

82

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE QUIMICA**



**APEGO A LAS REGLAS SANITARIAS PARA MEJORAR  
LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE ALIMENTOS  
INFANTILES EN POLVO**

**MA. DE LOS ANGELES GUADALUPE GONZALEZ VAZQUEZ**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1980**

M-21679



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

JURADO ASIGNADO : PRESIDENTE, Prof. NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA.

VOCAL Prof. EDUARDO BARZANA GARCIA.

SECRETARIO, Prof. RUBEN FERRA GARCIA-COSS.

1er. SUPLENTE, Prof. FIDEL FIGUEROA MARTINEZ.

2o. SUPLENTE, Prof. WENCESLAO FUENTES SOLIS.

Sitio donde se desarrolló el tema: RICHARDSON MERRILL, S.A. DE C.V.

Nombre completo y firma del sustentante: Ma. de los Angeles Cae. González

lez Vázquez.

Nombre completo y firma del asesor del tema: Natalia Salcedo Olavarrieta.



FACULTAD DE QUIMICA  
DEPTO. DE PASANTES Y  
EXAMENES PROFESIONALES.

FORMA C

Universidad Nacional  
Autónoma de  
México

(AUTORIZACION PARA ESCRIBIR DEFINITIVAMENTE EL TEMA REVISADO)

C. Director Gral. de Servicios Escolares  
Universidad Nacional Autónoma de México,  
P r e s e n t e .

Me permito comunicar a usted, que el tema de TESTIS

Titulado: "APEGU A LAS REGLAS SANITARIAS PARA MEJORAR LA CALIDAD  
MICROBIOLOGICA DE ALIMENTOS INFANTILES EN POLVO".

que presenta: LA SRITA. MARIA DE LOS ANGELES GPE. GONZALEZ VAZQUEZ

Pasante de la Carrera de: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Fué aceptado por el Jurado nombrado para dicho examen, el cual quedó inte -  
grado en la siguiente forma:

Presidente Prof.: NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA

V o c a l " : EDUARDO BARZANA GARCIA

Secretario " : RUBEN BERRA GARCIA-COSS

1er. Suplente " : FIDEL FIGUEROA MARTINEZ

2o. Suplente " : WENCESIAO FUENTES SOLIS

A t e n t a m e n t e  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU "  
Cd. Universitaria D.F., a 15 de julio de 1980

EL JEFE DEL DEPTO. DE PASANTES  
Y EXAMENES PROFESIONALES.

QUIM.  JULIO TERÁN Z.

JTZ/rqm

A mis padres:

Sr. TEODORO GONZALEZ GOMEZ.

Sra. ANTONIA VAZQUEZ DE GONZALEZ.

con veneración y cariño.

A mis hermanos:

JOSE ANTONIO

ROSA MARIA

FERMIN TEODORO

MARTHA ANTONIA

JUAN CARLOS

GUILLERMO

porque todos logren realizar sus anhelos.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

A MI FACULTAD DE QUIMICA

A MIS MAESTROS

A MI ASESORA DE TESIS: Prof. NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA

Por su invaluable ayuda

A TODOS AQUELLOS QUE ME BRINDARON SU APOYO

MI GRATITUD

**" APEGO A LAS REGLAS SANITARIAS PARA MEJORAR LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA  
DE ALIMENTOS INFANTILES PREPARADOS EN POLVO ".**

- I . INTRODUCCION.
- II. DETERMINACIONES MICROBIANAS EN MATERIA PRIMA.
- III. AJUSTE DEL PRODUCTO A LAS NORMAS MICROBIOLÓGICAS.
- IV. CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO.
- V. DISCUSION.
- VI. CONCLUSIONES.
- VII. BIBLIOGRAFIA.

*Vo Bo*  
*Natalia Valuedo Q.*

**Ma. de los Angeles Gpe. González Vázquez.**

I. INTRODUCCION.



El objeto del presente trabajo es hacer hincapié en la importancia que representa el tener reglas sanitarias para mejorar la calidad microbicológica de los alimentos en nuestro país, a fin de propugnar para que es te contenido microbiano sea bajo, ya que la mayoría de los alimentos - de que trata esta tesis va dirigida principalmente a los niños que son los que los consumen.

Se debe tener en cuenta que, empezando por la materia prima empleada para la preparación de los alimentos, ha de tener una cuenta bacteriana - baja, ya que la reducción al mínimo de esta cuenta y la conservación de la calidad de los productos, exigen el examen de las materias utilizadas, la debida limpieza, higiene y sanidad del equipo con el que entran en contacto, la regulación del mecanismo de conservación y la supervisión de los procesos de empaquetado y almacenamiento para tener el producto deseado en las mejores condiciones para ser empleado en la elaboración de los preparados alimenticios.

Los alimentos deben de cumplir con tres tipos de estándares microbiológicos:

- (1) los de los productos no tratados, o materias primas e ingredientes;
- (2) los de la fábrica como tal y los de los métodos de preparación, almacenaje y manipulación;
- (3) los del producto terminado y dispuesto para el mercado.

El objeto fundamental al establecer las reglas sanitarias de los alimentos es asegurar: (1) su aceptabilidad desde el punto de vista de la salud pública, es decir, que no provocarán enfermedades infecciosas e intoxicaciones alimenticias; (2) que los alimentos sean de una calidad sa-

tisfectoria, o sea, que se compongan de materias primas de buena calidad que no hayan sido deterioradas o se hayan contaminado a lo largo de los procesos de empaquetado, tratamiento, almacenamiento, manipulación o venta; (3) que tengan un aspecto agradable, por estar libres de suciedad debida a materias fecales, parásitos, micelio de hongos, etc., y (4) que la capacidad de conservación sea la normal del alimento de que se trate.

Para establecer y aplicar las normas microbiológicas para los alimentos se encuentran muchas dificultades. Es difícil la toma de muestras, pues debido a la falta de homogeneidad en la mayoría de los alimentos, la localización, el tamaño y el número de las muestras influye en los resultados. Las normas suelen basarse en el número total de microorganismos, en el número en que se encuentra un microorganismo determinado que se toma como indicador, o en el número (o ausencia absoluta) de patógenos; pero no hay un acuerdo total sobre los números que deben considerarse significativos, ni sobre el microorganismo que debe tomarse como indicador, ni sobre la posibilidad de determinar con seguridad la presencia de patógenos. Los números son pocos seguros estadísticamente y las pruebas de reducción de colorantes no son siempre demostrativas de la presencia del microorganismo que interesa.

También debe tenerse en cuenta que el número total y las clases de microorganismos que hay en un alimento disminuyen durante el almacenamiento en congelación o desecación. Si se emplea una norma promedio se elimina la mitad de las muestras del alimento.

Se ha recomendado que: (1) el procedimiento empleado para la prueba y las normas sean adecuados a cada tipo particular de alimento; (2) se establezca una relación numérica entre la norma y el azar; (3) se deje cierto margen de tolerancia para compensar los errores que pueda haber durante el muestreo y análisis; es decir, no debe exigirse que absolutamente todas las muestras cumplan la norma y se debe tener en cuenta, para establecer e interpretar las normas, los resultados obtenidos a partir de muestras sucesivas tomadas a intervalos determinados.

Sin embargo, cuando se fija una norma suele dar por resultado una mejor higiene en las fábricas y unos recuentos medios bacterianos más bajos, así como una mejor capacidad de conservación del producto de que se trate. (4), (5).

**II. DETERMINACIONES MICROBIANAS EN MATERIA PRIMA.**

## CUENTA DE BACTERIAS MESOFILAS-AEROBIAS.

Cuando se pretende investigar el contenido de microorganismos vivos en un alimento, la técnica más comúnmente utilizada es el recuento en placa. Esta técnica se aplica para una gran variedad de microorganismos y su fundamento consiste en contar las colonias que desarrollan en el medio de elección después de cierto tiempo y temperatura de incubación, - presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo en la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas regulables, pero sujetas a la influencia de varios factores. La variedad de especies y tipos diferenciables por sus distintas necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituya una estimación de la cifra realmente presente. No obstante, la ejecución de la técnica, cuando se siguen fielmente las condiciones que se señalan para su desarrollo, puede llegar a ser lo bastante reproducible para darle significado a los resultados que se obtengan.

### Material y equipo.

- a. Horno para esterilizar a 180°C.
- b. Autoclave con termómetro, o manómetro probado con termómetro de máxima.
- c. Baño maría con termostato y termómetro.
- d. Balanza de una capacidad no mayor de 2,500 g. y de una sensibilidad de 0.1 g.
- e. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de  $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ .
- f. Utensilios estériles para la preparación de las muestras: espátulas,

pinzas, tijeras, cucharas, cuchillos.

g. Pipetas bacteriológicas estériles de 10 y 1 ml. graduadas en 0.1 y 0.01 ml. respectivamente.

h. Frascos de vidrio de boca angosta de 250 ml. de capacidad, con tapón de rosca o tubos de 16 x 150 mm. sin labio, con tapón de rosca — conteniendo 99 ó 90 ml. ó 9 ml. respectivamente de solución reguladora diluyente, en ambos casos  $\pm$  1% del volumen señalado después de la esterilización.

Medios de cultivo y reactivos.

a. Solución reguladora diluyente.

Solución madre o concentrada.

$KH_2PO_4$  ..... 34 g.

Agua Destilada ..... 500 ml.

Disolver el fosfato en agua destilada y ajustar el pH a 7.2 con hidróxido de sodio 1 N. Llevar a un litro con agua destilada. Esterilizar durante 20 minutos a 121 °C. Conservar en refrigeración. Tomar 1.25 ml de solución concentrada y llevar a un litro con agua destilada, ésta es la solución de trabajo. Distribuir en porciones de 99,90 y 9 ml. según se requiera. Esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. El pH final debe ser 7.2 .

b. Gelosa triptono extracto de levadura.

Extracto de levadura ..... 2.5 g.

Triptona ..... 5 g.

Glucósa ..... 1 g.

Agar ..... 15 g.

Agua destilada ..... 1000 ml.

Suspender 24 gramos del medio deshidratado en un litro de agua. Hervir hasta disolución total. Distribuir en volúmenes de 100 y 200 ml. Esterilizar a 1 atm. (121 °C) durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser 7.0 .

#### Procedimiento.

A. Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que su inoculación, la adición de los medios de cultivo y su rotación se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación.

B. Para la preparación y dilución de la muestra.

Si se trata de alimentos sólidos pesar 11 ó 10 g. de la muestra, obtenidos de diferentes zonas, auxiliándose de espátula, cucharilla, abata lenguas o cuchillo estéril. Transferirlos a un frasco con 99 ó 90 ml. de solución diluyente ( según se haya pesado ). Agitar vigorosamente hasta que se haya homogeneizado la muestra.

Lo anterior constituye la primera dilución de la muestra.

Continuar las diluciones de la misma con el mismo diluyente, siguiendo los pasos que ilustran los esquemas 1 y 2, según convenga para cada caso. La selección de las diluciones que se vayan a preparar y de aquellas que se van a inocular depende del número esperado de microorganismos en la muestra, con base a los resultados de análisis previos, y de la información que se obtenga del personal de inspección que la haya colectado.

Utilizar pipetas diferentes para cada dilución, inoculando simultáneamente las cajas que se hayan seleccionado. El volumen que se transfiera nunca será menor del 10 % de la capacidad total de la pipeta. Para transferir 1.0 ml no usar una pipeta de más de 10 ml de capacidad; para transferir 0.1 ml no usar pipetas mayores de 1.0 ml. Si la pipeta es terminal y se transfiera un volumen de líquido equivalente a su capacidad total, escurrirla en 3 segundos y soplar suavemente una vez.

Al inocular la caja aplicar la punta de la pipeta al fondo y dejar escurrir. En una zona sin líquido aplicar la pipeta una sola vez y retirarla. Mientras se afora el líquido dentro de la pipeta, la punta de ésta debe aplicarse al interior del cuello del frasco y mantenerse en posición vertical, para lo cual este último deberá inclinarse lo necesario.

Para aspirar el líquido de las muestras con la pipeta, sumergir ésta lo menos posible al realizar la operación.

Cada botella con diluyente que se inocule deberá agitarse siempre de la misma manera: 25 movimientos de abajo a arriba en un arco de 30 cm. completados en 7 segundos, o cualquier otro que conduzca al mismo resultado.

Transferir la muestra y/o cada una de las diluciones a las cajas de Petri (recuento en placa) o tubos con medio (recuento en tubo) que se requieran para cada caso, siguiendo las indicaciones señaladas antes.

C. Practicar las diluciones decimales que se estimen convenientes.

D. Transferir 1 ml. de la muestra y de cada una de las diluciones a cajas Petri estériles evitando todo tipo de contaminación durante la manio-



bra y aplicando la punta de la pipeta al fondo de la caja mientras es-  
curre el líquido.

E. Agregar 12 a 16 ml. del medio de cultivo fundido y mantenido a una temperatura de 45° - 48°C en un baño de agua. Mezclarlo con la mue-  
stra (6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las ma-  
necillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante) - sobre una superficie lisa y horizontal y cuidando de que el medio no - moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar.

F. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpo- ra al diluyente, hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no excederá de 20 minutos.

G. Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) durante el tiempo y a la temperatura que se requiera, según el tipo de alimento de que se trate. Generalmente se incuban a 35 °C durante 48 horas.

H. Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 30 y 300 colonias, pues es en ellas donde será menor el error en el recuento.

I. Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de hongos), incluyendo las colonias puntiformes. Hacer uso de la lupa para resolver los casos en los que no se pueden distinguir - las colonias de pequeñas partículas de alimento.

J. Con el auxilio de la lente de aumento y de la cuadrícula del conta-  
dor, contar las colonias de las placas seleccionadas. Si el número se - estima en más de 300, y no se dispone de placas preparadas con las di-  
luciones subsiguientes, contar en la mitad o en un cuarto representativo de ella, multiplicando por 2 ó por 4 el número obtenido. El fondo de una

caja Petri de 100 mm. de diámetro contiene 65 cuadros grandes de la cuadrícula del contador.

K. Multiplicar por la inversa de la dilución para obtener el número de colonias por mililitro o gramo de la muestra.

L. Si ninguna de las placas tiene entre 30 y 300 colonias, utilícese la placa cuyo recuento se aproxima más a esta cifra. Si la placa correspondiente a la primera dilución es la única que presenta colonias y éstas son - menos de 10, reportar el número de colonias contadas seguidas de la frase "en la dilución 1:10".

M. Debe apreciarse una razonable proporcionalidad en el número de colonias que aparecen en las placas, de acuerdo con las diluciones utilizadas. En tanto no exista esta relación, el personal del laboratorio deberá adquirir la destreza necesaria hasta conseguirlo antes de efectuar estudios que sean válidos. Es recomendable inocular las cajas correspondientes de cada dilución por duplicado y computar las medidas aritméticas.

N. Si todas las placas: 1) no muestran colonias, 2) muestran excesiva difusión de las mismas, 3) estén contaminadas o no son satisfactorias por cualquier motivo, anótese respectivamente: 1) sin colonias, 2) colonias - difusas, 3) inconcluyente por accidente de laboratorio.

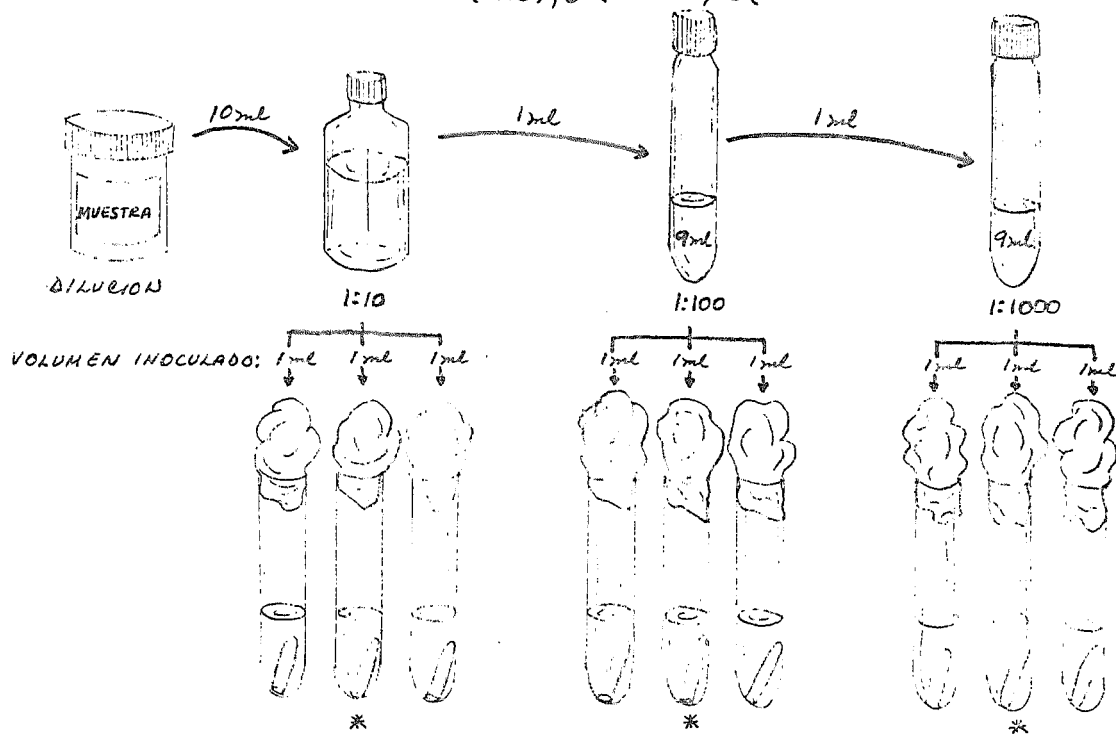
Ñ. Redondear la cifra obtenida en el recuento de manera que sólo aparezcan 2 dígitos significativos al inicio de esa cifra: 128 se reportara como 130; 2,417 como 2,400; 49 como 49, etc.

O. Reportar: "Cuenta de bacterias mesófilas aerobias en placa de gelosa - triptona extracto de levadura incubadas      X horas a 35°C.

anotar las que correspondan a cada caso en particular.

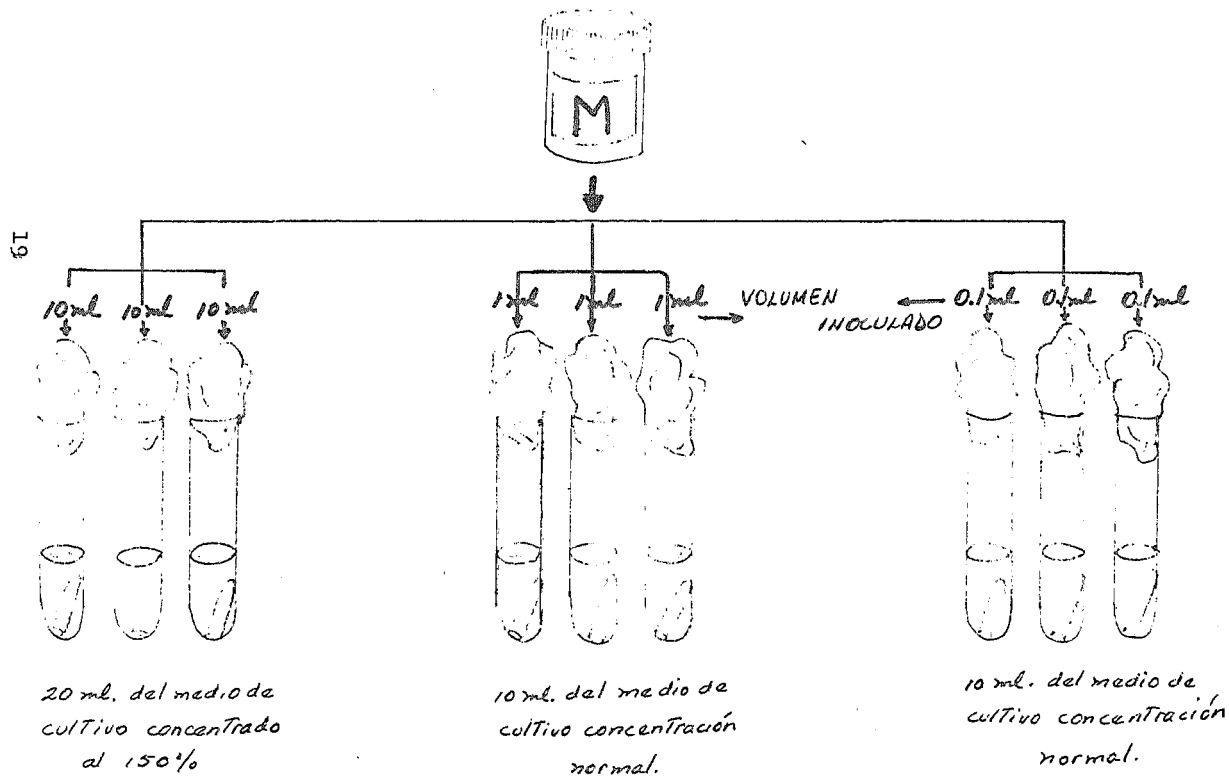
ESQUEMA NÚM. 1

RECuento DE MICROORGANISMOS POR DILUCION EN TUBO.  
PRUEBA PRESUNTIVA  
SERIE 3 (1:10), 3 (1:100), 3 (1:1000)



\* 10 ml de medio de cultivo a la concentración normal.

