato que proporciona el producto y por el tipo de ambiente en que se conserva o mantiene.

Para Procesadora de Productos “El Ranchero”, la garantía de la calidad microbiológica de los productos es fundamental por lo que se ha comprometido a un proceso de mejora continua en el Control Microbiológico de Calidad, cuyos objetivos son:





- Inocuidad, garantía de que los productos no contienen algún tipo de peligro (físico, químico y/o biológico) que pueda causar daños al consumidor.
- Aceptabilidad / vida comercial, certeza de que los productos no contienen niveles de microorganismos suficientes para causar alteración sensorialmente perceptible, durante la vida de anaquel.
- Estabilidad, debe tener una calidad constante cada vez que se produce.

Los problemas microbiológicos o defectos en la calidad microbiológica suelen presentarse cuando no se alcanza el efecto deseado por el proceso o por los sistemas de conservación y esto generalmente es consecuencia de errores en la manipulación o en las BPM (OMS/FAO, Codex, 2009).

Para Procesadora de Productos “El Ranchero”, la garantía de la calidad microbiológica de los productos es fundamental por lo que se ha comprometido a la detección de dichos errores, su rápida corrección y, sobre todo, la prevención en el futuro; propósitos que coinciden con los objetivos de cualquier sistema de control microbiológico (González, 2009).

Si bien el control de calidad microbiológica requiere de una serie de medidas y controles importantes, algunos de los que más influyen son:

- Calidad microbiológica de las materias primas y especificaciones del producto final.
- Disposición de la línea de proceso y diseño del equipo
- Características del establecimiento
- Controles de procesos, en especial los que tienen fines de reducción o eliminación de microorganismos, así como los procesos posteriores como: envasado, almacenamiento y distribución (ICMSF, 2004)



En términos microbiológicos, para asegurar la calidad, debe monitorearse el desarrollo microbiano en las materias primas, en el proceso, en los puntos críticos de la cadena de producción y en el producto final. Se ha considerado, como punto central de este trabajo, que la calidad microbiológica no puede descuidarse a lo largo de la vida de anaquel del producto, especialmente tratándose de alimentos poco perecederos, que tienen una larga vida útil.

### 3.6.2 Criterios Microbiológicos

Para distinguir un producto de calidad microbiológica admisible, de uno de calidad inadmisibile, es necesaria la aplicación de los criterios microbiológicos.

Se puede emplear el número o tipo de microorganismos en el producto, para evaluar su calidad y su seguridad microbiológica ó puede evaluarse la presencia de metabolitos como toxinas, entre otros.

¿Cómo decidir? Sin duda la herramienta de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (APPCC ó HACCP por sus siglas en inglés) nos permite tomar las decisiones fundamentadas y preventivas para llevar a cabo el control microbiológico a lo largo de la cadena de producción y de la vida útil del producto (Stevenson, 1999).

En materia de peligros biológicos, HACCP considera:

- Contaminantes que impliquen peligros para la salud del consumidor, ya sean los microorganismos patógenos o sus toxinas.
- Los límites microbiológicos apropiados, para ese producto. Puesto que la eliminación total de microorganismos es muy difícil, ¿qué valor de recuento de microorganismos es aceptable para considerar el alimento seguro y estable?



Por otro lado, un criterio microbiológico debe incluir los elementos necesarios para asegurar que hay control de la presencia microbiana:

- Métodos analíticos para la detección o enumeración del microorganismo o de sus toxinas.
- Planes de muestreo

Evidentemente, los criterios microbiológicos así desarrollados, son específicos para cada producto a analizar.

#### Tipos de criterios Microbiológicos (ICMSF, 2009)

- Preceptivo u obligatorio, aquel que no debe excederse nunca. Si el producto no cumple los límites establecidos, es obligatorio aplicar una medida correctiva, incluyendo su rechazo, destrucción, reprocesado o desviación a otros productos. Esto generalmente aplica para las especificaciones relativas a microorganismos considerados patógenos para la salud pública.
- Consultivo, cuando no es de cumplimiento obligatorio y permite establecer juicios de aceptabilidad; estos criterios deben servir para alertar de deficiencias en el proceso, almacenamiento o distribución y, por supuesto, corregir la fuente de las deficiencias en la planta o en el proceso. Puede no ser necesario destruir o reprocesar el lote en cuestión.

#### Importancia de los Criterios Microbiológicos

Aplicados correctamente, los criterios microbiológicos son una útil herramienta para garantizar la seguridad y calidad de los productos, que a su vez aumentan la confianza del consumidor. Ofrecen a la Industria y organismos reguladores unas directrices para controlar los sistemas de proceso y, cuando son aceptados internacionalmente, pueden favorecer el comercio, mediante el establecimiento de normas para los requerimientos en calidad y seguridad.



Pueden usarse para formular requisitos de diseño de equipos de fábricas y para indicar el estado de las materias primas y los productos terminados en cualquier fase de la cadena de producción. Los criterios microbiológicos adecuadamente aplicados, permiten garantizar: la seguridad higiénica del producto, la observancia de BPM, la calidad comercial de los productos y la utilidad de éstos para propósitos determinados (Forsythe, 2003).

#### Selección de los criterios microbiológicos

Debe establecerse un criterio microbiológico sólo cuando sea necesario y demuestre ser tanto necesario como práctico. Los factores que se toman en cuenta para establecer un criterio microbiológico son los siguientes (Codex Alimentarius, 2009; Man, 2004):

- Evidencia de riesgos para la salud, basados en datos epidemiológicos
- La microbiota de la materia prima.
- El efecto del tratamiento en la microbiota.
- La presencia y consecuencias de la contaminación microbiana y/o el crecimiento de microorganismos durante las posteriores manipulaciones, almacenamiento y distribución.
- El tipo de consumidor: si el producto está destinado a una población de riesgo (ancianos, bebés, embarazadas, etc.).
- El estado en el que el producto es distribuido
- Posibilidades de un uso deficiente por parte del consumidor
- Posibilidades de alteración
- El modo de preparación por el consumidor
- Fiabilidad de los métodos de cuantificación y detección de microorganismos y toxinas de interés.
- La relación coste / beneficio asociada a la aplicación del criterio



### 3.7 MUESTREO DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En el análisis microbiológico de los alimentos, son de primordial importancia la adecuada selección de la muestra, la toma correcta de ésta y los medios de conservación y su transporte al laboratorio, para obtener resultados fiables sobre su estado higiénico - sanitario o sobre los niveles de alterantes (Palao, 2006).

También es fundamental, para un muestreo adecuado, precisar el objetivo de estudio, esto es:

- Conocer la naturaleza de las muestras
- La cantidad
- El tamaño o volumen del lote o partida
- La información que se busca.

El muestreo debe diseñarse de tal forma que permita tomar una muestra representativa del alimento por analizar, así como la recolección de cualquier dato útil (Jay, 2009).

Cualquier información relevante, debe acompañar a la muestra del alimento, para asegurar que estará sujeta al análisis más adecuado y para permitir que el analista evalúe adecuadamente los resultados por lo que es indispensable identificar el recipiente claramente, inmediatamente antes o después de colocar la muestras, mediante un rótulo o etiqueta indeleble (NOM-109-SSA1-1994).

El manejo y transporte de las muestras deberá efectuarse de tal manera que se impida su ruptura, alteración o contaminación, evitando su exposición a la luz solar directa. Las muestras deben entregarse al laboratorio lo más rápidamente posible (ICMSF, 2009)



Los productos con presentación comercial deben ser transportados en sus envases originales; se transportan a temperatura ambiente, siempre y cuando ésta no exceda de 45°C cuando son productos que se manejan sin refrigeración y se transportan en cajas aislantes con bolsas de mezcla criogénica previamente congelada, para alimentos que requieren refrigeración. No debe usarse hielo a granel. Para la conservación, durante el transporte de las muestras no está permitido el empleo de sustancias químicas (NOM-109-SSA1-1994).

### **3.8 PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.**

Los microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, por lo que siempre se encuentran presentes en diversos productos, especialmente en aquellos que favorecen de algún modo su sobrevivencia o desarrollo.

Dado el tamaño de las poblaciones microbianas que pueden estar presentes en un alimento, que van desde algunos miles hasta varios millones de células por gramo, su determinación cuantitativa requiere de la preparación de diluciones conocidas de la muestra, y es costumbre utilizar cifras decimales para facilitar los cálculos (NOM-110-SSA1-1994).

Lo más adecuado es preparar una dilución primaria y, a partir de ella, todas las necesarias para poder contar los microorganismos presentes; pueden ser dos diluciones decimales consecutivas, es decir, 1:10 y 1:100 o más, según la carga microbiana esperada.

#### **3.8.1 Procedimiento para la preparación y dilución de muestras a analizar.**

En las muestras de alimentos puede presentarse una distribución no homogénea de los microorganismos, por lo que es recomendable realizar en orden los siguientes pasos para asegurar una distribución más uniforme (Forsythe, 2003):



1. Homogenizar circularmente las muestras unitarias líquidas y las muestras secas con una cuchara estéril u otro utensilio antes de tomar la muestra analítica para la determinación de microorganismos.
2. Antes de pesar, tarar la bolsa de stomacher, y luego pesar asépticamente dentro ésta, el tamaño de muestra analítica recomendado.
3. Adicionar la cantidad de diluyente necesario para tener la primera dilución decimal ( $10^{-1}$ ).
4. Homogenizar la muestra mediante el "stomacher" para liberar a las bacterias de las partículas del alimento. No se necesita una disolución completa de la muestra.
5. Realizar las diluciones a partir del homogenizado original, usando pipetas que descarguen el volumen requerido con precisión.

### 3.9 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS.

Existe una serie de razones que justifican la necesidad de analizar los productos comerciales, con el fin de determinar tanto cuantitativa como cualitativamente la presencia de microorganismos (OMS/FAO, 2009). Estas razones son:

- Asegurar que ese producto cumpla con las normas microbiológicas
- Que las materias primas que llegan a la fábrica cumplan con las especificaciones microbiológicas exigidas o pactadas con el proveedor.
- Que se mantenga el control del proceso y la higiene en la fabricación.

En función de estas razones, de los microorganismos que se buscan y de las características del alimento, los métodos del examen microbiológico pueden ser muy variados. Los principales tipos de métodos son:

- La estimación del número total de microorganismos
- La estimación del número de microorganismos indicadores
- La estimación del número de microorganismos alterantes



- La estimación del número de patógenos específicos
- La determinación de la presencia o ausencia de patógenos específicos
- Análisis de los productos metabólicos de los microorganismos, por ejemplo sus toxinas.

En algunos casos se utilizan varios de estos tipos de análisis (ICMSF, 2009).

### **3.9.1 Métodos tradicionales del análisis microbiológico**

Cuando se requiere estimar el número de microorganismos viables en un alimento, la técnica comúnmente utilizada es la cuenta en placa. Esta técnica no pretende detectar a todos los microorganismos presentes, pero el medio de cultivo, las condiciones de temperatura y la composición de la atmósfera de incubación, permiten seleccionar grupos de bacterias cuya presencia es importante en diferentes alimentos. La técnica se basa en contar las “unidades formadoras de colonias” o UFC presentes en un gramo o mililitro de muestra (OMS/FAO, 2009).

### **3.9.2 Métodos rápidos para la detección, enumeración e identificación de microorganismos.**

Realizar un análisis microbiológico es una labor que consume gran cantidad de tiempo y trabajo; el tiempo que requieren muchas de estas pruebas, 48 a 96 horas, puede ser demasiado largo para tomar una decisión sobre un lote de productos perecederos.

De ahí la necesidad de desarrollar métodos rápidos y fáciles para análisis microbiológicos, especialmente útiles en el campo de los alimentos. Los métodos rápidos simplifican el proceso, requieren menos personal y equipo y generan ahorro de tiempo y trabajo pero, sobre todo, permiten tomar decisiones en tiempos mucho más cortos (3M, 2007).





### 3.9.3 Placas *Petrifilm*.

Las placas *Petrifilm* son una gama de medios de cultivo para diferentes grupos microbianos; vienen ya preparadas, se hidratan con el agua de las diluciones de la muestra y no requieren esterilizar ni fundir medios; están listos para usar y diseñadas para ahorrar tiempo, incrementar la productividad y, con ello, incrementar la eficiencia general, proporcionando confianza al usuario (3M, 2007).

#### 3.9.3.1 Ventajas de Placas *Petrifilm*

Todas las placas *Petrifilm* se fabrican en una planta con certificación ISO 9001 en las que los estrictos procedimientos de control de calidad reducen la variabilidad de los medios. Las placas *Petrifilm* están respaldadas por el compromiso de 3M con los productos de calidad, el servicio al consumidor y la asistencia técnica (3M, 2007).

Entre las principales ventajas de las placas *Petrifilm* están:

- Vienen en un sobre de aluminio descontaminado y listas para usarse
- No es necesario preparar el medio, está listo para inocular la muestra
- Reducen tiempo en preparación de medios
- Reducen uso de autoclaves
- Su manejo y aplicación no requiere de instalaciones especiales o equipo adicional
- Reducen la variación de resultados
- La interpretación es fácil gracias al uso de indicadores que permiten diferenciar muy bien las colonias de interés de otras y de partículas de alimento.
- Son fáciles de desechar



Las placas Petrifilm están disponibles para muchas de las necesidades de pruebas microbiológicas, incluyendo (3M, 2007).

- Recuento de Aerobios
- Recuento de Coliformes
- Recuento de *E. coli* / Coliformes
- Recuento de Enterobacterias
- Recuento de Alta Sensibilidad de Coliformes
- Recuento Rápido de Coliformes
- Recuento Express de *S. aureus*
- Recuento de Mohos y Levaduras
- *Listeria* en Ambientes

### **3.10 MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS INDICADORES DE CALIDAD EN ALIMENTOS.**

A menudo, la vida útil de un producto comercial, viene determinada por el número de microorganismos presentes; como regla general, un producto con una alta población de microorganismos alterantes tendrá una vida más corta que el mismo producto si contiene sólo unos pocos microorganismos.

Algunos microorganismos tienen un mayor impacto que otros sobre las características organolépticas de los alimentos, debido a la presencia de determinadas enzimas o rutas metabólicas, por ejemplo, si en la carne hay microorganismos proteolíticos, aunque sean pocos aparecerán malos olores en corto tiempo, por la degradación de proteínas (Keller, 2005).

