

UNIVERSIDAD IBERO AMERICANA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

CONTROL MICROBIOLOGICO DE QUINCE
MUESTRAS DE HARINA DE TRIGO

TESIS PROFESIONAL

ANA KUNHARDT DE LA GARZA



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.

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

- Control Microbiológico de Quince Muestras de Harina de Trigo.

T E S I S

Que para obtener el título de:
Q U I M I C O
p r e s e n t a :

ANA KUNHARDT DE LA GARZA

MEXICO, D. F.

1960

Con gratitud a mis padres y hermana.

A Don Luis M. Verec.

A mis maestros y compañeros.

A Amador Prades.

I N D I C E

CAPITULO I.

Introducción.

CAPITULO II.

Importancia del control microbiológico de materias primas alimenticias.

CAPITULO III.

Parte experimental.

- a) Cuenta de microorganismos en harina recién molturada.
- b) Cuenta de esporas en harina recién molturada.
- c) Cuenta de microorganismos en harina en el comercio.
- d) Cuenta de esporas en harina en el comercio.

CAPITULO IV.

Conclusiones.

CAPITULO V.

Bibliografía.

INTRODUCCION

Debido a la importancia cada vez mayor que la industria harinera tiene en nuestro país, creí de interés hacer el estudio presente, ya que se há visto que los industriales molineros en su mayoría se contentan durante la molienda con hacer determinaciones muy superficiales de los caracteres organolépticos de los productos de los diversos pasos, importándoles poco o nada determinar las cualidades microbiológicas, aun ignorando las ventajas que les traería el conocerlas por medio de un control microbiológico constante.

Esto les permitiría indudablemente mejorar sus productos de acuerdo con las exigencias del mercado y presentar una competencia ventajosa como se hace actualmente en otros países y en otros productos alimenticios.

El título de esta tesis indica por sí solo el tema a desarrollar con toda claridad; o sea que registra los resultados del análisis microbiológico de muestras de harina de trigo, las cuales fueron dobles, o sea tomadas durante el proceso de molturación unas, y otras de las mismas casas productoras y del mismo tipo, -- muestradas en las panaderías antes de su proceso para llegar al producto final, el pan empleado para consumo doméstico.

El proceso de muestreo fué llevado a cabo de manera que su representabilidad fuera lo suficientemente amplia sobre las condiciones de higiene con que se trabaja en el Distrito Federal, tanto en los molinos como en las panificadoras.

Para obtener un resultado homogéneo, se tomaron al azar quince molinos de trigo entre los mas importantes de nuestra ciudad, y se investigó a cuales panaderías surtían; ésto con el objeto de tener los resultados del análisis tanto para la harina recién molturada, como para la harina antes del paso final de su transformación a pan.

El momento de muestreo también fué seleccionado para que la representabilidad de los resultados fuese lo más exacta posible, -- por ello, las muestras de harina recién molturada, se tomaron --- cuando la harina va a pasar al proceso de blanqueo; y las tomadas en las panaderías se obtuvieron de un saco recién abierto para este objeto y destinado a usarse el mismo día para la elaboración del pan.

Los resultados que se obtuvieron en el presente estudio no tienen validez desde el punto de vista estadístico ya que cada molino puede tener diferentes fuentes de contaminación; cada variedad de trigo tiene flora microbiana distinta; las condiciones de almacenaje varían favorable o desfavorablemente para el desarrollo de células vegetativas; además, estos métodos no se pueden llevar a cabo con exactitud matemática, pero sí nos ayudarán a tener una idea general sobre la higiene de los materiales con que se elabora uno de los productos más solicitados y empleados en la alimentación de una gran parte de los habitantes de esta ciudad.

No pasará mucho tiempo sin que los industriales molineros se den cuenta de lo provechoso que les sería llevar un control microbiológico de sus harinas con vistas a un mejoramiento de sus pro-

ductos. Así pues creo que el estudio que sigue a continuación, -- tiene bastante importancia en la economía y saluoridad de la na-- ción.

Por último, quiero expresar mi agradecimiento al Sr. Dn. Luis M. Vereá por las facilidades que me brindó para efectuar este tra bajo, así como al Ing. Vicente San José director de esta tesis, -- por su ayuda.

I M P O R T A N C I A D E L C O N T R O L
M I C R O B I O L O G I C O
D E M A T E R I A S P R I M A S A L I M E N T I C I A S

El análisis bacteriológico es importante como suplemento de las pruebas organolépticas al controlar la calidad sanitaria de materias primas alimenticias, por ello debe ser suficientemente simple, exacto y económico para poder usarlo como análisis rutinario. Los métodos actuales no son enteramente satisfactorios para un control de calidad moderno. Mas adelante se explicarán algunos indicando sus ventajas y desventajas.

El objeto de este control es fijar unas normas sanitarias a las que deberán sujetarse los fabricantes de alimentos; dichas normas deben estar basadas en algunos factores importantes como son: a) el grado de salud pública general producido por un contenido microbiológico específico en diferentes alimentos. b) el significado de las estadísticas y la interpretación de algunas determinaciones microbiológicas en varios productos. c) los factores económicos y de frecuencia de análisis de calidad microbiológica en la producción alimenticia. d) la opinión sobre el significado de la patogenicidad de los diferentes tipos de bacterias. e) los diferentes problemas que se presentan en la ejecución de las normas de control. f) los resultados de los beneficios en la salud pública obtenidos por un control rígido del contenido bacteriológico en los alimentos.

Durante la elaboración de las diferentes materias primas alimenticias, se llevan a cabo distintos procesos técnicos además de las operaciones de transporte y almacenamiento. En todos estos pasos, a pesar de ser efectuados en las mejores condiciones en cuanto a higiene y limpieza, las materias primas sufren contaminación por el medio ambiente de trabajo, ya sea de la atmósfera o de los aparatos con que se lleven a cabo estas operaciones. Además, cada una de estas materias primas lleve consigo su propia flora microbiana.

Frecuentemente, la actividad de algunas especies de microorganismos es la causa de varias enfermedades del hombre, de los animales y de las plantas, o de determinadas alteraciones que presentan los alimentos, por lo tanto es de suma importancia llevar un control microbiológico de las materias primas alimenticias para prevenir y evitar las anteriores consecuencias.

En este capítulo haremos en primer lugar referencia especial a la harina de trigo, materia prima esencial en la industria de la panificación.

Contaminación de cereales y sus productos durante su manipulación y proceso.- La parte exterior de los granos contiene algo de la flora natural y ésta es capaz de aumentar por contaminación con el suelo y otras fuentes.

Si los granos se almacenan bajo condiciones apropiadas de humedad para el desarrollo de las bacterias (esta humedad no debe-

ser mayor del 15 % en la harina y del 80 % de humedad relativa en el lugar de almacenaje), la flora microbiana puede crecer y producir esporas. El lavado de los granos de trigo elimina algunos microorganismos. Muchos microbios se van con la parte exterior del cereal durante el proceso de molturación. Este proceso y especialmente el blanqueo de la harina efectuado con sustancias químicas (que actúan como germicidas), reducen el número de microorganismos; pero también en los siguientes pasos del proceso puede haber contaminaciones, como en el mezclado y acondicionamiento.

La superficie de una pieza de pan recientemente horneado, está prácticamente libre de microorganismos, pero es susceptible de contaminación por esporas del aire, durante el proceso de enfriamiento y antes de su consumo. La contaminación puede efectuarse en el corte por medio del cuchillo, o por su envoltura con diversos materiales. Hay esporas en la masa resistentes a la temperatura, que sobreviven al proceso de horneado.

Como se indicó anteriormente, incluso la harina recién molida y elaborada en las mejores condiciones, contiene un gran número de bacterias y esporas. En las condiciones de almacenaje y humedad normales, dichos microorganismos no causan ningún trastorno ya que su actividad en dichas condiciones se encuentra inhibida; esto ha sido demostrado por diferentes investigadores, como Kent-Jones y Ams (1930), Gustafson y Parfitt (1933) y Barton Wright (1938). También durante la cocción de la masa, las formas vegetativas de las bacterias y las esporas de hongos, son destruidas. Pero las esporas de bacterias que se hallan en el interior del pan no mueren, debido a la característica de ser termoresistentes. La harina de trigo casi siempre contiene esporas del grupo *Subtilis mesentericus*, por lo que cualquier pan elaborado en condiciones normales, contendrá esporas de estas bacterias. En caso de que las condiciones de elaboración y almacenamiento favorezcan el desarrollo de este tipo de esporas, éstas darán lugar a las bacterias y a la reproducción de las mismas; así el pan sufre una alteración llamada ahilamiento. Esta enfermedad se denota porque el pan desprende un olor dulzaino sofocante, parecido al de la fruta en descomposición; además en la miga aparecen manchas pardo amarillentas muy pegajosas; estas manchas se van extendiendo poco a poco y van adquiriendo un color más intenso, al mismo tiempo, la miga se vuelve más pegajosa, hasta que se forma en el interior del pan una masa semifluida pegajosa de color pardo y de olor sumamente desagradable. Al tocar la miga con algún objeto y retirar éste después, la miga se adhiere a él y se estira en forma de hilos, de ahí el nombre de esta enfermedad. La causa de las características físicas que presenta el pan al tener esta enfermedad, es la conversión del almidón en azúcares por la acción microbiana. Varios investigadores aislaron cepas de distintas bacterias que producían el ahilamiento en el pan y todas resultaron idénticas a la cepa Marburg del *Bacillus subtilis*.

Debido a lo anterior, se ideó un método para la cuenta de esporas termoresistentes en la harina, con lo cual se estableció un control microbiológico en dicha materia prima. El método que se siguió, consiste en agitar la harina en una solución estéril, con harina estéril también. De dicha suspensión, se hacen diferentes diluciones, de las cuales se toma una alícuota y se siembra en caldo nutritivo. Se calientan los tubos que contienen la siembra

a 100°C por 20 o 30 minutos y se incuban a 37°C por 48 horas. En caso de que aparezca una película en la superficie del caldo, que dará de manifiesto la presencia de esporas causantes del ahilamiento. Esta enfermedad para su desarrollo requiere humedad y calor y también se necesita un cierto tiempo de almacenamiento. Generalmente se presenta en verano debido a que la humedad en ese tiempo baja considerablemente. Se ha demostrado que influyen más las condiciones de almacenaje en el ahilamiento, que el número de esporas; ya que se vió que un pan elaborado a partir de una harina con gran contenido de esporas y almacenado de manera que no puedan desarrollarse las esporas ya sea por dichas condiciones, o por enfriamiento; el pan así elaborado se mantuvo en un estado satisfactorio. Para evitar esta enfermedad, la masa debe cocerse bien, el pan se enfriará rápidamente. Si se ha de envolver, esto deberá hacerse cuando el pan esté completamente frío.

De cualquier modo, este control microbiológico es muy útil para el molinero, ya que así sabrá si su harina está más o menos expuesta al ahilamiento y si por lo tanto, debe modificar su sistema de limpia de trigo; o también sabrá si es que observa algún trastorno en el pan, al éste es debido a su método de cocción, o a que la harina que utiliza para la elaboración no tiene las condiciones requeridas.

Se han hecho relativamente pocos estudios sobre este tipo de esporas; se ha encontrado que mejorando el sistema de recolección y molienda, se lograba la ausencia de estas esporas; se indicó así que el ahilamiento podía deberse a los métodos usados para la recolección del trigo. En los otros componentes de la masa también se encontraron esporas en la levadura y en la malta. En las harinas se encontraron hasta 150 esporas por gramo, en cambio en la malta 10 000 por gramo y en la levadura entre 40 y 20 000 por gramo. Laurent en 1885 encontró que con la acidificación de la masa, se evitaba el ahilamiento; pues así se crea un pH adverso al desarrollo de las bacterias. La sustancia más eficaz para este objeto resultó el fosfato ácido de calcio.

Otra enfermedad del pan causada por la actividad bacteriana, es la llamada pan sangrante. Es causada por el *Serratia marcescens*, el cual es un bacilo pequeño que produce un pigmento de color rojo. Se denota por la presencia de manchas rojas. Esta enfermedad se presenta mucho menos frecuente que la anterior.

Los casos de infección por causa de mohos no se tomarán en cuenta, debido a que las esporas de los mohos no resisten las temperaturas de cocción, por lo tanto no se desarrollan; el emmohecimiento del pan se presenta después de la cocción, por una contaminación posterior, o sea que esto no depende de las esporas de mohos que contenga la harina usada, por lo que no es necesario un control de este tipo.