ESQUEMA NÚM. 2  
RECuento DE MICROORGANISMOS POR DILUCION EN TUBO.  
PRUEBA PRESUNTIVA.  
SERIE 3(10), 3(1), 3(0.1).



## RECuento EN TUBO.

Cuando la concentración de microorganismos en un alimento es pequeña, cuando es necesaria la inclusión de agentes selectivos o cuando se requiere un medio de enriquecimiento previo a la identificación de un grupo o especie bacteriano, resulta más satisfactorio aplicar la técnica de dilución en tubo que el recuento en placa. Mediante dicha técnica se efectúa en realidad una estimación de la densidad de bacterias en el alimento. Tal estimación tiene una base estadística; la probabilidad de obtener tubos de cultivo positivos disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado.

El método admite diversas fuentes de error, en particular la heterogeneidad en la distribución de los microorganismos en la muestra y en sus diluciones.

En vista de la variedad de los microorganismos presentes en el alimento y dado que sólo un grupo de ellos interesa investigar, se realiza una primera prueba llamada presuntiva, cuyo objetivo es enriquecer cada tubo inoculado con este grupo de bacterias.

Aquellos tubos que resulten positivos después de la inoculación correspondiente (formación de gas, enturbiamiento, cambio de color, etc.), son objeto de un segundo estudio que tiende a comprobar la identidad de los microorganismos. Es esta la prueba confirmativa.

La consulta de tablas llamadas de Número Más Probable, en las que se expresa la concentración de microorganismos que corresponde a cada combinación de tubos positivos, permite obtener los valores buscados.

Por su mismo carácter probabilístico las cifras consignadas en las tablas constituyen la mejor estimación que puede hacerse del número de bacterias en la muestra original. Se indican, sin embargo, los límites que con una probabilidad de 0.95 , pueden esperarse en cada caso.

#### Material y Equipo

- a. Horno para esterilizar a 180 °C.
- b. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de  $\pm 0.1$  °C, y termómetro.
- c. Autoclava con termómetro o manómetro, probada con termómetro de máximas.
- d. Baño de agua con termostato que evite variaciones mayores de  $\pm 0.1$  °C, y termómetro.
- e. Balanza de una capacidad no mayor de 2500 g. y de una sensibilidad de 0.1 g.
- f. Utensilios estériles para la preparación de las muestras: espátulas, - pinzas, cuchillos, tijeras, cucharas.
- g. Frascos de vidrio de boca angosta de 250 ml. de capacidad con tapón de rosca conteniendo 99 ó 90 ml. de diluyente y/o tubos de 16 x 150 mm. - con tapón de rosca conteniendo 9 ml. de esta solución. En ambos casos el volumen después de la esterilización será  $\pm 1\%$  del señalado.
- h. Tubos de cultivo de 22 x 175 mm.
- i. Tubos de cultivo de 16 x 150 mm.
- j. Tubos de cultivo de 13 x 100 mm.
- k. Gradillas para los tubos anteriores.

l. Campanas de fermentación.

m. Pipetas bacteriológicas estériles de 10 ml. (graduadas en 0.1 ml).

n. Pipetas bacteriológicas estériles de 1 ml. ( graduadas en 0.1 ml).

ñ. Asa de platino o nicromel de 3 mm. de diámetro.

Medios de cultivo y reactivos.

a. Medios de cultivo.

b. Solución reguladora diluyente.

Procedimiento.

a. Seleccionar la serie de tubos por utilizar de acuerdo con el grado de contaminación que se sospeche en el producto y/o la precisión que se requiera en la determinación ( tablas 1,2,3).

b. Marcar e identificar los tubos por inocular de acuerdo con las claves que le correspondan a las muestras.

c. Preparar y diluir la muestra.

d. Prueba presuntiva.

1. Transferir 10 ml, 1 ml y 0.1 ml de la muestra directa o 1 ml de cada una de las diluciones (según la serie seleccionada) a cada uno de 3 tubos conteniendo el medio de cultivo correspondiente ( esquemas 1 y 2 ). Evitar todo tipo de contaminación durante la maniobra y hacer la transferencia aplicando la punta de la pipeta a la pared interna del tubo mientras se escurre el líquido.

2. Incubar los tubos a 35 °C. Examinarlos las 24 <sup>±</sup> 2 horas y observar si hay formación de gas, desarrollo bacteriano y/o vire del indicador, según el grupo microbiano que se está investigando.

3. Después de la primera lectura proseguir la incubación de los tubos 24

horas más. La presencia de gas, desarrollo bacteriano y/o vire del indicador, según el caso (después de 48 horas de incubación) hace positiva la prueba y remite los tubos a la prueba confirmatoria.

e. Prueba confirmatoria.

1. Agitar suavemente los tubos que resultaron positivos, resembrar 2-3 asadas del contenido de cada uno, a un tubo que contenga el medio de cultivo de la prueba confirmatoria. Al efectuar esta resiembra sostener el tubo primario (prueba presuntiva) en un ángulo tal que se pueda tomar la asada evitando la película que existiera en el medio.

Sacar el asa del líquido en sentido perpendicular a su superficie de manera que se forme un menisco bien definido (esquema 3).

Incubar los tubos por 48 ± 2 horas a 35°C. Considerar la prueba positiva si hay formación de gas en cualquier cantidad, vire del indicador o desarrollo bacteriano, según la base técnica utilizada.

Conociendo el número de tubos positivos y negativos de cada dilución, determinar el número más probable de organismos presentes en la muestra tomando en cuenta que el empleo de las tres primeras diluciones a partir de la dilución 1:10 (3 tubos con 1 ml. de la tercera dilución, 3 tubos con 1 ml. de la segunda dilución, y 3 tubos con 1 ml. de la tercera dilución) permite obtener, a través de los valores de la tabla correspondiente, directamente el número de microorganismos por gramo de muestra. Si la serie utilizada o seleccionada incluye las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , multiplicar la cifra correspondiente a la combinación de tubos positivos en la tabla, por 10,000.

4. Reportar el Número Más Probable (NMP) de microorganismos por gramo, mililitro ó 100 ml. ó 100 g. de alimento.



TABLA Núm. 1.

NUMERO MAS PROBABLE DE MICROORGANISMOS.

Tubos Inoculados: 3 con 1 ml dilución 1:10 = 0.1 g. muestra.  
 3 con 1 ml dilución 1:100 = 0.01 g. muestra.  
 3 con 1 ml dilución 1:1000 = 0.001 g. muestra.

<u>Tubos Positivos</u> NMP/g			<u>Tubos Positivos</u> NMP/g			<u>Tubos Positivos</u> NMP/g			<u>Tubos Positivos</u> NMP/g						
<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>3</u>
(0.1)	(0.01)	(0.001)	(0.1)	(0.01)	(0.001)	(0.1)	(0.01)	(0.001)	(0.1)	(0.01)	(0.001)	(0.1)	(0.01)	(0.001)	(0.001)
0	0	0	3.0	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23.0
0	0	1	3.0	1	0	1	7.2	2	0	1	14.0	3	0	1	39.0
0	0	2	6.0	1	0	2	11.0	2	0	2	20.0	3	0	2	64.0
0	0	3	9.0	1	0	3	15.0	1	0	3	26.0	3	0	3	95.0
0	1	0	3.0	1	1	0	7.3	2	1	0	15.0	3	1	0	43.0
0	1	1	6.1	1	1	1	11.0	2	1	1	20.0	3	1	1	75.0
0	1	2	9.2	1	1	2	15.0	2	1	2	27.0	3	1	2	120.0
0	1	3	12.0	1	1	3	19.0	2	1	3	34.0	3	1	3	160.0
0	2	0	6.2	1	2	0	11.0	2	2	0	21.0	3	2	0	93.0
0	2	1	9.3	1	2	1	15.0	2	2	1	28.0	3	2	1	150.0
0	2	2	13.0	1	2	2	20.0	2	2	2	35.0	3	2	2	210.0
0	2	3	16.0	1	2	3	24.0	2	2	3	42.0	3	2	3	290.0
0	3	0	9.4	1	3	0	16.0	2	3	0	29.0	3	3	0	240.0
0	3	1	13.0	1	3	1	20.0	2	3	1	36.0	3	3	1	460.0
0	3	2	16.0	1	3	2	24.0	2	3	2	44.0	3	3	2	1,100.0
0	3	3	19.0	1	3	3	29.0	2	3	3	53.0	3	3	3	3,100.0

TABLA N<sup>o</sup> 2

NÚMERO MÁS PROBABLE DE ORGANISMOS.

Tubos Inoculados: 3 con 10 ml de la muestra.  
 3 con 1 ml de la muestra.  
 3 con 0.1 ml de la muestra.

Núm. tubos positivos			NMP/100 ml	Límites de confianza (95 %)	
3 (10 ml)	3 (1 ml)	3 (0.1 ml)		Mínimo.	Máximo
0	0	1	3	0.5	9
0	1	0	3	0.5	13
1	0	0	4	0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	3	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1,300
3	3	1	460	71	2,400
3	3	2	1,100	150	4,800

TABLA Núm. 3

NÚMERO MÁS PROBABLE DE ORGANISMOS.

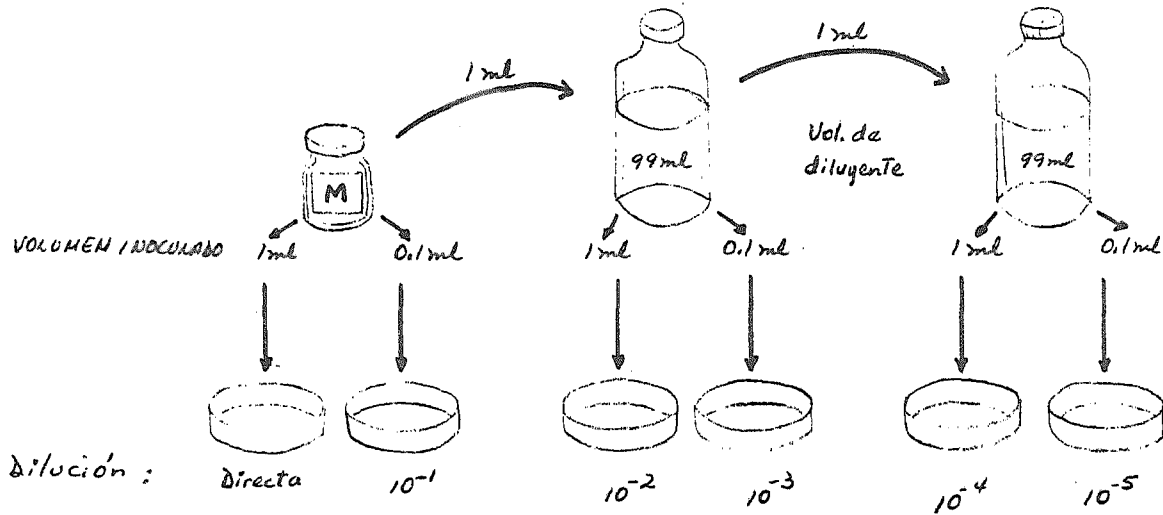
Tubos Inoculados: 5 con 10 ml de la muestra (medio de cultivo al 150%).  
 1 con 1 ml de la muestra.  
 1 con 0.1 ml de la muestra.

Número de tubos positivos			NMP/100 ml	Límites de confianza (95%)	
5 (10 ml)	1 (1 ml)	1 (0.1 ml)		Mínimo	Máximo.
0	0	0	0	0	5.9
0	1	0	2.0	0.05	13.0
1	0	0	2.2	0.05	13.0
1	1	0	4.4	0.52	14.0
2	0	0	5.0	0.54	19.0
2	1	0	7.6	1.5	19.0
3	0	0	8.8	1.6	29.0
3	1	0	12.0	3.1	30.0
4	0	1	15.0	3.3	45.0
4	0	0	20.0	5.9	48.0
4	1	0	21.0	6.0	53.0
5	0	0	38.0	6.4	330.0
5	0	1	96.0	12.0	370.0
5	1	0	240.0	12.0	3,700.0

ESQUEMA I

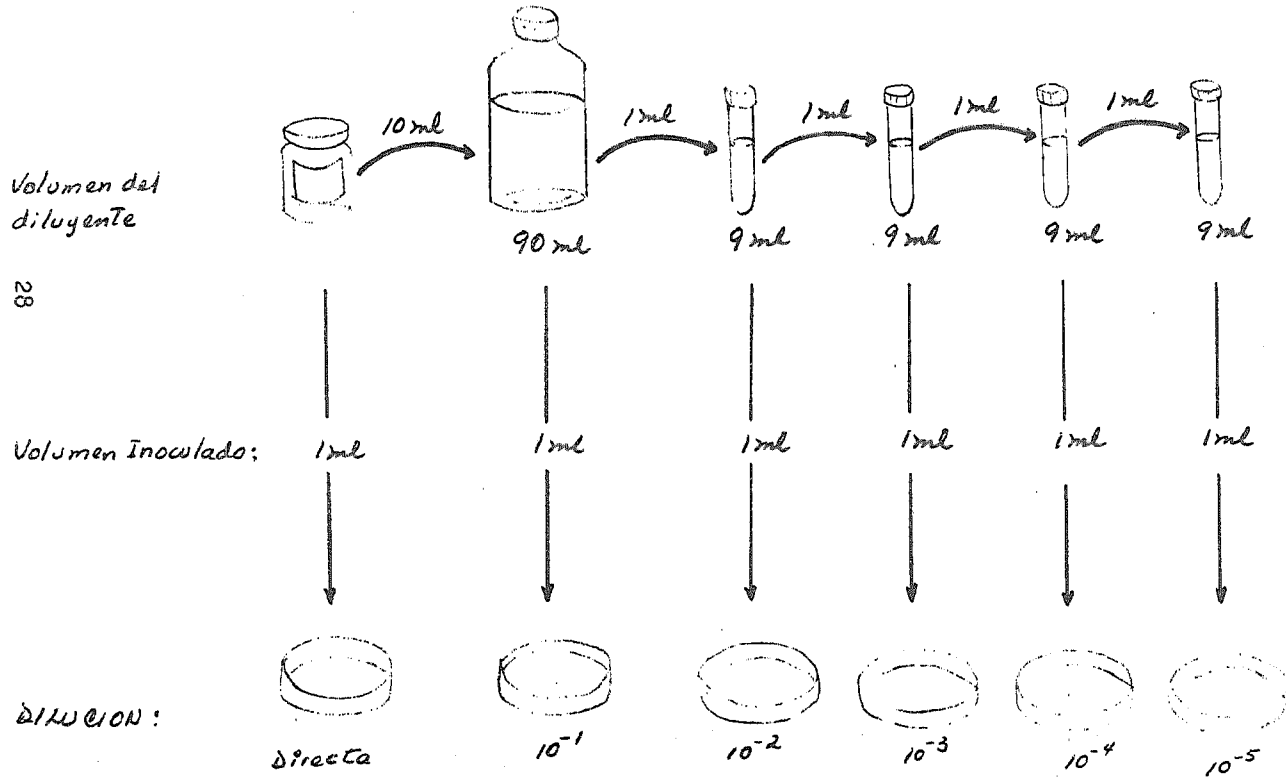
PREPARACION DE DILUCIONES.  
E INOCULACION DE CAJAS.

27



ESQUEMA 2.

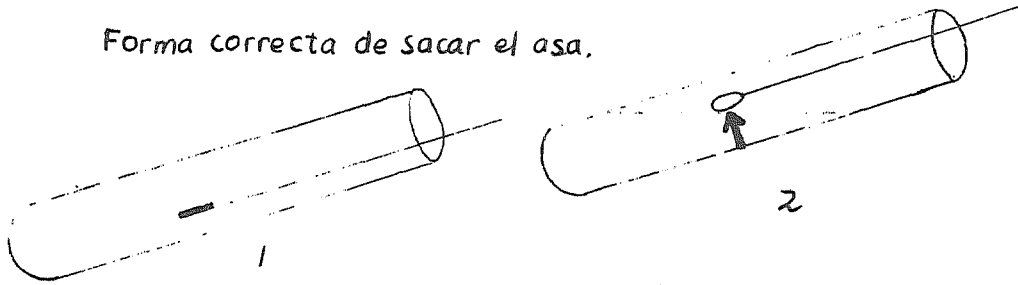
PREPARACION DE DILUCIONES E INOCULACION DE CAJAS.



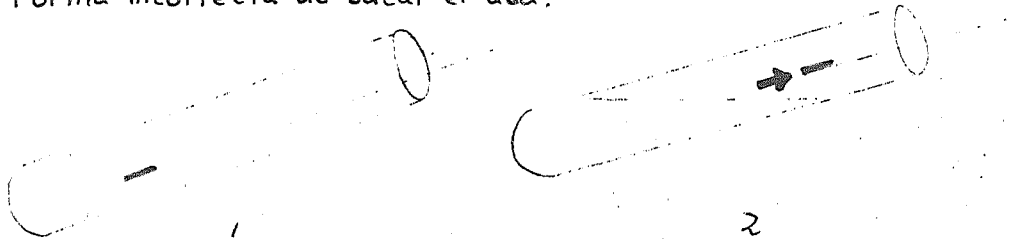
ESQUEMA 3.

EXTRACCION DEL INOCULO DEL CALDO PRESUNTIVO

Forma correcta de sacar el asa.



Forma incorrecta de sacar el asa.



## CUENTA DE ORGANISMOS COLIFORMES.

En este grupo de microorganismos se incluyen bacilos cortos, Gram negativos, facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un término de 48 horas cuando se incuban a 32 - 35°C. Una variedad de bacterias muy abundante y siempre presente en la materia fecal del hombre y animales superiores satisface la definición anterior; también pertenecen a este grupo ciertas bacterias propias del suelo y los vegetales. La interpretación del hallazgo y abundancia de los organismos coliformes no tiene un carácter universal. En tanto que en el agua, en términos generales, se considera que su presencia revela una exposición reciente a la contaminación fecal, su significado no es el mismo en el caso de la leche, sustrato en el cual son capaces de desarrollarse muy activamente. En algunos tipos de quesos, incluso números elevados de estos microorganismos no guardan necesariamente relación con los antecedentes de manejo higiénico del producto y su presencia carece de significado sanitario.