#### **3.10.1 Microorganismos indicadores**

Los microorganismos indicadores manifiestan la calidad microbiológica de los alimentos con respecto a su inocuidad.



Estos generalmente son usados con mayor frecuencia para determinar la higiene de los alimentos, cuya presencia en alimentos específicos y en cantidades determinadas se usa para evaluar la calidad higiénica existente (OMS, 2007)

Los indicadores de inocuidad fueron usados en tiempos pasados para detectar contaminación fecal de las aguas y con ello la posible presencia de patógenos intestinales. El primer indicador de contaminación fecal fue Escherichia coli. Más adelante, otros microorganismos se utilizaron con la misma finalidad y se aplicaron en los alimentos.

Por ejemplo el recuento total aerobio, se usa para determinar la vida útil de los alimentos y el recuento de coliformes totales se usa como indicador para prevenir contaminación fecal o de E.coli antes de que aparezca.

Se usa también el recuento de Staphylococcus aureus como indicador de manipulación por los operarios que trabajan con los alimentos, entre otros (Forsythe, 2003)

En el campo de los alimentos industrializados se utilizan dos tipos principales (OMS, 2007):

- Los indicadores de calidad microbiológica (de vida comercial)
- Los indicadores de inocuidad

### **3.10.2 Indicadores de calidad microbiológica**

En los criterios microbiológicos suelen usarse este tipo de microorganismos, ya que permiten evaluar la calidad de un producto o predecir su vida de anaquel.

Un microorganismo indicador de calidad ideal debe cumplir los siguientes requisitos (ICMSF, 2004):



- Estar presente y ser detectable en todos los productos cuya calidad quiera evaluarse
- Su crecimiento y recuento deben mostrar una correlación alta y negativa con la calidad del producto, es decir, cuanto mayor sea la concentración del microorganismo indicador, peor será la calidad.
- Deben ser fáciles de detectar y cuantificar y ser claramente distinguibles de otros microorganismos.
- Deben poder cuantificarse rápidamente.

En general, los indicadores más fiables de la calidad tienden a ser específicos para cada alimento, con lo cual podemos hacer el recuento específico de ese microorganismo, para relacionarlo con la calidad comercial.

Estos microorganismos son a su vez, los principales alterantes de los productos; por ello, además de utilizar a los microorganismos como indicadores de calidad, también sus productos metabólicos pueden ser usados para evaluar y predecir la calidad microbiológica de algunos alimentos (OMS, 2007)

Los indicadores de calidad más frecuentes son:

- Mesófilos aerobios (o cuenta total)
- Cuenta de hongos y levaduras
- Cuenta de coliformes totales
- Coliformes fecales,
- *E. coli*
- Enterococos.
- *Cl. perfringens*

### 3.10.3 Indicadores de inocuidad (patógenos y toxinas)

Los criterios microbiológicos para evaluar la seguridad de los productos, utilizan también ensayos de microorganismos indicadores que sugieren la posibilidad de un riesgo microbiológico (Jay, 2009)



El ensayo directo, en busca de los patógenos o de sus toxinas es poco práctico y, en algunos casos, poco confiable. Por ello, como medida preventiva y en ocasiones, en su lugar, se lleva a cabo el análisis de los microorganismos indicadores.

El principal objetivo en la utilización de microorganismos como indicadores en prácticas no sanitarias, es revelar efectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial, peligro que no tiene que estar necesariamente presente en la muestra particular analizada (ICMSF, 2009).

Por esta razón, la detección de indicadores de malas prácticas higiénicas se considera una forma más segura aún de prevenir la presencia de patógenos.

Al igual que los microorganismos indicadores de calidad comercial, los indicadores de patógenos deben cumplir también unos requisitos (Pierson, 2001):

- Ser fáciles de detectar de forma rápida
- Ser fácilmente distinguibles del resto de la microbiota del producto
- Su presencia debe estar siempre asociada a la presencia del patógeno/s que se quiera indicar
- Presentar correlación entre su número y el posible riesgo de patógeno
- Poseer requerimientos metabólicos y tasas de crecimiento similares a los del patógeno de interés
- Tener una tasa de muerte al menos paralela la del patógeno de interés y que persista durante algún tiempo más que el patógeno
- Estar ausente en los productos en los que no se presente el patógeno de interés

En las últimas décadas, nos hemos dado cuenta de que la incidencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos ha aumentado en muchas partes del mundo.



Procesadora de Productos "El Ranchero", se percata, de que las amenazas transmitidas por los alimentos se presentan por varias razones, éstas incluyen la adaptación microbiana, los cambios en los sistemas de producción de alimentos y las nuevas tecnologías como fueron elaborados esos alimentos, así como aumentos en el comercio internacional, cambios en el estilo de vida y sobre todo las demandas del consumidor, los cambios en la demografía y el comportamiento humano.

Por todo esto, esta Procesadora, está conciente de que la globalización de los mercados de los alimentos ha aumentado el reto de la gestión de estos riesgos. Por lo que la inocuidad de los alimentos ha sido tradicionalmente y continuará siendo, responsabilidad de esta empresa y de todas y cada una de las empresas que elabora alimentos.

Así mismo, luchando por sobrevivir y trascender en misión y visión, nos vemos en la necesidad de adecuarnos a las exigencias y cambios del mercado actual, garantizando así un alimento seguro y de calidad.

Partiendo del conocimiento de que el mole es un producto complejo, debido a la mezcla de ingredientes, en diferentes cantidades o proporciones, como lo son diferentes tipos de chiles, (guajillo, pasilla), chocolate, maíz, algunas especias, etc. Nos percatamos que es un producto con altas probabilidades de presentar contaminación microbiológica. Debido a esto, esta empresa consideró la implementación de las medidas adecuadas para la producción industrial del producto.

Por ello la importancia de realizar estudios microbiológicos durante la vida de anaquel establecida para estos productos, buscando siempre un alimento característico del país, elaborado cumpliendo con las exigencias legales, sanitarias y sobretodo proporcionando al cliente un producto con la calidad que merece.



#### 4. HIPÓTESIS

- Las dos variedades de mole en estudio cumplen con las especificaciones microbiológicas del Pliego de Condiciones Para el Uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema en Mole (PC-019-2004), basado en la NMX-F-422-1982, por lo que pueden considerarse alimentos seguros en cuanto a su calidad microbiológica.
- La calidad microbiológica no decrece durante la vida de anaquel del producto.
- La calidad de las dos variedades de mole es aceptable en los límites microbiológicos, antes de 6 meses.



## 5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Partiendo de muestras representativas de Mole Tradicional y Mole Especial, ambos elaborados en Procesadora de Productos El Ranchero S.A. de C.V., se realizaron los siguientes análisis microbiológicos:

### Indicadores:

- Mesófilos aerobios
- Coliformes Totales e identificación de *Escherichia coli*
- Hongos y Levaduras
- Esporulados Totales y Termorresistentes aerobios
- Esporulados Totales y Termorresistentes anaerobios

### Patógenos Potenciales

- *Salmonella spp.*
- *Staphylococcus aureus*





### 5.1 Esquemas

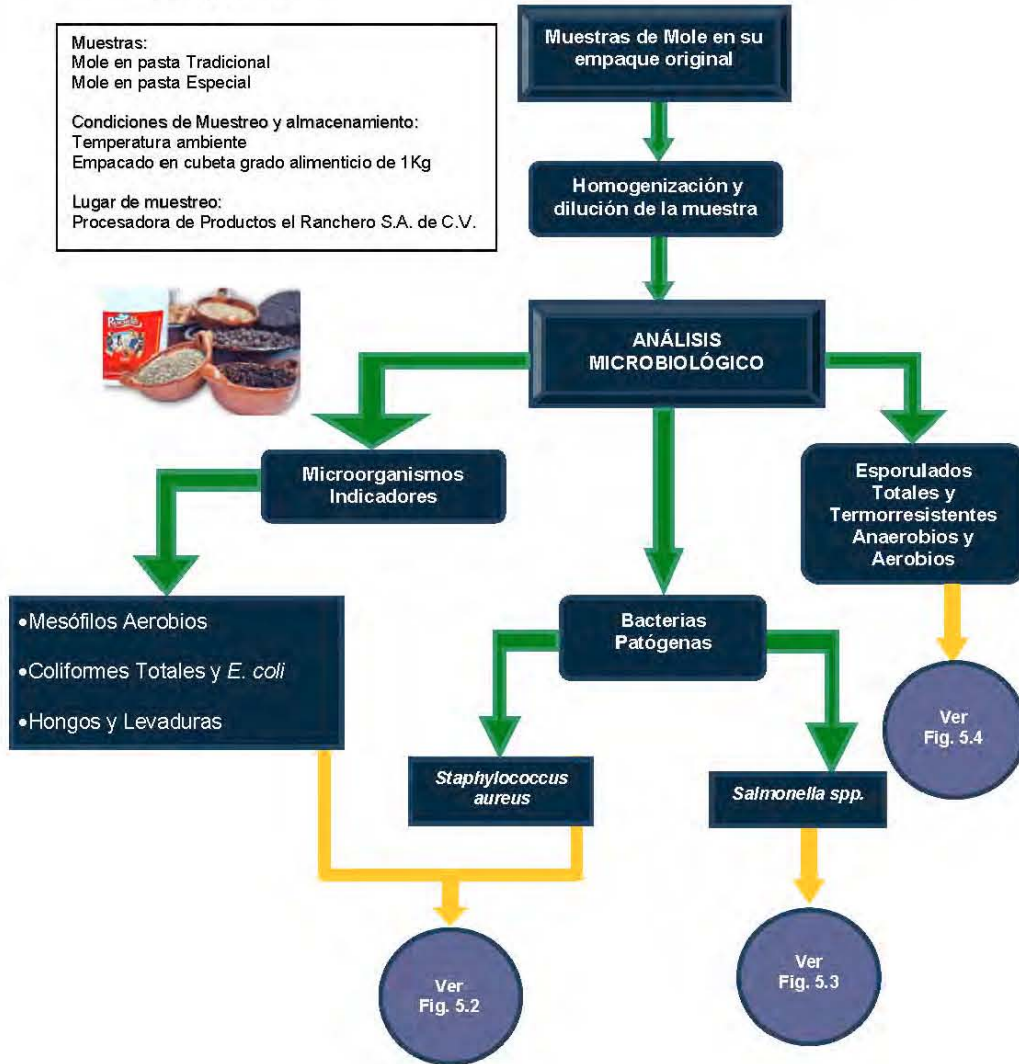


Figura 5.1 Diagrama General de la Metodología.

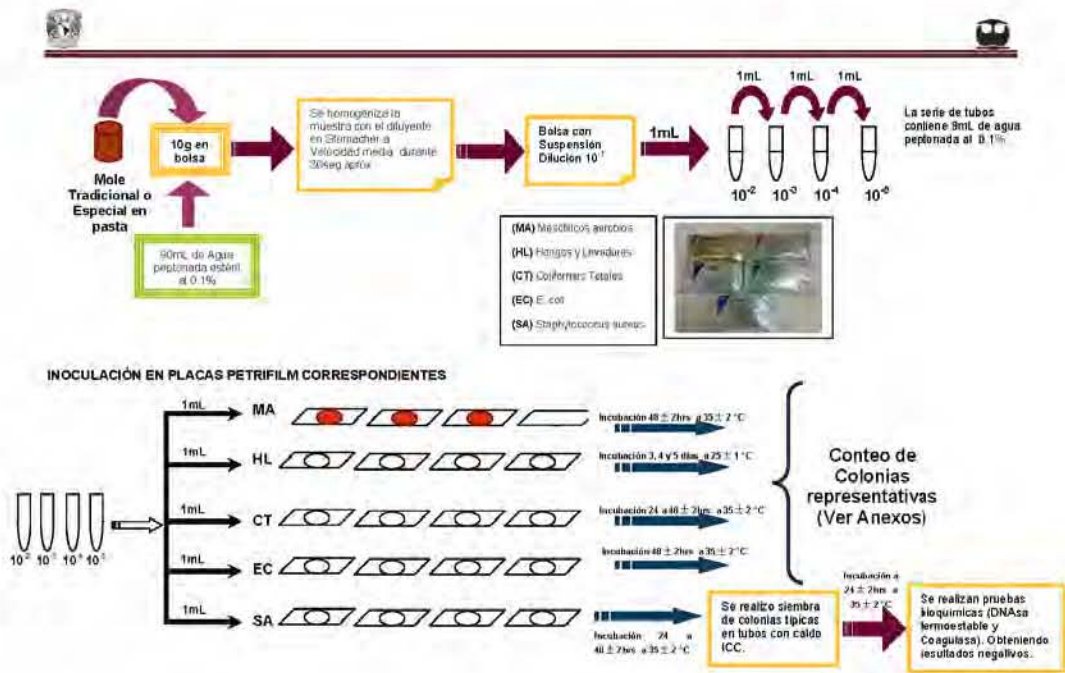


Fig. 5.2 Diagrama para el Análisis Microbiológico de Microorganismos Indicadores y Bacterias Patógenas mediante Placas Petrifilm (para cada una de las muestras)

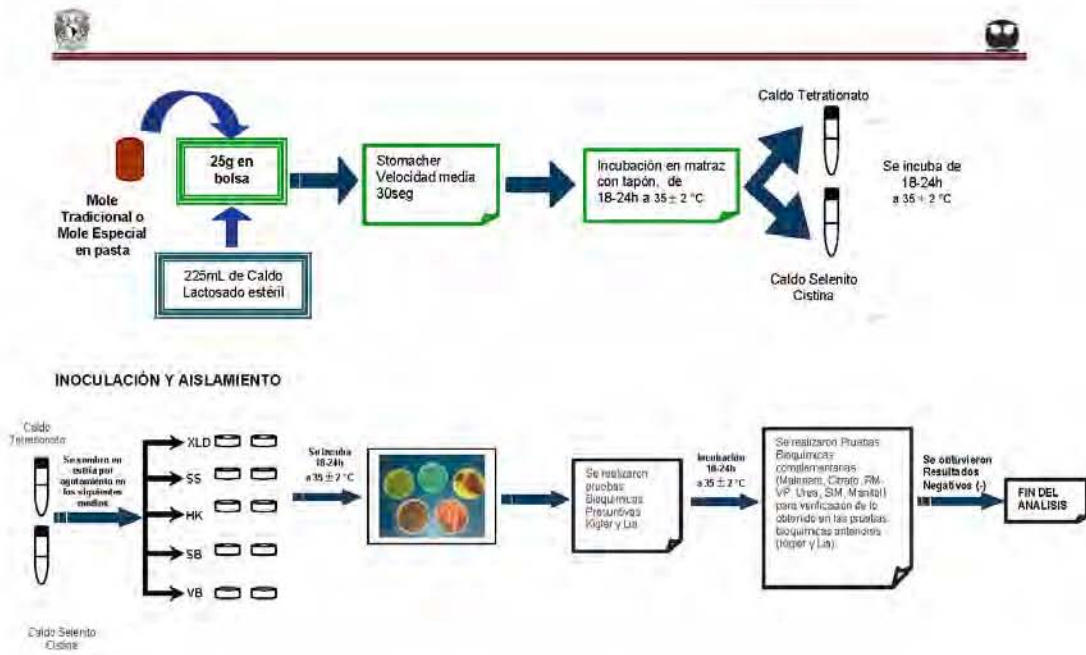


Fig. 5.3 Diagrama para el Análisis Microbiológico de *Salmonella spp* (para cada una de las muestras)