Preservación de cereales y sus productos.- Estudios deseables para este objeto, son los efectos de los procesos y el almacenamiento (incluyendo congelación, refrigeración, tratamiento con calor, anaerobiosis, antibióticos) en las propiedades de las bacterias patógenas indeseables en la salud pública, con énfasis en las consecuencias que pueden producir: larga vida, toxigenidad, virulencia, factores nutritivos que sirvan para producir toxinas.

Muchos cereales y sus productos, debido al bajo contenido de humedad, presentan pocas dificultades para la prevención del crecimiento de microorganismos la cual puede durar mientras estos -- productos permanezcan secos. Algunos materiales se almacenan en depósitos que están protegidos contra animales, especialmente roedores e insectos y que eviten rápidos cambios de temperatura y a un tiempo, incremento de la humedad. Un almacén que tenga una temperatura aproximada de 5 a 10°C, se recomienda para los productos secos. Muchos productos de panadería como panes, pasteles, etc., contienen suficiente humedad como para impedir la contaminación.

Como en las otras industrias alimenticias, la limpieza y sanidad del equipo es esencial por razones de preservación y sanidad. Un equipo mal saneado (antihigiénico) puede ser una causa de crecimiento de bacterias y para la formación de bacterias productoras de ácido, que causan sabor agrio o ácido a la masa.

El pan, pasteles y otros productos de la panificación, susceptibles de una contaminación por hongos, se deben proteger; esta protección del pan es especialmente importante; el pan sale del horno libre de esporas y debe mantenerse en una atmósfera estéril y cortarse con cuchillos también estériles. Su envoltura debe efectuarse en iguales condiciones sanitarias.

Los productos de los cereales pueden ser: no horneados, parcialmente horneados o totalmente horneados. El proceso de horneado total, ordinariamente destruye todas las células de bacterias, levaduras y esporas de hongos, pero no sucede así con las esporas de bacterias termofílicas. Los productos no horneados o los horneados parcialmente usualmente pueden preservarse solamente por un corto período de tiempo o se pueden almacenar en frío durante largo tiempo. Algunos panes como el pan de nueces, pueden ser enlatados.

Generalmente, los panaderos usan preservativos químicos como el propionato de sodio o calcio en cantidades de 0.1 a 0.3% en peso de la harina. Con estos preservativos químicos se trata de evitar el crecimiento de hongos y demás microorganismos. El ácido sórbico generalmente se recomienda como un medio de sustitución del propionato. La acidificación de la masa generalmente con ácido acético, es también un medio para combatir a las bacterias.

La temperatura ambiente es generalmente la empleada en los hornos para almacenar el pan, pero la temperatura de almacenamiento, puede ser peligrosa si se almacenan en cocinas calientes o en el verano, en cuyo caso es preferible guardarlo en un lugar frío o en un refrigerador. El almacenamiento frigorífico de productos de panificación es muy recomendable en productos aún no cocinados y en los parcialmente cocinados (horneados), pues deben almacenar se a una temperatura adecuada que impida el crecimiento de los microorganismos durante mucho tiempo.

En algunas panaderías, los rayos ultravioleta se emplean para destruir o reducir el número de esporas en la masa y en los cuchillos de la masa cortadora y empacadora, también se emplean para la superficie del pan, pasteles y otros productos horneados. La aplicación de rayos ultravioleta a las piezas de pan, se emplea para reducir la probabilidad de contaminación de hongos.

Las radiaciones iónicas, rayos gama y rayos catódicos se emplean experimentalmente para la preservación de los productos de

panificación.

Contaminación de cereales y sus productos.- Los granos de cereales y las harinas provenientes de los mismos, no son susceptibles de echarse a perder por causa de bacterias, si son preparados y almacenados debidamente, ya que la humedad contenida debe ser suficiente para impedir el crecimiento de bacterias. Sin embargo, si la temperatura de almacenamiento es superior a la mínima para el crecimiento bacteriano, éste puede continuarse. Una baja humedad solo permite el crecimiento de hongos, pero si aumenta entonces sí se permite el crecimiento de levaduras y bacterias.

Una masa húmeda de los granos o de los productos panificados, es una causa que ayuda la fermentación ácida producida por el ácido y las bacterias coliformes, generalmente presentes en la superficie de la planta. Esto puede ser seguido por una fermentación alcohólica por levaduras tan pronto como la acidez ha llegado a incrementarse lo suficiente para favorecerla.

La limpieza en seco, el lavado de los granos y el cernido de la harina reduce el contenido de la flora microbiana, pero las clases principales quedan presentes en las harinas de trigo, y la contaminación será similar a la ya descrita para los granos. La harina blanca de trigo sin embargo se blanquea, por medio de agentes oxidantes como el óxido de nitrógeno, cloro, cloruro de nitrógeno, tricoloruro de nitrógeno o peróxido de benzolito; y este proceso sirve para reducir la cantidad de microorganismos en número y tipos.

Thom y LaFevre explicaron que un contenido de humedad inferior a 15% previene el crecimiento de todos los microorganismos. Otros investigadores indican que una humedad mayor a 17%, permite el crecimiento de bacterias. Resulta muy difícil predecir la clase de contaminación que va a sufrir la pasta para hornear, pues depende de los diferentes caracteres de las diversas clases de harina existentes en el mercado.

Si se encuentran presentes las bacterias productoras de acidez, comienza una fermentación ácida seguida de una fermentación alcohólica ocasionada por levaduras si es que las hay; luego viene la producción de ácido acético por las especies Acetobacter. Esta sucesión de cambios es más notable en las harinas recién salidas del molino, que en las que han estado almacenadas por un largo período con la lógica reducción (por escasa humedad) de microorganismos en número y clases. En la ausencia de microorganismos de tipo láctico y coliformes se puede encontrar que la masa se vuelve ácida, pues pueden presentarse las especies de Bacillus especialmente aerobacilos, que producen ácido láctico, gas, alcohol, acetona y pequeñas cantidades de éteres y otros compuestos aromáticos, esto se determina fácilmente por el olor a ácido acético y ésteres que se desarrolla en las pastas de harina.

En el pan, la contaminación más común es aquella que causa el ahilamiento ya descrito anteriormente. La producción de esta enfermedad, se favorece por los factores siguientes:

- 1) Contaminación de la masa con esporas o bacilos proveniente de los ingredientes, en donde sin duda el más importante es la harina, por lo que dicha harina debe ser controlada y analizada para saber su contenido de esporas y bacterias mesofílicas. La levadu-

ra, leche en polvo, azúcar, malta, etc. pueden también ser la causa de la contaminación.

2) Contaminación de la masa por el equipo o si el pan se corta, - por las cuchillas. Esporas de *Bacillus subtilis* pueden aparecer - en el equipo.

3) Enfriamiento lento del pan después del horneado, lo cual favorece la germinación rápida de esporas y la multiplicación de células vegetativas en el pan.

4) Descenso de acidez en el pan; el *Bacillus subtilis* se favorece por un pH cercano al neutro y a medida que el pH vá siendo más ácido, su vida es más difícil, siendo fatal a un pH igual a 5.

5) Almacenamiento del pan en atmósferas húmedas y calientes; ésto ocurre principalmente en el verano. Un pan que contiene esporas, - puede desarrollar la enfermedad a temperaturas sobre 33°C.

Métodos de prevención para el abilitamiento:

1) Uso de materias primas no contaminadas con esporas.

2) Limpieza y saneamiento adecuado del equipo puesto en contacto con la masa.

3) Enfriamiento rápido del pan.

4) Adición de propionato de calcio o sodio (0.1 a 0.3 %), o de -- fosfato ácido de calcio.

5) Almacenamiento a bajas temperaturas.

Diversas opiniones sobre la Microbiología Alimenticia.- Mucho se ha discutido sobre los problemas en el análisis microbiológico de los alimentos. Este análisis ha sido llevado durante varias décadas, pero los principios fundamentales y los métodos a seguir - no hán sido resueltos a satisfacción de la investigación en la -- producción y las agencias de legislación y de control sanitario - de los Estados Unidos y del Canadá.

El Dr. Daek, discutió acerca del análisis microbiológico de alimentos como una parte esencial de las agencias que hay con objeto de que se observe la ley, para tener un control de todas las - materias primas que se emplean en los procesos alimenticios. Es esencial el conocimiento de las fuentes por las que se producen microorganismos y conocer también, los efectos selectivos de la temperatura, humedad, pH y procesos de manufactura. Las bacterias - pueden ser útiles en algunos procesos en los cuales la destrucción de gérmenes debe ser muy selectiva.

Los virus patógenos como las bacterias entéricas, pueden llegar por contaminación por materias fecales durante su manipulación. Los micrococcos se contaminan por heridas en la piel de individuos ya contaminados que manipulen estos productos; por ejemplo *Salmonella*.

La cuenta total bacteriana no nos dá la sanidad de los alimentos, pero sí sirve para tener un control de calidad.

El Dr. Gundersen, trató los problemas de muestreo en los alimentos y demostró que no hay una relación directa entre el número de microorganismos, según se haya tomado la muestra en el producto terminado, en el proceso y en el producto que compra el consumidor. Dice que los altos contenidos bacterianos son producidos - por temperaturas inapropiadas en el almacén; en estudios hechos, - no hubo incremento de bacterias psicrófilicas o mesófilicas después de haber estado a una temperatura de -25°C durante 3 meses; -

en cambio al estar a 0°C, las bacterias psicrófilas y mesófilas se incrementaron más despacio al principio, pero a los 24 días, se incrementaron mucho, de 15 000 o 25 000 a más de un billón. A 5°C, fué más rápido el incremento, pues aunque durante 5 días tuvieron un desarrollo muy lento, a los 10 días se habían producido de 3 a 6 billones de bacterias, siendo la mayor parte de ellas bacterias mesófilas. A 20°C, el producto se echó a perder en 2 días, notándose una superioridad de bacterias mesófilas. Después de haber cocinado los alimentos, las bacterias disminuyeron a cero. La cuenta microbiológica de menos de 250 000 bacterias -- por gramo de producto, es lo obtenido en la mayoría de los procesos industriales.

El Dr. Silliker trató la selección de métodos bacteriológicos mostrando que ellos son menos precisos que los métodos analíticos químicos. Además sus resultados son de más difícil interpretación que los métodos químicos.

El mismo investigador dice que el aislamiento de tipos específicos no es suficiente para controlar su producto, sino que se debe cuantear cada tipo individualmente, así pues, cada tipo es una parte de la flora microbiana total, y por ello los microorganismos deben ser separados por condiciones físicas, pero como no son condiciones muy exactas, sino que varias bacterias pueden vivir en condiciones semejantes, entonces es difícil el llegar a una determinación cuantitativa exacta de las bacterias presentes en la materia prima alimenticia y se necesita una gran cantidad de medios y de métodos de cultivo. El Dr. Silliker estableció, que es peligroso el asignar especificaciones arbitrarias en los métodos de preparación de alimentos, pues se puede tener reproducción de bacterias.

El Dr. Hobbs estudió las fuentes y multiplicación de bacterias patógenas en alimentos, como una parte integral del análisis microbiológico, enfatizando que se deben seguir ciertas normas de seguridad como por ejemplo la cloración del agua, la pasteurización y refrigeración de la leche. También insistió en llevar un control de laboratorio para reducir las enfermedades producidas por alimentos. Un gran número de materias primas alimenticias muy comunes deben tener métodos de control sobre la existencia de ciertos microorganismos indeseables como Salmonella, Micrococcus o Clostridium, los que producen enfermedades gastrointestinales.

Las fuentes de contaminación de estos géneros, son principalmente: a) manipulación humana anti-higiénica. b) contaminación por contacto con animales. c) productos animales empleados como materia prima.

La manipulación humana de Salmonella, no se conoce como causa de esta contaminación, pero sin embargo se presenta. El Staphylococcus se presenta en los conductos nasales de 50 a 60 % y en las manos de 10 a 20 %.

Las cuentas totales mayores, están asociadas con el número de fuentes prribables de enfermedad por las que haya pasado el alimento. Es esencial la medición de la flora total aerobia y anaerobia como el Clostridium perfringens venenoso, que puede existir bajo en la cuenta aerobia y alto en la anaerobia.

El Dr. Mallison expuso los métodos que indican las especies y su significado, incluyendo una discusión de los organismos que --

son usados para indicar que el agua está en mal estado desde el punto de vista higiénico; y los problemas que incluye el análisis bacteriológico de los alimentos. El medio que rodea los microorganismos también es un factor que debe tomarse en cuenta durante la investigación.

El Dr. Thatcher habló sobre el tema de la importancia que pueden tener las normas microbiológicas. Indica que un sistema analítico debe tener como finalidad en aumentar la calidad del producto y disminuir los factores que producen infecciones bacterianas. El solo cuanteo de los microorganismos, no debe servir como única fuente de control; como ejemplo cita que algunos alimentos que -- contenían *Staphylococcus*, al hacer el análisis, no eran observados dichos microorganismos.