La demostración y el recuento de organismos coliformes pueden realizarse mediante el empleo de medios sólidos que los favorecen selectivamente y los diferencian de los microorganismos con los que suelen encontrarse asociados en los alimentos, o bien recurriendo a tubos de fermentación que contengan caldo lactosado y calculando su número con base a las tablas de número más probable. (NMP).

El criterio para seleccionar uno u otro procedimiento depende principalmente de la densidad de microorganismos que se espera encontrar, siendo en algunos casos necesario considerar, además, la composición y la naturaleza del alimento que se va a examinar. El uso del caldo lactosado o del caldo lauril-

triptosa como medios presuntivos resulta muy ventajoso cuando se examinan alimentos con número exiguo de estas bacterias que, por otra parte, pueden encontrarse en condiciones de vitalidad mermada debido al efecto subletal del calor y otros agentes durante la fabricación del producto.

#### Material y Equipo.

##### Recuento de colonias en medio sólido.

- A. Horno para esterilizar a 160 °C.
- B. Autoclave con termómetro o manómetro probado con termómetro de máximas.
- C. Baño maría con termostato y termómetro.
- D. Balanza de una capacidad no mayor de 2500 g. y de una sensibilidad de --  
0.1 g.
- E. Utensilios estériles para la preparación de las muestras; espátulas, pinzas, tijeras, cucharas, cuchillos.
- F. Frascos de vidrio de 200 a 250 ml. de capacidad con tapón de rosca, conteniendo 99 ó 90 ml y tubos de vidrio de 16 x 150 mm. con tapón de rosca conteniendo 9 ml de solución reguladora diluyente; en ambos casos  $\pm 1\%$  - del volumen señalado después de la esterilización.
- G. Pipetas bacteriológicas estériles de 10 ml. y 1 ml. graduadas en 0.1 ml. y 0.01 ml. respectivamente.
- H. Gradillas adecuadas al tamaño de los tubos.
- I. Cajas Petri de 100 x 15 mm.
- J. Incubadora con termostato que evita variaciones mayores de  $\pm 0.1$  °C.
- K. Contador de colonias Quebec o equivalente.
- L. Contador manual (Tally).



Recuento por dilución en tubo.

- A. Los señalados anteriormente desde A hasta H.
- B. Tubos de cultivo sin labio de 22 x 175 mm.
- C. Tubos de cultivo sin labio de 16 x 150 mm.
- D. Tubos de cultivo de 13 x 100 mm.
- E. Campanas de fermentación.
- F. Asa de siembras de 3 mm. de diámetro.

Medios de cultivo y reactivos.

Recuento de colonias en medio sólido.

- A. Gelosa rojo violeta biliar.

Extracto de levadura .....	3.0 g
Peptona .....	7.0 g
Sales biliares .....	1.5 g
Lactosa .....	10.0 g
Cloruro de sodio .....	5.0 g
Rojo neutro .....	0.03 g
Cristal violeta .....	0.002 g
Agar .....	15.0g
Agua destilada .....	1000 ml

Suspender 41.5 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y dejar reposar por un minuto. Mezclar perfectamente y ajustar el pH a 7.4 .

Calentar con agitación constante y hervir durante 2 minutos. Envasar en recipientes estériles.

El pH final del medio debe ser 7.4

- B. Solución reguladora diluyente.

Recuento por dilución en tubo.

A. Caldo lauril sulfato triptosa (LST).

Triptosa .....	20 g
Lactosa .....	5 g
$K_2HPO_4$ .....	2,75g
$KH_2PO_4$ .....	2,75g
NaCl .....	5 g
Lauril sulfato de sodio .....	0,1g
Agua destilada .....	1000ml

Disolver 35,6 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hervir, distribuir en tubos de 16 x 150 con campanas de fermentación en volúmenes de 10 ml. Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser 6,8

B. Caldo lactosa bilis verde brillante (LBVB).

Peptona .....	10 g
Lactosa .....	10 g
Bilis de buey .....	20 g
Verde brillante .....	0,0133 g
Agua destilada .....	1000 ml

Disolver 40 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Hervir. Distribuirlo en volúmenes de 3 ml en tubos de 13 x 100 mm. con campana de fermentación.

Esterilizar a 121°C por 15 minutos. El tiempo total del calentamiento no debe exceder de 30 minutos, lo que pueda lograrse con un precalentamiento del autoclave.

El pH final debe ser de 7.1 a 7.4

C. Solución reguladora diluyente.

Procedimiento.

Recuento de colonias en medio sólido.

- A. Consultar las indicaciones generales señaladas en el procedimiento para cuenta de bacterias mesófilas aerobias.
- B. Preparar la muestra y sus diluciones decimales.
- C. Transferir un mililitro o un volumen decimal de la muestra o de sus diluciones a cajas de Petri.
- D. Agregar de 12 a 15 ml del medio fundido de gelosa rojo violeta bilita y - mantenido a 45-48°C.
- E. Si fuera necesario inocular las cajas con un volumen de 1.0 ml (pueden - usarse hasta 3.3 ml de muestra para 15-20 ml de medio) o alternativamente, incluir más de una caja, inoculada cada una con 1 ml, a fin de poner en evidencia colonias de coliformes cuando su número fuera muy reducido - en la muestra; 3 placas conteniendo cada una 3.3 ml de la dilución 1:10 permitirán examinar 1 g ó 1 ml. de la muestra.
- F. Mezclar correctamente el medio con la muestra. Dejar solidificar sobre una superficie plana y horizontal y agregar 4 ml del mismo medio de cultivo - extendiéndolo para cubrir completamente la superficie.
- G. Dejar solidificar e inocular las cajas en posición invertida durante 24 <sup>+</sup> 2 horas, a 32-35°C.
- H. Contar las colonias de coliformes desarrolladas. Las colonias de color rojo oscuro, con halo de precipitación y diámetro de 0.5 mm. o mayor, se - consideran típicas de los organismos coliformes en los productos lácteos.

En otros alimentos no suelen mostrar el halo. Las colonias de ciertas formas de cocos a veces producen colonias semejantes en color y tamaño a los coliformes, aunque sin halo.

- I. Registrar el número de colonias de organismos coliformes y reportar -  
"Cuenta de organismos coliformes en placa de gelosa rojo violeta bilis incubadas 24 horas a 35°C".

Recuento por dilución en tubo.

A. Consultar las indicaciones generales señaladas para recuento en tubo.

B. Preparar la muestra y sus diluciones decimales.

C. Prueba presuntiva.

1. Inocular 1 ml por dilución a cada uno de los tres tubos con 10 ml de caldo lauril sulfato triptosa.
2. Incubar los tubos por 48 <sup>±</sup> 2 horas a 35°C. Examinar los tubos a las 24 <sup>±</sup> 2 horas y observar si hay acumulación de gas en la campana de fermentación.

La presencia de gas, en cualquier cantidad, dentro de las 48 horas, hace positiva la prueba.

D. Prueba confirmatoria.

1. Agitar suavemente los tubos de caldo lauril sulfato triptosa que resultaron positivos en la prueba presuntiva. Transferir uno o dos asadas de cada tubo al caldo lactosa bilis verde brillante al 2%. Al efectuar la reinoculación sostener el tubo primario (LST) en un ángulo tal que se pueda tomar la asada del líquido evitando la película que existiera en el medio.

Sacar el asa del líquido en sentido perpendicular a su superficie de -

- manera que se forme un menisco bien definido. (ver esquema Núm. 3).
2. Incubar el caldo LBVB (2 %) por  $48 \pm 2$  horas a 35 °C y hacer la lectura correspondiente sobre la formación de gas. Determinar el número de organismos de acuerdo con la tabla correspondiente (Tabla Núm. 1) tomando como base el número de tubos de LBVB que muestran producción de gas en  $48 \pm 2$  horas a 35°C.
  3. Reportar NMP de coliformes por gramo o mililitro.

## CUENTA DE HONGOS Y LEVADURAS.

Los hongos y levaduras son microorganismos que tienen interés como causa de alteración y como elementos biológicos utilizados en la manufactura de algunos alimentos; quesos, cervezas, pan, etc. Ciertos hongos pueden producir, al desarrollarse en el alimento, toxinas con efecto en los animales y el hombre, las que genéricamente reciben el nombre de micotoxinas. Los hongos tienen una gran ubicuidad en la naturaleza, siendo muy comunes en el polvo y la tierra; las levaduras desarrollan con facilidad en los utensilios y equipo defectuosamente lavados que se utilizan en industrias que manejan carbohidratos.

El propósito primario de su investigación en el laboratorio consiste en descubrir la exposición a fuentes de contaminación y defectuosa conservación de algunos alimentos. Por ello, la técnica se ha diseñado para estimar su abundancia, y no su mera presencia.

Investigar cepas toxigénicas carece, hasta el momento, de valor práctico. La prueba no se aplica a cualquier tipo de alimento, sino sólo en aquellos en los que la experiencia permita correlacionar su hallazgo por encima de ciertos límites, con prácticas sanitarias defectuosas en la producción y almacenamiento del alimento.

### Material y equipo.

- A. Horno para esterilizar a 180°C.
- B. Autoclave con termómetro o manómetro probado con termómetro de máximas.
- C. Baño maría con termostato y termómetro
- D. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ .
- E. Balanza de una capacidad no mayor de 2500 g y de una sensibilidad de 0.1 g.

F. Utensilios estériles para la preparación de las muestras: espátulas, pinzas, tijeras, cuchillos, cucharas.

G. Frascos de dilución de 200 a 250 ml de capacidad con tapa de rosca conteniendo 99 ó 90 ml y tubos de 16 x 150 mm., con tapón de rosca, conteniendo 9 ml de solución reguladora diluyente, en ambos casos  $\pm$  1% del volumen señalado después de la esterilización.

H. Pipetas bacteriológicas de 10 y 1 ml graduadas en 0.1 y 0.01 ml respectivamente.

I. Cajas petri de 100 x 15 mm.

J. Gradillas adecuadas al tamaño de los tubos.

K. Contador manual Tally.

L. Contador de colonias Quebec o equivalente.

Medios de cultivo y reactivos.

A. Gelosa papa glucosa.

Infusión de papa ..... 200 g

Glucosa ..... 20 g

Agar ..... 15 g

Agua destilada ..... 1000 ml

Suspender 39 g del medio deshidratado en un litro de agua y calentar a ebullición. Distribuir en porciones de 100 ml y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C. Enfriar a 45-48°C y acidificar a pH 3.5 con una solución estéril de ácido tartárico el 10% (aproximadamente 1.4 ml de ácido/100 ml de medio). Una vez que se ha agregado el ácido tartárico no se vuelve a calentar el medio.

B. Solución de ácido tartárico al 10%

Ac. tartárico ..... 10 g  
Agua destilada ..... 100 ml.

Disolver y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Procedimiento:

A. Preparar las muestras y las diluciones decimales convenientes.

B. Colocar 1 ml. de cada dilución por duplicado en cajas de Petri estériles y agregar 12-15 ml. de gelosa papa glucosa acidificada fundida y mantenida a 45°-48°C.

C. Homogeneizar y dejar solidificar. Incubar una serie de placas a 22 °C durante 5 días y la otra serie a 35°C durante 48 horas.

D. Contar las colonias de hongos en la serie incubada a 22°C y las colonias de levaduras en la serie incubada a 35°C, así como en la incubada a 22°C.

E. Multiplicar por la inversa de la dilución y reportar "Cuenta de hongos en placa de gelosa papa glucosa acidificada incubada 5 días a 22 °C" y "Cuenta de levaduras en placa de gelosa papa glucosa acidificada incubada 48 horas a 35°C ó 5 días a 22°C" (según el caso en el cual el recuento sea más elevado), por gramo o mililitro de la muestra.

INVESTIGACION DE SALMONELLA.

El aislamiento de estas bacterias requiere del empleo de técnicas que difieren según sea la composición del alimento, el tratamiento al que ha estado sujeto durante su elaboración y la carga microbiana del producto final, ya que la contaminación por estas bacterias va acompañada del ingreso de otras enterobacterias que pueden llegar a inhibirlas. Estas son las razones por las que no es posible recomendar exclusivamente un medio de cultivo para el ais-



lamiento de este tipo de microorganismos.

La literatura registra una gran diversidad de medios de cultivo, técnicas de pre-enriquecimiento, y sugiere diversos volúmenes de muestra para realizar el análisis. Se describe a continuación una técnica de tipo general. Esta técnica será modificada en los términos que se indique para el caso particular de cada alimento.

Equipo y material.

- A. Horno para esterilizar a 180°C.
- B. Incubadora con termostato para evitar variaciones mayores de  $\pm 0.1$  y - termómetro.
- C. Autoclave con termómetro o manómetro, probada con termómetro de máximas.
- D. Baño maría con termómetro para evitar variaciones mayores de  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  y - termómetro.
- E. Balanza de una capacidad no mayor de 2,500 g y de una sensibilidad de - 0.1 g.
- F. Licuadora de 1 ó 2 velocidades reguladas por un reostato. Vaso con tapa estéril de 1 litro de capacidad.
- G. Utensilios estériles para la preparación de las muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas.
- H. Tubos de ensayo sin labio de 16 x 150 mm.
- I. Frascos de boca angosta con tapón de rosca de 500 y 250 ml de capacidad.
- J. Pipetas bacteriológicas estériles de 10 y 1 ml. de capacidad graduadas - en 0.1 y 0.01 ml respectivamente.
- K. Cajas de Petri de 100 x 10 mm.
- L. Tubos de ensayo sin labio de 13 x 100 mm.

M. Asa de siembras de 3 mm. de diámetro y alambre de siembras recto.

N. Portaobjetos de vidrio lavados y desengrasados.

Ñ. Aplicadores de madera.

Medios de cultivo y reactivos.

Medios de pre-enriquecimiento.

E. Agua peptonada.

Peptona ..... 10 g

Cloruro de sodio ..... 5 g

Agua destilada ..... 1000 ml

Disolver los componentes en un litro de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.1 distribuir en volúmenes de 225 ml en frascos o matracas. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

B. Agua destilada estéril.

Medios de enriquecimiento.

A. Caldo selenita cistina.

Triptona ..... 5 g

Lactosa ..... 4 g

Fosfato disódico ..... 10 g

Selenita ácida de sodio ..... 4 g

L-cistina ..... 0.01g

Agua destilada ..... 1000 ml.

Disolver 23 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Calentar a ebullición durante 10 minutos en un baño de agua y distribuir en volúmenes de 10 y 125 ml en recipientes estériles según se requiera. No esterilizar y evitar el sobrecalentamiento.

El pH final debe ser 7,0

**B. Caldo tetracionato.**

Base:

Proteosa peptona o triptona .....	5 g
Sales Biliares .....	1 g
Carbonato de sodio .....	10 g
Tiosulfato de sodio .....	30 g
Agua destilada .....	1000 ml

Disolver 46 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar a ebullición. Enfriar aproximadamente a 45°C y agregar 10 ml de una solución 1:1,000 de verde brillante. Homogeneizar y distribuir en volúmenes de 10 y 125 ml en recipientes estériles según se requiere. Este medio base podrá conservarse, previa esterilización (corriente de vapor durante 30 minutos), indefinidamente.

Antes de usar el medio agregar 2 ml de una solución yodo yodurada (6,0 g de cristales de yodo y 6 de yoduro de potasio disueltos en 20 ml de agua) por cada 100 ml de caldo. El medio, una vez adicionado de yodo, no deberá calentarse y será usado el mismo día de su preparación.

Medios para el aislamiento.

**A. Calosa verde brillante.**

Extracto de levadura .....	3 g
Proteosa peptona o polipeptona .....	10g
Cloruro de sodio .....	5 g
Lactosa .....	10 g
Sacarosa .....	10 g

Rojo de fenol .....	0.05 g
Verde brillante .....	0.0125g
Agar .....	20 g
Agua destilada .....	1000 ml.

Disolver 58 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar a ebullición agitando ocasionalmente hasta completa disolución. Enfriar a 50-60°C  $\pm$  1°C. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Distribuir en cajas de Petri.

B. Gelosa sulfito de bismuto.

Extracto de carne de res .....	5 g
Peptona, polipeptona o partes iguales de triptona e proteasa-peptona .....	10 g
Glucosa .....	5 g
Fosfato diácido .....	5 g
Sulfato ferroso .....	0.3 g
Sulfito de bismuto, indicador .....	8 g
Verde brillante .....	0.025 g
Agar .....	20 g
Agua destilada .....	1000 ml

Suspender 52 g del medio deshidratado en un litro de agua. Calentar hasta ebullición y disolución completa agitando frecuentemente. Enfriar a 45° y distribuir en cajas de Petri estériles.

El medio no debe esterilizarse en autoclave ya que el sobrecalentamiento afecta su selectividad.

El pH final debe ser de 7.7

C. Galosa 83.

Extracto de carne .....	5 g
Proteosa peptona .....	5 g
Lactosa .....	10 g
Sales biliares .....	6.5g
Citrato férrico .....	1 g
Agar .....	13.5g
Verde brillante .....	0.00033g
Rojo neutro .....	0.25 g
Agua destilada .....	1000 ml

Suspender 60 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar a ebullición hasta disolución completa. No esterilizar en autoclave. El pH final debe ser aproximadamente 7.

D. Galosa Mac Conkey.

Peptona .....	17 g
Proteosa peptona .....	3 g
Lactosa .....	10 g
Sales biliares .....	1.5 g
Cloruro de sodio .....	5 g
Rojo neutro .....	0.03g
Cristal violeta .....	0.001g
Agar .....	13.5 g
Agua destilada .....	1000ml.

Disolver 36 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada y calentar a ebullición. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

El pH final del medio debe ser de 7,1 . Enfriar a 45°-48°C y distribuir en -  
cajas de Petri estériles.

Medios para la identificación bioquímica.

A. Gelosa tres azúcares fierro.

Triptona o polipeptona	20 g
Cloruro de sodio	5 g
Lactosa	10 g
Sacarosa	10 g
Glucosa	1 g
Sulfato ferroso amoniacal	0,2 g
Tio-sulfato de sodio	0,2 g
Rojo de fenol	0,025g
Agar	13 g
Agua destilada	1000 ml

Suspender 65 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar a ebullición agitando ocasionalmente hasta completa disolu—  
ción. Enfriar a 60°C y ajustar el pH de tal forma que después de la esterili—  
zación sea de 7,3 <sup>±</sup> 0,1 .

Esterilizar a 121°C durante 12 minutos. Distribuir en volúmenes de 3 ml en tu—  
bos de 13 x 100 mm. Inclinar los tubos de manera que el medio de cultivo en —  
el fondo del tubo alcance una profundidad de 1,0 a 1,5 cm.

B. Medio de SIM.

Extracto de carne	3 g
Peptona	30 g
Fierro peptonizado	0,2 g

Tiosulfato de sodio ..... 0.025 g

Agua destilada ..... 1000 ml.

Suspender 36 g del medio deshidratado en un litro de agua, calentar a ebullición agitando frecuentemente hasta lograr una disolución completa. Enfriar a 50°-60°C. Ajustar a pH 7.4  $\pm$  0.2. Distribuir el medio en volúmenes de 2-3 ml. en tubos de 13 x 100 mm, y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar solidificar en posición vertical.

#### C. Caldo Surraco.

Caldo base rojo fenol ..... 1.6 g

Sacarosa ..... 1.0 g

Urea ..... 1.0 g

Agua destilada ..... 100 ml

Azul de timol ..... 2-3 gotas

Disolver los ingredientes en 100 ml de agua y calentar hasta completa disolución. Distribuir el medio en tubo de 13 x 100 mm con tapón de algodón en volúmenes de 2-3 ml. Esterilizar a 4.54 Kg/cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

#### Indicador de azul de timol.

Azul de timol ..... 1.6 g

Hidróxido de sodio (0.1 N) ..... 35 g

Agua destilada ..... 100 ml

#### D. Caldo manitol.

Extracto de carne ..... 1 g

Protocosa-peptona ..... 10 g

Cloruro de sodio ..... 5 g

Rojo de fenol ..... 0,010 g  
 Manitol ..... 10 g  
 Agua destilada ..... 1000 ml

Suspender 21 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Dis-  
 tribuir en volúmenes de 2-3 ml en tubos de 13 x 150 mm con campana y esterili-  
 zar a 121°C por no más de 15 minutos. El pH final debe ser 7,4 .

