

870127

---

---

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA <sup>9</sup> <sub>2ij</sub>

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

---

---

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



ESTUDIO BACTERIOLOGICO COMPARATIVO DE PALETAS  
HELADAS DE MARCA CONOCIDA Y SIN MARCA

---

---

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
EMMA NATIVIDAD LILIANA GOMEZ COBIAN  
Asesor Q.F.B. Ma. del Socorro Pulido G.  
GUADALAJARA, JAL., 1989

---

---

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

# I N D I C E

INTRODUCCION .....	1
Historia .....	3
Características Nutricionales .....	3
Justificación .....	4

## CAPITULO I :

MORFOLOGIA BACTERIANA .....	6
Género Escherichia .....	6
Género Salmonella .....	7
Género Shigella .....	8
Estafilococos .....	9

MEDIOS DE CULTIVO, COLONIAS CARACTERIS- TICAS E IDENTIFICACION POR PRUEBAS BIOQUIMICAS .....	11
I.- ESCHERICHIA COLI .....	11
II.- SALMONELLA Y SHIGELLA .....	12

## CAPITULO II :

ANALISIS BACTERIOLOGICO .....	14
a) Muestreo .....	15
b) Material .....	15
c) Investigación de contaminación- fecal .....	16
1) Prueba Presuntiva .....	16
2) Prueba Confirmativa ....	16
3) Prueba Total .....	17

- d) Recuento bacteriano en placa .. 17
- e) Determinación de Staphylococcus .. 18

**CAPITULO III :**

<b>RESULTADOS OBTENIDOS .....</b>	<b>19</b>
Cuadro I .....	20
Cuadro II .....	21
Cuadro III .....	23
Cuadro IV .....	24
Gráfica I .....	25
Gráfica II .....	26

**CAPITULO IV :**

<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>30</b>

## I N T R O D U C C I O N

Los helados o productos congelados , se presentan en diversas formas, sabores, tamaños y colores. Son empacados individualmente y vienen en raciones. La producción anual se estima aproximadamente en 10 millones de piezas y corresponde más o menos al 25% del volumen total de la industria. Los artículos más populares son: helado recubierto con chocolate o dulce, emparedado de helado, sorbetes y paletas heladas. Pero ¿qué es en realidad lo que hace al helado tan atrayente ?

¿De qué viene, al mismo tiempo en mayores que en pequeños, la gran afición a este tipo de golosina? . ¿Se trata solamente del deseo de refrescarse rápidamente o de la momentánea satisfacción de una necesidad? . Esto no convence, en realidad el consumo de helados es un placer, un disfrute al paladar.

Los principales consumidores son niños y adolescentes. El éxito y aceptación de estos productos depende en gran parte de su forma, color y envoltura.

Tanto si es una copa de sabores combinados en una heladería, el helado de calidad en caja de tamaño familiar, todas las variedades de copas de helado, el barquillo, el helado blando para consumir rápidamente o la paleta de helado, cualquiera que sea su forma, el helado es una agradable sensación.

Las múltiples variedades de sabores contribuyen a satisfacer el paladar del consumidor. Dominando en el mercado unos pocos sabores: vainilla, chocolate, fresa, frambuesa y nuez.

La persona que va a comprar puede elegir según lo que prefiera, entre la paleta de un solo sabor y la de sabores combinados, ya sea de dos o más sabores e incluso, entre los adornados con chocolate, grageas, coco o cacahuete.

Se presenta toda una gama de sabores, en la que se emplean elementos que tengan algo en común con el helado o paleta, ya sean trozos de piña en paletas de esta fruta; pulpa de elote cuando se trate de paletas hechas de este sabor; coco rayado para adornar y dar mejor presentación a paletas de coco. Entre otros.

Otro aspecto igualmente importante al sabor, del cual la industria de los helados se encarga de no descuidar, lo constituye la presentación; la envoltura.

El helado de figuras o de forma "Tridimensional" ha sido desarrollado en los últimos años y con él se demuestra que aún es posible mejorar la forma del "Helado de palito".

Los motivos y formas en que se presentan las paletas son muy conocidos por los niños y por los jóvenes, la gran mayoría son tomados de películas o de dibujos animados. El color de estas piezas, en algunos casos es diseñado en colores vivos para resultar llamativo, esto con el fin de hacerlo destacar de entre los demás.