También trató el Dr. Thatcher sobre las dificultades técnicas de un procedimiento rutinario para determinar todos los tipos de bacterias patógenas y de posibles virus presentes. Aunque los alimentos contengan ciertos tipos patógenos, ellos no son necesariamente causa de enfermedades. Alimentos con *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, etc., pueden ser encontrados en el mercado y no causar enfermedades si después son sometidos a procesos de cocción fuertes, de refrigeración o de lavado, pero -- como regla general, son muy peligrosos; los alimentos deben ser examinados en el mercado o durante el proceso final de fabricación.

El Dr. Messel puntualizó sobre la sanidad biológica de los alimentos, anotando la importancia del control de los alimentos antes de llegar al consumidor con objeto de prevenir enfermedades. Los alimentos para los cuales el punto epidemiológico debe ser -- controlado estrictamente, son: alimentos primos como huevos, salchichas; alimentos pasteurizados, como salchichas ahumadas, leche deshidratada, carnes congeladas; alimentos enlatados.

El muestreo para el análisis se debe realizar con sumo cuidado pues en caso contrario se tendrán como resultados, datos erróneos. La interpretación de resultados puede ser hecha solamente -- después de un estudio minucioso de todos los factores que puedan introducir microorganismos en la producción de alimentos.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Método.- Las cifras del contenido bacteriano de la harina de trigo varían según la técnica utilizada en la determinación.

El método empleado para esta determinación fué tomado del Cereal Laboratory Methods y es el siguiente:

Cuenta total de bacterias en la harina.

Preparar el siguiente medio:

| | |
|-------------------|----------|
| Peptona | 5.0 gr. |
| Cloruro de sodio | 2.5 gr. |
| Extracto de carne | 6.5 gr. |
| Agua destilada | 1.0 lt. |
| Agar-agar | 15.0 gr. |

Se llenan tubos de ensaye con 9 ml. de agar, se esterilizan en autoclave a 15 libras de presión y 120°C por 30 minutos. Se preparan una serie de frascos de dilución, poniendo 100 ml. de agua en cada uno de los frascos de boca angosta, y unas bolitas de vidrio. Se tapan con algodón y se esterilizan.

Determinación: se pesa 1 gr. de harina y se pone en uno de los frascos que contenga 100 ml. de agua; se agita fuertemente. Con una pipeta esterilizada se sacan 10 ml. de agua de un segundo frasco, a dejar 9Cml. Con la misma pipeta sacar 10 ml. del primer frasco que tiene la dilución 1:100 y pasarlos al frasco número 2. Así queda en este frasco una dilución 1:1 000; se pasan 10 ml. de este frasco al número 3, para hacer una dilución 1:10 000. Sacar 1 ml. de la dilución 1:1 000 y hacer una dilución 1:100 000 en el frasco número 4. Agitar. Se toma 1ml. por triplicado de los frascos 2, 3 y 4 y se pasan a cajas petri esterilizadas. Se usan diferentes pipetas para cada frasco. Se funden 9 tubos de agar y se entibian a 45°C. Se vacía un tubo de agar fundido en cada caja Petri. Se mezcla bien, moviendo la caja con movimientos de rotación en forma de ocho. Se ponen a incubar las placas a 37°C por 48 horas. Se hace la cuenta de cada una de esas placas y cada cuenta se multiplica por su dilución correspondiente. El promedio de estas cuentas, puede considerarse como el número de bacterias por gramo de harina.

Esporas de bacterias en la harina.

Se usa el mismo medio que en el método anterior.

Determinación: se colocan 20 gr. de harina en un frasco que contenga 100 ml. de agua destilada; se agita fuertemente. Por medio de una pipeta esterilizada se sacan 5 muestras de 1 ml. cada una y se pasan a 5 tubos de agar fundido. Se colocan estos tubos en baño María por 20 minutos exactamente. Ahora se vacían en 5 cajas Petri y se incuban a 37°C por 24 horas. Se cuenta el número total de colonias en las 5 cajas y el resultado es el número total de esporas por gramo.

Hay en general cuatro métodos para estimar el número de bacterias presentes en productos alimenticios:

- 1) Dilución en placas standard que es el anteriormente descrito.
- 2) El método directo empleando el microscopio.

- 3) El método de cultivo inclinado (tubos de ensaye).
- 4) El método de Frost de microsembrado.

El método atandard de cuenta en placas, ha sido muy criticado por varios investigadores, principalmente por Wilson que dice: " la cuenta de varias especies debe estar controlada por sus necesidades nutritivas, respiratorias y de temperatura; lo más importante es la repartición homogénea en la placa, y aquí se tiene una gran irregularidad en la distribución de los organismos. Unas bacterias se desarrollarán y multiplicarán más que otras debido a las condiciones del medio más o menos favorables para su crecimiento ".

El método directo empleando el microscópio, descrito por Prescott y Breed en 1919 se efectuó derramando una película de leche sobre un área definida en un portaobjetos y contando después las células por medio de un microscopio con el campo calibrado. En este método, se tienen dos inconvenientes principales: la lógica imposibilidad de tomar una muestra totalmente homogénea, siendo de tan poco volumen y la pérdida de bacterias durante la manipulación.

El sistema de tubos de ensaye tiene los mismos inconvenientes que el de placas pero con la ventaja que se requiere de menor espacio para trabajar.

El método de microsembrado de Frost (Little Plate Method), -- consiste en el uso de una placa para una mezcla de medio de agar y muestra: una película preparada con 0.05 ml. de muestra con 3 - gotas de medio de cultivo en un portaobjetos; se incuba en una cámara húmeda durante 18 horas y entonces se observa al microscopio. Este método de microsembrado describe nuevos cambios en los sistemas para control microbiológico en las industrias alimenticias. -- Es relativamente simple y barato; elimina la constante observación y reduce los cálculos y tiempos. Los resultados obtenidos en el método de microplacas dan una estimación muy real de la población bacteriana de los alimentos.

Si la cuenta standard se toma como satisfactoria, el método de microsembrado se puede considerar como una gran ayuda para la rápida evaluación de las condiciones sanitarias de los productos alimenticios. Con el micrométodo se redujo el tiempo de incubación en 38 horas.

Diferentes cuantecos en la misma muestra indican una menor variación en el micrométodo, que en el método standard. Se usa una mayor cantidad de muestra en la microtécnica que en el standard, -- por lo cual es más exacto el primero. La microtécnica es un método más económico debido a que usa portaobjetos en lugar de cajas-Petri, y la cantidad de medio es una vigésima parte del necesario en la técnica standard. Además las muestras del microsembrado pueden conservarse y archivarse.

Otra ventaja del micrométodo es : en el método standard solo se pueden contar las células que se reprodujeron lo suficiente para poder ser observadas, y en la microtécnica se observan todas las células, inclusive las muertas, cosa imposible en el standard

a) CUENTA TOTAL DE MICROORGANISMOS EN MUESTRAS DE HARINA
 RECIEN MOLTURADA.

| | | | |
|--------------|-----------|-----|--------|
| Muestra I | 1 525 000 | por | gramo. |
| Muestra II | 460 000 | por | gramo. |
| Muestra III | 650 000 | por | gramo. |
| Muestra IV | 800 000 | por | gramo. |
| Muestra V | 850 000 | por | gramo. |
| Muestra VI | 260 000 | por | gramo. |
| Muestra VII | 276 000 | por | gramo. |
| Muestra VIII | 600 000 | por | gramo. |
| Muestra IX | 625 000 | por | gramo. |
| Muestra X | 650 000 | por | gramo. |
| Muestra XI | 500 000 | por | gramo. |
| Muestra XII | 400 000 | por | gramo. |
| Muestra XIII | 425 000 | por | gramo. |
| Muestra XIV | 320 000 | por | gramo. |
| Muestra XV | 525 000 | por | gramo. |

b) CUENTA DE NUMERO DE ESPORAS EN LAS MUESTRAS DE HARINA
 RECIEN MOLTURADA.

| | | | |
|--------------|-----|-----|--------|
| Muestra I | 100 | por | gramo. |
| Muestra II | 150 | por | gramo. |
| Muestra III | 300 | por | gramo. |
| Muestra IV | 270 | por | gramo. |
| Muestra V | 180 | por | gramo. |
| Muestra VI | 190 | por | gramo. |
| Muestra VII | 100 | por | gramo. |
| Muestra VIII | 180 | por | gramo. |
| Muestra IX | 75 | por | gramo. |
| Muestra X | 140 | por | gramo. |
| Muestra XI | 50 | por | gramo. |
| Muestra XII | 150 | por | gramo. |
| Muestra XIII | 220 | por | gramo. |
| Muestra XIV | 210 | por | gramo. |
| Muestra XV | 225 | por | gramo. |

c) CUENTA TOTAL DE MICROORGANISMOS EN MUESTRAS DE HARINA
EXISTENTES EN EL LUGAR DE USO.

| | | | |
|---------|-------|-----------|------------|
| Muestra | I' | 1 080 000 | por gramo. |
| Muestra | II' | 384 000 | por gramo. |
| Muestra | III' | 600 000 | por gramo. |
| Muestra | IV' | 740 000 | por gramo. |
| Muestra | V' | 870 000 | por gramo. |
| Muestra | VI' | 385 000 | por gramo. |
| Muestra | VII' | 150 000 | por gramo. |
| Muestra | VIII' | 950 000 | por gramo. |
| Muestra | IX' | 1 050 000 | por gramo. |
| Muestra | X' | 500 000 | por gramo. |
| Muestra | XI' | 150 000 | por gramo. |
| Muestra | XII' | 186 000 | por gramo. |
| Muestra | XIII' | 175 000 | por gramo. |
| Muestra | XIV' | 180 000 | por gramo. |
| Muestra | XV' | 270 000 | por gramo. |

d) CUENTA DE NUMERO DE ESPORAS EN LAS MUESTRAS DE HARINA
EXISTENTES EN EL LUGAR DE USO.

| | | | |
|---------|-------|-----|------------|
| Muestra | I' | 490 | por gramo. |
| Muestra | II' | 170 | por gramo. |
| Muestra | III' | 110 | por gramo. |
| Muestra | IV' | 516 | por gramo. |
| Muestra | V' | 480 | por gramo. |
| Muestra | VI' | 300 | por gramo. |
| Muestra | VII' | 425 | por gramo. |
| Muestra | VIII' | 143 | por gramo. |
| Muestra | IX' | 120 | por gramo. |
| Muestra | X' | 130 | por gramo. |
| Muestra | XI' | 220 | por gramo. |
| Muestra | XII' | 300 | por gramo. |
| Muestra | XIII' | 200 | por gramo. |
| Muestra | XIV' | 303 | por gramo. |
| Muestra | XV' | 190 | por gramo. |

e) CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS COLONIAS Y
MICROORGANISMOS EXISTENTES.

Antes de desarrollar este tema, expondremos ciertas generalidades de Bacteriología relacionadas con el título anterior.

Acción de los agentes físicos en las bacterias.- El hecho de que las bacterias sean susceptibles de sufrir perjuicios o lesiones por muchos agentes físicos, nos da medio para regular su control o bien, tener su completa destrucción. Así también, los agentes físicos debemos controlarlos, cuando por razón de estudios u otros motivos, nos interesa el desarrollar el crecimiento de alguna especie. Así pues, citaremos diferentes agentes físicos, tomando en cuenta sus acciones respectivas.

Luz.-Muchos experimentos en el laboratorio han demostrado que la luz es perjudicial a la vida de las bacterias, demostrando que lo que determina su poder es la acción o efecto calorífico; otra explicación es la que nos dice que la luz favorece ciertas reacciones químicas perjudiciales a la vida bacteriológica; que produce ciertas sustancias en el interior de la bacteria que son venenosas y por lo tanto las matan. Otra explicación indica que la luz produce en el protoplasma de las células una coagulación de las proteínas, que es incompatible con la vida. Ciertos compuestos químicos esenciales para la vida de los microorganismos se conoce que son destruidos por la luz; como ejemplo tenemos la riboflavina y la piridoxina.

Luz solar.- La fuerte luz solar destruye totalmente la bacteria cuando tiene exposición directa, por ello la luz solar es un agente higiénico que destruye las células de bacterias indeseables.

Luz ultravioleta.-Esta porción del espectro es totalmente destructora para las bacterias, se emplea para esterilizar agua, también se comenzó a usar para pasteurizar la leche, pero debido a la opacidad de ésta, se tuvo que deshechar, pero sin embargo se sigue empleando para muchas esterilizaciones, como en algunos molinos modernos.