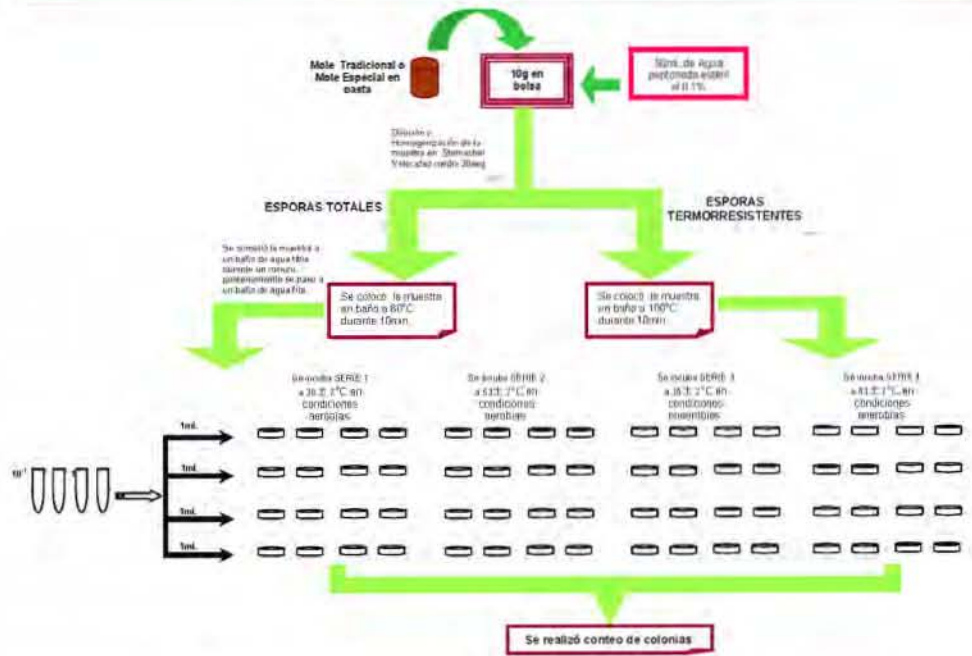


Fig. 5.4 Diagrama para la determinación de Esporúlados Totales y Termorresistentes aerobios y anaerobios (para cada una de las muestras)



## **5.2 Origen de las muestras**

Las muestras se tomaron dentro de la planta a temperatura ambiente, al azar durante el transcurso de la producción de un lote hasta reunir 1Kg (muestreo cada hora durante 8 horas) por cada muestra (mole tradicional y mole especial). Las muestras se almacenaron en cubetas grado alimenticio de 1Kg, las cuales se mantuvieron con las condiciones de almacenamiento de Procesadora de Productos El Ranchero durante los meses de análisis.

## **5.3 Preparación de las muestras para su análisis microbiológico.**

En la campana de flujo laminar y mediante una cuchara estéril se tomó muestra de mole Tradicional o Especial y se colocó en bolsas de plástico con sello marca "Ziploc" etiquetadas previamente con los datos de cada muestra. Posteriormente se mezcló y homogeneizó cada una de las muestras.

Durante el análisis las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (18-21°C).

## **5.4 Análisis Microbiológico**

Se prepararon los medios necesarios para la cuantificación de los microorganismos indicadores, para la identificación de *Salmonella* spp, esporulados totales y termorresistentes aerobios y anaerobios e identificación de microorganismos patógenos.

Todo el material utilizado para el análisis microbiológico fue previamente esterilizado en autoclave a 121°C durante 15min, tanto puntas como material de vidrio, se usó agua destilada para la disolución de los medios y cajas petri de plástico estériles. La manipulación del trabajo microbiológico fue llevada a cabo en campana de flujo laminar previamente limpiada y desinfectada.



Se utilizó agua peptonada al 0.1% como diluyente en las muestras

Para preparar 100mL de agua peptonada se disolvieron 0.1g de peptona en 100mL de agua destilada. Así mismo se preparó agua peptonada para distribuirse en tubos de ensaye con 9mL cada uno con tapones y se esterizaron.

Se utilizó Caldo Lactosado como diluyente para el pre-enriquecimiento durante la determinación de *Salmonella spp.*

Para preparar 225mL de Caldo lactosado, se disolvieron 3g de Extracto de carne, 5g de peptona y 5g de lactosa en 1L de agua destilada, la cual se distribuyó en porciones de 225mL en frascos de 500mL de capacidad. Posteriormente se esterilizó.

**NOTA.-** Los medios utilizados en la determinación de *Salmonella spp.*, para el enriquecimiento selectivo (caldo tetrionato, y caldo selenito) así como los medios de que se utilizaron para el aislamiento selectivo y diferencial (XLD, SS Hecktoen, VB, Sulfito bismuto) fueron solicitados al área de preparación de medios del Laboratorio 1-A, debido a las mínimas cantidades que se utilizan para su preparación. Igualmente se solicitaron los medios para la determinación e identificación de Esporulados aerobios / anaerobios totales y termorresistentes.

#### **5.5 Métodos empleados.**

Para el muestreo y transporte de la muestra se aplicó la metodología descrita en la NOM-109-SSA1-1994 "Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico".

Para hacer las diluciones decimales se aplicó la metodología descrita en la NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.



---

Para las determinaciones de mesofílicos aerobios, coliformes totales, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras se utilizaron las técnicas descritas en (Microbiology 3M, 2007).

Para la determinación de la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* se utilizó la metodología descrita en la NOM-114-SSA1-1994 Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.

Para la determinación de esporas totales y termorresistentes (80 °C y 100 °C), se utilizó la metodología descrita en (Association of Official Analytical Chemist, 1995; Vanderzant, C. 1992).

**NOTA.-**

- Los análisis de microorganismos indicadores (mesofílicos aerobios, coliformes totales y mohos y levaduras) se realizaron quincenalmente durante los 6 meses.
- Las determinaciones de bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *E. coli* y Esporulados) se realizó al inicio de los 6 meses y al término de estos.

6. RESULTADOS.

CRITERIO	CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE MOLE ESPECIAL (almacenado a temperatura ambiente en cubeta grado alimenticio)											
	Octubre		Noviembre		Diciembre		Enero		Febrero		Marzo	
	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>o</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena
	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g
Mesófilos aerobios	3,300	3,500	3,500	3,900	3,900	3,900	4,300	4,800	5,100	4,500	3,600	3,100
Coliformes totales	180	180	190	210	210	210	250	275	275	220	210	150
Hongos	200	200	200	200	200	200	300	300	300	270	200	100
Levaduras	<10 v.e.	<10 v.e.	20	20	20	20	20	20	20	<10 v.e.	<10 v.e.	<10 v.e.

\*UFC/g corresponde a las Unidades formadoras de Colonias por gramo de alimento.

**TABLA 6.1** Crecimiento de microorganismos indicadores en mole Especial

CRITERIO	CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN MOLE ESPECIAL (almacenado a temperatura ambiente en cubeta grado alimenticio)	
	Inicio de Vida de Anaqueil	Término de almacenamiento (días)
<i>Salmonella spp</i>	Negativo en 25 g	Negativo en 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 UFC / g v.e.	< 100 UFC / g v.e.
<i>Escherichia coli</i>	≤ 15 UFC / g v.e.	< 15 UFC / g v.e.
Esporulados Totales y Termorresistentes aerobios	< 30 v.e.	< 30 v.e.
Esporulados Totales y Termorresistentes anaerobios	< 30 v.e.	< 30 v.e.

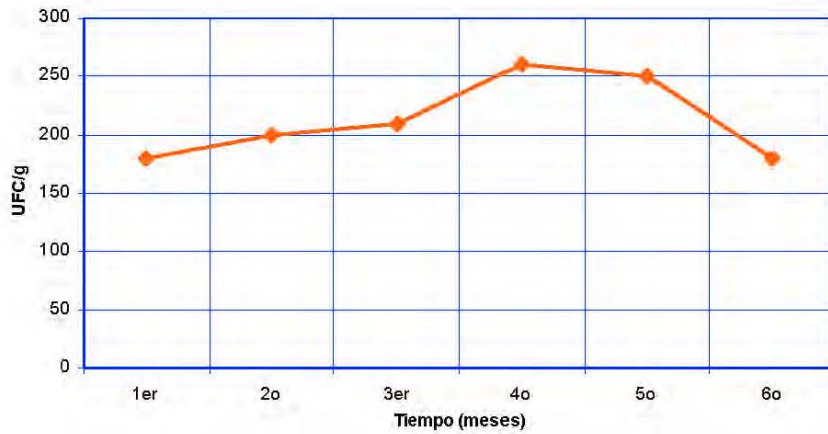
\*UFC/g corresponde a las Unidades formadoras de Colonias por gramo de alimento

**TABLA 6.2** Crecimiento de microorganismos patógenos en mole Especial

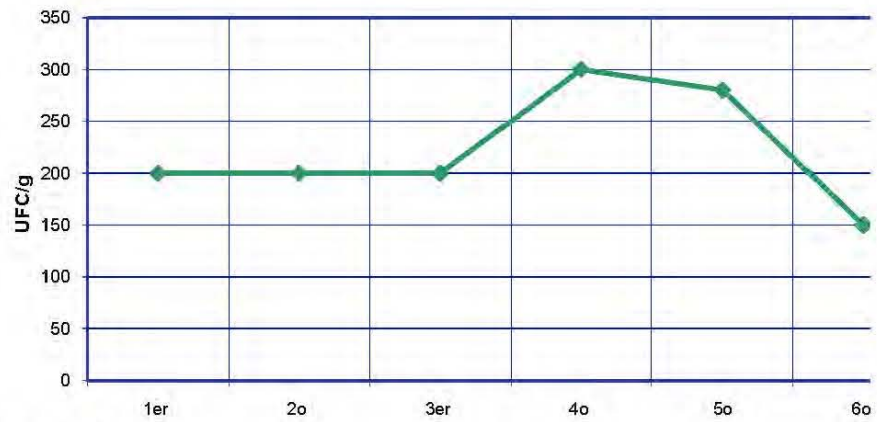




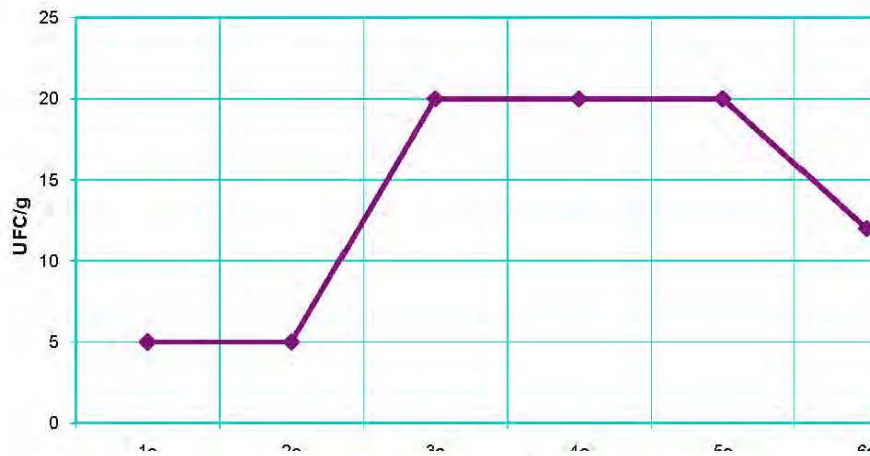
**Grafico 6.1** Curva de crecimiento de mesófilicos aerobios en mole Especial durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Grafico 6.2** Curva de crecimiento de Coliformes Totales en mole Especial durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Gráfico 6.3** Curva de crecimiento de Hongos en mole Especial durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Gráfico 6.4** Curva de crecimiento de Levaduras en mole Especial durante su Vida de Anaquel (6meses).

CRITERIO	CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE MOLE TRADICIONAL (almacenado a temperatura ambiente en cubeta grado alimenticio)											
	Octubre		Noviembre		Diciembre		Enero		Febrero		Marzo	
	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena	1 <sup>a</sup> quincena	2 <sup>a</sup> quincena
	*UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g
Mesófilos aerobios	4,400	4,400	4,800	4,800	4,900	4,900	4,900	4,700	4,200	4,300	4,000	3,700
Coliformes totales	150	150	150	150	200	200	200	170	150	150	120	120
Hongos	100	100	100	100	100	200	200	110	110	100	100	<10 v.e.
Levaduras	<10 v.e.	<10 v.e.	<10 v.e.	<10 v.e.	20	20	20	15	15	15	<10 v.e.	<10 v.e.

\*UFC/g corresponde a las Unidades formadoras de Colonias por gramo de alimento.