E. Caldo cianuro de potasio.

Base :

Proteosa peptona Núm. 3 o polipeptona ..... 3 g  
 Cloruro de sodio ..... 5 g  
 Fosfato disódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ..... 5,64 g  
 Fosfato de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) ..... 0,225 g  
 Agua destilada ..... 1000 ml

Disolver los ingredientes en un litro de agua destilada y esterilizar a 121°C  
 durante 15 minutos, enfriar y refrigerar a 5-8°C.

El pH final debe ser 7,6  $\pm$  0,1.

Disolver separadamente 0,5 g de cianuro de potasio en 100 ml de agua destilada  
 estéril y helada (5-8°C). Agregar por medio de una jeringa o una pipeta con  
 bulbo 15 ml de solución de cianuro a cada litro de medio basal (no pipetear  
con la boca), mezclar bien y distribuirlo por medio de jeringa en volúmenes de  
 2-3 ml en tubos de 13 x 100 mm con tapa de rosca o tubos sin cierre hermético,  
 pero sellados con tapón de corcho parafinado (los corchos se preparan hirvién-  
 doles en parafina por 15 minutos). Si el medio se mantiene a 5-8°C, puede du-  
 rar 2 semanas.

F. Gelosa citrato de Simmons.



Fosfato de amonio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) .....	1 g
Fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) .....	1 g
Cloruro de sodio .....	5 g
Citrato de sodio .....	2 g
Sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) .....	0.20 g
Azul de bromotimol .....	0.08 g
Agua destilada .....	1000 ml

Suspender 24.2 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Calentar con frecuente agitación hasta ebullición y completa disolución. Distribuir en volúmenes de 2-3 ml. en tubos de 13 x 100 mm. y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar los tubos en posición inclinada. El pH final del medio debe ser 6.6 .

6. Caldo malonato.

Extracto de levadura .....	1 g
Sulfato de amonio .....	2 g
Fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) .....	0.60 g
Fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) .....	0.40 g
Cloruro de sodio .....	2 g
Malonato .....	3 g
Glucosa .....	0.25 g
Azul de bromotimol .....	0.025 g
Agua destilada .....	1000 ml

Disolver los ingredientes en un litro de agua destilada. Distribuir en tubos de 13 x 100 mm. en cantidades de 2 ml. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. El pH final deberá ser 6.7 .

**N. Caldo R. M. -V. P. ( rojo de metilo - Voges Proskauer).**

Peptona .....	7 g
Glucosa .....	5 g
Difosfato de potasio .....	5 g
Agua destilada .....	1000ml.

Disolver 17 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Distribuir en volúmenes de 3 ml. en tubos de 13 x 100 mm. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser 6,9 .

**Soluciones.**

**A. Solución de verde brillante al 0.1%.**

Verde brillante .....	0.1 g
Agua destilada estéril .....	100 ml.

**B. Solución yodo-yodurada.**

Cristales de yodo .....	6.0 g
Yoduro de potasio .....	6.0 g
Agua destilada .....	20 ml

Conservar en frasco ámbar.

**C. Reactivo de Kovac.**

p-dimetil-aminobenzaldehido .....	5 g
Alcohol amílico .....	75 ml
Acido clorhídrico concentrado .....	25 ml

Disolver el p-dimetil-aminobenzaldehido en el alcohol amílico y después agregar el ácido clorhídrico lentamente. Conservar en frasco ámbar.

**D. Solución salina al 0.85%.**

Cloruro de sodio .....	0.85 g
------------------------	--------

Agua destilada ..... 100 ml

Disolver el cloruro de sodio en el agua. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

E. Solución de alfa naftol.

Alfa naftol ..... 5 g

Alcohol ..... 100 ml

F. Solución de rojo de metilo

Rojo de metilo ..... 0.10 g

Alcohol etílico ..... 300 ml

Agua destilada ..... 500 ml

G. Solución de NaOH al 40 %.

NaOH ..... 40 g

Agua destilada ..... 100 ml

Antisueros.

Antisuero polivalente somático (O).

Antisuero polivalente flagelar (H).

Antisuero somáticos grupo A-I

A. Preparar la muestra de alimento por analizar.

B. Pre-enriquecimiento.

1. Transferir asépticamente 25 ml ó 25 g de alimento homogeneizado de un frasco conteniendo 225 ml de agua peptonada. Licuar si fuera necesario durante un minuto.

2. Incubar a 35°C durante 14 horas. Si se dispone del baño maría a 43°C para la incubación, la probabilidad de la recuperación de Salmonella se incrementa.

Enriquecimiento.

1. Transferir 1 ml. del cultivo anterior a un tubo conteniendo 10 ml de caldo -

selenita cistina y 1 ml. a otro conteniendo 10 ml. de caldo tetracionato. --  
Homogeneizar.

2. Incubar a 35°C durante 24 horas.

3. Si el alimento no requiere pre-entiquecimiento colocar 12-15 g en 125 ml. -  
de caldo selenita y 12-15 g en 125 ml. de caldo tetracionato. Licuar, si fuera  
necesario, durante un minuto. Incubar a 35°C durante 24 horas.

#### Aislamiento.

1. Inocular a partir de cada uno de los medios de entiquecimiento, 2 placas -  
de los medios sólidos como mínimo de manera que puedan obtenerse colonias bien  
aisladas para su identificación posterior.

2. Incubar a 35°C durante 24 horas.

3. Observar los cultivos para identificar las colonias sospechosas de:

#### Salmonella.

(a) Galosa sulfito de bismuto: Típicamente negras, con o sin brillo metálico,  
rodeadas de un halo café que con el tiempo ennegrece, en ocasiones las colo-  
nias aparecen de color café.

(b) Galosa SS: Incoloras o ligeramente rosa, translúcidas, ocasionalmente opa-  
cas. Algunas cepas dan colonias con centro negro.

(c) Galosa verde brillante: Translúcidas u opacas, incoloras o rosa rodeadas  
de medio enrojecido, excepto en la proximidad de las colonias de coliformes, -  
en cuyo caso aparecen verrucosas.

(d) Galosa Mac Conkey: Colonias translúcidas e incoloras, a veces con centro -  
oscuro.

4.- Si no se observan colonias características, proseguir la incubación 24 ~~horas~~  
horas más.

Cuidadosamente, aplicando la punta del asa sobre la colonia seleccionada - (para evitar contaminaciones con colonias vecinas), inocular un tubo de gelosa tres azúcares fierro por estría y picadura.

6.- Estudiar 2-3 colonias características por placa en la forma indicada.

7.- Incubar los tubos a 35°C durante 24 horas.

8.- En este medio de cultivo el desarrollo de Salmonella produce color amarillo en la picadura (ácido, por la fermentación de la glucosa) y rojo en la estría (no fermentación de la lactosa o sacarosa).

9.- Considerar como cultivos positivos en el inciso anterior, a los tubos con viré amarillo en la estría y en la picadura, cuando provenga de placas de gelosa sulfito de bismuto cuyas colonias muestran el color negro característico de Salmonella.

#### E. Identificación bioquímica.

1.- Inocular los cultivos positivos a series de medios de cultivo, para completar la identificación bioquímica; Medio de IM, caldo Sarraco, caldo cianuro y gelosa citrato de Simmons. Usar el caldo malonato, caldo manitol y caldo AM-VP para confirmaciones más precisas que se requieran ante pruebas serológicas dudosas o ante sospecha del género Arizona.

2.- Interpretar los cambios en los medios inoculados en los siguientes términos.

(A) Gelosa citrato de Simmons.

(a) Inocular por estría un tubo con medio de gelosa citrato Simmons.

(b) Incubar 96 ± 2 horas a 35°C.

Prueba positiva; indicada por crecimiento, frecuentemente acompañada por un cambio de color verde a azul.

Prueba negativa; ausencia de crecimiento y sin cambio de color.

(a) Medio de SIM.

(a) Inocular por picadura un tubo con medio de SIM.

(b) Incubar 24 horas a 35°C.

1. Movilidad.

Prueba positiva; Crecimiento a lo largo de la picadura y en el seno del medio de cultivo.

Prueba negativa; Crecimiento a lo largo de la picadura exclusivamente.

2. Producción de H<sub>2</sub>S.

Prueba positiva; Aparición de un color negro a lo largo de la picadura que puede extenderse a todo el medio.

Prueba negativa; Ausencia de color negro.

3. Producción de Indol.

Adicionar al tubo con medio de SIM que presente crecimiento 0.2 - 0.3 ml de reactivo de Kovac.

Prueba positiva; Aparición de color rojo.

Prueba negativa; No hay aparición de color rojo.

(c) Caldo Surraco.

(a) Inocular con una aseada un tubo de caldo Surraco.

(b) Incubar a 35°C durante 24 horas.

1.- Fermentación de la sacarosa.

Prueba positiva; Color amarillo.

Prueba negativa; No hay cambio de color.

2. Ureasa.

Prueba positiva; Color violeta.

Prueba negativa; No hay cambio de color.

(D) Caldo cianuro.

Inocular un tubo con tapa de rosca conteniendo caldo KCN.

Incubar 48 <sup>+</sup> 2 horas a 35°C.

Prueba positiva; Turbiedad por desarrollo del cultivo.

Prueba negativa; Ausencia de turbiedad.

(E) Caldo AM-VP.

(a) Inocular un tubo conteniendo caldo AM-VP.

(b) Incubar 48 <sup>+</sup> 2 horas a 35°C para la prueba de VP y 96 horas para la prueba de AM.

1. Prueba de Vogues - Proskauer.

Transferir a un tubo un ml. del cultivo de 48 horas.

Adicionar 0.6 ml de solución de alfa naftol.

Adicionar 0.2 ml de solución de hidróxido de sodio al 40%.

Adicionar algunos cristales de creatinina.

Leer los resultados después de 4 horas.

Prueba positiva; Desarrollo de color rosa.

Prueba negativa; Nohay desarrollo de color.

Reincubar el resto del medio AM-VP 48 horas más a 35°C.

2. Prueba del rojo de metilo.

Transferir a un tubo 2 ml del cultivo de 96 horas.

Adicionar 2-3 gotas de solución de rojo de metilo.

Leer los resultados inmediatamente.

Prueba positiva; Color rojo.

Prueba negativa; Color amarillo.

(F) Caldo Malonato.

(a) Inocular un tubo conteniendo caldo malonato.

(b) Incubar 48  $\pm$  2 horas a 35°C.

Prueba positiva: Color azul.

Prueba negativa: Color verde.

(G) Caldo Manitol.

(a) Inocular un tubo conteniendo caldo manitol.

(b) Incubar 48  $\pm$  2 horas a 35°C.

Prueba positiva: Color amarillo.

Prueba negativa: No hay cambio de color.

3. Consultar los resultados obtenidos en la tabla anexa para la identificación de los géneros de las bacterias probadas.

f. Identificación serológica.

1. Colocar con un asa de alambre 2 gotas de solución salina estéril en la parte superior de una lámina portaobjeto desengrasada. Suspender en ellas una porción del cultivo positivo desarrollado en TSI.

2. Colocar en la parte superior de la lámina pequeñas gotas de antisuecos polivalente somático y polivalente flagelar.

3. Mezclar el antígeno y el antisuero con el canto del asa o empleando aplicadores de madera. Agitar inclinando la lámina hacia atrás y hacia adelante durante aproximadamente un minuto y observar sobre fondo oscuro la presencia de aglutinación bajo la luz de una lámpara.

4. Si la aglutinación es positiva con alguno de los sueros volver a aglutinar empleando antisuecos para los diferentes grupos incluyendo el VI ( los grupos A,B,C,D,E, suelen ser más frecuentes).



XII INHIBIDORES MICROBIANOS

DIFERENCIACION DE ENTEROBACTERIACEAS MEDIANTE PRUEBAS BIOQUIMICAS

	TRIBU		ESCHERICHIEAE		EDWARDSIELLAE		SALMONELLEAE			KLEBSIELLEAE						PROTEAE					
	Generos	Escherichia	Shigella	Edwardsiella	Salmonella	Arizona	Citrobacter		Klebsiella pneumoniae	Enterobacter				Serratia		Proteus				Providencia	
							freundlii	diversus		cloacae	aerogenes	hafniae	agglomerans	marcescens	liquefaciens	rubidaea	vulgaris	mirabilis	morganii	rettgeri	alcalifaciens
INDOL		+	- o' +	+	-	-	-	+	-	-	-	- o' +	- o' +	- o' +	+	-	+	+	+	+	+
ROJO DE METILO		+	+	+	+	+	+	+	- o' +	-	-	- o' +	- o' +	- o' +	+	-	+	+	+	+	+
VOQUES-PROSKAVER		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	- o' +	+	-	- o' +	-	-	-
CITRATO DE SIMMONS		-	-	-	d	+	+	+	+	+	d	d	+	+	+	+ o' (+)	d	+ o' (+)	-	+	+
TSI		-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
UREASA		-	-	-	-	-	d <sup>w</sup>	d <sup>w</sup>	+	+ o' -	-	-	d <sup>w</sup>	d <sup>w</sup>	d <sup>w</sup>	d <sup>w</sup>	+	+	+	+	-
CIANURO DE POTASIO KCN		-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	- o' +	+	+	- o' +	+	+	+	+	+
MOBILIDAD		+ o' -	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+ o' -	+	+	+ o' -	+	+	+ o' -	+	+
GELATINA (22°)		-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+) o' -	- o' (+)	-	d	+ o' (+)	+	+ o' (+)	+	+	-	-	-
LISINA DESCARBOXILASA		d	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+ o' (+)	+ o' (+)	-	-	-	-	-
ARGININA HIDROLASA		d	d	-	+ o' (+)	+ o' (+)	d	+ d (+)	-	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ORNITINA DESCARBOXILASA		d	d <sup>(1)</sup>	+	+	+	d	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
FENIL ALANINA DESAMINASA		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- o' +	-	-	-	+	+	+	+	+
MALONATO		-	-	-	-	+	- o' +	+	+	+ o' -	+ o' -	+ o' -	+ o' -	-	-	+ o' -	-	-	-	-	-
GAS DE GLUCOSA		+	- (1)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- o' +	+ o' - (3)	+ o' -	d	+ o' -	+	+ o' -	- o' +	+ o' -
LACTOSA		+	- (1)	-	-	d	(+) o' +	d	+	+ o' (+)	+	d	d	-	d	+	-	-	-	-	-
SACAROSA		d	- (1)	-	-	-	d	- o' +	+	+	+	d	d	+	+	+	+	d	-	d	(+) o' +
MANITOL		+	+ o' -	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	d
DULCITOL		d	d	-	d <sup>(2)</sup>	-	d	+ o' -	- o' +	- o' +	-	-	- o' +	-	-	-	-	-	-	-	-
SALICINA		d	-	-	-	-	d	(+) o' +	+	+ o' (+)	+	d	d	+	+	+ o' (+)	d	d	-	d	-
ADONITOL		-	-	-	-	-	-	+	+ o' -	- o' +	+	-	-	d	d	+ o' (+)	-	-	-	d	- o' +
INOSITOL		-	-	-	d	-	-	+	+	d	+	-	d	d	+ o' (+)	d	-	-	-	+	+
SORBITOL		d	d	-	+	+	+	+	+	+	+	-	d	+	+	-	-	-	-	d	-
ARABINOSA		+	d	- o' +	+ (2)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
RAFINOSA		d	d	-	-	-	d	-	+	+	+	-	d	-	+	+	-	-	-	-	-
RAMNOSA		d	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+ o' (+)	-	d	-	-	-	-	+ o' -	-

CLAVE: (1) Ciertos biotipos de *S. flexneri* producen gas; Cultivos de *S. sonnei* fermentan lactosa y sacarosa lentamente, y descarboxilan la ornitina

(2) *S. Typhi*, *S. cholerae-suis*, *S. enteritidis*, bioserotipo Paratyphi-A y Pullorum, y otros pocos no fermentan regularmente el dulcital rápidamente. (2) *S. colerae-suis* no fermenta arabinosa

(3) Los volúmenes de gas producidos por cultivos de *Serratia*, *Proteus* y *Providencia* son pequeños

+, 90% o más positivos en 10 2 días. -, 90% o más negativos, d, diferentes tipos bioquímicos (+), - (+) positivos tardíos (reacciones de descarboxilasa, 3 ó 4 días). + o' -, la mayoría de los cultivos positivos - o' +, la mayoría de los cultivos negativos. w-reacción débilmente positiva.

Consultar para porcentajes, pruebas adicionales y referencias: Las publicaciones CDS "Differentiation of Enterobacteriaceae by Biochemical Reaction" (W. H. Ewin, 1973) y "Biochemical Reactions Given by Enterobacteriaceae in Comonly Use Test."

5. Reportar la presencia o ausencia de Salmonella en el número de gramos de la muestra utilizada en la prueba.
6. Para la identificación del serotipo enviar la cepa al laboratorio de Enterobacterias del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencias (S.S.A.)  
(1),(2),(3).

### Métodos microbiológicos de laboratorio.

Las pruebas microbiológicas de la calidad de los alimentos y sus ingredientes pueden llevarse a cabo en los laboratorios de las propias fábricas o en diversas agencias de control federales, estatales, locales, privadas o comerciales.

#### Objeto de estas pruebas.

Los objetivos perseguidos en las pruebas microbiológicas empleadas dependen del tipo de laboratorio que las haga. Los laboratorios o las agencias de control oficial las aplican para asegurar que los alimentos cumplen las normas reglamentarias. En los helados y la leche, por ejemplo, calculan número total de microorganismos. Las pruebas utilizadas tienden, en general, a regular el aspecto sanitario de los alimentos, es decir, si son adecuados y sanos para el consumo.

Los laboratorios de las fábricas de productos alimenticios se preocupan fundamentalmente de asegurar la calidad, estudian las materias primas, los ingredientes y diversas muestras a lo largo de todo el proceso de fabricación, manipulación, etc., comprobando así si los métodos utilizados por ellos son los adecuados y previniendo posibles trastornos. Se preocupan también de que cumplan las normas bacteriológicas (si existen), de que la calidad del producto sea aceptable y de que no se hallen presentes microorganismos o productos microbianos perjudiciales a la salud del consumidor.

#### Muestreo.

Los métodos aceptados para el examen microbiológico de los alimentos, que describen las diversas agencias, incluyen por lo general direcciones o normas específicas acerca de cómo tomar las muestras.

### Muestreo aséptico.

Todos los alimentos empaquetados que se suponen estériles o casi estériles se muestrean con precauciones asépticas especiales una vez abierto el recipiente en el laboratorio. Este tipo de muestreo es esencial cuando se trata de aclarar ciertos aspectos legales. Sin embargo, todos los aparatos utilizados para la toma de muestras deben haber sido previamente esterilizados y han de conservarse estériles hasta su uso.

### Aparatos para la toma de muestras.

Los alimentos líquidos se muestrean, en general, con ayuda de pipetas o tubos de ensayo estériles, preferiblemente después de agitarlos o mezclarlos hasta conseguir un material homogéneo. Los alimentos sólidos pueden muestrearse con ayuda de tubos estériles utilizados como sacacorchos o sacabocados, -- cucharas, cuchillos, etc. A veces se toman unidades pequeñas (botes de tamaño reducido, etc.) de productos sólidos o líquidos a lo largo de todo el proceso seguido en la preparación de ciertos alimentos. Las superficies internas del equipo utilizado pueden muestrearse mediante lavado de las mismas; las superficies planas, poniendo en contacto con ellas placas de gelosa, y muchas superficies del material y equipo, mediante el método de las torundas, en el que se sumergen torundas estériles en un medio de dilución, se exprimen parcialmente, se frotan contra la zona de la que se pretende tomar la muestra y se sumergen en el líquido en cuestión, que se siembra ahora en placas o tubos de gelosa inclinada.