Rayos X.- Estas radiaciones de una longitud de onda menor a la de los rayos ultravioleta, son muy tóxicas para la vida del protoplasma, puede destruir bacterias que se encuentran ocultas a la superficie; se emplean en curaciones de diversas enfermedades.

Temperatura.- Es el agente físico más importante para todas las formas de vida. Muchos organismos necesitan para su desarrollo una determinada temperatura. Los microorganismos son muy susceptibles tanto a altas como a bajas temperaturas. La reacción de la bacteria a la temperatura, nos indica un elemento de separación en grupos, sin embargo, no son grupos bien definidos pues existen bacterias que tienen su medio de vida óptimo en condicio--

nes medias entre dos grupos. Hay tres clases de bacterias agrupadas según las temperaturas a que se desarrollan:

a) Bacterias termofílicas. Su temperatura óptima está entre 55 y 60°C. La máxima es 70 a 75°C y la mínima es aproximadamente 45°C. Sin embargo, esto es variable. Algunos autores definen que hay 2 tipos, las estrictamente termofílicas que necesitan constantemente esta alta temperatura para su crecimiento y las termofílicas facultativas que también pueden crecer a la temperatura óptima para las mesofílicas.

b) Bacterias psicofílicas. Crecen a bajas temperaturas. La óptima está entre 5 y 10°C, la mínima cercana a 0°C.

c) Bacterias mesofílicas. Sus rangos de crecimiento están entre los de las dos anteriores. Su temperatura óptima está entre 30 y 37°C. En este grupo están las formas patógenas que causan enfermedades en animales y en el hombre.

La temperatura máxima es la más alta a la cual el organismo puede vivir y llevar a cabo todas sus funciones. Temperatura mínima es la más baja a la cual se pueden llevar a cabo estas funciones. El crecimiento de las bacterias en esta temperatura, es muy lento, pero sin embargo viven más tiempo que a otras temperaturas pues llevan una vida con el mínimo de energía y de desgaste, lo que les hace durar más tiempo. Temperatura óptima es la temperatura a la que se desarrollan perfectamente y tienen sus facultades en perfecto estado, mediante un equilibrio entre el anabolismo y el catabolismo. No hay una temperatura a la cual, todas las células mueren instantáneamente, siempre se deben considerar otros factores cuando se estudian las acciones letales del calor en las suspensiones de bacterias. Estos factores son:

- 1) Tiempo. Cuando se estudia la temperatura de destrucción de una bacteria, debe de hacerse junto con un estudio del tiempo, pues tiene el mismo efecto una temperatura alta a corto tiempo que una baja a mucho tiempo. Esto se puede ilustrar con el proceso de pasteurización de la leche, pues lo mismo da calentar a 90°C por uno o dos minutos que a 62.5°C durante 30 minutos.
- 2) Número de células. A mayor cantidad de células presentes, mayor es la temperatura o el tiempo de esterilización, pues las células se agrupan para ofrecer una mayor resistencia a los efectos del calor.
- 3) Cantidad de agua presente. Este es uno de los estudios esenciales en la coagulación de proteínas y la destrucción de la bacteria por calor. Cuando los materiales que forman el protoplasma de la célula se coagulan por el calor, las actividades normales de la célula disminuyen y la cantidad de agua es factor que define la coagulación de la materia; como ejemplo tenemos la clara de huevo, que con diferentes concentraciones de agua coaguló a diferentes temperaturas: 50% a 56°C; 25% a 74-80°C; 6% a 145°C.
- 4) Edad de las células. Las células viejas mueren más fácilmente al esterilizar.
- 5) Reacción del medio. El pH del medio tiene gran influencia en la vida de los cultivos, por lo cual las determinaciones experimentales deben hacerse en un pH muy cercano al neutro.
- 6) Tipo de organismo. Cada tipo de bacteria tiene para este fin un grado de temperatura especificado.
- 7) Presencia de esporas. La presencia de esporas hace que el orga

nismo sea muy resistente al calor.

Hay varios métodos y sistemas para la destrucción de las bacterias; entre las más importantes citaremos: esterilización por calor seco o húmedo; esta esterilización se realiza de diferentes modos; incineración, a la flama, estufa de aire caliente, esterilización electrónica, ebullición, planchado, estufa de alta presión, pasteurización. Otro sistema de destrucción es el secado, - pues la ausencia de humedad bajo condiciones atmosféricas ordinarias es perjudicial para los organismos, que mueren al poco tiempo; algunos resisten; pero debido a que son muy pocos, el secado es un sistema usado en la preservación de los alimentos.

Características morfológicas de los microorganismos existentes.- Para este estudio, es indispensable la ayuda de un microscopio -- que dé una ampliación suficiente para obtener una imagen clara -- de organismos tan pequeños como de 0.15 micras de diámetro. Para esta observación se pueden seguir varios procesos que se mencionan a continuación. En el estudio efectuado, la observación se hizo con un frotis coloreado en fresco con azul de metileno, observándose únicamente el tamaño y forma.

Sistemas seguidos para la observación:

a) Exámen de células vivas sin colorear. Se determina la forma, - estructura interna, movilidad, proceso de reproducción, formación y germinación de esporas. Se coloca una gota de cultivo líquido - en un portaobjetos y se tapa con un cubreobjetos. Es una determinación muy difícil; se pueden emplear luces de diversos tipos y - longitudes de onda.

b) Exámen de células coloreadas. Se añaden diversas soluciones colorantes a las soluciones que contienen células vivas. La coloración simple se hace tratando la preparación fija con una solución de azul de metileno, fucsina básica, fucsina fenicada, cristal -- violeta o alguna otra anilina básica. Esta coloración tiene afinidad por las proteínas como las que existen en el nucleoplasma, pero no colorean las grasas libres, ni los hidratos de carbono. Las bacterias jóvenes se colorean uniformemente. Las células de algunas especies que tienen grasa, muestran vacuolas de grasa no coloreadas. Las endosporas de las bacterias no se colorean por las coloraciones normales en corto tiempo; pero la parte vegetativa de cada espora sí se colorea. Es posible también el hacer preparaciones de coloraciones negativas, mediante el uso de tinta de la India, nigrosina o rojo Congo. En estas preparaciones, las células no se colorean, en cambio aparece el color oscuro de la sustancia densa que se encuentra alrededor de la célula.

Clasificación de bacterias.- Después de que un cultivo puro há sido caracterizado, se le dá un nombre de género y de especie. Se deben seguir tres reglas básicas en la asignación de nombres científicos a las bacterias: a) el nombre científico de una bacteria está hecho de dos palabras con terminación latina. b) la primera palabra o sea el nombre del género, siempre es un nombre propio y por lo tanto vá con mayúscula. c) la segunda palabra que es el nombre de la especie, es generalmente un adjetivo o un nombre en caso genitivo.

En la actualidad, ninguna clasificación se acepta como norma-

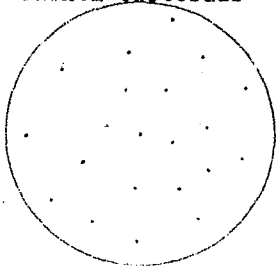
standard por todos los bacteriólogos, sin embargo, la clasificación presentada por Bergey es la más empleada. Hay ciertos cultivos que no se les encuentra cabida en la clasificación, lo que indica que el sistema es inadecuado, o que se trata de alguna variante de una especie clasificada.

Las características morfológicas, de cultivo, fisiológicas, patogénicas e inmunológicas, son generalmente constantes. Si un cultivo puro de bacterias crece en un medio específico, se producen y suceden generaciones de células que son similares en todas sus características a las células iniciales. Esta constancia es absoluta cuando la bacteria se reproduce por división asexual, y hay muy pocas posibilidades de que difieran sus características. Sin embargo, hay células que varían conforme al tiempo y éste se debe conocer y tomar en cuenta para su clasificación e identificación. Cuando son importantes estos cambios, se debe clasificar como una nueva especie y si son de poca importancia, se toma como una variante de la especie. Estas variaciones son de dos tipos que se mencionan a continuación: a) variación temporal o reversible. Los cambios ocurren durante el crecimiento de un cultivo. Las células viejas, generalmente difieren de las jóvenes que son las que se consideran como especies típicas para la clasificación. Algunas bacterias pueden cultivarse en ciertos medios o bajo algunas condiciones que las obligan a formar cápsulas, pero de nuevos medios favorables, vuelven a su tipo normal. El *Clostridium botulinum* cuando crece en un medio rico en hidratos de carbono aprovechable y bajo relativamente en alimentos nitrogenados, produce poco o nada de toxina botulínica, pero cuando se siembra en alimentos nitrogenados y cantidad apropiada de hidratos de carbono, vuelve a producir la toxina. b) Variación permanente, irreversible o mutación. El *Bacillus anthracis*, cuando se cultiva a una temperatura constante de 42°C pierde por algún tiempo la facultad de producir esporas; a 37°C, ya no puede volverlas a producir, dando lugar a una variación permanente. Cuando la *Salmonella typhosa* se cultiva en un medio constante que contenga fenol, pierde su flagelo y dá lugar a una nueva especie sin flagelo.

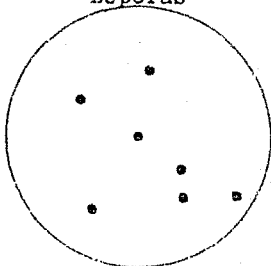
Disociación. Cuando una célula o varias células obtenidas de un cultivo puro, se colocan en un medio que contiene agar, se producen una o varias colonias semejantes a la inicial; esto es lo que ocurre usualmente. Pero se ha demostrado, que de una colonia, se pueden producir varios tipos: 1) una colonia lisa, brillante, regular, húmeda y de bordes lisos, conocida como tipo "smooth" (liso); 2) una colonia muy húmeda, lisa, brillante, regular, de bordes lisos y muy viscosa llamada tipo "mucoid" (mucosa); 3) una colonia irregular de superficie y bordes ásperos, seca, conocida como tipo "rough" (rugosa). La formación de cada uno de estos tipos diferentes, de colonias de una inoculación hecha con un cultivo puro, a otro tipo, se conoce como disociación. Las principales causas de este fenómeno, son: cambios en el pH, en las condiciones de oxidación-reducción del medio, y la presencia de alguna sustancia como cloruro de litio que se ha probado como disociante de bacterias. La disociación debe tomarse muy en cuenta en la clasificación de las bacterias.

MUESTRA I

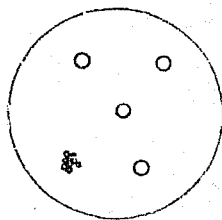
Cuenta bacterias



Esporas

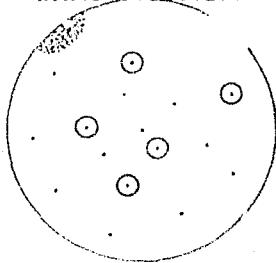


Coloración es fresco

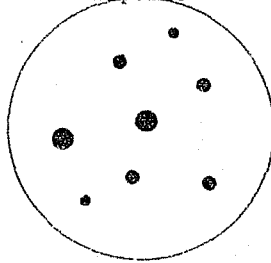


MUESTRA II

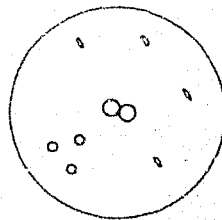
Cuenta bacterias



Esporas

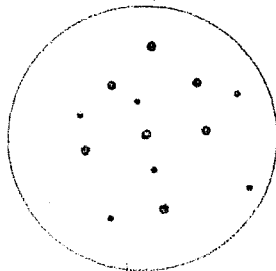


Coloración en fresco

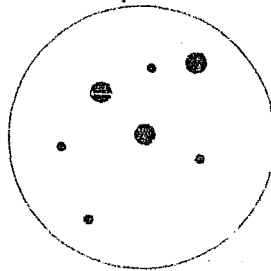


MUESTRA III

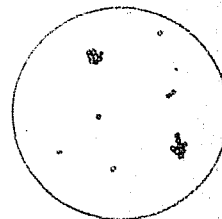
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA I .

Cuenta de bacterias.- Forma: puntiforme. Aspecto: seco. Brillo: - mate. Color: blanco. Observaciones: no licúan.

Esporas.- Forma: filamentosa. Aspecto: seco. Brillo: mate. Color: - blanco. Observaciones: no licúan.

Las bacterias parecen ser microorganismos pertenecientes a la familia Micrococáceas, género Micrococcus. Las células son esféricas en grupos o paquetes irregulares. Algunas especies de este género dan colonias en agar puntiformes, blancas, lisas. También -- hay células pertenecientes a levaduras.