TABLA 6.3 Crecimiento de microorganismos indicadores en mole Tradicional

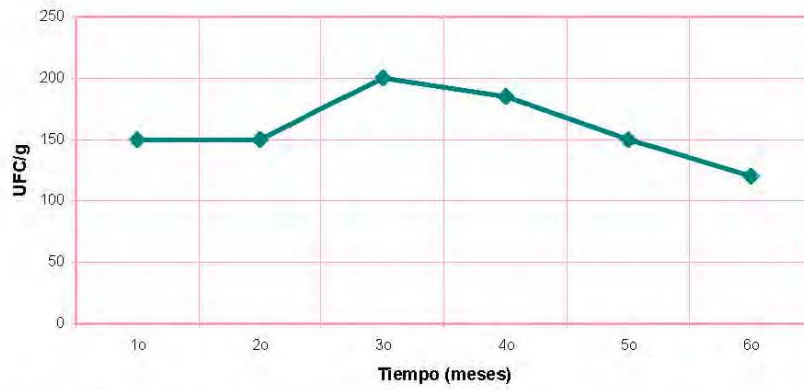
CRITERIO	CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN MOLE TRADICIONAL (almacenado a temperatura ambiente en cubeta grado alimenticio)	
	Inicio de Vida de Anaquel	Término de almacenamiento (6 meses)
<i>Salmonella spp</i>	Negativo en 25 g	Negativo en 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 *UFC / g v.e.	< 100 *UFC / g v.e.
<i>Escherichia coli</i>	< 15 *UFC / g v.e.	< 15 *UFC / g v.e.
Esporulados Totales y Termorresistentes aerobios	< 30 v.e.	< 30 v.e.
Esporulados Totales y Termorresistentes anaerobios	< 30 v.e.	< 30 v.e.

\*UFC/g corresponde a las Unidades formadoras de Colonias por gramo de alimento.

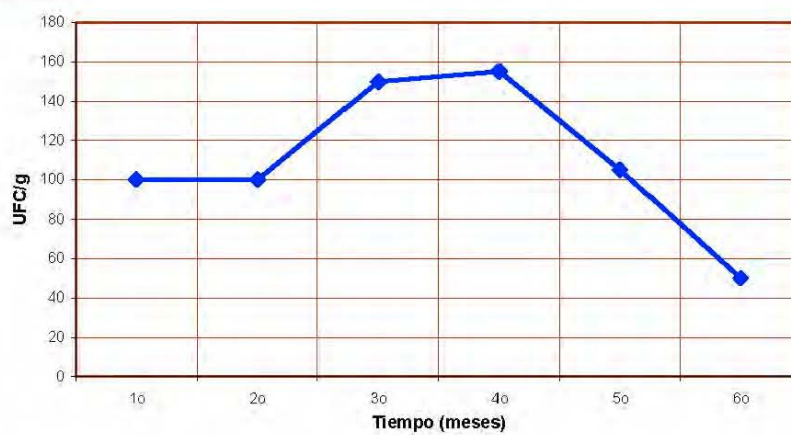
TABLA 6.4 Crecimiento de microorganismos patógenos en mole Tradicional



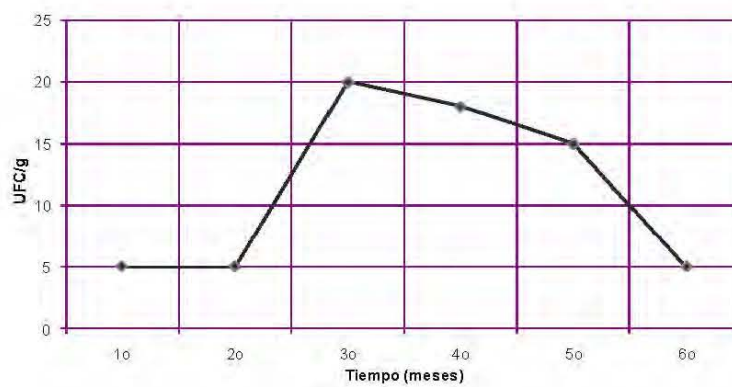
**Grafico 6.5** Curva de crecimiento de Mesófilicos aerobios en mole Tradicional durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Grafico 6.6** Curva de crecimiento de Coliformes Totales en mole Tradicional durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Gráfico 6.7** Curva de crecimiento de Hongos en Mole Tradicional durante su Vida de Anaquel (6meses).



**Gráfico 6.8** Curva de crecimiento de Levaduras en Mole Tradicional durante su Vida de Anaquel (6meses).



## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el estudio influyeron algunos factores externos a la composición original de las muestras, como lo es el método de muestreo, ya que se realizó de forma aleatoria y no siguiendo un método probabilístico, esto debido a que los productos analizados (mole especial y mole tradicional) se producen a granel.

También pudo haber influido en la microbiota de los moles el manejo durante el envasado y el transporte de las mismas.

Por otro lado, cabe mencionar que aunque durante el almacenamiento se forma una red de todos los componentes que integran a los alimentos –la cual protege a los microorganismos de cambios bruscos-, probablemente algunos de los microorganismos más susceptibles a dichos cambios, pudieron haberse perdido o desarrollado más fácilmente, sobre todo por las oscilaciones de humedad y temperatura que pudieron ocurrir durante el almacenamiento, previos o durante su análisis.

Durante el estudio se procuró cuidar las muestras al máximo para evitar una contaminación mientras se realizaba el mismo; se tomaron las medidas necesarias, tales como: manejo de muestras en área aséptica y con utensilios estériles.

De acuerdo con lo observado en las tablas y en las gráficas, las cuentas de mesofílicos aerobios, coliformes totales, hongos y levaduras en los productos analizados es variable, al inicio se observa un ligero aumento en el crecimiento de éstos microorganismos, sin embargo los valores obtenidos durante los 6 meses se mantuvieron dentro de los límites microbiológicos máximos sugeridos en la NMX-F-422-1982.

Se observa también, que a medida que transcurre el proceso de almacenamiento de los productos, la carga microbiana se ve afectada, esto debido a los factores fisicoquímicos de los mismos.



Logrando así únicamente el crecimiento de aquellos microorganismos capaces de soportar las condiciones características del producto: baja humedad, poca agua disponible y acidez elevada.

En la parte final del almacenamiento se observa que hay una disminución de la carga microbiana, debido a que incrementa el contenido de acidez, causando la disminución de su crecimiento.

Por otra parte las bacterias patógenas fueron analizadas en ambos productos, al inicio y al término de 6 meses, observándose que los niveles son aceptables de acuerdo a los límites microbiológicos de patógenos indicados en la NMX-F-422-1982.

MICROORGANISMO	TIPO I Máximo permitido	TIPO II Máximo permitido	TIPO III
Cuenta de mesofílicos aerobios (cuenta estándar)	500,000 UFC/g	500,000 UFC/g	
Coliformes totales	500 UFC/g	500 UFC/g	
Hongos	500 UFC/g	500 UFC/g	
Levaduras	500 UFC/g	500 UFC/g	
Salmonella (en 25g)	Negativo	Negativo	
Staphylococcus aureus (en 0.1g)	Negativo	Negativo	
Escherichia Coli (en 0.1g)	Negativo	Negativo	
Cuenta de termofílicos aerobios		Negativo	100 UFC/g
Cuenta de termofílicos anaerobios		Negativo	

**Tabla 7.1 ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA LOS DIFERENTES TIPOS DE MOLE**  
Fuente: NMX-F-422-1982 Productos alimenticios para uso humano – Alimentos Regionales – Mole y sus derivados Secretaría de Economía (antes SECOFI).



Al percatarnos que hay infinidad de técnicas para establecer la calidad microbiológica de productos, buscamos una técnica que nos proporcionara resultados confiables, a un bajo costo y sobre todo certificados por organizaciones Nacionales e Internacionales. Por lo que nos decidimos por el método petrifil 3M.

Los resultados se basaron en las Normas y especificaciones microbiológicas que deben cumplir los diferentes tipos de mole, es decir, se dispuso de información para saber si las cantidades de microorganismos presentes en los productos son reglamentarios o no.

Sin embargo, puede asegurarse que será necesaria la actualización de la norma que se tomo de referencia, ya que los límites microbiológicos que establece son muy antiguos. Y hoy en día los alimentos se consideran un vehículo muy importante de transmisión de enfermedades microbiológicas, y con el paso del tiempo las enfermedades infecciosas y las intoxicaciones alimentarias, se han convertido en un gran problema.

El hallazgo de nuevos patógenos transmitidos por alimentos atrae a los medios de comunicación sobre la seguridad de los alimentos, haciendo que los consumidores seamos más conscientes de dichos riesgos, gracias a lo cual, exigimos alimentos cada vez más seguros.

Por otra parte también se tomo conciencia sobre la utilización y manejo de la materia prima utilizada, puesto que se sabe que para la obtención de productos inocuos no solo tiene que ver la parte de proceso, sino que también la utilización de materia prima de calidad es parte fundamental.

Las materias primas deben inspeccionarse y clasificarse antes de llevarlas a la línea de producción y en caso necesario, deben efectuarse las pruebas de laboratorio pertinentes. Para cualquier proceso de elaboración, no deben emplearse materias primas que no sean aptas para el consumo humano o en mal estado.





---

Fue importante considerar que para la elaboración del mole se utiliza una variedad de chiles y materia prima con diversas características, las cuales pudieran afectar a la calidad del producto terminado, sin embargo se mantuvieron las BPM muy presentes para desarrollar un producto inocuo y de calidad para nuestros consumidores.



## 8. CONCLUSIONES.

Los resultados microbiológicos obtenidos en esta investigación, sobre las dos variedades de Mole demuestran que:

- ✓ Los microorganismos indicadores (bacterias mesofílicas aerobias, hongos y levaduras, así como coliformes totales) determinados durante los 6 meses de almacenamiento, nos indican que ambos productos se encuentran por debajo de los límites microbiológicos máximos señalados en la NMX-F-422-1982. Por lo que son microbiológicamente aptos para su consumo.
- ✓ La ausencia de *E. coli*, así como de *Salmonella* y *S. aureus* enterotoxigénico en las dos variedades de Mole, indica que los productos son seguros ya que cuenta con calidad microbiológica libre de patógenos.
- ✓ La ausencia de bacterias esporuladas aerobias y anaerobias indica que no hay riesgo de presencia de *Bacillus spp* ni de *Clostridium spp*, entre los cuales pueden encontrarse causantes de intoxicaciones alimentarias.
- ✓ La presencia de microorganismos en productos de consumo, no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de ese producto.
- ✓ Los criterios microbiológicos son un buen referente para garantizar el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura.
- ✓ La vida de anaquel de un producto depende de, la concentración inicial de microorganismos de descomposición y las condiciones de almacenamiento.
- ✓ Para evitar pérdidas del producto e incrementar su vida útil será necesario evitar la contaminación de la materia prima y del producto terminado.



- 
- ✓ Existen muchos tipos de microorganismos con diferentes requerimientos, de tal forma que un alimento puede ser propicio para que desarrolle cierto microorganismo pero no para otros.
  - ✓ La fecha de caducidad o el consumo preferente es un requisito importante en los alimentos de hoy en día.
  - ✓ El deterioro microbiológico de los alimentos ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y en la confianza de los consumidores.
  - ✓ Las Buenas Prácticas de Manufactura en la Procesadora son apropiadas.



# ANEXOS



---

**ANEXO 1**  
**BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM'S), EN PROCESADORA DE**  
**PRODUCTOS "EL RANCHERO" S.A. DE C.V.**

**Definición.**

Para Procesadora de Productos El Ranchero, las BPM son el conjunto de acciones que TODOS debemos realizar de manera adecuada para la obtención de productos INOCUOS y de CALIDAD para el consumo humano.


**Que incluyen.**

1. EDIFICIOS
2. EQUIPOS Y UTENSILIOS
3. PERSONAL
4. CONTROL DE PROCESOS

**1. EDIFICIOS**

 **Patios.**

- Se da mantenimiento a las áreas verdes que están alrededor de las instalaciones para eliminar la propagación y presencia de plagas
- Se evita la acumulación de basura, desperdicios y chatarra en áreas cercanas a la planta

 **Sanitarios**

- Estos no tienen acceso directo con las áreas de producción
- Las puertas de entrada poseen sistema de cierre automático
- Están provistos de retretes, papel higiénico, lavamanos, jabón, toallas de papel (sanitas) y recipiente para basura con pedal.
- Se colocan rótulos que indican al personal que debe lavarse las manos después de usar los sanitarios



#### Vestidores y regaderas

- Los vestidores cuentan con casilleros para guardar objetos personales
- ¡Se prohíbe guardar alimentos!**
- Las regaderas se limpian y sanitizan de acuerdo a un programa de limpieza.

#### Diseño.

- Se cuenta con un espacio suficiente entre equipos y líneas de producción para su operación y mantenimiento
- Se evitan los obstáculos que impidan el tránsito de materiales, paso del personal o limpieza del área



Fig 10.1 Procesadora de Productos El Ranchero

#### Pisos

- Se presentan sin grietas e irregularidades
- Las uniones entre pisos y paredes son redondeadas para facilitar la limpieza y evitar acumulaciones de polvo que favorezcan la contaminación

#### Techos

- El diseño evita la acumulación de polvo, además de que se cuenta con un programa y un procedimiento de limpieza.

#### Ventanas y puertas

- Son fáciles de limpiar e impiden la entrada de agua, polvo y plagas.

#### Puertas

- Abren hacia fuera y están ajustadas a su marco
- Cuentan con protección para evitar el ingreso de roedores y/o plagas



Fig 10.2 MANUAL AIB

### Iluminación

- Los focos y lámparas suspendidas sobre materias primas, producto en proceso o terminado, se encuentran protegidas para evitar la contaminación por vidrio en caso de rotura.



Fig 10.3 Word Clipart.

### Ventilación

- Es adecuada para la actividad que se desarrolla.
- La dirección de la corriente de aire es de del área inocua hacia afuera.
- No se presenta condensación de vapores

## 2. EQUIPOS Y UTENSILIOS.

Las superficies en contacto con el producto, son de lainami o acero inoxidable, por lo que no son:

- Absorbentes
- Aditivas o,
- Reactivas



Fig 10.4 Procesadora de Productos "El Ranchero"



Además de que son de fácil limpieza y desinfección.

### Es importante eliminar artículos y utensilios en malas condiciones



Fig 10.5 Procesadora de Productos "El Ranchero"

## 3. PERSONAL

### † Higiene personal

Se sensibiliza al personal, y se les invita a:

- Bañarse diariamente
- La limpieza debe incluir cuerpo, cabello, ropa y calzado.