### Número y tamaño de las muestras.

El número total de muestras a tomar y el tamaño de las mismas depende del número y la distribución, uniforme o no, de los microorganismos del alimento.

Cuanto más uniforme desde el punto de vista bacteriológico sea está, menor será el número de muestras necesarias y más pequeño su tamaño. Algunos alimentos son relativamente homogéneos dentro de una unidad o lote, pero varían considerablemente de unos lotes a otros. En tales casos se halla indicado el muestreo de diferentes lotes, procediéndose luego al examen de cada muestra en particular o al de todas ellas en conjunto.

#### Parte del alimento de la que se toma la muestra.

Cuando los organismos se hallan esparcidos homogéneamente por todo el alimento, se toma una masa o volumen determinado, sin que sea necesario escoger una zona definida, y los recuentos se expresan por gramo o mililitro.

#### Separación de los organismos de la muestra.

En la mayor parte de los alimentos líquidos los organismos se hallan libremente suspendidos. En muchos casos se adhieren, sin embargo, fuertemente a las superficies o se mantienen en el interior y se liberan sólo tras una agitación del alimento por algún medio, tal como un homogenizador mecánico o una licuadora. Así las bacterias de la superficie quedan bien esparcidas sólo tras una trituración adecuada.

#### Manipulación de la muestra.

Cuando no se puede hacer el examen microbiológico inmediatamente, las muestras de los alimentos susceptibles de alteración deben enfriarse inmediatamente (si no lo estaban ya) y transportarse y conservarse congeladas o refrigeradas al laboratorio hasta que se utilicen. Las muestras de productos lácteos se recomienda que se mantengan entre 0 y 4.5°C y que se examinen pocas horas

después de su recogida, aunque es poco probable que sufran ninguna modificación a esta temperatura durante 24 horas. En general debe evitarse - congelar las muestras.

#### Tipos de muestras utilizados.

Las muestras recogidas dependen de la clase de alimento y del tipo de laboratorio en el que se efectúan las pruebas. En general sólo se somete - al examen microbiológico el producto final. En muchas fábricas no se efectúa un solo análisis; en otras se examina el producto en crudo, los ingredientes, las muestras de las diversas etapas o estadíos del proceso de fabricación, superficies del material y equipo utilizado en el tratamiento, empaquetado, etc.; en otras, sólo los productos finales.

#### Clases de pruebas microbiológicas realizadas.

##### Pruebas microbiológicas realizadas.

Las pruebas microbiológicas pueden ser cuantitativas, para estimar el número total de microorganismos o el número de organismos de algunos tipos que tienen un significado especial, o cualitativas a fin de evidenciar la presencia de ciertos microorganismos o de sus productos. Los recipientes o los productos terminados y empaquetados se someten a pruebas destinadas a demostrar su esterilidad o a comprobar su capacidad de conservación. Algunos de los métodos empleados pueden considerarse oficiales, como los - utilizados con la leche, productos lácteos y agua; otros, recomendados, y algunos, sólo sugeridos. He aquí un resumen de las pruebas microbiológicas a que se someten en general los diversos alimentos.

##### Resumen de las pruebas microbiológicas a que generalmente se someten los - alimentos.

Recuento en placa del número total de bacterias. Las bebidas embotelladas, las leches concentradas, la leche condensada, la leche en polvo, huevos (pulpa, en polvo, congelados), harina, postres congelados, frutas (desecadas, congeladas, jugos), leche y crema, nueces, ostras y otros mariscos, salsas para ensaladas, especias, estabilizadores (helados), hortalizas (deshidratadas o congeladas), agua.

Recuento en placas, de mohos y levaduras. Bebidas embotelladas, mantequilla, huevos, (pulpa, polvo, o congelados), alimentos fermentados, salsas para ensaladas, estabilizadores (helados), azúcares y otros edulcorantes.

Pruebas de reductasa (reductasimetría). Pulpa de huevos, leche, ostras, camarones y aves.

Recuento microscópico directo de las bacterias. Huevos (en pulpa y congelados), hortalizas congeladas, postres congelados, leche y crema.

Recuento microscópico de fragmentos de mohos. Mantequilla, frutas congeladas, tomates y otras frutas enlatadas.

Recuento microscópico de bacterias vivas y muertas. Leche en polvo, leche pasteurizada y leche condensada.

Recuento de esporas de bacterias mesófilas. Marinas, azúcares y otros agentes edulcorantes.

Esporas de bacterias anaerobias termófilas y de la putrefacción. Leche en polvo, especias, almidón, azúcares y otros agentes edulcorantes.

Pruebas de coliformes (y recuentos). Bebidas embotelladas, leche certificada, colorantes y sustancias aromatizantes, leche en polvo, huevos (pulpa, en polvo y congelados), nueces, postres congelados, jugos de frutas, ostras y otros mariscos, leche pasteurizada, aderezos de ensalada, estabilizadores (helados)

y agua.

Pruebas de enterococos. Agua, jugos de frutas, productos lácteos pasteurizados, huevos líquidos, alimentos empanizados, y rebozados, liofilizados.

Bacterias patógenas.

Brucella spp. Leche y otros productos lácteos.

Clostridium botulinum. Alimentos enlatados (acidez media o baja), carnes curadas, pescados.

Bacterias hemolíticas. Quesos, huevos ( polvo, pulpa, congelados ), postres congelados, leche y crema.

Salmonella spp. Queso, huevos ( polvo, pulpa, congelados ), carnes y aves y alimentos sospechosos de producir salmonelosis.

Staphylococcus aureus. Alimentos sospechosos de causar intoxicación estafilocócica.

Triquina. Carne de cerdo, oso, jabalí, conejo, músculos de los enfermos de triquinosis.

Bacilos de la tuberculosis. Leche y crema.

#### Métodos cuantitativos.

Para el cálculo del número total de bacterias en los alimentos se utilizan los recuentos en placas de gelosa o modificaciones de los mismos. Los números aproximados se calculan a partir de medios líquidos inoculados con diluciones decimales, y en algunos casos se recomienda el recuento microscópico directo. El medio de gelosa que se emplea normalmente para el recuento en placa es bastante sencillo y sus resultados son fácilmente reproducibles, como sucede con la gelosa nutritiva o la gelosa para recuento en placas, que es un medio que da resultados comparables en los distintos laboratorios, aunque no da los resultados



máximos. Los recuentos en placa de gelosa se efectúan en numerosos alimentos, algunos de los cuales han sido ya citados. Se utiliza también el recuento en placas a lo largo de la línea de producción en las industrias alimenticias, - durante la manipulación y tratamiento de los alimentos y en el equipo puesto - en contacto con ellos.

Para el recuento y demostración de la presencia de ciertos tipos definidos de microorganismos se emplean medios de cultivo selectivos, tratamientos y ambientes especiales. Las bacterias termodúricas de la leche se cuentan por siembra en placa una vez pasteurizada la muestra.

Cuando se cuentan las esporas bacterianas se pasteuriza la muestra o una dilución de la misma, dependiendo del tratamiento térmico, y de la resistencia de las esporas que se intenta buscar. Al contar las esporas de las bacterias mesófilas, como en la harina y leche en polvo usadas en panadería, se recomienda un tratamiento térmico de 60°C durante 10 a 15 minutos. Cuando interesan esporas más termorresistentes, como las de las bacterias que alteran los alimentos enlatados, se aplica un tratamiento térmico más riguroso (5 minutos a 100°C) --- para el azúcar o almidón que se usa en el enlatado. A los microorganismos aerobios se les suministra oxígeno y a los anaerobios se les priva de él. Los termófilos se incuban a temperaturas elevadas (55°C). Los psicrófilos, entre 5 y 10°C. Para el crecimiento de mohos y levaduras se usan generalmente medios ácidos, de pH entre 3.5 y 4.0 que se ajustan con ácido orgánico. Los microorganismos halófilos se cultivan en medios ricos en sal y los osmófilos en medios ricos en azúcar. Algunos medios selectivos contienen productos químicos que impiden el desarrollo de todos los microorganismos, excepto los que interesa que --- se multipliquen. Un buen ejemplo de este tipo lo constituyen los medios selec-

tivos para las bacterias coliformes; gelosa bilis rojo-violeta, gelosa desoxicolato, bilis-peptona-lactosa-verde brillante y caldo peptonado-lactosa-ricinoleato-formato. Se utilizan para la determinación de la cuenta de bacterias coliformes en la leche y en los productos lácteos, en las ostras y en el agua, o para revelar su presencia. Para estimar o calcular el número aproximado se emplean a veces medios líquidos. En la determinación de salmonelas se usan otros medios selectivos: la gelosa sulfito de bismuto; otro es la gelosa telurita-glicocola, para los estafilococos, y los medios con antibióticos para las levaduras.

Es muy importante la selección de una temperatura óptima de incubación para las cuentas cuantitativas o pruebas especiales. Muchos de los microorganismos de los alimentos crecen con dificultad o no lo hacen a las temperaturas usadas normalmente de 35° a 37°C, porque requieren de temperaturas más bajas. Es por esta razón por la que la temperatura de inoculación para la cuenta estándar en placas en la leche se ha disminuido a 32°C. Y la temperatura a la que la gelosa se enfría antes de su uso (45°C o más) puede incluso perjudicar a alguno de los microorganismos que crecen a bajas temperaturas.

Algunos medios de cultivo contienen indicadores que contribuyen a la identificación de colonias de tipos de organismos definidos; por ejemplo, caseína suspendida, para demostrar proteólisis o lecitina para lipólisis; un indicador de pH que demuestra la presencia de microorganismos formadores de ácido o alcali; el sulfito + citrato de hierro que pone de manifiesto las colonias negras de las bacterias causantes de la alteración sulfhídrica en azúcar o almidón, etc. Otro medio selectivo es, por ejemplo, la gelosa sangre, que descubre la presencia de bacterias hemolíticas; los animales de experimentación se utilizan también para demostrar la existencia de diversos microorganismos patógenos.

El recuento microscópico directo se utiliza cuando los alimentos contienen un número elevado de microorganismos. En algunos casos este método es útil para obtener un crecimiento previo de microorganismos o para indicar la adición de ingredientes en los que había tenido lugar un crecimiento microbiano elevado. Por ejemplo, la presencia de un número apreciable de fragmentos de micelio de hongos en la mantequilla, en los tomates enlatados o en las frutas congeladas, indica un producto original de calidad inferior o quizá estropeado. La presencia de una gran cantidad de bacterias en la leche pasteurizada indica que la leche cruda estaba muy contaminada y un número elevado de células teñidas en la leche en polvo indica que hubo una multiplicación excesiva durante la manipulación y tratamiento de la leche líquida.

Las pruebas de reducción del azul de metileno y de la resazurina se han utilizado en la leche, pulpa de huevo, etc., como índices de la calidad bacteriológica de estos productos.

#### Métodos cualitativos.

Los métodos selectivos sirven para indicar también la presencia de tipos específicos de microorganismos sin calcular su número. Algunos de los microorganismos que contaminan los alimentos son de observación difícil, así que casi sólo se utilizan pruebas cualitativas. Por ejemplo, las esporas de Clostridium thermosaccharolyticum ( alteración "T.A" de las conservas enlatadas ), son difíciles de contar en el azúcar y se prueba su presencia distribuyendo 20 ml de una solución pasteurizada que contenga 4 gramos de azúcar, en 6 tubos de caldo de hígado y contando el número de tubos con producción de gas al incubarlos a 55°C. Los productos terminados se prueban intentando descubrir la presencia o la cantidad de algún producto microbiano que sirva de índice de la calidad del mismo. (4).

**111. AJUSTE DEL PRODUCTO A LAS NORMAS MICROBIOLÓGICAS.**

La forma de hacer que cada una de las materias primas empleadas en la elaboración del chocolate en polvo, como son: el cacao, la leche en polvo, azúcar, mezcla de vitaminas, etc., se ajusten a las normas bacteriológicas, consiste en vigilar todos los pasos que se siguen desde que llegan como materia prima hasta que sale el producto terminado, a fin de corregir o evitar la propagación del mal en sus comienzos.

Las medidas sanitarias que han de tomarse en cuenta son principalmente las relacionadas con el equipo con el cual se va a elaborar el producto tendientes a que esté limpio y desinfectado.

La limpieza se realiza por dos razones principales, que son:

- A) Evitar alguna contaminación bacteriana y
- B) Obtener una mejor eficiencia en el equipo.

En la contaminación bacteriana los materiales que intervienen en la elaboración del producto, como son la leche, cacao, vitaminas, lecitina y azúcar, tienen -- sustancias nutricionales para las bacterias.

Si no se realiza la limpieza en el punto B, baja la eficiencia, debido a que -- existen materiales que se adhieren a la tubería, como es el caso del cacao que por su alto contenido en grasa se adhiere a las paredes de la mezcladora, silos y tuberías y también a las paredes de silos, y tuberías donde se encuentra el producto terminado.

Otra de las sustancias que se pegan son el azúcar y la lecitina con la mezcla de vitaminas A y D; la mezcla de las vitaminas a la lecitina se hace por calentamiento de ésta a 60° y agitación, en seguida se vierte la mezcla de vitaminas y el azúcar durante 15 minutos y a continuación se pasa a un recipiente forrado con chaqueta de vapor para conservar la temperatura y mantener la lecitina líquida.

da para que se mezcle con la leche y el cacao y formar así el producto final. Para evitar que la capa o costra del producto se adhiera a las paredes del equipo y pueda ser una fuente de contaminación del mismo es necesario realizar la limpieza del equipo; algunos fabricantes la acostumbren cada 15 días, así como también la de las paredes, pisos y lámparas. La limpieza de las paredes y los pisos se realiza además diariamente, pero cada 15 días de una manera más meticulosa. En la limpieza general de cada 15 días intervienen 3 departamentos que son : producción, mantenimiento y limpieza.

La función de cada uno de los departamentos involucrados es la siguiente:

Mantenimiento es el encargado de desmontar la tubería, esclusas, balanzas, tanque donde se mezcla la lecitina y el azúcar y también destapar el silo donde se mezcla el azúcar con la lecitina, leche, y el cacao, o sea el producto final.

Producción se encarga de lavar todo el equipo que desarmó mantenimiento, con jabón, cepillos y escobillones especiales para las tuberías, empleando agua caliente a 60°C; enseguida se seca perfectamente el equipo y se rocía una solución alcohólica de un bactericida, luego se envuelven o tapan con hules o papel aluminio para que mantenimiento cierre el equipo.

Limpieza es el encargado de limpiar paredes, pisos y lámparas después del lavado del equipo, debido a que al destapar las tuberías y bajarlas para su aseo, el material que contienen cae al suelo y vuela adhiriéndose a las paredes y lámparas, lo que hace que esta limpieza se deba realizar de una manera más profunda.

La limpieza se inicia quitando todo cúmulo de grasa que se encuentre en el depósito de cacao (lugar en el cual se deposita el cacao que posteriormente es transportado a la mezcladora de cacao con mezcla de vitaminas).

Tamiz de cacao: en esta parte del equipo se limpian las paredes y mallas lavándo-

las con suficiente agua y se esterilizan con solución germicida.

Esclusas: se encuentran en la parte inferior del tamiz y tienen la función de regular el paso de material de acuerdo con la cantidad de flujo de aire que manda el compresor. Se desmontan, se lavan y esterilizan y se tapan para que después mantenimiento las coloque.

Tuberías: se desmontan y se lavan con agua y escobillones, se secan se esterilizan y se tapan.

Mezcladora: se destapa y una persona se introduce dentro de ella para quitar con una espátula la capa de cacao adherida a las paredes y pistones y luego con una brocha termina de quitar todo el polvo que pudiera quedar pegado en las paredes de la mezcladora, después se atomiza una solución bactericida y se tapa.

Esclusa: se encuentra en la parte inferior de la mezcladora y se limpia de la misma manera que la esclusa del tamiz de cacao.

Silo de cacao: se destapa y con una espátula se raspa la capa que se le adhiere, este silo tiene una capa de teflón que recubre su superficie para evitar que se pegue la grasa, pero aún así la grasa se pega. Para esterilizar este equipo se recia con solución bactericida. El personal, después de tomar un baño, se coloca un overol y botas limpios y esterilizados para que al entrar al silo no introduzca bacterias. Una vez lavado el silo se tapa enseguida.

El depósito de leche, tamiz, esclusa y silo se limpian de la misma manera que los del cacao, sólo que este material no se adhiere tanto al equipo como el cacao.

Mezcladora de vitaminas: se limpia de la misma manera que las anteriores.

Depósito de azúcar: se limpia de la misma manera que los dos depósitos anteriores.

El tamiz de azúcar tiene 2 metros de ancho y 4 metros de largo, e interiormente está constituido, en la parte superior, por una malla Núm. 20 y después por una malla Núm. 30, entre estas mallas se introducen unas pelotas que funcionan de tal manera que con un movimiento transversal golpean la malla superior para sacudirla y evitar que se tape u obture. El azúcar que no pasa estas mallas (como el tamiz está ligeramente inclinado) cae a un depósito y es transportada por un gusano hasta un molino por el cual pasa el azúcar antes de volver a caer al tamiz. Por este método el azúcar se aprovecha en un cien por ciento.

Para la limpieza se quita cada una de las mallas y pelotas para ser lavadas con agua y jabón, y también se rocían de solución germicida, enseguida se envuelven en papel aluminio hasta que mantenimiento las arme.

El silo de azúcar está en la parte inferior del tamiz y para su limpieza se destapa y limpia con una brocha y un trapo hasta que no quede residuo alguno, después se rocía con solución alcohólica bactericida y se tapa.

Balanzas: se limpian con aspiradora y escobillones; los rodillos, bandas y el polvo que sale se aspiran. Este equipo solamente se limpia con aspiradora y en su limpieza no se utiliza agua, unicamente se rocía con la solución alcohólica bactericida, y se tapa.

En la parte inferior se encuentra el "buss" de lecitina y azúcar, éste se destapa y se aspira el excedente de azúcar lecitinada, lo que se encuentra pegado al "buss" y a las aspas se quita con una espátula y con un trapo húmedo aspirando el excedente, enseguida se rocía con la solución alcohólica bactericida y después se tapa con papel de aluminio hasta que mantenimiento lo arme. Más abajo se encuentra el "buss" general en el cual se mezclan la leche, azúcar, cacao y azúcar lecitinada; éste se lava de la misma manera que el "buss" de azúcar lecitinada.



A un lado del "buso" se encuentra un tamiz por el que pasa el producto final y se limpia diariamente, al final de cada turno, cambiando las mallas por unas limpias y previamente desinfectadas con la solución.

Después el producto final pasa a los silos maestros o depósitos del producto final para llegar finalmente a las líneas de empaque.

Estos silos están constituidos por aspas interiores y un vibrador que evita que el producto se pegue a las paredes, estos silos tienen, cada uno de ellos, una capacidad de almacenamiento de 2,800 Kg de producto final. Para su limpieza se destapan y se introduce una persona bañada y con overol para que con una brocha y espátula raspe el depósito y luego aspire todo el producto que se despegó; al terminar de hacer ésto se rocía con solución alcohólica bactericida y se tapa.

Después que producción ha terminado de efectuar la limpieza, el departamento de mantenimiento procede a armar todo el equipo que enteriormente desmontó y finalmente el departamento de limpieza se encarga de terminar la limpieza de todos los pisos, paredes, lámparas, ventanas y puertas.

Todo el material empleado en el equipo es de acero inoxidable, por lo cual es fácil observar cuándo no está limpio todo o en parte.

La tubería unicamente se lava con agua caliente y con escobillones.