Las esporas pueden pertenecer al género Bacillus (familia Baciláceas). El Bacillus fusiformis da colonias redondas, blancas, opacas, esparcidas, filamentosas. Da esporas esféricas.

MUESTRA II .

Cuenta de bacterias.- Color: blanco. Aspecto: seco. Brillo: mate. Observaciones: no licúan. Un agrupamiento puntiforme; las demás - aisladas puntiformes, algunas con halo nebuloso.

Esporas.- Color: blanco. Aspecto: seco. Brillo: mate. Observaciones: no licúan. Forma: redonda de varios tamaños.

Algunas especies del género Bacillus presentan características en contradas en los microorganismos de esta muestra, como el formar colonias de grano fino, formación de endosporas, colonias opacas-circulares de borde entero y colonias pequeñas opacas; las células en forma de varillas y las esporas esféricas.

Dentro de las Lactobacteriáceas, el Lactobacillus leichmannii tiene células en forma de varillas y da colonias pequeñas con halo, - de centro blanco.

MUESTRA III .

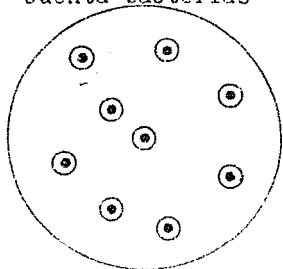
Cuenta de bacterias.- Color: blanco. Aspecto: seco. Brillo: mate.- Forma: redonda de varios tamaños. Observaciones: no licúan.

Esporas.- Color: blanco. Aspecto: seco. Brillo: opaco. Forma: redonda. Observaciones: no licúan.

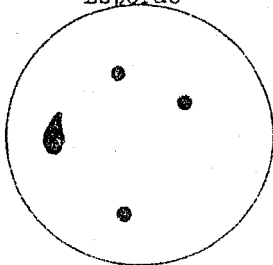
Familia Micrococáceas. Especies de los géneros de esta familia, - producen colonias similares a las observadas; colonias blancas, opacas y circulares. Las células observadas aparecen solas, en pares y en grupos irregulares.

MUESTRA IV .

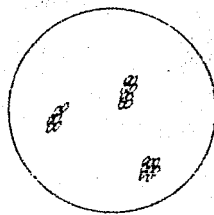
Cuenta bacterias



Esporas

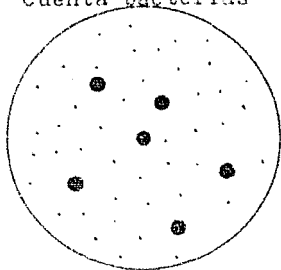


coloración en fresco

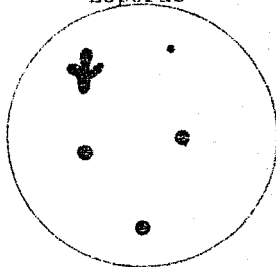


MUESTRA V .

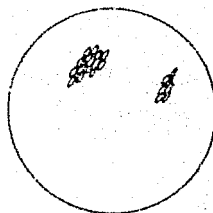
Cuenta bacterias



Esporas

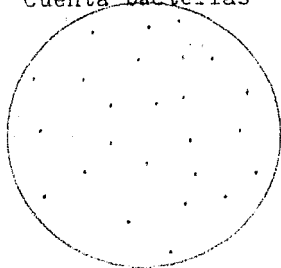


Coloración en fresco

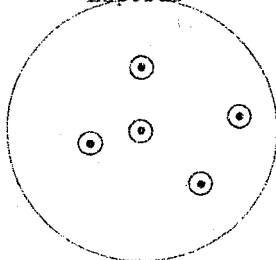


MUESTRA VI .

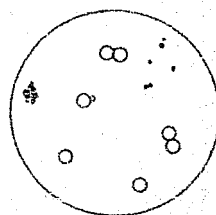
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA IV .

Cuenta de bacterias.- Color: blanco. Brillo: mate. Forma: redonda
Observaciones: halo opaco nebuloso.

Esporas.- Color: blanco. Brillo: mate. Forma: redonda e irregular
Las colonias con halo nebuloso pueden pertenecer a la familia Bac-
teriáceas, género Bacillus, pues algunas especies dan este tipo -
de colonias y sus células son en forma de varillas.

Las esporas pueden pertenecer a la familia Baciláceas, género Ba-
cillus, ya que algunas especies dan colonias blancas opacas, cir-
culares e irregulares.

MUESTRA V .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo: opaco. Forma: redonda
y puntiforme. Observaciones: licúan.

Esporas.- Color: blanco. Brillo: opaco. Forma: redonda y ameboide
Observaciones: las ameboides son de color amarillo claro.

Las esporas de esta muestra pueden pertenecer al Bacillus subti-
lis de la familia Baciláceas, ya que esta especie, de colonias --
circulares y ameboides opacas de color blancuzco. La forma de las
células es bacilar. Las otras colonias pueden pertenecer tambié-
n a la familia y género anteriores; las especies fusus y lentus pro-
ducen colonias pequeñas, circulares, blancas, opacas de borde en-
tero.

MUESTRA VI .

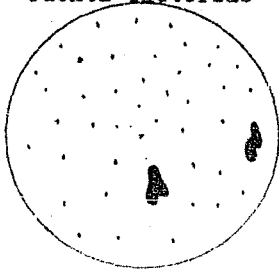
Cuenta de bacterias.- Color: blanco. Aspecto: brillante. Forma: -
puntiformes. Observaciones: licúan.

Esporas.- Color: blanco. Aspecto: brillante. Forma: redondas con-
halo transparente. Observaciones: licúan.

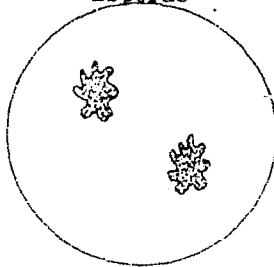
Las células observadas parecen pertenecer a la familia Micrococá-
ceas, género Staphylococcus, ya que se presentan en forma de co-
cos solos, en pares y en grupos irregulares. También se observan
levaduras. Algunas especies de este género forman colonias blan-
cas pequeñas, circulares y brillantes. Una especie del género Mi-
crococcus presenta colonias blancas con área translúcida.

MUESTRA VII

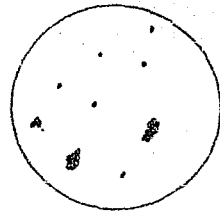
Cuenta bacterias



Esporas

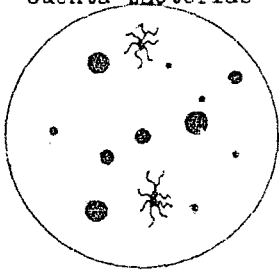


Coloración en fresco

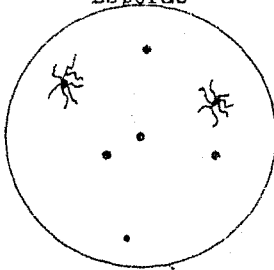


MUESTRA VIII

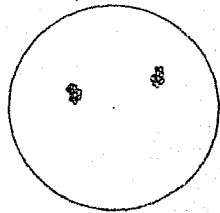
Cuenta bacterias



Esporas

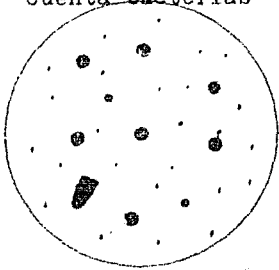


Coloración en fresco

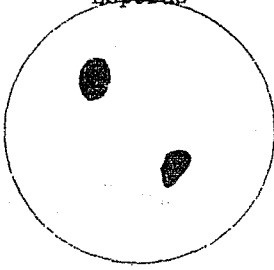


MUESTRA IX

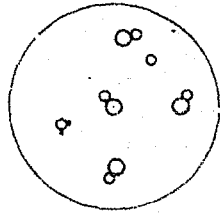
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA VII .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntiforme e irregular. Observaciones: licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme. Observaciones: no licúan. Las colonias están agrupadas con borde lobulado.

En la familia Baciláceas hay una especie del género *Bacillus* que forma colonias de grano fino y borde lobulado. En la familia Micrococáceas, en el género *Sarcina*, algunas especies presentan sus células solas o agrupadas en paquetes; forman colonias pequeñas, blancas y redondas.

MUESTRA VIII .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma redonda y rizoides. Observaciones: no licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma redonda y rizoides. Observaciones: no licúan.

Según las células observadas, los microorganismos pueden pertenecer a la familia Micrococáceas, género *Micrococcus*, ya que son de forma esférica agrupadas en paquetes o grupos irregulares. Algunas especies de este género forman colonias redondas, blancas y opacas.

Las colonias rizoides pueden ser de la familia Baciláceas, género *Bacillus*; algunas especies forman colonias rizoides.

MUESTRA IX .

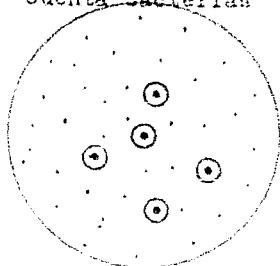
Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme, redonda e irregular redondeada. Observaciones: no licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma redondeada. Observaciones: no licúan.

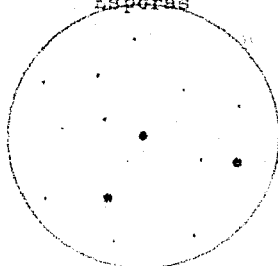
Parecen pertenecer a la familia Micrococáceas, género *Staphylococcus*, pues se presentan las células solas o en pares. En la especie *muscae* se forman colonias circulares, blancas, lisas, irregulares y planas.

MUESTRA X

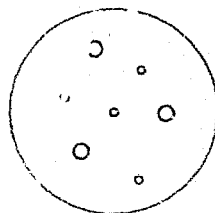
Cuenta bacterias



Esporas

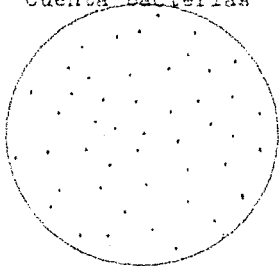


Coloración en fresco

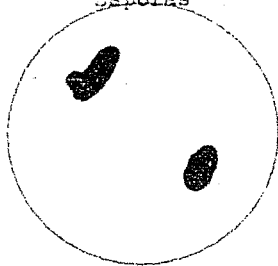


MUESTRA XI

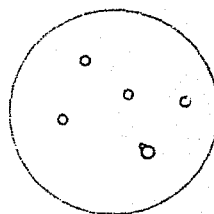
Cuenta bacterias



Esporas

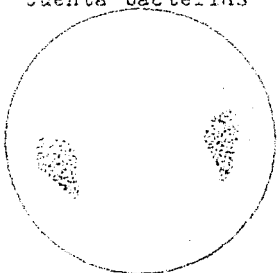


Coloración en fresco

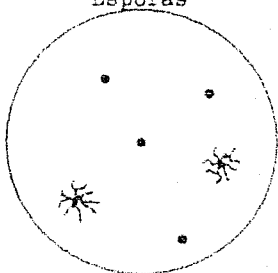


MUESTRA XII

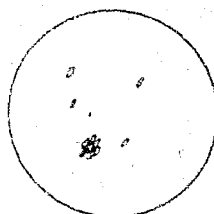
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



2

MUESTRA X .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiformes y redondas. Observaciones: las colonias redondas tienen nebulosidad alrededor.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntiformes y redondas.

Microorganismos pertenecientes a la familia Micrococáceas: cocos aislados. Colonias puntiformes y redondas blancas. Una especie -- forma colonias blancas opacas con halo translúcido.

MUESTRA XI .

Cuenta de bacterias,- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme. Observaciones: no licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma irregulares. Observaciones: no licúan.

Familia Micrococáceas: forman cocos aislados, colonias blancas, - puntiformes y opacas.

MUESTRA XII .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Observaciones:- no licúan; colonias agrupadas de grano fino.

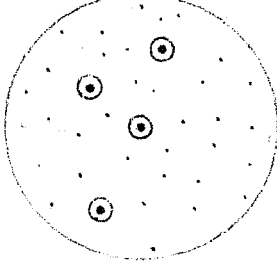
Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma redonda y rizoides.

Los microorganismos observados pueden pertenecer a la familia Baciláceas, género Bacillus. El Bacillus mycoides presenta forma de varillas y da colonias rizoides esparcidas.

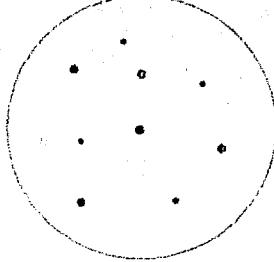
Una especie del género Achromobacter forma colonias de granulado fino con orillas más o menos onduladas o redondeadas; sus células son pequeños bacilos aislados y en pares.