Fig 10.6 Procesadora de Productos "El Ranchero"

### † Uniforme

La vestimenta del personal que ingresa a producción cumple lo siguiente:

- No se permiten blusas o camisas sin mangas
- No se permiten sudaderas, chamarras, suéteres o pants
- No se permite el uso de pantalón corto
- No se permiten cinturones con decoración desmontable

El Personal Administrativo

- Utiliza sobre la ropa una bata blanca





#### Cofia

- Esta debe encontrarse en buen estado y limpia
- Debe cubrir completamente cabello y las orejas



Fig 10.7 Procesadora de Productos  
"El Ranchero"

#### Cubre boca

- Debe cubrir nariz y boca Debe cubrir nariz y boca
- Debe encontrarse en buen estado y limpio
- Se debe cambiar cada vez que se desgaste o ensucie

#### Zapatos

- Deben estar limpios y en buen estado
- Debe ser zapato cerrado
- No tenis, no zapato de tela



Fig 10.8 Procesadora de Productos "El Ranchero"

El personal se quita todo tipo de joyería antes de ingresar al área de producción

- Relojes
- Anillos
- Pines
- Aretes
- Piercings
- Cadenas
- La mujeres no utilizan maquillaje
- No utilizan perfumes, ni cremas perfumadas en producción



Fig 10.9 Word Clipart



Fig 10.10 Word Clipart

¡El producto absorbe olores!



- No se ingresan artículos personales a producción
- No se ingresa comida
- No se utilizan teléfonos celulares
- No se permite el uso de recipientes de vidrio

#### Prácticas no permitidas en Producción

- Comer,
- Beber (solo agua en áreas asignadas)
- Medicamentos
- Fumar
- Masticar chicle
- Tomar productos de la línea



Fig 10.11 Word clipart

#### Control de enfermedades.

- Se informa al jefe inmediato cuando se tenga alguna enfermedad contagiosa, alguna cortadura, quemadura o lesión abierta
- Cualquier persona en estas no se le permite el contacto directo con el producto



Fig 10.12 Procesadora de Productos "El Ranchero"

#### 🧼 Lavado de manos.

Debido a que en las manos y uñas se pueden encontrar microorganismos dañinos nuestra salud y de los productos preparados y/o elaborados.

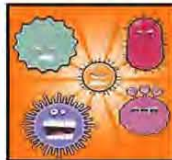


Fig 10.13 Procesadora de Productos "El Ranchero"



El lavado de manos se realiza:

- A la entrada y salida de producción
- Después de ir al baño, fumar, toser, estornudar o sonarse la nariz, antes y después de comer
- Después de manipular equipos, utensilios o superficies sucias
- Después de cambiar de actividad en el área de trabajo
- Siempre que las manos se ensucien



Fig 10.14 Lavado de Manos. Inducción al Sistema HACCP. CONACYT/CIATEJ.

Pasos para el lavado de manos:

- 1 Descubrir los antebrazos hasta el codo



Fig 10.15 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 2 Mojar las manos y aplicar la cantidad necesaria de jabón para cubrir las manos y antebrazos



Fig 10.16 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 3 Hacer espuma y lavarse las manos y antebrazos hasta el codo frotando vigorosamente con movimientos circulares



- 4 Frotar las manos en las palmas, en el dorso, entre los dedos y uñas, con movimientos de ida y vuelta y circulares y friccionando las yemas de los dedos



Fig 10.17 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 5 Enjuague hasta eliminar todo el jabón



Fig 10.18 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 6 Sacar el papel del despachador y secarse perfectamente las manos



Fig 10.19 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 7 Depositar la toalla desechable dentro del bote de basura



Fig 10.20 Procesadora de Productos "El Ranchero"

- 8 Aplicar el gel sanitizante



Fig 10.21 Procesadora de Productos "El Ranchero"



#### 4. CONTROL DE PROCESOS.

- Se realiza inspección del área
- Se tiene un programa de orden y limpieza
- Se lleva un registro para el cumplimiento de Buenas prácticas de manufactura
- Se cuenta con formatos de registro de revisión de parámetros de calidad



Fig 10.22 Procesadora de Productos "El Ranchero"

#### Practicas de limpieza

- Se busca prevenir contaminación de materiales o productos
- Se etiquetan los productos de limpieza
- Se siguen procedimientos de limpieza de cada área
- Se utilizan recipientes de basura en buen estado, limpios y con bolsas para basura y con tapa.
- Los utensilios de limpieza se encuentran en buenas condiciones, limpios y almacenado en los lugares adecuados



Fig 10.23 Procesadora de Productos "El Ranchero"

#### Manejo de materiales

- Se eliminan en forma inmediata los derrames, fugas, desperdicios y producto dañado.
- Cuando se trata de sustancias químicas se siguen los procedimientos de seguridad correspondientes.



#### Operaciones de manufactura

- En áreas de fabricación no se colocan materiales en tarimas de madera, para esto se utilizan tarimas de de plástico.



Fig 10.24 Procesadora de Productos "El Ranchero"

#### Manejo de materiales

- Se realiza inspección todo vehículo antes de cargarse



Fig 10.25 Procesadora de Productos "El Ranchero"

En caso de encontrar una mala practica de manufactura, se avisa al Jefe Inmediato (Aseguramiento de Calidad).



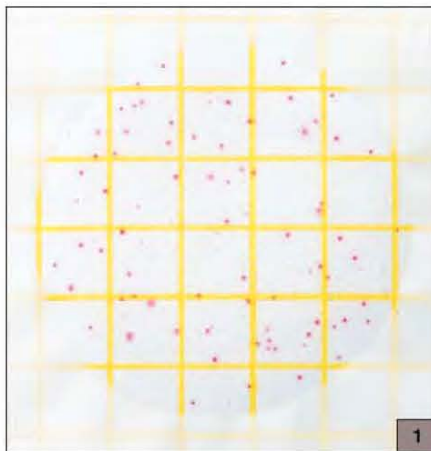
## ANEXO 2

**3M**

Guía de interpretación

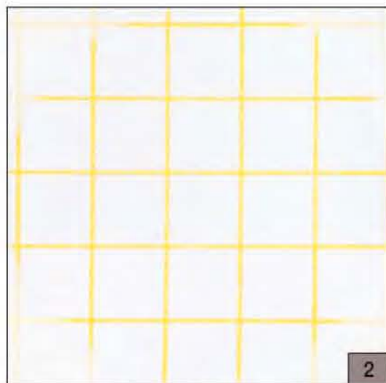
**Petrifilm™**

Placas para el Recuento de Aerobios AC



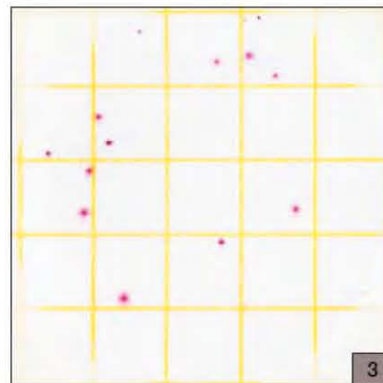
**Conteo de Bacterias Aerobias = 152**

El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuento todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.



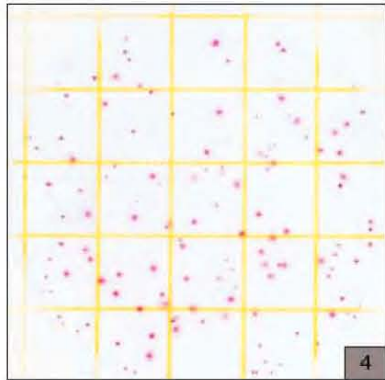
**Conteo de Bacterias Aerobias = 0**

La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una placa sin crecimiento de colonias.



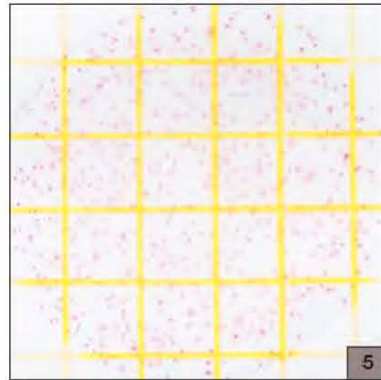
**Conteo de Bacterias Aerobias = 16**

La figura 3 muestra una Placa Petrifilm AC con crecimiento bajo de colonias.



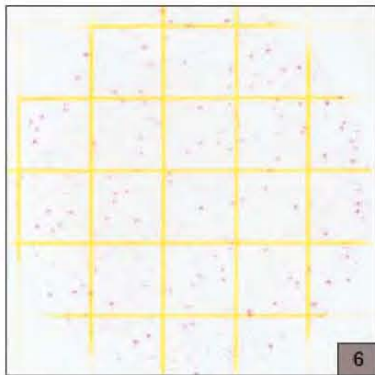
**Conteo de Bacterias Aerobias = 143**

El rango recomendado de conteo en la Placa PetrifilmAC está entre 25-250 colonias. Obsérvese la figura 4.



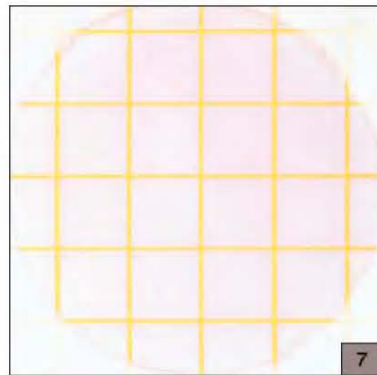
**Conteo de Bacterias Aerobias = 560 "estimado"**

Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplíquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de PetrifilmAC es de 20 cm<sup>2</sup>.



**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado: 10<sup>9</sup>**

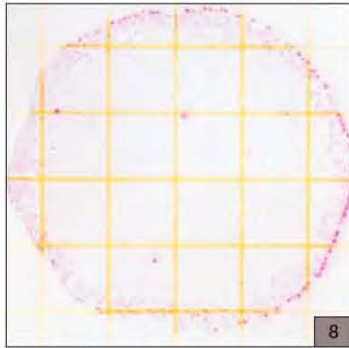
La figura 6 muestra una Placa PetrifilmAC con colonias muy numerosas para contar.



**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado: 10<sup>9</sup>**

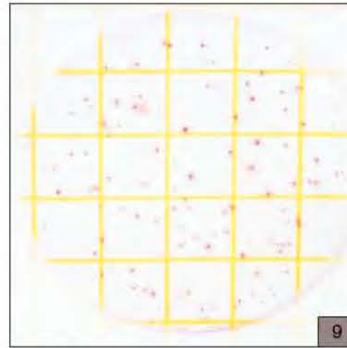
Con conteos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse rosa, como se muestra en la figura 7. Usted podría observar colonias individuales sólo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este conteo como muy numeroso para contar (MNPC).





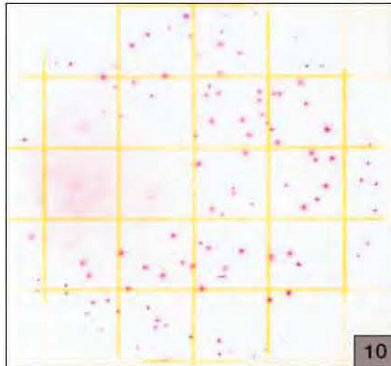
**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado: 10<sup>3</sup>**

Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.



**Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC**  
**Conteo estimado: 10<sup>7</sup>**

Las colonias de la figura 9 podrían confundirse como contables a primera vista. Sin embargo, si usted observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias. Registre este resultado como MNPC.

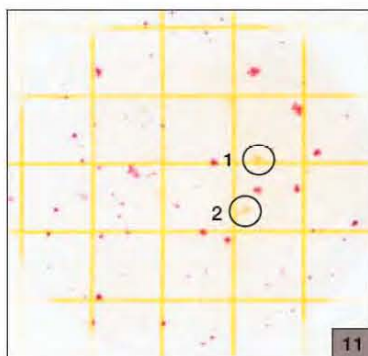


**Conteo de Bacterias Aerobias = 160**

Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petrifilm AC.

**Cuando esto ocurra:**

1. Determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.
2. Realice conteos preliminares para verificar el crecimiento; la licuefacción generalmente se presenta de manera tardía.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 83**

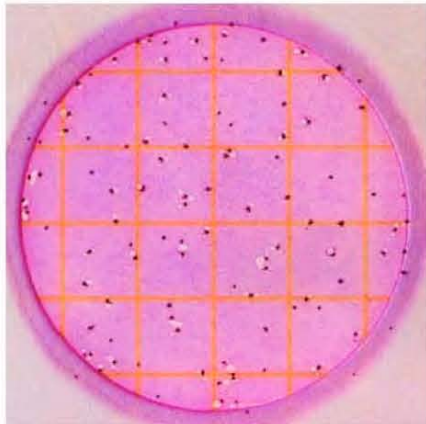
Debido a que en las Placas Petrifilm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).



## ANEXO 3

### 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de Coliformes Totales

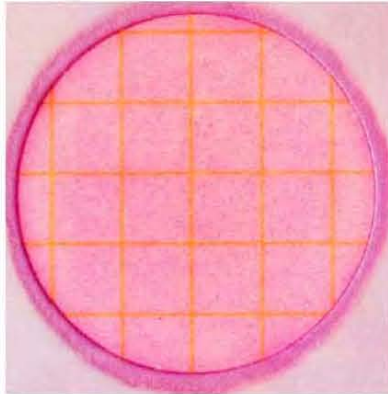
Guía de interpretación



**Conteo de Coliformes totales = 69.**  
Según AOAC internacional (colonias con gas)

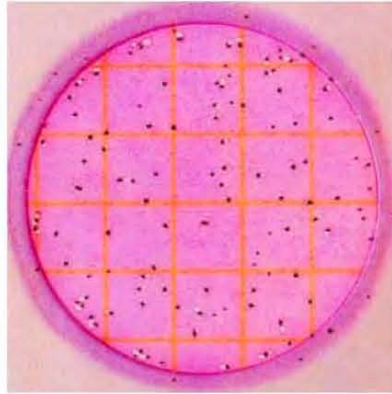
La identificación de los Coliformes puede variar por país (observe en las recomendaciones de uso sección incubación tiempo y temperaturas que se encuentran aprobadas).

Según la norma AFNOR se deberán contar todas las colonias con y sin gas. Verifique según las normas locales de su país la aplicación del sistema de conteo y referencia.



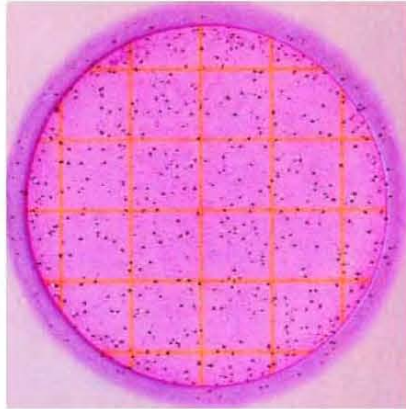
**Conteo de Coliformes Totales = 0**

Observe el cambio del color del gel desde la figura 2 hasta el 5. Mientras el conteo de Coliformes aumenta el color del gel se oscurece. Las burbujas de fondo son características del gel y no son resultado del crecimiento de Coliformes.