A todo el equipo, ya listo para iniciar la elaboración del producto, lo revisa el analista de bacteriología para que dé la aprobación y se inicie la producción.

La salud de quienes manejan la elaboración del producto es de vital impor-

tancia, ya que pueden ser fuente de bacterias que causen enfermedad en otras personas, provocar la transmisión de microorganismos patógenos, o la intoxicación por ingestión de alimentos. Se verifica el buen estado de salud del personal haciendo un examen médico general cada 6 meses y un exudado faríngeo cada 3 meses, con lo cual se evita la contaminación del producto alimenticio.

A todo el personal se le cambia la ropa cada tercer día, para que no sea una fuente de contaminación, de esto se encarga el servicio de ropería.

Se debe tener cuidado, al muestrear la materia prima, de evitar las corrientes de aire, y de mantener una zona estéril a fin de que, siempre, todo el material que se va a emplear para muestrear esté exento de microorganismos; esto se logra con ayuda de mecheros o lámparas de alcohol.

Para saber qué tan contaminada está el área de producción, cada semana se exponen al aire placas que contienen gelosa nutritiva y otras con gelosa malta, para tener una idea de qué tan limpio está el medio ambiente.

También, durante el proceso, se muestrea el producto 3 veces a la semana para evitar cualquier contaminación; igualmente se muestrea el producto cada 2 horas durante todo el día en cada una de las presentaciones que se están envasando, y se hacen análisis tomando muestra cada dos horas por cada uno de los tamaños o presentaciones envasados diariamente.

Al llegar la materia prima al área de recepción en el almacén, este departamento le da un número de lote y avisa al laboratorio de control de calidad para que el analista baje a revisar las condiciones en que llega la materia

prima.

El analista, al ser avisado de que llega una materia prima, debe reportar en la hoja de recepción de materia prima las condiciones en que se recibe, dando aviso de si los sacos están limpios o sucios, bien cocidos o rotos, o de si están debidamente membretados o no lo están, etc. Ya que se han reportado estos datos, el analista indica si el producto puede ser descargado o no. Al ser aceptado el producto por el laboratorio de control de calidad se acomoda en tarimas estibando 40 sacos en cada una de ellas. Las tarimas en las que se acomodan los sacos deben estar limpias.

Cada tarima soporta una tonelada, ya que cada saco pesa 25 kilos; una vez debidamente acomodado el producto, las tarimas se llevan al área del almacén en donde se realizará el muestreo de cada una de ellas para efectuar después el análisis.

El área del almacén, en donde se lleva a cabo el muestreo, no debe tener corrientes de aire, y ser un lugar seco para evitar las contaminaciones del medio ambiente, no aumentar la cuenta total de microorganismos que contenga la materia prima y también evitar, en lo posible, la proliferación de mohos en los sacos.

En esta área permanecen las sustancias hasta que se realiza el muestreo y también se efectúan los análisis que determinen si la materia prima es aceptada para usarse en la elaboración del producto.

Material necesario para realizar el muestreo:

- a) Frascos con tapon de rosca, de boca ancha, estériles.
- b) Sondas estériles.
- c) Lámpara de alcohol o mechero.
- d) Frasco con alcohol.
- e) Atomizador con solución alcohólica bactericida.
- f) Etiquetas.
- g) Panel engomado.
- h) Plumón marcador para rotular los sacos.

Procedimiento para realizar el muestreo:

El analista, para llevar a cabo el muestreo, debe tener las manos limpias, la bata limpia y el cabello cubierto con un gorro o cofia, así como también la persona que le ayude a realizar el muestreo.

La persona o ayudante debe marcar todas las tarimas anotando el número de muestra y el número de lote que le toca, así como poner la identificación en cada frasco al pegarle su etiqueta anotando el número de lote, de muestra y la fecha en la que se realiza el muestreo.

De cada una de las tarimas se muestrean al azar 6 sacos, se desinfecta el área del saco del que se va a tomar la muestra. Se toma muestra del saco ya sea cerca de la boca, en la parte de enmedio o en la parte final del saco, cada saco tiene 3 capas de papel y enseguida viene la bolsa de plástico que contiene el producto.

Ya que se desinfectó el área que se va a muestrear, se corta el papel en forma de triángulo con una cuchilla, el ayudante se acerca con la lámpara de alcohol y el analista quita el papel que envuelve el calador

e inmediatamente lo introduce en el saco y destapa el frasco estéril cerca de la lámpara de alcohol, saca el calador del saco y lo introduce en el frasco para depositar la muestra de producto. En esta forma continuará hasta que se llene el frasco con las muestras de la tarima.

De la misma manera se muestrea todo el lote y cada uno de los sacos se sellan con papel engomado en la parte que se muestreó y se coloca una etiqueta de color rojo que dice:

SACO MUESTREADO POR:

NOMBRE DEL PRODUCTO:

FECHA DE MUESTREO:

Esta etiqueta se retendrá hasta saber el resultado del análisis.

Todas las muestras se llevan al laboratorio para proceder a realizar el análisis, se toman 2 muestras de cada una de las tarimas, ya que una servirá para efectuar el análisis físicoquímico y la otra para el análisis bacteriológico.

Al tener la muestra en el laboratorio de bacteriología se hacen los siguientes análisis:

- a) Cuenta estándar o cuenta total de microorganismos viables, col/g.
- b) Cuenta de mohos y levaduras, col/g.
- c) Cuenta de organismos coliformes, col/g.
- d) Presencia de Escherichia coli.
- e) Presencia de Salmonella.

Cuando se tienen los resultados del análisis y todos caen dentro de las especificaciones, el producto se le reetiqueta con una etiqueta de color

verde, que nos indica que el producto está aprobado y que dice:

PRODUCTO APROBADO.

ANALISTA:

FECHA:

Pero si presenta un elevado número en la cuenta estándar o total de microorganismos, el producto, como en el caso del cacao, deberá de reetiquetarse co locando una etiqueta de color naranja que dice:

PRODUCTO PARA REPROCESO.

FECHA DE RECHAZO:

Reproceso por cuenta estándar alta:

Cuando el cacao presenta una cuenta estándar alta es sometido a un proceso de calentamiento en una mezcladora forrada con una chaqueta de vapor.

Los sacos de cacao rechazados se vacían en la mezcladora hasta que se llena, se cierra y se empieza a calentar, esto dura 30 minutos hasta que alcanza la temperatura de 120°C cuando empiezan a contarse 90 minutos, tarda 30 minutos para enfriarse y entonces se pasa al silo de recuperación para después envasarlo en sacos de 25 kilos.

La mezcladora tiene en su interior un gusano de acero inoxidable que cuando está cerrada la mezcladora se hace funcionar para que mezcle el cacao; también esta mezcladora tiene unas cuchillas que giran en sentido contrario al gusano, para que haya una mejor homogeneización del cacao.

El producto se envasa al término del tratamiento en sacos de papel kraft de 3 capas, que tienen en su interior una bolsa de polietileno.

Estos sacos están debidamente membretados y dicen:

CACAO PASADO POR LA "DAY".

FECHA:

77

Reproceso por cuenta elevada de mohos y levaduras:

Cuando el cacao tiene una cuenta de mohos y levaduras fuera de las especificaciones, sufre un tratamiento de calentamiento como el anterior, sólo que el tiempo de calentamiento es de 30 minutos para que alcance la temperatura de 90°C - 92°C durante un lapso de 60 minutos, esperando 30 minutos para que baje la temperatura, pase al silo de recuperación y pueda ser envasado.

El personal que está vaciando los sacos de cacao a la mezcladora tiene ropa limpia, así como gorro o cofia que les cubre el cabello y también una máscara que les protege la nariz y boca para evitar que respiren directamente el polvo de cacao.

El personal que está envasando los sacos tiene una capucha que les cubre el cabello y sólo deja al descubierto los ojos, tienen guantes en las manos para evitar el contacto con el producto. Cuando los sacos tienen el peso adecuado, estos sacos pasan a la persona que debe amarrar la bolsa de plástico y coserla, enseguida pasan al personal que los va acomodando en las tarimas hasta tener cada una de ellas una estiba de 40 sacos para que después los lleven al área del almacén donde se realizará nuevamente el muestreo y permanecerá en este lugar hasta que esté aprobado por el laboratorio de control de calidad para que pueda ser utilizado en la elaboración del producto alimenticio.

IV. CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO.





Cuando se hubieran la precaución de analizar cada una de las materias primas empleadas para la elaboración del preparado en polvo, como son: la leche en polvo, azúcar refinada, vainilla en polvo o esencia de vainilla, mezcla de vitaminas en polvo, y el reporte microbiológico nos indica que los resultados obtenidos están dentro de las especificaciones de materia prima, en el producto final obtendremos un producto de muy buena calidad que no pondrá en peligro la salud del público consumidor para este tipo de producto, que en su gran mayoría son niños de edad escolar.

Para asegurar una mayor regulación microbiológica también se exponen al aire placas con gelosa nutritiva y gelosa malta para tener una idea de qué tan contaminado está el medio ambiente en el cual se fabrica el producto; en las placas de gelosa nutritiva se hace la lectura de cuenta total de colonias bacterianas y la cantidad de colonias cromógenas.

En las placas de gelosa malta se hace la lectura de la cuenta de hongos y levaduras presentes en el medio ambiente; la toma de muestras de aire en estas placas se hace colocándolas cerca de las ventanas, cerca del equipo como las balanzas, los silos de depósito del producto, en el cuarto donde se realiza la mezcla de vitaminas, en el elevador empleado para transportar las materias primas; también se colocan placas en el área de envase del producto, cerca de las puertas de entrada, en las mesas en que se están limpiando con solución bactericida las latas, etc.

El muestreo de cada una de las materias primas se debe realizar en condiciones asépticas llevando una lámpara de alcohol, frascos debidamente esterilizados y rotulados para que se identifiquen debidamente con el número de lote,

número de muestra, la fecha y el nombre de la persona que muestrea.

La exposición de placas al medio ambiente se realiza dos veces por semana, o si la cantidad de trabajo es demasiada se realiza una vez por semana.

Cuando el análisis de calidad microbiológica no es bueno pueda dar lugar a intoxicaciones producidas por microorganismos, que son los trastornos causados por la ingestión de toxinas elaboradas por los microbios.

Las intoxicaciones alimenticias que producen las bacterias se dividen en dos grupos fundamentales: (1) botulismo, determinado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por Clostridium botulinum, e (2) intoxicación estafilocócica producida por la toxina de Staphylococcus aureus.

Las infecciones alimenticias son también de dos tipos: (1) aquellas en las que los alimentos no constituyen, en general, el medio de cultivo de los patógenos, pero los transportan (tuberculosis, difteria, disentería, fiebre tifoidea, brucelosis, cólera, etc.), y (2) aquellas en que los alimentos constituyen el medio de cultivo de los patógenos, que al multiplicarse aumenta la posibilidad de infectar al consumidor. A este grupo pertenecen las bacterias del género Salmonella.

Para evitar este tipo de intoxicaciones en alimentos es necesario evitar la contaminación por una mala manipulación o envase.

Los resultados del análisis durante el proceso se anexan, así como los resultados en el producto terminado, que son los siguientes:

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTREO DURANTE EL PROCESO

	CANTIDAD ESTÁNDAR Col/R	COLIFORMES			HONGOS Col/R	LEVADURAS Col/R	Salmonella
		POSITIVA PARA DEP.	POSITIVA U.S.S. 2%	CONFIRMATIVA E. Coli			
SILO DE AZÚCAR	900	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
SILO DE CACAO	1800	<5	2/5	Neg	<10	<10	Neg
SILO DE LECHE	1000	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
HERVEDORA DE CACAO	900	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
BASEULA DE CACAO	800	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
BASEULA DE AZÚCAR	500	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
BASEULA DE LECHE	800	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
CACAO PASADO POR "MAY"	900	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
"BUSS"	1000	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
TORVILLE DEL "BUSS"	1000	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
SILO MAESTRO	1000	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg
AZÚCAR CON LECITINA	500	<5	0/5	Neg	<10	<10	Neg

RESULTADOS BACTERIOLÓGICOS OBTENIDOS EN 30 MUESTRAS DEL MERCADO  
DE CHOCO MILK, CHOCOLATE EXPRESS Y QUIK.

MUESTRA	CUENTA ESTÁNDAR Col/g	CONIFORMES			E. coli Neg.	CUENTA HONGOS Col/g	CUENTA LEVADURAS Col/g	SARMOGELLA Negativa.
		TUBO	NMP	PLACA Col/g				
C-H-1	3400	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-H-2	4300	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-H-3	1100	0/5		25	Neg.	20	210	Neg.
C-H-4	2200	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-H-5	2700	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-H-6	1500	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-H-7	4600	0/5		25	Neg.	30	20	Neg.
C-H-8	3000	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-H-9	2300	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-H-10	1600	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-E-1	1200	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-E-2	5000	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-E-3	2600	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-E-4	3400	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-E-5	1000	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-E-6	1200	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-E-7	3300	0/5		25	Neg.	10	10	Neg.
C-E-8	1500	0/5		25	Neg.	20	<10	Neg.
C-E-9	1500	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.
C-E-10	2000	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.

MUESTRA	CUNTA ESTANDARIZADA Col/g.	CONFIRMES			E. coli Neg.	CUNTA HONGES Col/g.	CUNTA LUBRIFICANTES Col/g.	SALMONELLA. Negativo.
		TUBO	NMP	PLACA Col/g.				
C-Q-1	2700	0/5		25	Neg	10	10	Neg
C-Q-2	2100	0/5		25	Neg	10	<10	Neg
C-Q-3	1800	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg
C-Q-4	2200	0/5		25	Neg	10	10	Neg
C-Q-5	4000	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg
C-Q-6	1800	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg
C-Q-7	1000	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg
C-Q-8	2000	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg
C-Q-9	2200	0/5		25	Neg	<10	<10	Neg.
C-Q-10	1800	0/5		25	Neg.	<10	<10	Neg.

## V. DISCUSSION

En nuestro país, la fabricación, distribución y venta de alimentos preparados en polvo se realiza en la mayoría de los casos en condiciones que dejan mucho que desear desde el punto de vista higiénico y sanitario.

A través del desarrollo de la industrialización de alimentos ha ido destacándose la importancia de obtener productos libres de contaminación. La contaminación constituye un ataque a la salud pública cuando los alimentos se encuentran contaminados con organismos causantes de enfermedades o putrefacción, con toxinas producidas por bacterias, con venenos químicos, así como con materias extrañas o no compatibles con lo que debe ser la alimentación. Debe entenderse por contaminación en los productos alimenticios la inclusión de cualquier elemento, ya sea físico, químico o biológico, que normalmente sea extraño a ellos, y altera su calidad. La contaminación en general, perjudica o daña terriblemente no sólo las economías particulares sino también, y por consecuencia, el producto bruto nacional.

La contaminación de los alimentos es, por razones humanas, totalmente acreedora a nuestra condenación, sobre todo en los pueblos que aún no han podido satisfacer su hambre, porque esta contaminación escamotea parte de sus alimentos.

Al parecer existe todavía ignorancia en muchos de los fabricantes, quienes en beneficio del aspecto económico descuidan o ignoran la manipulación correcta de los alimentos que proporcionan, ocasionando muy a menudo, y en el mejor de los casos, infecciones intestinales.

La mayor parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos, se sabe que son las de los aparatos respiratorios e intestinal.

Las enfermedades respiratorias son transmitidas comúnmente por descargas bucales y nasales cuando se estornuda o tose.

Las enfermedades intestinales pueden transmitirse a los alimentos, y luego a --  
otras personas, si la persona que los manipula no se lava las manos, o no se las  
lava bien, después de ir al excusado.

Existen otros medios de transmisión de enfermedades y contaminaciones, como son:  
las tuberías de desechos, los roedores, los insectos, las superficies de trabajo,  
el equipo y los utensilios utilizados en la manufactura de alimentos.

A continuación se detallarán algunas indicaciones para la adecuada manipulación  
y preparación de los alimentos, tomándose en consideración algunos de los facto-  
res mencionados. (6).

#### EMPLEADOS QUE SE OCUPAN DE LA MANIPULACION DIRECTA DE LOS ALIMENTOS

##### 1.1. Higiene Personal

- a) Mantener las manos limpias y lavarlas con frecuencia para eliminar las bacte-  
rias propias y las que proceden del alimento o del equipo con el objeto de que no  
puedan llegar a los alimentos.
- b) Las manos deben lavarse con jabón y agua templada y de preferencia utilizan-  
do agua corriente, después de que se haya hecho lo siguiente:
- Toser o estornudar en las manos o en un pañuelo.
  - Acudir al cuarto de baño (orinar o defecar).
  - Manipular desperdicios.
  - Fumar.
  - Manipular cajas u otros artículos contaminados.
  - Manipular carne cruda, carnes de aves de corral, huevos con cascarrón, pescados  
o mariscos.
  - Tocar monedas.
  - Después de peinarse o arreglarse el pelo.



- Anudarse los zapatos.

- Tocarse con los dedos la nariz o la boca.

c) Las uñas deben estar cortas, sin laca y perfectamente limpias.

d) Es de suma importancia practicar la limpieza personal, mediante un baño diario de tina o regadera.

e) El cabello debe mantenerse en perfectas condiciones de higiene y sujeto mediante algún gorro (hombres) o una red para el pelo (mujeres).

f) Cubrir los cortes, quemaduras y otras erosiones de la piel con apósitos impermeables; las personas que tengan lesiones infectadas no deben manipular alimentos.

## 1.2 HABITOS

Existen algunos malos hábitos que deben evitarse cuando se trabaja con alimentos, como son:

a) Deben evitarse los golpes de tos y los estornudos sobre los alimentos.

b) Evitar ensalivarse los dedos para tomar papel, especialmente si este papel se utiliza para envolver alimentos.

c) No se debe rascar o hurgar la nariz al preparar alimentos.

d) No rascarse la cabeza, ni arreglarse el pelo, tirar de los bigotes, exprimir espinillas, etc.

e) Procurar no tocar los alimentos con los dedos, ni probarlos con los dedos, emplear una cuchara probadora limpia, cada vez.

f) No fumar, ni masticar goma de mascar, ni tabaco u otra cosa similar.

g) No tocar partes de la vajilla y utensilios para la comida que se pongan en contacto con la boca del consumidor.

En cambio hay hábitos que deben ponerse en práctica para una mejor higiene durante la manipulación de alimentos, como son:

- a) Emplear utensilios para preparar alimentos, usar tenacillas, cucharas, tenedores y otros para manejar hielo, mantequilla, panecillos, panes, pasteles y otros productos, en vez de usar las manos. (Los utensilios deben estar perfectamente limpios).
- b) Tomar los utensilios de servicio y cubiertos por sus mangos y los vasos por sus bases, y las tazas por el asa.
- c) Usar guantes de plástico (desechable), ya que se ha visto que el empleo de guantes de goma no tiene mucha ventaja desde el punto de vista bacteriológico sobre las manos desnudas, salvo que los guantes conservan una superficie lisa y sin roturas y se lavan frecuentemente. Deben lavarse puestos, para evitar que se manchen las manos por los guantes después de su empleo continuo.

### 1.3 MATERIAL HIGIENICO UTILIZADO.

- a) El jabón puede distribuirse desde un recipiente fijo, ya sea en forma líquida o de copos pequeños, tiene ventajas sobre el jabón de pastilla que pasa de mano en mano y que puede acumular, con el uso, una espuma y una costra dentro de las que se recogen bacterias.
- b) Las toallas de papel desechables son posiblemente el medio más satisfactorio para secar las manos. El empleo de toallas comunes debe descartarse, pues se ha visto que transmiten infecciones de una persona a otra.
- c) Deben utilizarse instrumentos que sustituyen a los dedos, especialmente cuando los alimentos no vayan a cocerse posteriormente.