MUESTRA XIII

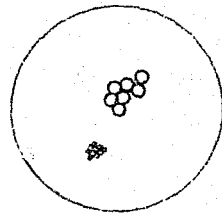
Cuenta bacterias



Esporas

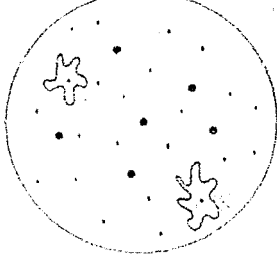


Coloración en fresco

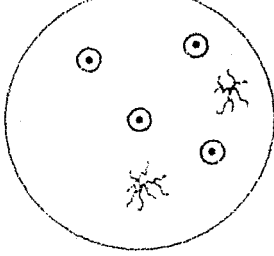


MUESTRA XIV

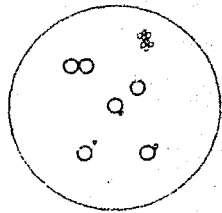
Cuenta bacterias



Esporas

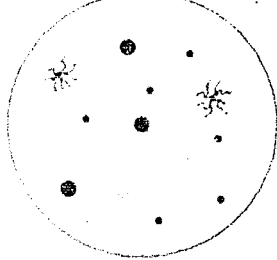


Coloración en fresco

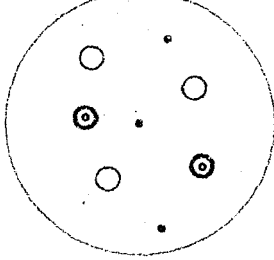


MUESTRA XV

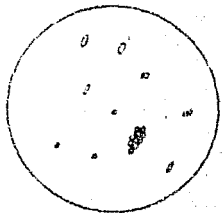
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA XIII .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redondas y puntiformes. Observaciones: las colonias redondas tienen halo nebuloso.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda.

Familia Micrococáceas, género Micrococcus: células en forma de cocos agrupados irregularmente. Algunas especies de este género, -- forman colonias puntiformes, circulares, blancas, brillantes, lisas y de borde entero. Otra especie presenta colonias redondas -- con área translúcida.

MUESTRA XIV .

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo Brillantes. Forma ameboides, redonda y puntiforme. Observaciones: licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda y rizoide. Observaciones: licúan. Las colonias redondas tienen halo transparente.

Familia Micrococáceas: células esféricas aisladas, en pares y en paquetes irregulares. Colonias puntiformes brillantes, blancas y circulares lisas. Blancas con halo transparente.

En el género Achromobacter, algunas especies producen colonias -- circulares y ameboides, lisas, blancas y brillantes. Las colonias rizadas pueden ser del Bacillus mycoides, pues esporulan.

MUESTRA XV .

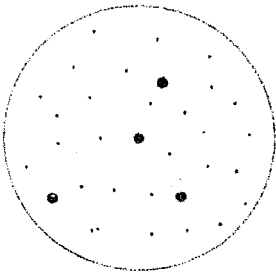
Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo mate. Forma rizadas, - redondas y algunas redondas con nebulosidad.

Esporas.- Color blanco. Forma redonda. Superficie convexa. Observaciones: algunas son transparentes y otras con halo transparente y anillo blanco.

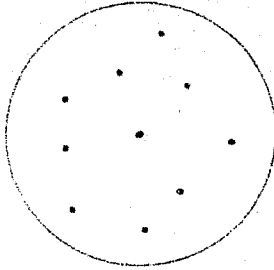
Las rizoides pueden pertenecer a la familia Bacteriáceas, no esporulan; forma bacilar. Las demás a la familia Micrococáceas; algunas especies del género Staphylococcus, forman colonias pequeñas, brillantes de borde entero, lisas, y otras blancas translúcidas y circulares; las células esféricas aisladas, en pares y en grupos.

MUESTRA I'

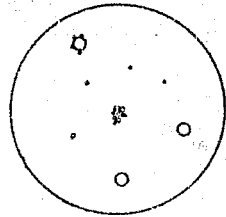
Cuenta bacterias



Esporas

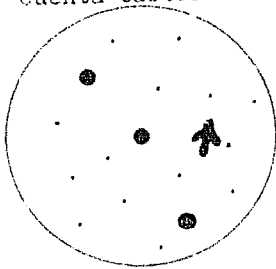


Coloración en fresco

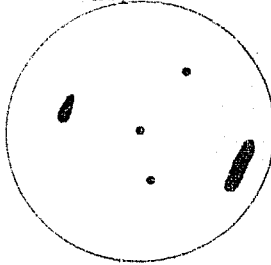


MUESTRA II'

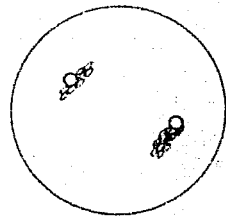
Cuenta bacterias



Esporas

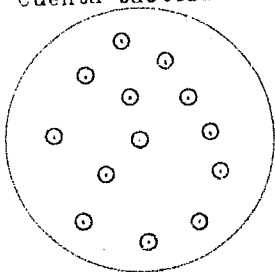


Coloración en fresco

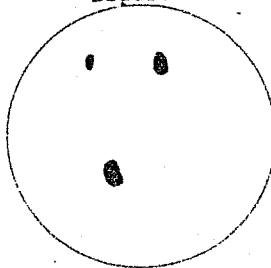


MUESTRA III'

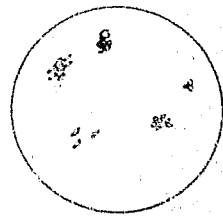
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA I'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntiforme y redonda.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda.

Familia Micrococáceas: células aisladas y en grupos. En el género *Micrococcus* se presentan colonias puntiformes y redondas blancas, lisas y brillantes.

MUESTRA II'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Forma redonda, puntiforme y ameboides. Brillo brillante. Observaciones: las colonias de forma ameboides, licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma irregular y redonda.

Familia Baciláceas; células en forma de bacilos, forman colonias circulares, ameboides, puntiformes e irregulares. Género: *Bacillus*.

MUESTRA III'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiformes con halo nebuloso.

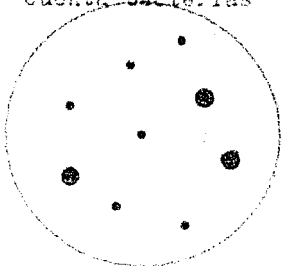
Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redondeada. Observaciones: licúan.

Una especie del género *Lactobacillus*, forma colonias pequeñas de centro blanco con nebulosidad; células en forma bacilar aisladas y agrupadas.

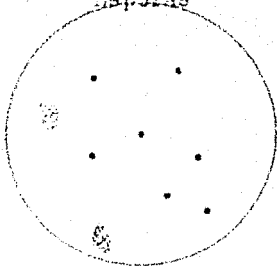
Otros microorganismos son de la familia Micrococáceas: células esféricas agrupadas; colonias grandes, redondas y de borde entero.

MUESTRA IV'

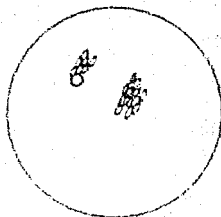
Cuenta bacterias



Esporas

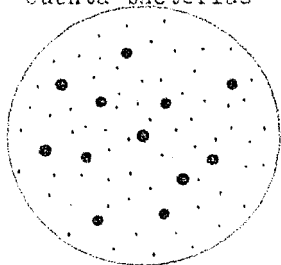


Coloración en fresco

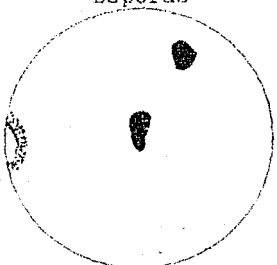


MUESTRA V'

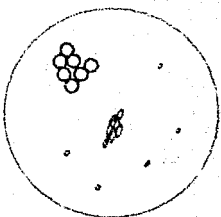
Cuenta bacterias



Esporas

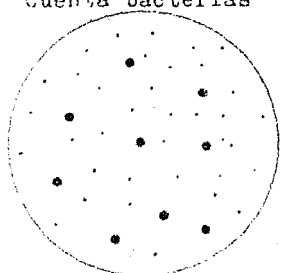


Coloración en fresco

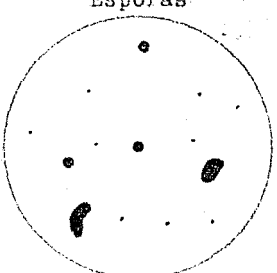


MUESTRA VI'

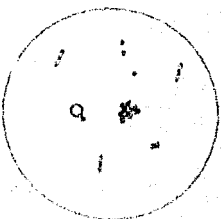
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA IV'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda unas mayores que otras, nebulosas.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redondas y agrupamientos puntiformes.

Especies del género *Bacillus* (familia Baciláceas), presentan colonias circulares, blancas, de grano fino, brillantes y opacas; borde entero. Ejemplos: *Bacillus lentus*, *polymyxa*, *fuscus*. La forma de las células es bacilar y se presentan agrupadas.

MUESTRA V'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma redondas-nebulosas y puntiformes.

Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma irregular y agrupaciones puntiformes.

Familia Baciláceas; el *Bacillus lautus* forma colonias circulares e irregulares, color blanco y borde entero, también de borde granuloso. Células bacilares agrupadas.

En la familia Micrococáceas hay especies que dan colonias aisladas y agrupadas.

MUESTRA VI'.

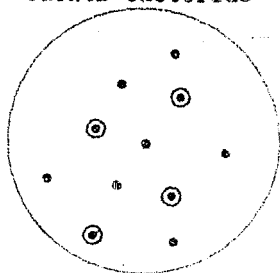
Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda y puntiforme.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma irregular, redonda y puntiforme. Observaciones: las colonias redondas grandes, líquidas.

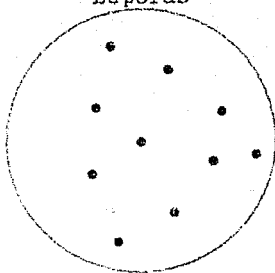
Familia Micrococáceas. Los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus* - presentan especies que dan colonias blancas, brillantes, puntos, circulares de borde entero. Las células son esféricas, aisladas, en pares, elongadas en la división; y agrupadas en paquetes irregulares.

MUESTRA VII'

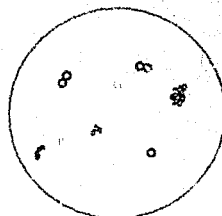
Cuenta bacterias



Esporas

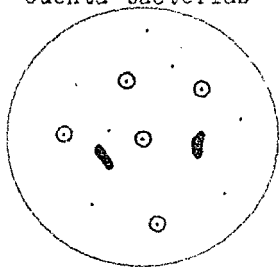


Coloración en fresco

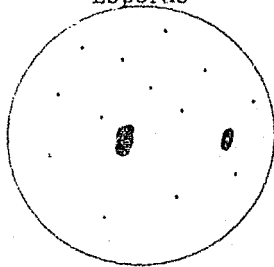


MUESTRA VIII'

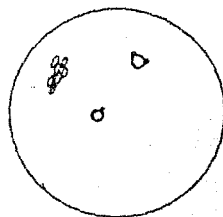
Cuenta bacterias



Esporas

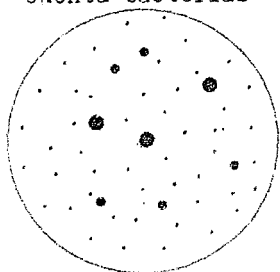


Coloración en fresco

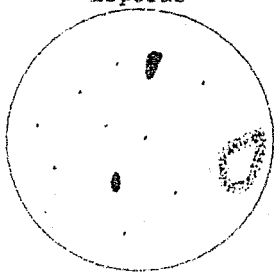


MUESTRA IX'

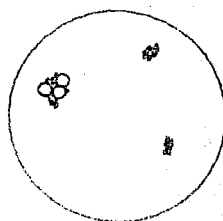
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA VII'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda y algunas con halo nebuloso.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redondas.

Familia Micrococáceas. Probablemente colonias pertenecientes a especies del género *Staphylococcus*: la especie *epidermidis* presenta colonias algo escasas, blancas, translúcidas; la especie *albus* -- presenta colonias circulares, blancas, lisas, brillantes, de borde entero.

Las células observadas coinciden en su características con las de este género: células esféricas aisladas, en pares, cadenas cortas y grupos irregulares.

MUESTRA VIII'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme, irregulares nebulosas. Observaciones: algunos puntos con halo transparente.