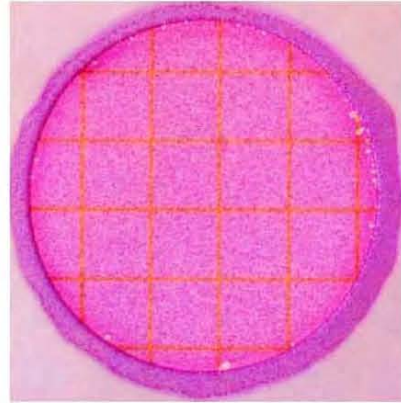
**Conteo de Coliformes Totales = 79**

El rango de conteo para la población total de Coliformes en la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> CC es de 15 – 150. No cuente las colonias que han crecido en la zona de hule espuma por cuanto han sido removidas de la influencia del medio.



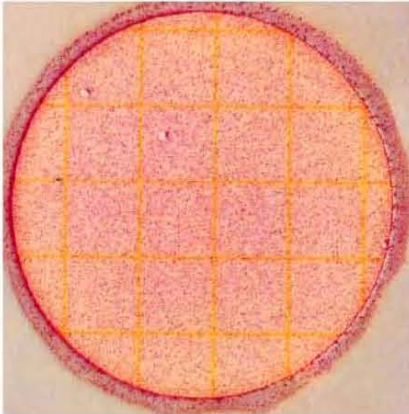
Conteo de Coliformes Totales = 220 "estimado"

El área circular de crecimiento es de 20 cm<sup>2</sup> aproximadamente. Conteos estimados pueden hacerse en placas que contengan más de 150 colonias, a través del conteo de cuadros representativos y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio por 20 y determine el valor estimado por placa.



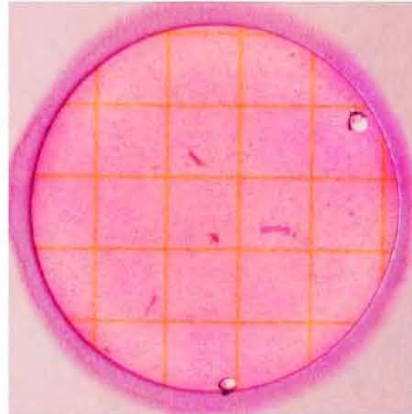
Conteo de Coliformes Totales = MNPC

La Placa Petrifilm<sup>MR</sup> CC con crecimiento excesivo (MNPC = muy numeroso para contar) tienen una de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/u oscurecimiento del color del gel. Para obtener mejores resultados, diluya su muestra.



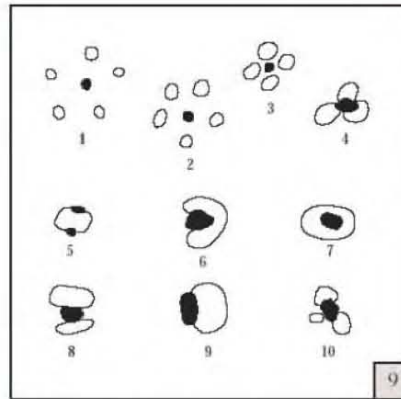
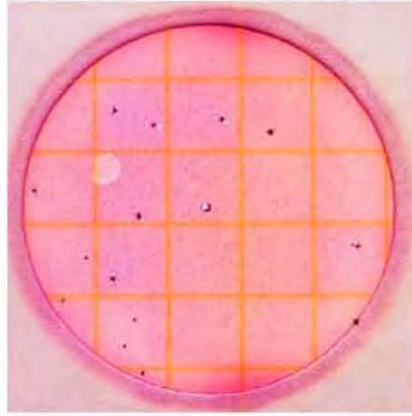
Conteo de Coliformes Totales = 4

Cuando existe presencia de gran número de organismos no Coliformes como *Pseudomonas* en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> CC, el gel cambia a color amarillento.



Conteo de Coliformes Totales = 2

Partículas de alimento son de forma irregular y no están asociadas con burbujas de gas.



**Conteo de Coliformes Totales = 8**

La forma o patrón de las burbujas puede variar. El gas puede romper la colonia como se observa en el círculo 2 de la figura 8.

Las burbujas pueden resultar de una inoculación inadecuada de la Placa Petrifilm<sup>MR</sup>, éstas son de forma irregular y no están asociadas con una colonia roja. Vea el círculo 3 de la figura 8.

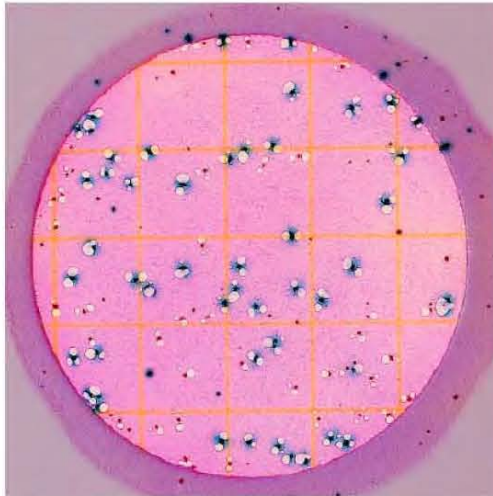
Los ejemplos 1 – 10 muestra varios patrones o formas de burbujas de gas asociadas con las colonias. Todas deben ser enumeradas.



## ANEXO 4

### 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

Guía de interpretación



La identificación de *E. coli* puede variar entre los países (Vea las recomendaciones de uso en la sección incubación, las temperaturas y tiempos sugeridos)

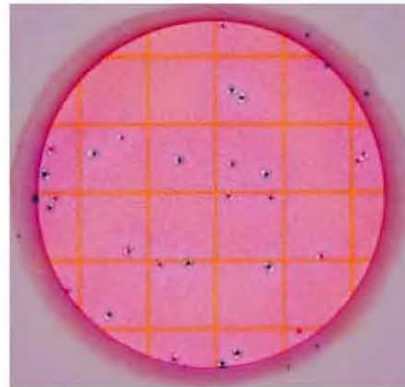
Método validado AOAC internacional  
**Conteo de *E. coli* = 49** (colonias azules con gas)  
**Conteo de Coliformes Totales = 87** (colonias rojas y azules con gas)

Verifique según las normas locales de su país la aplicación del sistema de conteo y referencia.



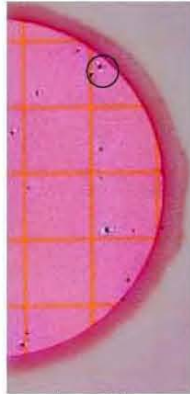
**Conteo de *E. coli* / Coliformes = 0**

Observe el cambio del color del gel desde las Figuras 2 hasta la 8. Al aumentar el conteo de *E. coli* o Coliformes, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado. Las burbujas de fondo son características del gel y no son resultado del crecimiento de Coliformes (ver recuadro 1).



**Conteo de *E. coli* = 13**  
**Conteo de Coliformes = 28**

El rango recomendado de conteo en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales es de 15 a 150 colonias. No cuente las colonias que ha crecido en la zona de hule espuma por cuanto han sido removidas de la influencia del medio.



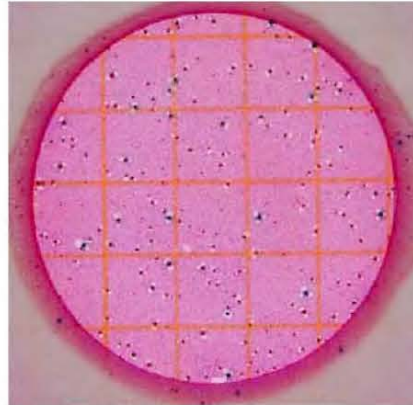
Luz posterior



Luz de frente

**Conteo de *E. coli* = 3**

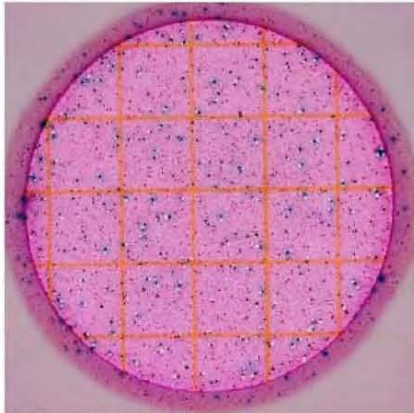
Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia. El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.



**Conteo de *E. coli* = 17**

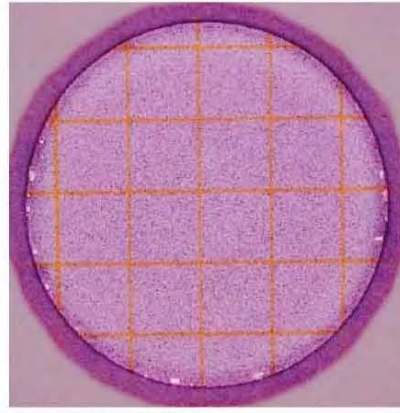
**Conteo de Coliformes = 150 "estimado"**

El área circular de crecimiento es de 20 cm<sup>2</sup> aproximadamente. Conteos estimados pueden hacerse en placas que contengan más de 150 colonias, a través del conteo de cuadros representativos y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio por 20 y determine el valor estimado por placa.



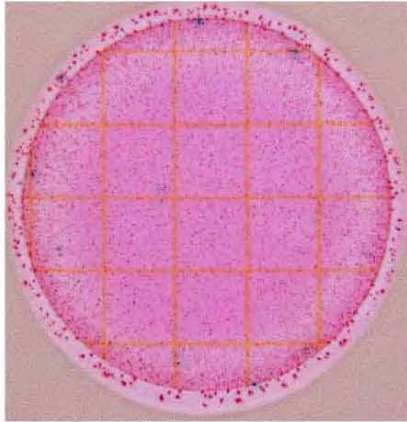
**Conteo de *E. coli* = MNPC**

La Placa Petrifilm<sup>MR</sup> EC con crecimiento excesivo (MNPC – muy numeroso para contar) tienen una de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/u oscurecimiento del color del gel de color rojo a rojo púrpura.



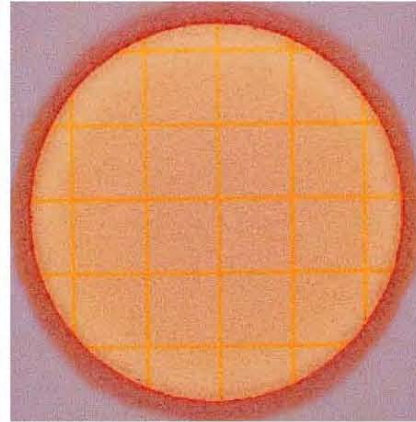
**Conteo de *E. coli* = MNPC**

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.



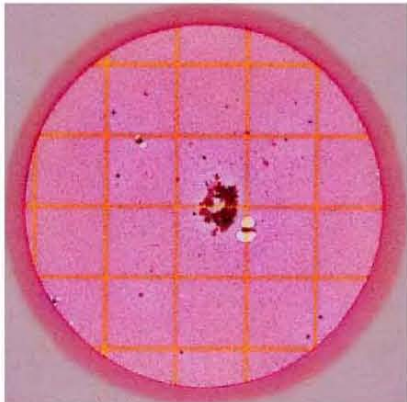
Conteo de *E. coli* = 8 (presuntivo)  
Conteo de Coliformes = MNPC

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.



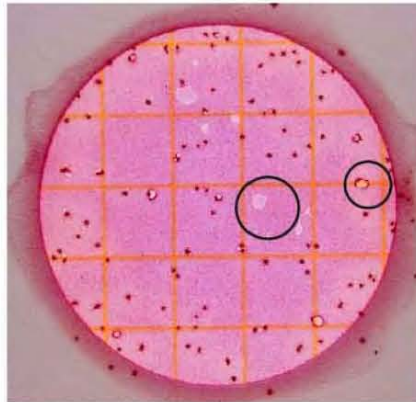
Conteo Total = MNPC

Cuando existe presencia de gran número de organismos no Coliformes como *Pseudomonas* en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> EC el gel cambia a color amarillento. Reporte conteo estimado MNPC para Coliformes y realice nuevas siembras a mayor dilución.



Conteo de Coliformes = 3

Las partículas de alimentos son de forma irregular y no están asociadas con burbujas de gas.



Conteo de Coliformes = 78

Las burbujas pueden resultar de una inoculación inadecuada de la Placa Petrifilm<sup>MR</sup>, estas son de forma irregular y no están asociadas con una colonia roja. Vea el círculo en la parte central de la placa.

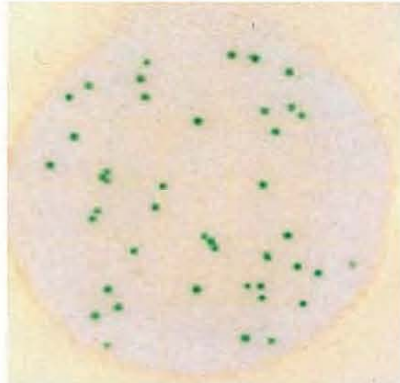
La forma o patrón de las burbujas puede variar. El gas puede romper la colonia como se observa en el círculo del lado derecho de la placa.



## ANEXO 5

### 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de Mohos y Levaduras

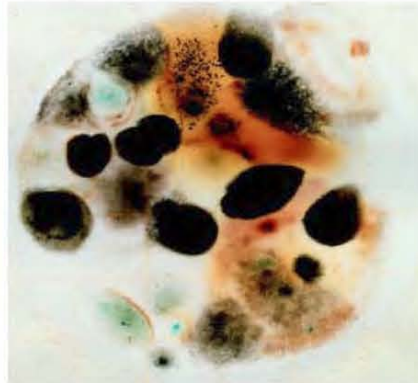
Guía de interpretación



Conteo de Levaduras = 44

Las colonias en la Figura 1 son ejemplos de Levaduras y tienen las siguientes características:

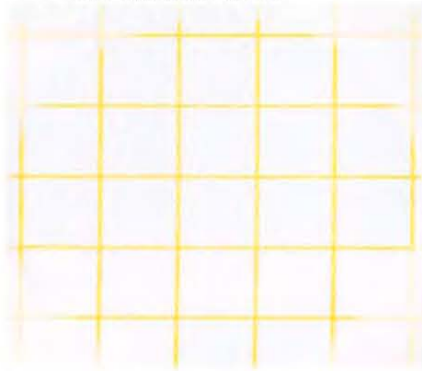
- Colonias pequeñas
- Colonias con filos definidos
- Colonias con un rango de color desde beige o crema hasta azul verdoso, pueden también tener tonos rosas
- Colonias tienen apariencia abultada, es decir con una tercera dimensión: convexas.
- Color uniforme, no difusas.