### 1.4 VESTIDO.

- a) Se deben usar vestidos protectores de colores claros y deben cambiarse con frecuencia.
- b) Usar zapatos limpios y cómodos.

c) Las compañías de alimentos deben poseer vestidores adecuados; para que el manipulador cuelgue sus ropas de calle en el vestidor y no en el cuarto de baño o en la parte de la planta donde se efectúa la producción.

## A N I M A L E S

### 2. ROEDORES E INSECTOS

2.1 Los roedores y los insectos son una verdadera amenaza en las áreas en donde se preparan y almacenan alimentos. Es muy importante su eliminación de las áreas en donde los alimentos son almacenados, preparados y servidos.

2.2 Los animales como perros y gatos, pueden ser fuentes ricas en bacterias. Por lo que deben mantenerse alejados de las áreas en donde se almacenan, preparan y sirven los alimentos.

Las personas que hayan tocado animales deben lavarse las manos antes de tocar los alimentos.

2.3 La medida de seguridad más importante y efectiva es proteger todas las entradas y salidas contra la entrada de roedores e insectos; esto se logra mediante algunas medidas, como son por ejemplo:

#### 2.3.1 Insectos (cucarachas, moscas)

a) Conservar tapados todos los agujeros en los techos, muros y pisos.

b) Colocar en todas las ventanas y puertas accesorios especiales (persianas, tela de alambre, etc.) y proteger otras aberturas al exterior.

c) Proporcionar almacenamiento separado para la basura.

d) Inspeccionar con frecuencia los almacenes y cuartos para basura.

e) Limpiar diariamente los locales para evitar que queden residuo de comida.

f) Revisar todas las noches los departamentos, para evitar que se deje comida y basura descubiertas.

- g) Debe impedirse el acceso al agua, en cuanto sea posible, suprimiendo el goteo de los grifos y fugas de desagües y tuberías.
- h) Inspeccionar todas las cajas con comestibles que entren, para así evitar la infestación de la planta con insectos que pudieran contener.
- i) Instalar cuartos de baño limpios, ventilados y con rejillas.
- j) Limpiar inmediata y completamente cualquier líquido derramado en la cocina, despensas, comedores y almacenes.
- k) Contratar periódicamente a un servicio profesional de desinfestación. Debe evitarse el depósito de D.D.T. sobre los alimentos o sobre el equipo en contacto directo con los alimentos, como consecuencia de sus posibles efectos tóxicos. El insecticida organofosforado paratión es muy tóxico para el hombre y no debe utilizarse en restaurantes o instalaciones de producción de alimentos; es más adecuado utilizarlo en los basureros.

### 2.3.2 Rodedores

- a) Las principales necesidades para la supervivencia de los roedores son alimento, agua y albergue, el impedir alguna o todas ellas, es un medio para disminuir la infestación.
- b) La medida más importante es que todas las aberturas al exterior estén protegidas contra la entrada de roedores e insectos.
- c) Debe impedirse el acceso al agua lo más posible, suprimiendo el goteo de los grifos y manteniendo los desagües en perfecto estado, con todas las entradas, registros y rejillas perfectamente cerrados o cubiertos.
- d) No deben dejarse acumulados en un rincón cualquiera los artículos no utilizados temporalmente, ni permitir que permanezcan sin remover durante más de una o dos semanas; proporcionando así un refugio para las ratas.

- e) Los cereales, verduras feculentas y componentes grasos, como sabos y jabones, deben conservarse en cubos o recipientes metálicos, a prueba de ratas, y los desperdicios de la misma naturaleza, en cubos de basura metálicos perfectamente cerrados mientras esperen su eliminación.
- f) Revisar todas las noches que no quede comida descubierta, persianas o puertas abiertas, alcantarillas, etc.
- g) Limpiar inmediata y perfectamente cualquier líquido derramado en las diferentes áreas, tales como: la cocina, despensas, comedores y almacenes, etc.
- h) Inspeccionar que las materias primas o suplementos, cuando sean recibidos, no traigan ningún roedor.
- i) Debe mantenerse una vigilancia constante de señales de la presencia y actividades de roedores.
- j) Debe contratarse periódicamente a un exterminador profesional de plagas. Esta persona deberá utilizar rodenticidas que estén permitidos (Warfarina, Norbromo, etc) y no algunos otros que pueden ser muy peligrosos como los compuestos de talio, el fósforo, la estricnina, etc.

### 3. PLANTA FISICA

Deberá entenderse como planta física, lo siguiente:

- a) La instalación que incluya todas las áreas en donde se preparen, almacenen y/o sirvan alimentos.
- b) Las áreas donde se guarde y lave el equipo.
- c) Los cuartos de baño y los cuartos con armarios o vestidores para los empleados.
- d) El área destinada al almacenamiento de basura.

Para tener la seguridad de mantener una higiene apropiada dentro de la planta física, deberán tomarse en consideración los siguientes factores:

- 3.1. Iluminación.
- 3.2. Ventilación.
- 3.3. Disposición de muros, pisos, techos.
- 3.4. Desagües y tuberías.
- 3.5. Instalaciones para el lavado de manos.
- 3.6. Excusados, vestidores y guardarropas.
- 3.7. Basura.
- 3.8. Almacenamiento de materiales y utensilios de limpieza.
- 3.9. Limpieza regular y adecuada de las instalaciones.

A continuación se proporcionarán algunas recomendaciones e indicaciones para cada uno de ellos.

#### AREAS DE LA PLANTA

##### 3.1. Iluminación

Aun cuando existen otras fuentes de la luz que se utilizan en lugares remotos o en situaciones temporales, generalmente se dispone de corriente eléctrica. Son de utilización común tanto las lámparas de filamento de tungsteno como los tubos fluorescentes.

Se recomienda una iluminación mínima de 10 bujías por 0,3 m. La luz de sol directa probablemente molesta los ojos de los obreros, y en la sala de preparación de alimentos es una fuente de calor indeseable para los alimentos perecederos. Por estas razones es preferible colocar las ventanas en las paredes norte; pero si no es posible deben tomarse precauciones, tales como utilizar persianas o vidrio oscurecido para obtener iluminación indirecta.

Algunas indicaciones necesarias para una buena iluminación en determinadas áreas son:

3.1.1. Las lámparas de luz deben hallarse inmediatamente encima de los lugares de preparación de los alimentos.

3.1.2. No solamente las superficies de trabajo son las que necesitan una adecuada iluminación, sino que ninguna parte del establecimiento debe ser tan oscura que sea difícil verificar si los utensilios se hallan o no limpios; por lo que es indispensable una buena iluminación en las siguientes áreas:

- a) Las áreas donde se lavan utensilios, para comprobar que queden limpios.
- b) Las bodegas de comestibles, con el fin de reconocer el estado de los mismos, evitar su desperdicio y facilitar la limpieza.
- c) Los cuartos de baño, para comprobar que se hallen en condiciones sanitarias y para facilitar su limpieza.
- d) Las áreas donde se laven las manos, para asegurarse de que éstas y las uñas queden limpias.
- e) Los vestidores y guardarropas, para que se vea que las personas estén limpias y pulcras.
- f) Las áreas para desechos y basura, a fin de comprobar el orden, la limpieza y la ausencia de roedores e insectos.

### 3.2. VENTILACION

Es indispensable una ventilación adecuada en las cocinas, los almacenes, los comedores, los cuartos de lavado de trastos, los guardarropas o vestidores, los cuartos de baño y los lugares destinados a la basura y desperdicios.

En general se considera suficiente la ventilación natural de los edificios, excepto en las habitaciones que se hallen superpobladas. Sin embargo, ciertos vapores de fabricación o de la cocción raramente pueden eliminarse, excepto mediante extracción mecánica.

Algunos ejemplos de sistemas de ventilación son los extractores de hélices, las campanas extractoras, los ventiladores y los sistemas de unidades de enfriamiento.

Las campanas deben ser inspeccionadas regularmente por una persona experta, y mantenerse en perfectas condiciones de trabajo, exentas de cualquier partícula de polvo y grasa.

Todos los instrumentos de cocción deben concentrarse bajo una cubierta o dosel colector, de manera que las tuberías y ventiladores de extracción puedan eliminar los olores de la cocción antes que se extiendan por la sala.

Las ventajas de una ventilación adecuada son:

- 1) Expeler el aire que se ha vuelto caliente, acre, oloroso, húmedo, grasoso, etc., de la sala de preparación de alimentos.
- 2) Evitar que se depositen pequeñas gotas de humedad en los techos y en los muros; ya que la humedad fomenta el desarrollo de microorganismos. Las gotitas que contienen bacterias y mohos pueden caer sobre los comestibles y sobre las superficies y equipo para preparación de alimentos y contaminarlos.

### 3.3. DISPOSICION DE MUROS, PISOS, TECHOS

#### 3.3.1. Pisos

El movimiento en las salas de alimentación puede variar desde los pasos normales hasta los pesados carritos de ruedas de hierro, y la dureza de la superficie del piso debe tener en cuenta las necesidades del establecimiento en particular.

A continuación se darán algunas recomendaciones que pueden ser de gran utilidad para la elección del piso:

- 3.3.1.1. Los pisos de asfalto carecen de polvo y son impermeables y no permiten



que se alojen insectos; sin embargo, se hallan sujetos a la erosión por los ácidos y grasas y no admiten pesos concentrados.

- 3.3.1.2. Las baldosas, si están bien puestas, son excelentes en todos los aspectos, salvo que, a menos que su superficie se enfrente a un material abra sivo, es resbaladiza cuando está mojada.
- 3.3.1.3. Los pisos de tarima de madera blanda deben desecharse, ya que el espacio que queda debajo es un buen albergue de ratas y ratones la superficie es absorbente y las uniones entre las tarimas forman bolsas de suciedad y proporcionan refugio a los insectos.
- 3.3.1.4. Los pisos de cemento lisos, son polvorientos e irregulares y si no están divididos en secciones, se pueden agrietar y romper.
- 3.3.1.5. No se recomiendan las baldosas o tiras de goma colocadas con adhesivo, a no ser para cocinas de casas particulares.
- 3.3.1.6. Las baldosas o láminas de piedra dan lugar a un piso de acabado agradable, de limpieza fácil y relativamente duradero.
- 3.3.1.7. Las baldosas de plástico, en especial las de asbesto vinilo, parecen poseer propiedades del mismo valor que las de piedra.
- 3.3.1.8. Los pisos deberán construirse de tal manera que sea fácil limpiarlos. Deberán tener superficies tersas y duras. Las superficies ásperas y las que tienen lugares rugosos y abiertos recogen desechos, mugre y polvo, y proporcionan lugares de refugio donde se alojen insectos.

### 3.3.2. PAREDES Y TECHOS

Las paredes y los techos, al igual que los pisos, deben tener superficies tersas y duras, que sean de fácil limpieza.

Deberán mantenerse en buen estado de conservación, ya que los que no lo están son imposibles de conservar limpios.

Deberán escogerse con cuidado los materiales que se emplearán, dependiendo ésto de las características propias de cada material.

### 3.4. DESAGUES Y TUBERIAS

#### 3.4.1. Desagües

El funcionamiento inadecuado del desagüe es una fuente de contaminación, así un drenaje inadecuado puede :

- a) Contaminar el agua.
- b) Contaminar los comestibles por el goteo de tuberías en los techos.
- c) Contaminar el equipo.
- d) Atraer moscas y otros insectos, que a su vez contaminan los alimentos.

El drenaje debe funcionar de acuerdo con las normas establecidas por las autoridades sanitarias.

Debe evitarse arrojar materias que puedan producir obstrucciones en los desagües.

#### 3.4.2. Tuberías

Las tuberías deben instalarse y conservarse de acuerdo con las normas establecidas por las autoridades sanitarias. Deben conservarse en buenas condiciones de funcionamiento.

Las tuberías inapropiadas suelen ser un peligro por:

- a) La conexión cruzada de los tubos que conducen agua potable y los que lleven agua de residuo de albañal; ya que pueden contaminarse los alimentos o el material y equipo utilizado

- b) Obstrucción del desagüe.
- c) Goteo de partes elevadas.
- d) El retroceso de las aguas de albañal hacia las coladeras de piso y los desagües de refrigeradores.

### 3.5. INSTALACIONES PARA EL LAVADO DE MANOS.

Deben existir estas instalaciones en varios sitios como son:

- 3.5.1. Junto a los cuartos de baño.
- 3.5.2. En los vestidores o guardarropas.
- 3.5.3. Cerca de los lugares en donde se preparen los alimentos, y además debe constar de :
  - 3.5.4. Un lavabo equipado con agua caliente y fría (o templada).
  - 3.5.5. Toallas individuales o secadores de aire.

Es indispensable un buen mantenimiento de estas instalaciones. Se recomienda, para las fábricas de alimentos, grifos operados por pedal. También se recomiendan lavabos de una profundidad superior a 17 cm. de tal manera que permitan la limpieza de las manos y de los antebrazos.

### 3.6. VESTIDORES Y GUARDARROPAS; CUARTOS DE BAÑO.

- 3.6.1. Cuartos de baño.
  - 3.6.1.1. Los cuartos de baño deben situarse en lugares apartados de aquellos donde se prepara, almacena o sirve el alimento.
  - 3.6.1.2. Los cuartos de baño y sus accesorios deberán conservarse limpios y en buenas condiciones.
  - 3.6.1.3. Las instalaciones para el lavado de manos se hallarán dentro de los vestidores y cuartos de baño o junto a ellos.

3.6.1.4. Los cuartos de baño deberán asearse diariamente.

3.6.1.5. Deberá haber siempre existencia de los materiales de limpieza.

### 3.6.2. Vestidores y guardarropas.

3.6.2.1. Deberán situarse fuera de las áreas donde se preparen, almacenen o sirvan los alimentos.

3.6.2.2. Deben estar dispuestos de tal manera que el personal pueda cambiarse de ropa y guardar sus pertenencias.

3.6.2.3. Las ropas de calle no deberán usarse o colgarse en las áreas donde está la comida, ya que pueden ser origen de bacterias indeseables.

3.6.2.4. Deberán estar provistos de cancelas y de instalaciones para el lavado de manos.

3.6.2.5. Deberán conservarse siempre en condiciones sanitarias, limpiándose diariamente.

### 3.7. BASURA.

3.7.1. Los recipientes para basura deberán estar hechos de materiales durables, que no se derramen y no absorban líquidos.

3.7.2. Los botes que se saquen al exterior deben colocarse sobre una plataforma metálica.

3.7.3. Los botes de basura deberán estar provistos de tapas ajustadas.

3.7.4. Después de vaciarlos, deberán limpiarse cuidadosamente por dentro y por fuera.

Un cuarto refrigerado para desperdicios ayuda a evitar la descomposición rápida de los mismos y los malos olores resultantes.

Es necesario revisar con frecuencia y regularmente el área destinada a la basura, para eliminar la posibilidad de existencia de roedores e insectos.

### 3.8. ALMACENAMIENTO DE MATERIALES Y UTENSILIOS DE LIMPIEZA.

- 3.8.1. Los limpiadores como detergentes, jabones, amoníaco, sustancias para pulir y otros materiales deben almacenarse por separado, nunca cerca de las sustancias alimenticias.
- 3.8.2. El equipo y utensilios (aspiradoras, escobas, esponjas, cubetas, trapadores, etc.) también deben guardarse separadamente.
- 3.8.3. Se debe destinar un área para el almacenamiento de estos materiales y utensilios en donde exista una toma de agua y un fregadero, en donde se preparen los detergentes y se laven los utensilios y el equipo de limpieza.
- 3.8.4. Esta área deberá inspeccionarse y limpiarse periódicamente.

### 4. LIMPIEZA REGULAR Y ADECUADA DE LAS INSTALACIONES.

- A) Es necesario establecer la rutina de efectuar una limpieza periódica y sistemática de las instalaciones.
- B) Se hará la delegación de autoridad necesaria para que se efectúe la limpieza dentro de la planta y sus alrededores (patios, etc.) con supervisión correcta.
- C) Aprovechamiento del material necesario para efectuar la limpieza empleando el mínimo tiempo posible.

### APRECIACIONES ADICIONALES.

La basura tanto de baños, comedores de empleados y en general los desperdicios de la planta, deben removerse continuamente y lavarse los recipientes para evitar malos olores que atraen insectos (moscas, cucarachas, etc. que son altamente contaminantes).

### INSTALACIONES SANITARIAS.

Los cuartos deben estar escrupulosamente limpios (provistos de placa

desodorante, lavados con polvos adecuados y enjuagados con cloro o cualquier otro desinfectante) tanto pisos como paredes y techos. Las ventanas deben estar abiertas o bien con un sistema adecuado de ventilación. Provisos de jabón y toallas desechables en cantidad suficiente.

Se recomienda instalar retretes con sistema de válvula a presión.

Se deberán instalar lavabos adicionales cerca del área de trabajo, cuando el material que se está empacando se acumula en las uñas de los trabajadores o en los guantes.

#### MEDIOS DE CONTAMINACION.

Las bacterias que causan intoxicaciones alimenticias pueden provenir del suelo, del personal que tenga infecciones en nariz y garganta o bien por manos infectadas (caso staphylococcus).

#### 5. EQUIPO Y UTENSILIOS.

Todo el equipo y utensilios usados en la fabricación de comestibles pueden ser contaminado con bacterias capaces de producir enfermedades y por lo tanto, dicho equipo constituye un riesgo potencial. La limpieza cuidadosa y la higienización adecuada son esenciales.

Es peligroso utilizar utensilios y recipientes contaminados, en especial para alimentos cocidos que no vayan a destinarse al consumo inmediato. Fundamentalmente, el principal agente limpiador es el agua. La utilización de compuestos limpiadores y de la fricción, ayuda al agua a cumplir mejor su función.

La limpieza diaria debe suprimir todos los residuos de las actividades del día; las gotas y derrames de alimentos deben eliminarse y las mesas de trabajo deben lavarse en su parte superior con agua caliente y detergente

y terminar su limpieza con un agente desinfectante. Debe utilizarse papel desechable mejor que paños.

El equipo debe diseñarse de tal forma que se desmonte fácilmente y debe colocarse de manera que puedan alcanzarse todas las partes. Antes de limpiar un tipo específico de equipo (utensilio o superficie), deben tomarse en consideración los factores siguientes:

a) Las características del agua que se usa.

Hay que tratar el agua en forma apropiada, para hacer más eficaz el detergente y eliminar el asentamiento de cualesquiera minerales que se hallen en el agua.

b) El tipo de suciedad que va a removerse.

La suciedad puede ser grasa, proteína, mineral o carbón. Así pues, pueden requerirse diferentes tipos de compuestos limpiadores o diversas temperaturas en el agua.

c) La resistencia a la corrosión del material que se limpia.

De ello dependerá la clase y cantidad de fricción que puede aplicarse.

d) El tipo de limpiador.

El jabón puede dejar una película grasienta, por sus bajas cualidades enjuagatorias; en consecuencia, no es recomendable para uso general. Un abrasivo puede raspar la superficie y aumentar la posibilidad de futura suciedad.

Es imposible señalar con claridad las recomendaciones para el tipo particular de detergente que debe emplearse en las diferentes circunstancias. Las propiedades generales de un buen detergente deben comprender;

1. Acción humectante : la capacidad para humedecer fácilmente los utensilios que van a limpiarse.

2. Acción emulsionante: la capacidad para suspender y disgregar las grasas.

3. Acción disolvente: la capacidad de disolver las sustancias alimenticias, especialmente las proteínas.
4. La capacidad para eliminar cualquier sustancia alimenticia sólida, sea de cualquier clase.
5. El impedir la formación de precipitados y escamas en agua dura.
6. Facilidad de separación: la propiedad de ser fácilmente eliminado por enjuagado.
7. Inocuidad para el hombre.

Ninguna sustancia posee todas las propiedades requeridas y la mayoría de los detergentes registrados consta de una mezcla de sustancias.