Esporas.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme; algunas irregulares nebulosas.

Formas bacilares. Algunos géneros de la familia Bacteriáceas dan colonias puntiformes con halo translúcido.

Células esféricas. Familia Micrococáceas; algunos géneros dan colonias puntiformes, redondeadas, blancas y opacas.

MUESTRA IX'.

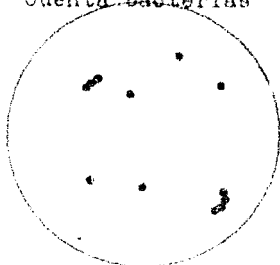
Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntos y redondas. Observaciones: unas colonias redondas nebulosas.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntos e irregulares. Observaciones: líquan; unas colonias de borde puntiforme.

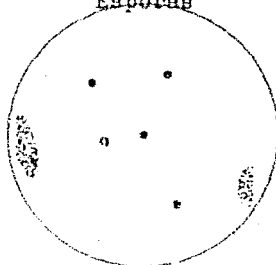
Familia Micrococáceas. Células en grupos o paquetes irregulares.- Algunas especies del género *Micrococcus* producen colonias puntiformes, blancas, circulares, brillantes y opacas.

MUESTRA X'

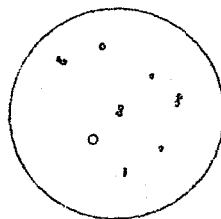
Cuenta bacterias



Esporas

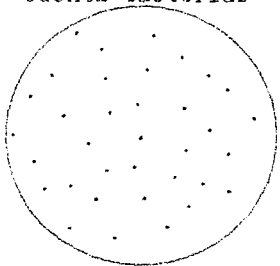


Coloración en fresco

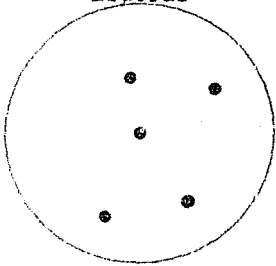


MUESTRA XI'

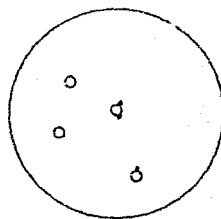
Cuenta bacterias



Esporas

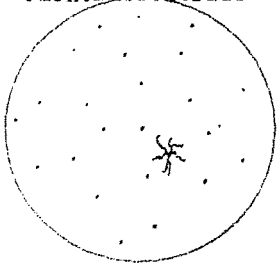


Coloración en fresco

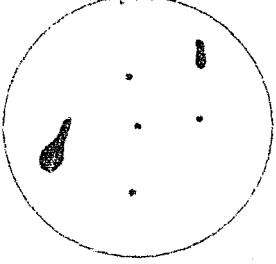


MUESTRA XII'

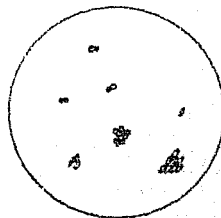
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA XI'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda y redondeada.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda y agrupamientos puntiformes.

Familia Micrococáceas. En el género Micrococcus, una especie produce colonias circulares, blancas, lisas, brillantes, de contorno entero. Células esféricas, aisladas, en pares.

Algunas especies del género Bacillus (familia Baciláceas) dan colonias puntiformes: células bacilares.

MUESTRA XI'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntiforme.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Observaciones: licúan.- Forma redonda.

Familia Micrococáceas. Células esféricas aisladas y agrupadas. Algunos géneros dan colonias puntiformes y redondas blancas, brillantes, lisas.

MUESTRA XII'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntitos y rizoides.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma irregular y redonda. Observaciones: licúan.

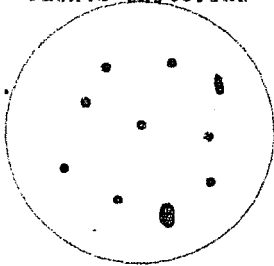
Colonias pertenecientes probablemente al Bacillus mycoides de las Baciláceas, pues éste forma colonias rizoides esparcidas. Se observan células de forma bacilar agrupadas.

Otras colonias parecen pertenecer a las Micrococáceas. células esféricas en pares y grupos irregulares, colonias puntiformes blancas, brillantes.

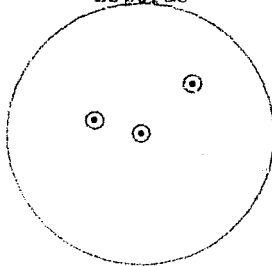
Finalmente, las colonias irregulares pueden ser de una especie -- del género Bacillus (Baciláceas): células bacilares y colonias irregulares blancas, lisas (Bacillus pandora).

MUESTRA XIII'

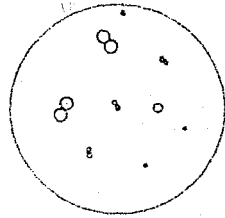
Cuenta bacterias



Esporas

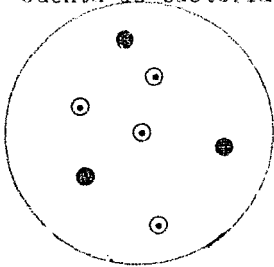


Coloración en fresco

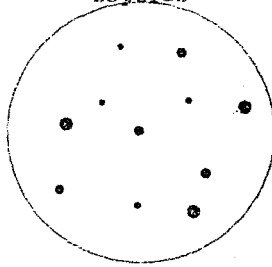


MUESTRA XIV'

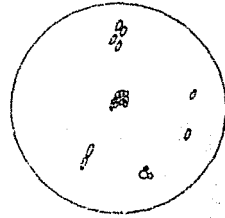
Cuenta de bacterias



Esporas

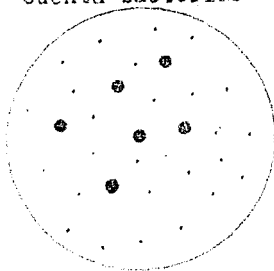


Coloración en fresco

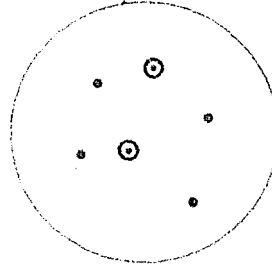


MUESTRA XV'

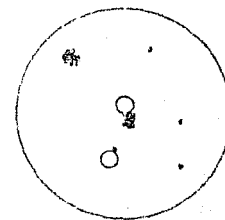
Cuenta bacterias



Esporas



Coloración en fresco



MUESTRA XIII'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redonda e irregular.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma redondas con halo nebuloso.

Familia Micrococáceas. Células esféricas aisladas, en pares y cadenas cortas. Pueden ser del género Staphylococcus: colonias blancas con borde translúcido y circulares blancas y brillantes.

MUESTRA XIV'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Forma redonda, unas opacas -- con halo nebuloso y otras brillantes que licúan.

Esporas.- Color blanco. Brillo brillante. Forma puntiforme y redonda. Observaciones: licúan.

Familia Micrococáceas: células en forma de cocos agrupadas irregularmente; género Micrococcus: algunas especies dan colonias circulares, blancas, lisas, brillantes, de contorno entero; otra especie de este género, da colonias blancas opacas con área translúcida.

MUESTRA XV'.

Cuenta de bacterias.- Color blanco. Brillo opaco. Forma puntiforme y algunas redondas nebulosas.

Esporas.- Color blanco. Forma redonda. Observaciones: algunas con halo transparente y anillo blanco.

Familia Micrococáceas. Células redondas en grupos y aisladas. Una especie del género Staphylococcus da colonias blancas translúcidas. Especies del género Micrococcus dan colonias en forma de puntos blancos y también circulares blancas de borde entero.

Estudios y resultados obtenidos en diversas investigaciones.-

A continuación citaremos algunos estudios efectuados para investigar el contenido bacteriano de harina de trigo. Describiremos uno de ellos para dar una idea de la manera de llevar a cabo un proceso de investigación sanitaria de este tipo. Este trabajo es el reporte de un estudio preliminar de las condiciones de saneamiento de molinos de trigo canadienses. Incluye este estudio el tipo de contaminación microbiológica en algunos puntos de los molinos y el grado de infección por insectos; esta última parte - la omitiremos ya que no interesa directamente en el estudio efectuado.

Los grupos particulares de microorganismos investigados, tienen una significación específica como una causa de la contaminación de los productos de panadería o en alimentos que contienen harina como un ingrediente. Tenemos, así, que la harina fué producida en condiciones desfavorables desde el punto de vista de sanidad.

La selección de molinos estuvo basada en tres factores: a) tener una distribución geográfica media; b) un rango de tamaño en molinos, desde el más pequeño hasta el más grande en el Canadá; - c) incluir en cada categoría de molinos, un saneamiento lo mejor posible.

Se efectuó primeramente una inspección en el rango de un molino por día; los inspectores fueron instruidos para que notaran -- trazas visibles de insectos o infecciones, en cualquiera de los sitios siguientes: elevadores, rodillos, soportes de rodillos, purificadores, surtidores, tambores, cernidores, transportadores y silos en el almacén. De esta inspección y después de haberse mantenido homogéneas las condiciones de trabajo, los inspectores clasificaron los molinos como "superior", "standard" o "substandard". Se recogieron muestras para examen en el laboratorio tomadas de diferentes sitios en cada molino; el objeto fué el tener las fuentes más probables de cualquier contaminación que pueda aparecer en el producto terminado.

Las muestras recogidas fueron las siguientes:

- 1.- Trigo natural inmediatamente antes de entrar al primer rodillo.
- 2.- De la harina después de pasar a través de un cierto número de molinos.
- 3.- De la corriente de harina después de ser cribada.
- 4.- Después de la molturación final.
 - a) De la de aprovechamiento en grado menor.
 - b) De la parte final que se vuelve a re-moler.
- 5.- A la salida del proceso.
- 6.- De la entrada a la máquina espacadora.
- 7.- De las empacadoras pequeñas.
- 8.- De la harina después del blanqueo final.
- 9.- De la harina puesta en el mercado.

Las muestras microbiológicas fueron tomadas con instrumentos secos y limpios; y guardadas en recipientes de vidrio previamente esterilizados y enviados por vía express a un laboratorio central el mismo día que fueron muestreadas y puestas en refrigeración -- hasta que fuera posible su análisis.

Las determinaciones microbiológicas hechas con cada muestra,-

fueron las siguientes:

- a) Cuenta standard en placas para bacterias mesofílicas usando dos medios diferentes.
- b) Cuenta de esporas mesofílicas.

Además se determinaron bacterias termofílicas y esporas del mismo tipo, pero se omiten aquí, ya que no se hicieron en el trabajo que presente.

Cuenta total de bacterias.- Se usaron dos medios diferentes para poder obtener una estimación de la población total bacteriana.

Usando agar nutritivo, la cuenta fué determinada por el método en placas standard de incubación a 37°C por 48 horas. Se incubaron doce placas a 37°C.

El segundo método fué agar "potato dextrose", y fueron incubadas a 22°C por 48 horas.

Las diluciones fueron preparadas disolviendo 1 gr. de muestra finamente dividida en 29 ml. de solución testigo, que contenía agua esterilizada, o bien una solución buffer a un pH igual a 7; la solución se agita después violentamente durante cinco minutos. Otras diluciones progresivas fueron preparadas por triplicado de cada dilución apropiada.

Las soluciones de igual concentración fueron empleadas para sembrar en placas de agar nutritivo solidificado con gotas calibradas con una pipeta fina.

Las diluciones fueron hechas, para las harinas terminadas de 1:10 000; para los productos obviamente más contaminados, fué de 1:1 000 000.

Usualmente se seleccionaron tres diluciones diferentes para cada muestra, y las placas fueron también preparadas y sembradas por triplicado.

En las muestras tomadas del grano sin moler, solamente se sembró el agua en la que la muestra se había agitado, esto se aplica para todos los procesos bacteriológicos en este estudio.

Cuenta de esporas de las bacterias.- El número de esporas de las bacterias mesofílicas fueron estimadas después de haber calentado las diluciones con muestras preparadas como se dijo antes a temperaturas superiores a 80°C en baño María y puestas a esa temperatura en una placa con agar "tryptone-glucose", "Difco".

Los métodos se describen en "Cereal Laboratory Methods", que estipula que la exposición a la temperatura de ebullición durará 20 minutos, pero no se siguió, pues se obtienen cuentas bajas.

El uso de temperaturas más bajas es más eficiente, pues permite la observación al microscopio de las células vegetativas y solamente de las especies que producen esporas que se desarrollan posteriormente al calentamiento, entonces algunas esporas mueren y dan como resultado bajas concentraciones de las mismas.