Conteo de Hongos = 27

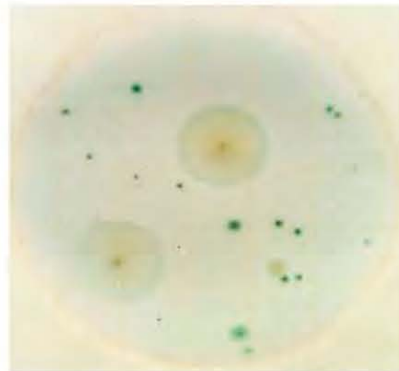
Las colonias de la Figura 2 son ejemplos de Mohos y tienen las siguientes características:

- Colonias grandes
- Colonias con bordes difusos
- Colonias de colores variables, por ejemplo: café, beige, naranja, azul verdoso, etc.
- Colonias tienen apariencia plana
- Tienen un centro oscuro y se expanden difusamente alrededor del mismo.



Conteo de Mohos y Levaduras = 0

En la Figura 3 se muestra una Placa Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento de Mohos y Levaduras sin crecimiento de Hongos ni Levaduras.



Conteo de Levaduras = 12

Conteo de Mohos = 4

La Placa Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento de Mohos y Levaduras de la Figura 4 muestra crecimiento bajo de colonias de Mohos y Levaduras.





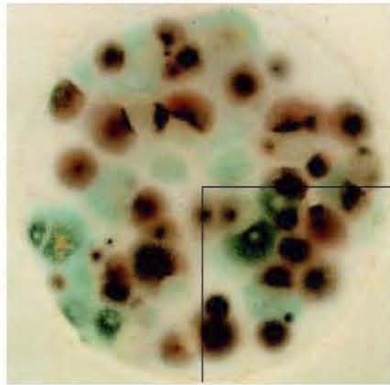
**Conteo de Levaduras = 480 "estimado"**  
**Conteo de Mohos = 21**

Cuando el número de colonias es mayor a 150, como se puede observar en la figura 5 por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en 1 cuadrado ( $\text{cm}^2$ ) y multiplíquelo por 30 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm<sup>MR</sup> YM es  $30 \text{ cm}^2$ .



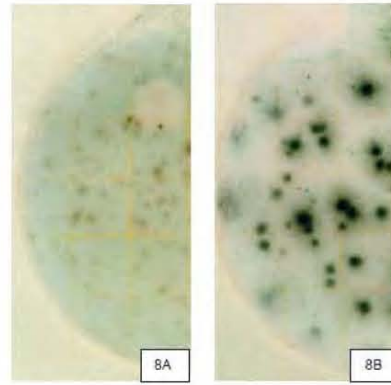
**Conteo de Levaduras = MNPC**  
**Conteo estimado:  $>10^4$**

La Figura 6 corresponde a una Placa Petrifilm<sup>MR</sup> YM que contiene demasiadas colonias de Levaduras para contar (MNPC). Las colonias azules pequeñas resaltadas en el recuadro del borde del área de crecimiento se encuentran presentes a través de toda la placa, pero menos visibles.



**Conteo de Mohos = 59**

Las colonias de Mohos de la Figura 7 están empezando a unirse y sobreponerse una encima de otra en la placa. Cuente cada centro como una colonia. La placa se puede dividir en secciones para facilitar el conteo. La sección remarcada en la Figura 7 tiene 15 Mohos.

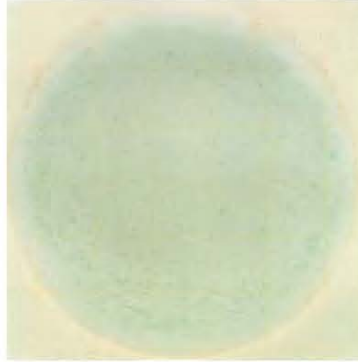


**Conteo de Mohos = 12 (Figura 8A)**  
**Conteo de Mohos = 4 (Figura 8B)**

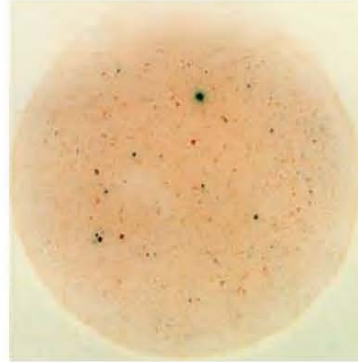
Las Placas que se muestran en las Figuras 8A y 8B son de la misma muestra. La Figura 8A corresponde a una dilución 1:10 y tiene colonias que son muy pequeñas, tenues y numerosas, haciendo muy difícil su conteo. La Figura 8B corresponde a la dilución 1:100 y muestra como diluyendo las muestras se puede obtener placas con conteos deseables (15 - 150) lo que facilita la enumeración.



### REACCION DE FOSFATASA



Conteo de Mohos y Levaduras = 0



Conteo de Mohos y Levaduras = 0

La Placa Petrifilm<sup>SM</sup> YM tiene un tinte indicador de fosfatasa. Por es algunos productos procesados que contienen fosfatasa pueden causar un cambio de color del gel. Se pueden observar dos tipos de reacciones: un color uniforme azul (Figura 9) o cabezas de alfiler o puntos de color intenso azul (círculos en figura 10) que suelen presentarse en placas de especies y productos granulados.

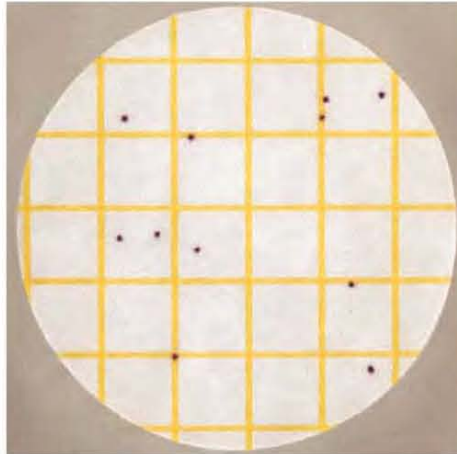


ANEXO 6

**3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

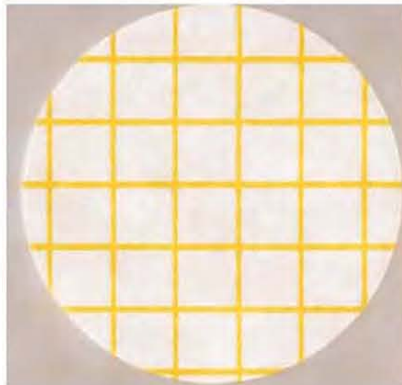
Guía de interpretación

**Staph Express** para el Recuento de *Staphylococcus aureus*



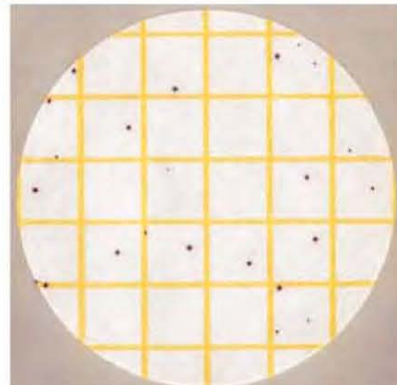
Conteo de *S. aureus* = 11.

Esta ilustración muestra una Placa Petrifilm<sup>MR</sup> STX típica con colonias rojo violeta de *S. aureus*. Cuento todas las colonias rojo violeta y reporte como colonias de *S. aureus*.



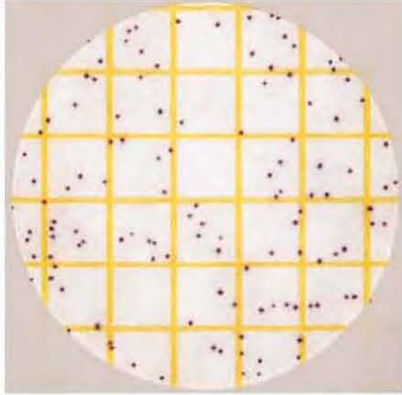
Conteo de *S. aureus* = 0

Esta placa Petrifilm<sup>MR</sup> STX no tuvo crecimiento de colonias después de 24 horas de incubación. La prueba se ha terminado.



Conteo de *S. aureus* = 24

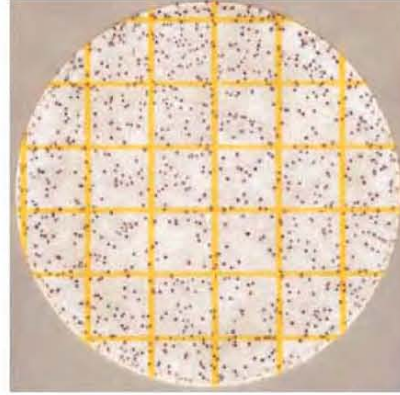
Las colonias de *S. aureus* pueden variar en tamaño. Cuento todas las colonias rojo violeta independientemente del tamaño. Utilice una lupa con luz para observar las colonias con mas facilidad.



Conteo de *S. aureus* = 122

El margen de recuento recomendado de la Placa Petrifilm<sup>SM</sup> STX es de 150 colonias de *S. aureus*. En la figura superior se puede observar una placa bastante cercana al límite de recuento recomendado.

El área circular de crecimiento es de 30 cm<sup>2</sup> aproximadamente.



Conteo de *S. aureus* = MNPC

Muestras cuyas placas den crecimiento excesivo (MNPC = muy numeroso para contar) deberán ser diluidas para obtener mejores resultados. Recuentos estimados se pueden realizarse a través del conteo de cuadros representativos y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio por 30 y determine el valor estimado por placa.



## ANEXO 7

### Main Approvals, Certifications and other Recognitions

3M Microbiology is certified to ISO 9001 for design and manufacturing

#### International Recognition:

##### AFNOR - France

■ All foods:	Aerobic Count Plates	AFNOR Certificate Number 3M 01/1-09/89 (as compared to ISO 4833 method)
■ All foods: (except raw shellfish)	Coliform Count Plates 24 hour total coliform result	AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89A (as compared to ISO 4832 VRBL method)
■ All foods: (except raw shellfish)	Coliform Count Plates 24 hour total coliform result	AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89B (as compared to ISO 4831 MPN method)
■ All foods:	Coliform Count Plates 24 hour thermotolerant coliform result	AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89C (as compared to VRBL 44°C method)
■ All foods:	Select E. coli Count Plates	AFNOR Certificate Number 3M 01/8-06/01 (as compared to ISO 16649-2 E. coli method)
■ All foods:	Rapid Coliform Count Plates 14 hour result	AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97A (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
■ All foods:	Rapid Coliform Count Plates 24 hour result	AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97B (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
■ All foods (except processed pork products)	Rapid Coliform Count Plates 24 hour result	AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97C (as compared to ISO 4831 MPN method)
■ All foods:	Enterobacteriaceae Count Plates	AFNOR Certificate Number 3M 01/6-09/97 (as compared to ISO 21528-2 method)
■ All foods:	High-Sensitivity Coliform Count Plates	AFNOR Certificate Number 3M 01/7-03/99 (as compared to ISO 4831 MPN method)
■ All foods:	Staph Express Count System	AFNOR Certificate Number 3M 01/9-04/03 (as compared to EN ISO 6888-1 method)

##### AOAC® INTERNATIONAL Official Method of Analysis<sup>SM</sup>

■ Raw and pasteurized milk:	Aerobic Count, Coliform Count Plates	Method 986.33
■ Dairy products:	Aerobic Count, Coliform Count Plates High-Sensitivity Coliform Count Plates	Method 989.10 Method 996.02
■ Foods:	Aerobic Count Plates Coliform Count, E. coli/Coliform Count Plates Yeast and Mold Count Plates Rapid Coliform Count Plates	Method 990.12 Method 991.14 Method 997.02 Method 2000.15
■ Poultry, meats and seafood:	E. coli/Coliform Count Plates	Method 998.08
■ Selected foods:	Rapid S. aureus Count System Enterobacteriaceae Count Plates	Method 2001.05 Method 2003.01
■ Selected processed and prepared foods:	Staph Express Count System	Method 2003.07
■ Selected dairy foods:	Staph Express Count System	Method 2003.08
■ Selected poultry, meats and seafood:	Staph Express Count System	Method 2003.11

##### INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (FIL/IDF)

Bulletins 285/1993 and 350/2000

Date	Version
November 2005	8

1/4

3M™ Petrifilm™ Quality File



## Recognition by Country (in alphabetical order):

### Australia:

#### New South Wales Dairy Test Manual

- Official alternative to standard plate count and coliform count tests

#### Victorian Dairy Industry Authority (VDIA)

- Milk and dairy products: Aerobic Count Plates Certificate Number 9503  
Coliform Count Plates Certificate Number 9504

### Canada:

#### Health Protection Branch, Compendium of Analytical Methods

##### Laboratory Procedures:

- Environmental Sampling: Aerobic Count, Coliform Count, E. coli/Coliform Count, and Yeast and Mold Count Plates Method MFLP-41A  
High-Sensitivity Coliform Count Plates Method MFLP-41B
- Dairy Products: High-Sensitivity Coliform Count Plates Method MFLP-85
- Food products and environmental sampling: Staph Express Count System Method MFLP-21

##### Health Protection Branch Methods:

- Food products and ingredients: Aerobic Count Plates Method MFHPB-33  
Coliform Count Plates Method MFHPB-35  
E. coli/Coliform Count Plates Method MFHPB-34  
Yeast and Mold Count Plates Method MFHPB-32

### Chile:

#### SAG (Chile Department of Agriculture)

- Carcass sampling: E. coli/Coliform Count Plates January 2004

### France:

AFNOR (see International Validations)

### Germany:

#### DIN (Deutsches Institut für Normung) Fachbericht 81 Petrifilm Technik 2000 Edition

- Foods: Aerobic Count, Coliform count, E. coli/Coliform Count and Enterobacteriaceae Count Plates

### Japan:

#### Food Hygiene Manual

- Foods: Aerobic Count, Coliform Count, E. coli/Coliform Count, Rapid Coliform Count Plates; Rapid S. aureus Count, Staph Express Count Systems July 2004