La mayoría de los buenos detergentes incorpora una sustancia ablandante del agua. Algunas de las sustancias utilizadas para este fin son el carbonato de sodio, el fosfato trisódico, el metasilicato sódico y también las sales sódicas del hexametáfosfórico, tetrafosfórico y pirofosfórico. La proporción de cada ingrediente debe depender del fin para el que vaya destinado y de la dureza del agua local.

Los detergentes orgánicos comprenden a los que se fabrican como subproductos de las industrias oleosas. Se hallan cargados positivamente (aniónicos) y pueden emplearse en combinación con jabones que también son aniónicos.

Poseen la mayoría de las propiedades que requiere un buen detergente.

Por lo general no son alcalinos y se prefieren a los polvos inorgánicos caústicos en el fregado a mano. Por otra parte, con frecuencia son excesivamente espumosos. Los detergentes aniónicos se mezclan en ocasiones con hipoclorito para combinar las propiedades limpiadoras y desinfectantes. Los compuestos de amonio cuaternario son detergentes catiónicos y no pueden mezclarse con jabón. Unos pro



ducen espuma con facilidad, otros no; ejercen acción bactericida sobre determinados microorganismos y pueden mezclarse con sustancias inorgánicas para obtener agentes limpiadores y bactericidas satisfactorios.

Existe un tercer grupo de detergentes orgánicos o agentes con actividad superficial, como también se llaman, que son no iónicos. Tienen buenas propiedades humectantes con el agua fría y son detergentes útiles con buena estabilidad para las aguas duras, los ácidos y los álcalis.

Todas las piezas deben enjuagarse para dejarlas libres de los agentes limpiadores, puesto que no se conoce siempre si pueden derivarse efectos perjudiciales por la acumulación en el interior del organismo de dosis pequeñas de algunas de las sustancias tan ampliamente utilizadas.

d) El estado de la suciedad.

Esta puede ser reciente, suave, seca o caliente. La temperatura tiene un papel importante, porque la suciedad que se seca a baja temperatura, es por lo general, fácil de quitar, en tanto que los residuos de la cocción crean un problema de limpieza altamente especializado.

Los principios básicos de cualquier técnica de limpieza comprenden un lavado caliente con detergente, seguido por cualquier método de esterilización por agua, la que debe estar en las proximidades de la temperatura de ebullición, por vapor, o por alguna sustancia química.

(6), (7), (8), (9), (11).

#### PLAN DE PREVENCIÓN E HIGIENE

La práctica sanitaria en las Industrias Alimentarias se define de una manera amplia como la vigilancia sistemática de las condiciones ambientales durante el transporte, almacenamiento y procesamiento de alimentos, de tal manera que su

contaminación por microorganismos, insectos, roedores y otras plagas animales y por productos químicos extraños, pueda prevenirse.

En otras palabras, existen diversas condiciones que determinan la producción de alimentos sanos y que deben ser considerados entre los más importantes de estos terrenos:

- a) Vigilancia permanente sobre los alimentos.
- b) Prevención.
- c) Programas de Sanidad.

a) VIGILANCIA PERMANENTE SOBRE LOS ALIMENTOS.

La vigilancia de los alimentos cuya finalidad sea la de satisfacer la salud pública puede dividirse en dos componentes:

- 1) Hacer observaciones periódicas sobre la salud de la población y los parámetros del medio ambiente, anotando cualquier dato anormal.
- 2) Interpretar y correlacionar los datos recogidos de los programas de vigilancia y de otras fuentes disponibles con vistas a la determinación de cambios en el estado de la salud de las poblaciones.

Estos sistemas de información nos proporcionan datos adecuados para:

- Caracterizar el estado del medio ambiente.
- Evaluar los efectos de varias prácticas y actividades sobre el medio ambiente y la salud.
- Evidenciar incidentes, los cuales pueden prevenirse rápidamente antes de que ocurran enfermedades alimenticias en el resto de la población.
- Conducir al desarrollo de programas para mejorar la calidad del medio ambiente, incluyendo iniciativas de cursos de acción pública, programas legislativos y programas operacionales.

## B) PREVENCIÓN.

La prevención de contaminaciones al nivel de producción es una de las formas más efectivas de evitar riesgos en la salud humana, así como de aminorar las pérdidas económicas, ya que a este nivel sólo un número limitado de gente entra en contacto con el alimento.

Uno de los métodos más eficientes en este tipo de prevención se logra a través de la inspección de las condiciones sanitarias de la planta y conociendo los factores de transporte y la distribución.

En términos generales, el objeto de la inspección es :

- a) Averiguar si la planta opera de acuerdo con el Código Sanitario establecido por las Autoridades competentes; cada país utiliza su propio Código, aunque en el ámbito internacional el Programa de Estándares de Alimentos de la FAO/WHO, está trabajando en la preparación y publicación del Código de Aplicación Mundial de Prácticas Higiénicas para Alimentos.
- b) Averiguar durante la inspección cuáles son los puntos críticos del proceso, ya que existen pasos más vulnerables y en los cuales el laboratorio determina faltas con mayor incidencia. En teoría si los puntos críticos han sido identificados y si las pruebas de control efectuadas en el laboratorio son negativas, el fabricante de alimentos debe confiar en que su producto no está contaminado.  
  
Los puntos críticos de prevención se elegirán cuidadosamente para cubrir las fases de la producción del alimento: el proceso, el medio ambiente, el personal y el producto terminado.
- c) Averiguar el estado de salud de los trabajadores que operan en las instalaciones de alimentos. Conocer e indicar las medidas que deberán tomarse. Informar a

los consumidores, fijar y establecer normas para actuar según el caso, por ejemplo a continuación se dan algunas indicaciones para poder prevenir la transmisión de enfermedades alimenticias.

#### REGLAS PARA EL PERSONAL:

1. SHIGELOSIS (Disenteria Bacilar - Sh. dysenteriae). Los enfermos o los portadores no deben participar en la preparación, fabricación y servicio de alimentos. Deberá utilizarse agua pura, usar tubos de albañal a prueba de fugas y procurar la eliminación adecuada de desechos.

2. INTOXICACION ESTAFILOCOCCICA. Las personas que sufran de resfriados, influenza, faringitis, infecciones de senos paranasales y lesiones que contengan pus, no deben manejar alimentos.

Todos los manipuladores de alimentos deben ser limpios, no toserán ni estornudarán sobre los alimentos y se lavarán las manos después de toser o estornudar.

Es necesario lavarse frecuentemente las manos durante la fabricación y preparación de alimentos, ya que el propio cuerpo de la persona y otros objetos contaminados como pañuelos son fuentes posibles de contaminación por Staphylococcus sp.

Por ello para tomar y manipular alimentos, deben utilizarse utensilios y no las manos.

3. SALMONELOSIS. Las personas convalecientes de salmonelosis o que son portadores no deben manejar alimentos.

Todas las personas que manejen alimentos deben lavarse perfectamente las manos después de utilizar los servicios sanitarios.

Antes de comenzar su trabajo el operario debe lavarse las manos y hacerlo con frecuencia durante la preparación (después de tocar cualquier objeto que no

sea alimento o después de tocar alimentos que probablemente estén contaminados son Salmonella como carne, aves de corral, cascarrones de huevo, etc.)

4. INTOXICACION por Clostridium perfringens. Las personas que hayan manejado carne cruda, deberán lavarse las manos antes de tocar cualquier alimento.

#### REGLAS PARA LOS ALIMENTOS:

1. El alimento debe conservarse caliente a un mínimo de 60°C o temperaturas mayores o frío a un máximo de 7.5°C o temperaturas menores, ya que entre estas dos temperaturas se desarrolla la mayoría de los microorganismos patógenos, es la "Zona de Peligro".
2. Los alimentos recién cocidos y por lo tanto calientes, deben ser enfriados rápidamente a temperaturas de seguridad.
3. La superficie de trabajo, el equipo y utensilios utilizados en la elaboración de alimentos deben estar siempre limpios.

Clostridium perfringens es un microorganismo que forma esporas, por lo tanto no es difícil suponer que el calor utilizado durante la cocción sea poco eficiente para destruir los microorganismos; por esta razón hay que evitar que el alimento esté expuesto a las temperaturas indicadas en la zona de peligro de crecimiento bacteriano.

4. Los alimentos no deben ser conservados a temperaturas intermedias.
5. Es necesario eliminar roedores e insectos de las áreas de trabajo. (6), (9), (10).

#### C) PROGRAMA DE SANIDAD.

Para que un programa de sanidad de alimentos sea efectivo, debe iniciarse en las fábricas donde se elaboran los alimentos.

Desafortunadamente, pocas industrias poseen un buen programa de sanidad para sus empleados y en muchas localidades las autoridades sanitarias no disponen

de suficiente personal adiestrado para proporcionar las clases necesarias de sanidad.

Esta es una situación desafortunada, ya que el adiestramiento de los empleados en sanidad es absolutamente esencial para el éxito de cualquier programa de sanidad. El trabajador que maneja los alimentos debe estar consciente de que él juega un importante papel en el proceso de la salud.

Es esencial que aquel que maneje alimentos se encuentre informado en materia de sanidad, tan pronto como empieza a trabajar.

En México, contamos con diversos organismos oficiales que están en condiciones de poder llevar a cabo la enseñanza teórica y práctica de las técnicas básicas de higiene sobre la manipulación de alimentos, entre otros podemos mencionar la U.N.A.M., el Departamento de Industrias Agrícolas de la Escuela Nacional de Agricultura, la S.S.A., el I.M.E.S., el I.M.P.I., el Instituto de la Nutrición, el I.M.A.N., etc.

Por otra parte, si se establecen campañas de orientación al consumidor, en un futuro mediano se contará con una clase consumidora con más conocimientos y por ende más exigente en cuanto a la demanda de los productos alimenticios; exigiendo mejor calidad nutritiva y sanitaria de dichos productos.

La organización e implantación de un programa de saneamiento no puede ser sistematizada ni generalizada, de manera que pueda aplicarse directamente a cualquier planta y en cualquier situación.

Cada uno de los profesionales o técnicos responsables de los productos alimenticios deberá elaborar su propio programa, partiendo de un conocimiento detallado de las condiciones que afectan a su producción, buscando o estableciendo las especificaciones sanitarias necesarias para desarrollar su programa de

saneamiento particular que, después de haber sido analizado, discutido y revisado, es aprobado y será puesto en vigor ejecutándolo fielmente con la debida supervisión.

Los factores que deben tomarse en cuenta para la elaboración de un buen programa de sanidad son:

- I. Condiciones ambientales.
- II. Personal que manipula alimentos.
- III. Inspección de alimentos
- IV. Educación sanitaria.

#### I. CONDICIONES AMBIENTALES.

Para evitar la aparición de enfermedades de origen alimenticio es hace necesario construir y supervisar adecuadamente los locales destinados a la preparación, fabricación, almacenamiento o venta de los productos alimenticios. De igual manera deben supervisarse los vehículos destinados al transporte de alimentos.

#### II. PERSONAL QUE MANIPULA ALIMENTOS.

Se hace indispensable que a todo el personal cuya actividad implique un riesgo especial para la salud, además del examen médico general, se le someta a análisis parasitológico, bacteriológico y serológico periódicos, siendo de especial interés descubrir en cualquiera de los exámenes arriba mencionados, la presencia de microorganismos enteropatógenos, prohibiendo al enfermo manejar alimentos, hasta que se compruebe que está exento de infección.

#### III. INSPECCION SANITARIA.

Es preciso que la inspección sanitaria se extienda de manera sistemática, constante y con verdadero espíritu profesional a todos los alimentos que consumimos.

Algunas autoridades sanitarias entre ellas, la S.S.A. establece que sean —  
inspeccionados todos los alimentos.

#### IV. EDUCACION SANITARIA.

Reviste interés especial para el consumidor el hecho de que tanto a nivel privado como a nivel oficial, se lleven a cabo cursos sanitarios para los empleados de las compañías que elaboran alimentos, cursos y campañas de este tipo deben ser promovidos entre los tecnólogos de alimentos, médicos dietistas, etc., con el objeto de proporcionarles los conocimientos básicos sobre el manejo higiénico de los alimentos.

La educación sanitaria no se reduce a una simple labor de divulgación sobre cuestiones de higiene, sino que comprende todas las actividades susceptibles de aumentar los conocimientos sanitarios del individuo y de fomentar actitudes, costumbres y prácticas higiénicas.

Es necesario que en todos los grandes municipios el departamento de sanidad disponga de un servicio de educación sanitaria bien atendido que se encargue de instruir a la población en cuestiones de salud y de difundir informaciones al respecto. Este servicio debe encargarse también de la educación sanitaria de los escolares y participar en los programas para estudiantes de magisterio.

(7), (8), (10), (9).



**VI. CONCLUSIONES.**

El presente trabajo fué realizado en una población de 30 muestras, obtenidas en diferentes tiendas de autoservicio en el Distrito Federal, escogidas al azar; comprando 10 latas de Choco Milk sabor vainilla en la presentación de 400 g., 10 latas de Chocolate Express sabor vainilla en la presentación de 400 g. y 10 latas de Quik sabor vainilla en la presentación de 400 g.

Las determinaciones microbiológicas que fueron realizadas, comprenden las siguientes:

- a) Cuenta estándar de microorganismos aeróbicos mesófilos, col/g.
- b) Cuenta de organismos coliformes, col/g.
- c) Cuenta de mohos y levaduras, col/g.
- d) Presencia de Escherichia coli, en 25 g.
- e) Presencia de Salmonella, en 25 g.

Los resultados obtenidos muestran claramente que, la calidad del producto terminado, cuando se ha tenido la precaución y la preocupación de seguir las reglas sanitarias empleadas para su fabricación y realizar análisis bacteriológicos en cada una de las materias primas empleadas en la elaboración de los alimentos en polvo preparados (chocolates en polvo), es aceptable o buena, como se observa en las tablas de los resultados.

Además, al realizar el correspondiente análisis físicoquímico, se obtendrá un producto de excelente calidad que podrá competir con los productos similares que haya en el mercado, ya que en este tipo de alimentos sus principales consumidores son los niños en edad escolar que los toman como un complemento alimenticio durante el desayuno.

Las recomendaciones que deseo hacer sobre este trabajo son:

- 1) Que la limpieza general de cada 15 días se realice cada ocho días para evitar

futuras contaminaciones.

2) La exposición de placas al medio ambiente debe realizarse diariamente ya que el hacerlo dos veces por semana no resulta representativo de las condiciones que imperan durante la fabricación del producto, y

3) Que el personal se cambia todos los días de ropa para evitar acumulación de microorganismos en la ropa usada.

Por los resultados obtenidos en los análisis efectuados a productos comprados en el supermercado, como Choco Milk, Chocolate Express y Quik, vemos que su calidad bacteriológica es muy parecida y por lo tanto, se deduce que cada uno de estos fabricantes tiene una vigilancia microbiana muy cuidadosa en la fabricación de su producto.

La preferencia de los niños por este tipo de producto es muy grande y es conveniente que la Dirección general de control de alimentos, bebidas y medicamentos, establezca una norma microbiológica para protegerlos, ya que en nuestro país no hay este tipo de reglamentación y sólo se han hecho anteproyectos de norma en colaboración con representantes del Instituto Nacional del cacao y con la Asociación Nacional de fabricantes de chocolates, dulces y similares. Así, tenemos que este tipo de productos están clasificados como:

Alimento azucarado con sabor a chocolate y el anteproyecto de norma dice:

Definición: es el producto homogéneo obtenido a partir de azúcar, leche en polvo en cualquiera de sus tres tipos, harina de cacao, pudiendo estar adicionado o no de sal, sabor artificial permitido, vitaminas y minerales en su requerimiento mínimo.

Designación: el producto será designado como alimento con cacao en polvo con sabor     X

Alimento con harina de soya y cacao sabor X

Composición: este alimento deberá contener

Azúcar	50 % máximo
Leche en polvo (entera, semidescremada, descremada)	25 % mínimo
Harina de soya (con o sin grasa)	20 % mínimo
Cacao	10 %.

Características generales: por el origen del saborizante podrá designarse por

Al natural

A la vainilla

A la canela, etc.

Características organolépticas:

Aspecto: Polvo de textura firme

Color : Café claro característico del cacao.

Olor: Característico del saborizante.

Sabor: Propio característico del cacao y saborizante.

Adiciones permitidas: un contenido de 25 % del requerimiento diario de vita  
minas y minerales por día.

Características fisicoquímicas:

Alimento de	Carbohidratos	Proteína	Grasa	Humedad
Leche entera en polvo	66.443	8.26	6.976	1.135
" semidescremada "	69.343	8.29	4.036	1.215
" descremada en "	69.523	10.68	0.767	1.222
Harina de soya sin grasa	63.883	10.54	1.196	2.20
" " " " con "	57.343	10.16	4.537	2.26

**Características Microbiológicas:**

Salmonella en 25 g.                      Negativa.

Escherichia coli en 25 g.                Negativa.

Como podemos observar en dicho anteproyecto, en las características microbiológicas sólo se toman en cuenta las Enterobacterias y la Salmonella y también es muy importante el que se establezcan normas para establecer la ausencia de Staphylococcus aureus en 25 g o en 50 g., la cuenta de bacterias mesófilas aerobias, la cuenta de coliformes por el método de NMP y por el recuento en placa, cuenta de hongos y de levaduras y que todos estos últimos resultados se reportaran como colonias por gramo o colonias por mililitro. Las técnicas empleadas para realizar los análisis serian las que recomienda la Secretaría de Salubridad y Asistencia, o la Oficina Sanitaria Panamericana. (12)

BIBLIOGRAFIA.

1. Pérez Miraveta, Adolfo.

TECNICAS PARA EL MUESTREO Y ANALISIS MICROBIOLOGICO DE ALIMENTOS.

Dirección General de Investigación en Salud Pública.

SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA, México, D.F., 1976.

2. Speck Marvin L.

COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS.

PREPARED BY THE APHA

INTER-SOCIETY/AGENCY/COMMITTEE. ON MICROBIOLOGICAL METHODS FOR FOODS.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Washington, D.C. 1976.

3. Norris J.R. and D.W. Ribbens.

METHODS IN MICROBIOLOGY

ACADEMIC PRESS. Volume I, London and New York, 1969

4. Frezier W.C.

MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS.

Editorial Acribia, 2a. edición, Zaragoza, España. 1976 pp 262 - 263.

5. Foster Edwin M, F. Eugene Nelson, Marvin L. Speck.

MICROBIOLOGIA DE LA LECHE

Editorial Herrero, S.A., México, D.F. 1965 pp 262 - 263

6. Hobbs C. Betty.

FOOD POISONING AND FOOD HYGIENE.

Third edition, 1974. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London pp 123 - 218.

7. Cárdenas S. Salvador.

TECNICA DE SANEAMIENTO EN LA PLANTA.

Tecnología de Alimentos, Vol. V. No. 4, 32 - 39

8. López R. Armando.

MANEJO SANITARIO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS EN MEXICO. TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS EN MEXICO.

Tecnología de Alimentos, Vol. VI, No. 3, 22 - 28

9. Blazquez Lezcano L.R. y J. Lumbrezas Guerrero.

TOXIINFECCIONES E INTOXICACIONES ALIMENTARIAS EN LA CIUDAD DE MEXICO,  
EFECTOS Y PREVENCION.

Tesis, UNAM, México, D.F., 1976 pp 159 - 167.

10. Longras, K. and Gertrude G.B.

TECNICAS SANITARIAS EN EL MANEJO DE LOS ALIMENTOS.

México. Editorial Pax, 1971.

11. Grawal N.S.

PLANT ENVIRONMENT CONTROL, MICROBIOLOGICAL ASPECTS.

Warner - Lambert Canada Limited. May., 14, 1978, pp 3 - 55

12. SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA.

Anteproyecto de Normas, 1974, para el Control Sanitario del Agua,

Bebidas y Alimentos. México, D.F.