La tabla siguiente reporta la cuenta de microorganismos obtenidos de las muestras de harinas blanqueadas de 5 molinos superiores y de 5 molinos substandard.

Molinos superiores

| Muestra: | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Promedio |
|-----------|-------|--------|-------|-----|-------|----------|
| Bacterias | | | | | | |
| a 37°C: | 6 000 | 22 000 | 4 700 | 700 | 5 300 | 7 300 |
| a 22°C: | 3 000 | 7 000 | 7 000 | 700 | 3 300 | 4 100 |
| Esporas: | 10 | 100 | 17 | 200 | 150 | 95 |

Molinos substandard

| Muestra: | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Promedio |
|-----------|-----------|--------|--------|--------|-------|----------|
| Bacterias | | | | | | |
| a 37°C: | 4 040 000 | 23 000 | 33 000 | 26 000 | 1 300 | 825 000 |
| a 22°C: | 48 000 | 3 000 | 4 000 | 5 000 | 700 | 12 000 |
| Esporas: | 150 | 50 | 2 500 | 200 | 50 | 600 |

Los promedios de las bacterias mesofílicas, son consistentemente menores en los molinos de tipo superior. La cuenta promedio de bacterias sembradas en placas con agar nutritivo en los mejores molinos, fué de 7 300 por grano. La cuenta de la siembra en "potato dextrose agar" es 3 300. Las esporas de bacterias tienen un promedio de 95.

En los molinos substandard, las cuentas promedio, fueron respectivamente: 825 000, 1 200 y 600.

Efecto del blanqueo en el contenido microbiano de la harina.

| | Harina sin blanquear | Harina blanqueada. |
|-----------|----------------------|--------------------|
| Bacterias | | |
| a 37°C: | 59 400 | 24 000 |
| a 22°C: | 28 000 | 11 000 |
| Esporas: | 413 | 101 |

En la tabla están reportados comparativamente los promedios de las cuentas de microorganismos para todos los molinos para muestras de harina blanqueada y sin blanquear.

Los resultados indican una reducción del número de bacterias por un factor aproximado de un medio, para todas las categorías, sin embargo, un promedio puede estar supeditado por el efecto del blanqueo, especialmente al paso de más molinos.

Las bacterias que producen esporas, resultan menos afectadas por el blanqueo, debido probablemente a la acción bactericida de los productos empleados en el blanqueo que tienen más efecto en las bacterias que no esporulan, que en las que sí lo hacen. El más efectivo probablemente es el tricloruro de nitrógeno, su uso está actualmente prohibido en Canadá pero es mucho más efectivo que el usado actualmente: "chlorine-dioxide".

Las principales bacterias mesofílicas que se encontraron en las muestras tomadas de diferentes sitios durante el proceso fueron las siguientes:

- a) En el grano: Bacillus, Acromobacter, Pseudomonas, Micrococcus, Flavobacterium.
- b) En la harina aprovechable: Bacillus, B. subtilis, Flavobacterium, Acromobacter, Serratia, Micrococcus, Levaduras.
- c) En los desperdicios de la harina: B. mesentericus, B. subtilis, Acromobacter, Pseudomonas, Serratia, Flavobacterium, Sarcina flava, M. candidus, Levaduras.
- d) En la harina terminada: Flavobacterium, Bacillus, B. subtilis, Acromobacter, M. candidus, Alcaligenes fecalis, Serratia.

Las especies expuestas, son las que aparecieron más consistentemente en placas y en varios medios en las diluciones más altas que producen una cuenta aceptable. Una variedad muy grande de microorganismos, se pudo observar y algunos tipos fueron predominantes.

Sin embargo, hay que observar que algunas muestras que se presentaron en la harina, no se observaron en los granos de trigo, o sea que son transmitidos por insectos.

Como ejemplo, tenemos el Penicillium en la harina, que en la opinión de un microbiólogo experto, no es común en el grano, lo cual corrobora lo ya dicho, de que es transmitido por insectos -- que al estar en la harina crecen favorablemente. Lo mismo sucede con los géneros Alcaligenes y Serratia; con el Bacillus se observa el mismo ciclo.

Las conclusiones deducidas de este estudio, están sujetas a la crítica de los datos y referidas solamente a la observación individual de cada molino.

Un molino, puede estar influenciado por varios factores como puede ser el espacio de tiempo entre la investigación y la acción fumigadora o limpiadora, la proximidad de una corriente de aire, la estación del año, etc. Por otro lado se ve que las condiciones de operación de los molinos, permiten la multiplicación de insectos y la acumulación de materias fecales de los mismos, lo cual produce el aumento de bacterias; también es un factor importante la humedad actual, así como la molienda y destrucción de los insectos, los cuales pasan a ser fragmentos y resultan sitio favorable para la reproducción bacteriana. Además tenemos las nuevas contaminaciones que va adquiriendo la harina en los diversos procesos que atraviesa.

El valor potencial de este método, debe estar dirigido para un control rutinario de las fábricas, por microbiologistas expertos.

Otros estudios efectuados nos dan los siguientes resultados.

Fred (1929), llevó a cabo el examen bacteriológico de cinco harinas, encontrando que el número de bacterias por gramo, oscilaba entre 12 000 y 60 000. Kent-Jones y Amos hicieron lo propio en numerosas harinas comerciales, variando sus resultados entre 2000 y 52 000 gérmenes por gramo en las harinas de primera; y entre 5 000 y 157 000 en las corrientes. No obstante, observaron que todas las harinas cuyo grado de contaminación era superior, se com-

portaron normalmente durante la fermentación y produjeron panes-- satisfactorios.

El tratamiento a que se somete el trigo, tiene una influencia decisiva sobre el contenido bacteriano de la harina, lo que se puso de manifiesto por el hecho de que en un molino pequeño en el que no se intercalaban procesos de lavado, dado lo limitado de la sección de limsia, dichos autores hallaron más de 1 192 000 microorganismos por gramo.

Justafson y Parfitt en el curso de una investigación acerca de los efectos de la contaminación bacteriana sobre la aparición del enranciamiento, practicaron el recuento en unas veinte muestras de harina proveniente de molinos comerciales. Las harinas de primera dieron cifras que oscilaban entre 9 000 y 146 000 por gramo, los valores correspondientes a las clases corrientes, variaban entre 30 000 y 180 000.

Soenen y Pinguir determinaron el contenido bacteriano de las harinas belgas comerciales usando medios de agar y gelatina. Examinando veinte harinas distintas obtuvieron sobre agar, resultados que variaban entre 11 115 a 70 943 por gramo, con un promedio de 19 000. Sobre gelatina encontraron de 1 932 a 56 000 con un promedio de 14 000.

Barton-Wright empleó el método de Kent-Jones y Amos, sustituyendo el agar putritivo por un medio sintético, e incubando durante 7 días a 26°C en vez de 48 horas a 37°C. Los valores obtenidos fueron de 750 por gramo, en el 40 % de las harinas bajas inglesas y 37 500 en el 50 % de todas las harinas de trigo Manitoba. Sus resultados coinciden con los de Kent-Jones y Amos operando con harinas iguales.

Kent-Jones y Amos estudiaron el efecto del almacenamiento sobre el contenido bacteriano de la harina, encontrando que si aquél se verifica en condiciones normales, el número de gérmenes disminuye mucho. En dicho estudio se puso de manifiesto que la humedad relativa de la atmósfera, o sea la del sitio de almacenaje, era más importante que la temperatura, o sea que dentro de las condiciones atmosféricas normales, la disminución de la humedad relativa es más nociva para los gérmenes que el descenso de la temperatura. En la tabla siguiente, se indica el descenso del contenido bacteriano de las harinas en distintas condiciones de almacenaje.

| Harina | Lugar de almacenaje | Duración en días de almacen | | | Por ciento de disminución en 26 días |
|------------|---------------------|-----------------------------|--------|-------|--------------------------------------|
| | | 0 | 26 | 70 | |
| De primera | Molino | 30 000 | 11 000 | 2 000 | 63 |
| | Laboratorio | 30 000 | 7 000 | 6 000 | 75.5 |
| Corriente | Molino | 118 000 | 25 000 | 7 000 | 79 |
| | Laboratorio | 118 000 | 15 000 | 7 000 | 87 |

Condiciones del almacenamiento durante los primeros 26 días.-

| | Por ciento de humedad relativa media. | Temperatura media (°C). |
|-------------|--|-------------------------|
| Laboratorio | 65 | 20 |
| Molino | 77.5 | 15.5 |

El descenso del contenido bacteriano de la harina durante el almacenamiento, fué confirmado por Barton-Wright. También demostró que si se humedecía la harina hasta que adquiriese una humedad anormal del 16%, las bacterias perecían en mayor proporción durante el almacenamiento. Según dicho autor, la mortalidad de las bacterias está relacionada con la rápida elevación de la concentración de iones hidrógeno que presentan las muestras de harina anormalmente húmedas.

Iguualmente, Gustafson y Parfitt, indicaron que el contenido bacteriano de las harinas que usaron en sus investigaciones sobre el enranciamiento, tendía a disminuir a medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento.

CONCLUSIONES

Resultados:

Tomando un promedio de las cuentas obtenidas, se tienen los siguientes resultados:

| | |
|--|---------|
| Cuenta total de bacterias en harinas recién molturadas: | 604 000 |
| Cuenta total de bacterias en harinas existentes en el lugar de uso: | 508 000 |
| Cuenta total del número de esporas en harina recién molturada: | 170 |
| Cuenta total del número de esporas en harinas existentes en el lugar de uso: | 272 |

De los resultados anteriores podemos concluir que las condiciones de higiene en las panaderías son buenas, ya que el número total de bacterias disminuye. Aunque el número de bacterias es elevado, es una flora normal.

Como las condiciones de humedad en el período de almacenaje de las harinas, no son las apropiadas para el desarrollo de células vegetativas, de ahí el aumento de esporas en la cuenta.

En general, se encontró predominio de microorganismos pertenecientes a las familias Micrococcáceas, géneros Micrococcus y Staphylococcus; y Baciláceas género Bacillus. Además se encontraron aunque con menor frecuencia, microorganismos pertenecientes a las familias Lactobacteriáceas y Bacteriáceas, géneros Lactobacillus, Bacillus y Achromobacter. De todos estos microorganismos, ninguno es patógeno.

Una sugerencia provechosa llevada a cabo en otros países, fué la introducción de normas microbiológicas, llevadas a un esfuerzo para lograr un estímulo desde el punto de vista de salubridad, -- con miras a mejorar la calidad y la selección de varios tipos de fábricas, con objeto de que mediante la competencia mejoren sus sistemas de trabajo desde el punto de vista higiénico.

Debe haber una diferencia entre normas oficiales expuestas -- por el gobierno y las normas administrativas, que no se definen -- bajo el concepto de ley, con lo cual puede haber una competencia entre los diversos productores en el sentido de mejorar la calidad de sus productos. Así pues, se deben tener normas microbiológicas estrictas para formar una ley y normas microbiológicas industriales para provocar una mejora de trabajo basada en la competencia.

Por último, el control microbiológico alimenticio, debe servir para elevar el índice de seguridad higiénica y eliminar los riesgos que provoquen enfermedades debidas a una falta de salubridad. Se sugiere a los industriales molineros efectuar como mínimo un examen microbiológico mensual de las harinas.

B I B L I O G R A F I A

BACTERIOLOGY REVIEWS.

Vol. 21.
No. 4.
1957.

BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY.

Society of American Bacteriologists.
Fifth Edition. Baltimore.
1939.

CEREAL CHEMISTRY.

F. S. Thatcher, C. Cantu, and F. Stevens.
American Association of Cereal Chemists.
Vol. 30.
No. 2.
1953.

CEREAL LABORATORY METHODS.

American Association of Cereal Chemists.
Fourth Edition.
1941.

FOOD TECHNOLOGY.

Estabrooks, Ray G. and Ballen.
Vol. 7.
No. 3.
1953.

FOOD TECHNOLOGY.

F. S. Thatcher.
Vol. 12.
No. 3.
1958.

FRAZIER WILLIAM CARROL.

Microbiology.
Mc. Graw Hill Book Co. Inc.
New York.
1951.

FRAZIER WILLIAM CARROL.

Food Microbiology.
Mc. Graw Hill Book Co. Inc.
New York Toronto London.
1958.

KENT-JONES Y AMOS.

Química Moderna de los Cereales.
Ed. Aguilar. Madrid.
1956.

SALLE.

Fundamental Principles of Bacteriology.
Mc. Graw Hill Book Co. Inc.
Fourth Edition.
1954.

TANNER FRED WILBURG.

Bacteriology.
Fourth Edition.
1948.