#### Ministry of Health, Labour and Welfare

- Carcass (cattle and swine) swab: E. coli/Coliform Count Plates Notification No. 25

### Korea:

#### KCFR (Korea Code of Federal Regulatory)

- All foods: Aerobic Count Plates KFDA2004  
Coliform Count Plates Method 7.8.2.2  
E. coli/Coliform Count Plates Method 7.8.5.4  
Method 7.8.6.3

Date	Version
November 2005	8

2/4

3M™ Petrifilm™ Quality File



## New Zealand:

### New South Wales Dairy Test Manual

- Official alternative to standard plate count and coliform count tests

### AgResearch – Mirinz Meat Research, Microbiological Methods for the Meat Industry -Second Edition.

- |                |                                 |                           |
|----------------|---------------------------------|---------------------------|
| Meat products: | Aerobic Count Plate (30° C)     | Chapter 6 – Section 6.8   |
|                | Enterobacteriaceae Count Plates | Chapter 8 – Section 8.2.5 |
|                | E. coli/Coliform Count Plates   | Chapter 8 – Section 8.4.5 |

### New Zealand Food Safety Authority

- |  |                                      |                      |
|--|--------------------------------------|----------------------|
| Dairy produce and products:                | Aerobic Count, Coliform Count Plates | MAF Standards D115   |
|  | E. coli/Coliform Count Plates        | MAF Standards D107.1 |
| Animal Products Group<br>(farmed animals): | Aerobic Count Plates                 | Chapter 4 – 4.7.3    |
|  | E. coli/Coliform Count Plates        | Chapter 4 – 4.8      |

## Nordic Countries:

### NordVal Validation

- |            |                                |                             |
|------------|--------------------------------|-----------------------------|
| All foods: | Aerobic Count Plate            | Ref. No. 2005-30-5408-00043 |
|            | Coliform Count Plate           | Ref. No. 2005-30-5408-00044 |
|            | E. coli/Coliform Count Plate   | Ref. No. 2005-30-5408-00045 |
|            | Yeast and Mold Count Plate     | Ref. No. 2005-30-5408-00046 |
|            | Staph Express Count System     | Ref. No. 2005-30-5408-00047 |
|            | Enterobacteriaceae Count Plate | Ref. No. 2004-20-5408-00027 |
|            | Select E. coli Count Plate     | Ref. No. 2004-20-5408-00029 |

## Poland:

### PKN (Polish Normalisation Committee)

Commission No. 35 July 1, 1999

- Raw milk and dairy products:
  - Petrifilm Plates may be used as a method for:
    - Enumeration of total aerobic microorganisms
    - Enumeration of coliform microorganisms
    - Enumeration of *Escherichia coli* microorganisms
    - Enumeration of yeast and mold

## Republic of South Africa:

- |                          |   |   |
|--------------------------|---|---|
| Milk and Dairy Products: | Aerobic Count, Coliform Count and E. coli/Coliform Count Plates | Government Gazette, No. R.1555.21 of 21 November 1997 |
|--------------------------|---|---|

## United Kingdom:

### Campden Food and Drink Research Association and Leatherhead Food Research Association study

- EMMAS assessment 3M Petrifilm E. coli/Coliform Count Plate – 1998
- EMMAS assessment 3M Petrifilm Enterobacteriaceae Count Plate – 2003

Date	Version
November 2005	8

3/4

3M™ Petrifilm™ Quality File



## United States:

### AOAC INTERNATIONAL (see International Recognition)

#### APHA (American Public Health Association)

■ Foods:	Aerobic Count, Coliform Count, E. coli/Coliform Count, Enterobacteriaceae Count, High-Sensitivity Coliform Count, Lactic Acid Bacteria Method, Rapid Coliform Count, Yeast & Mold Count Plates	Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4 <sup>th</sup> Edition 2001
■ Dairy:	Aerobic Count, Coliform Count, Enterobacteriaceae Count, E. coli/Coliform Count, High-Sensitivity Coliform Count, Rapid Coliform Count, Yeast and Mold Count Plates	Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 17 <sup>th</sup> Edition 2004

#### USDA (United States Department of Agriculture) Agricultural Marketing Service

■ Laboratory Methods and Procedures	Aerobic Count Plates	Dairy Grading Branch DA Instruction 918-RL
-------------------------------------	----------------------	---

#### USDA FSIS (Food Safety and Inspection Service)

■ Beef, swine, sheep, goats, horses, mules and other equine carcass sampling:	E. coli/Coliform Count Plates	(Code of Federal Regulations) 9 CFR Part 310.25
■ Poultry, ducks, geese and guinea carcass sampling:	E. coli/Coliform Count Plates	(Code of Federal Regulations) 9 CFR Part 381.94
■ Examination of fresh, refrigerated and frozen prepared meat, poultry and pasteurized egg products:	Aerobic Count, E. coli/Coliform Count Plates	Microbiology Laboratory Guidebook, 3 <sup>rd</sup> Edition 1998, Chapter 3

#### US FDA (United States Food and Drug Administration)

■ All foods:	Aerobic Count, Coliform Count and E. coli/Coliform Count Plates Rev. A/1988, Chapter 4, Section VI	FDA/BAM (Bacteriological Analytical Manual), 8th Edition and Appendix 1, table 4
■ Milk:	Aerobic Count, Coliform Count, High-Sensitivity Coliform Count Plates	FDA Milk Laboratory Evaluation Form 2400a, Revision 3/01

## Venezuela:

■ Foods:	E. coli/Coliform Count Plates	Covenin 3276-97
■ Dairy products and foods:	Aerobic Count Plates	Covenin 3338-97
■ Dairy products:	High-Sensitivity Coliform Count Plates	Covenin 3339-97

Method approval by private or public organizations (e.g., AOAC INTERNATIONAL or APNOR) does not guarantee the performance of Petrifilm Plates for any particular food product or process.

Date	Version
November 2005	8

4/4

3M™ Petrifilm™ Quality File







## 9. BIBLIOGRAFÍA

- AGNS Publications, 2010. Integrated food control systems. Agriculture and consumer protection department, FAO's Food Quality and Standards Service. En: [http://www.fao.org/aq/aqn/agns/foodcontrol\\_en.asp](http://www.fao.org/aq/aqn/agns/foodcontrol_en.asp)
- Alonso, F. 2009. Inocuidad alimentaria y enfermedades transmitidas por alimentos. Departamento de Biotecnología, Publicación de la Universidad de Chile. En: [https://www.u-cursos.cl/medicina/2009/1/NUEPIDEM3/1/material\\_docente/objeto/232976](https://www.u-cursos.cl/medicina/2009/1/NUEPIDEM3/1/material_docente/objeto/232976)
- American Meat Institute Foundation. 1994. HACCP: The Hazard Analysis and Critical Control Point System in the Meat and Poultry Industry. Washington, D.C.
- Association of Official Analytical Chemist. 1995. Oficial Methods of Analysis. 16a Edición. AOAC. Arlington, VA.
- Buchanan, R.L. 1991. Microbiological criteria food cooked ready to eat shrimp and crabmeat. Food Technology. 157-160.
- Cantu Delgado, H. 2001. Desarrollo de una cultura de Calidad. 2ª Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México. p.p 3-84.
- Chapa, M. 2005. República de los moles. Aguilar, México.
- Codex Alimentarius. 2009 Higiene de los alimentos. Textos básicos 4ª edición. OMS/FAO. Roma.
- Desrosier, W.N. 2004. Conservación de Alimentos. 4ª ed. Cía. Editorial Continental, S. A. de C.V., México. pp. 8-167.
- Ellis, M.J. 2000. The methodology of shelf-life determination. 2<sup>nd</sup> Edition. Aspen publishers, Gaithersburg. MD. pp. 23-33



- 
- ❏ FAO. 2007. Sistemas de Calidad e Inocuidad de los alimentos. Manual de Capacitación sobre Higiene de los alimentos y sobre el Sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC). Organización de las Naciones Unidas y Ministerio de Sanidad y Consumo de España. p.p. 3-45, 50-101
  
  - ❏ Food processing-technology. 2010. Shelf Life. International food processing industry Copyright Net Resources International, division of SPG Media Limited. En: <http://www.foodprocessing-technology.com/glossary/shelf-life.html>
  
  - ❏ Forsythe, S.J. 2000. The Microbiology of Safe Food. Blackwell Science. EUA.
  
  - ❏ Forsythe, S.J. 2002. Microbiological Risk Assessment of Food. Blackwell Science. EUA.
  
  - ❏ Forsythe, S.J. 2003. Microbiología de Alimentos Seguros. 1ª Edición. Acribia. España.
  
  - ❏ Gálvez, A. 2006. Inducción al Sistema HACCP. Programa Universitario de Alimentos. CIATEJ, CONACYT. México.
  
  - ❏ Genetics And Microbiology Research Group. 2005. Métodos generales de análisis microbiológico de los alimentos. III Detección de microorganismos índices e indicadores. Prácticas de Microbiología de Alimentos Department of Agrarian Production, Public University of Navarre, Pamplona, Spain. En: [www.unavarra.es/genmic/micalm/manual%20practicas%20micalimentos.pdf](http://www.unavarra.es/genmic/micalm/manual%20practicas%20micalimentos.pdf)
  
  - ❏ Genetics And Microbiology Research Group. 2006. Introducción a la microbiología de alimentos: Los microorganismos como agentes de deterioro de alimentos. Microbiología General, 1º Ingenieros Agrónomos. Department of Agrarian Production, Public University of Navarre, Pamplona, Spain. En: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/indice-microgral.htm>



- González, K. López, G. 2010. Implementación de los prerrequisitos en una planta procesadora de alimentos como base de un modelo de Calidad e Inocuidad. UNAM. Facultad de Química. México.
- ICMSF. 2000. Microorganismos de los Alimentos. 1ª Edición. Acribia. España.
- ICMSF. 2004. Microorganismos de los Alimentos. 1ª Edición. Acribia. España.
- ICMSF. 2009. Microorganisms in Foods 2: Sampling for microbiological análisis: Principles & Especific applications. 2ª Edición. Blackwell Scientific Publications.
- Jay, J.M. 2000. Microbiología Moderna de los Alimentos. 3ra Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España pp. 487-97.
- Jay, J.M. 2009. Microbiología Moderna de los Alimentos. 1ª Edición. Acribia. España.
- Keller, J.J. 2005 La Guía del Empleado para la Seguridad de la Comida. Neehah, Wisconsin.
- Man, D. 2004. La Caducidad de los Alimentos. 1ª Edición. Acribia S.A. Zaragoza España. pp 3-15, 32,72.
- Microbiology 3M. 2007. Productos y Servicios. Microbiología. Productos Placas Petrifilm™ 3M™ En:  
[http://www.microbiologiamx.com.mx/?WT.mc\\_id=www.3m.com/microbiologia](http://www.microbiologiamx.com.mx/?WT.mc_id=www.3m.com/microbiologia)
- Microbiología 3M. 2007. Productos y Servicios. Microbiología. Productos Placas Petrifilm™ 3M™ En: <http://www.3m.com/cms/mx/es/0-253/krecrfs/view.html>
- Microbiología 3M. 2007. Productos y Servicios. Microbiología. Productos Placas Petrifilm™ 3M™ En:  
<http://multimedia.mmm.com/mws/mediawebserver.dyn?6666660Zjcf6IVs6EVs66SCfUCOrrrQ->



- NMX-F-422-1982 Productos alimenticios para uso humano – Alimentos Regionales – Mole y sus derivados Secretaria de Economía (antes SECOFI).
- NOM-111-SSAI-1994 Método Para La Cuenta De Mohos Y Levaduras En Alimentos.
- NOM-113-SSAI-1994, Método Para La Cuenta De Microorganismos Coliformes Totales En Placa.
- NOM-000-SSAI-1994 Método Para la Cuenta de *E. Coli*.
- NOM-114-SSAI-1994 Método Para La Determinación De Salmonella En Alimentos.
- NOM-130-SSAI-1995 Alimentos Envasados En Recipientes De Cierre Hermético Y Sometidos A Tratamiento Térmico. Disposiciones Y Especificaciones Sanitarias.
- NOM-115-SSAI-1994 Método Para La Determinación De Staphylococcus aureus en Alimentos.
- NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos Para La Toma, Manejo Y Transporte De Muestras De Alimentos Para Su Análisis Microbiológico.
- NOM-120-SSA1-1994 Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad para el proceso de alimentos, bebidas alcohólicas y no alcohólicas.
- OMS. 2007. Manual de las 5 claves para la inocuidad de los alimentos. Departamento de Inocuidad de alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión alimentaria. Francia.
- Palao, M., Ortegón, A., Giles, M. 2006 Técnicas Microbiológicas de Aplicación en el Control de Calidad de Alimentos. Departamento de Biología. Facultad de Química. México.



- 
- ❏ Pierson M. 2001. Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. 2nd ed. ASM Press. USA.
  
  - ❏ Sci-Tech Dictionary. 2003. Food microbiology. McGraw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms. Mc Graw Hill. En: <http://www.answers.com/topic/food-microbiology?cat=technology->
  
  - ❏ Stevenson, K.E. 1995. HACCP: Establishing Hazard Analysis Critical Control Point Programs. The Food processors Institute, D.T. Editors. Washington, D.C.
  
  - ❏ Stevenson. K.E. 1999. HACCP: A Systematic Approach to Food Safety. 3<sup>rd</sup> Edition. The Food Precessors Institute, D.T. Editors. Washington, D.C.
  
  - ❏ USDA. 2003 Inocuidad alimentaria y seguridad alimentaria, Lo que deben saber los consumidores. Servicio de inocuidad e Inspección de los alimentos Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Disponible en: [http://www.fsis.usda.gov/oa/topics/FoodSec\\_cons\\_SP.pdf](http://www.fsis.usda.gov/oa/topics/FoodSec_cons_SP.pdf)
  
  - ❏ Vanderzant, C. 1992. Compendium of Methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association. Copyright, Washington, D. C. pag. 265-323.
  
  - ❏ Walker, SJ. 2004. The principles and practice of shelf-life prediction for microorganisms. In: Shelf-Life Evaluation of Foods. Aspen Publishers. Gaithersburg, MD. p.p. 34-41
  
  - ❏ Weitzman, I., Cook, O.D., and Massey, J. 2001. Investigation of foodborne illness outbreak. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 4 ed. APHA Publ. Washington, D.C. pp 257-66.