## HISTORIA:

Algunos postres congelados eran ya consumidos por los romanos; en el transcurso del siglo XV fueron conocidos en Francia e Inglaterra por la corte real; pero no fue sino hasta a mediados del siglo XVIII, cuando se presentaron en América

## CARACTERISTICAS NUTRICIONALES:

Debido al alto contenido de azúcar, las paletas heladas representan una fuente de energía alimenticia. Con más razón tratándose de paletas de leche helada, ya que contienen todos o más de los sólidos de la leche que la leche misma, su digestibilidad viene a favorecer su valor nutritivo. Más aún, las paletas a las que se les ha adicionado mermelada o puré de frutas para mejorar su presentación o sabor, aumentan su valor nutritivo las vitaminas y minerales de la fruta agregada.

El hecho de que el 9.4% del total de la leche obtenida en los Estados Unidos de América se utiliza en postres congelados, en comparación con 17.7% para la elaboración de quesos, nos da una idea de la gran importancia económica de la industria de los helados.

En la actualidad la producción de helados está controlada por leyes o regulaciones con respecto a los componentes que integran el helado y de acuerdo al país donde se fabrican. Los ingredientes más usados en el procesamiento de helados son: grasa láctea (8-12%), sólidos lácteos no grasos (10-11%), azúcar (15-17%) y estabilizantes o emulsificantes (0.3-0.5%). También hay postres helados que contienen agua, saborizante, azúcar y ácido cítrico.

## JUSTIFICACION:

Aproximadamente desde 1980 se conoce la contaminación de los alimentos por microorganismos productores de enfermedades. A partir de entonces, se han señalado numerosos casos de enfermedades transmitidas por los alimentos, además de las comunmente denominadas toxoinfecciones alimenticias. Antes del desarrollo de los métodos de pasteurización, eran frecuentes la transmisión a través de la leche de enfermedades como la brucelosis, escarlatina, fiebre tifoidea, difteria y otras.

Actualmente los indicadores de calidad higiénica aplicados a los alimentos, comprenden dos grupos: coliformes y enterococos. Además es útil, a este respecto, el recuento total de microorganismos.

Durante las operaciones del proceso de elaboración de paletas heladas, estas se encuentran expuestas a posibles contaminaciones, que pueden causar deterioro en el producto terminado o quizá hasta lleguen a afectar la salud pública.

El consumo de paletas hechas con leche cruda, agua y materia prima contaminadas o manipuladas en condiciones antihigiénicas, suponen graves peligros para la salud del consumidor. En base a esto, el presente trabajo se ha establecido por objetivo; someter varias muestras de paletas heladas a un análisis bacteriológico, con el fin de verificar la presencia o ausencia de bacterias entéricas patógenas, en paletas, comparando una marca conocida con otra no muy conocida. Ya que de encontrarse presentes en dicho alimento, se comprobaría su contaminación.



Schardinger fue el primero que en 1892 utilizó Escherichia coli como indicador de organismos patógenos transmitidos por el agua. Se eligió este microorganismo porque se encuentra en el contenido intestinal del hombre y animales.

Un año después, Teobaldo Smith hace constar que, puesto que este microorganismo se encuentra presente en forma constante en el tracto intestinal, su presencia fuera del intestino, puede considerarse debida a que ha existido contaminación con materia fecal del hombre o de los animales. El empleo de los coliformes como indicadores de organismos patógenos en el agua, es una práctica vigente en la actualidad.

Los brotes ocasionales que se han presentado han sido de salmonelosis o intoxicaciones estafilocócicas. Obviamente, las investigaciones de un brote de enfermedad alimentaria debe incluir: muestreo y análisis para el microorganismo patógeno que se espera, tal como Salmonella, Staphylococcus aureus, Shigella, Enterococos, así como E. coli enteropatógenas

## C A P I T U L O I

### M O R F O L O G I A B A C T E R I A N A

GENERO ESCHERICHIA ( Escherichia coli ).-- Una de las bacterias más ampliamente estudiadas. Existe casi siempre en el intestino baja de los animales de sangre caliente.

Este microorganismo se presenta en forma de bastoncillos cortos, con una medida de 2-3 micras de largo por 0.4-0.6 micras de ancho, extremos redondeados, en general aislados o bien dispuestos en pares o incluso, en algunas ocasiones en grupos más numerosos. En el caso de cultivos jóvenes se destacarán las formas cocobacilares.

Este microorganismo no produce esporas, posee cápsula. Se aprecian variedades inmóviles, no presentan flagelos. En otras variedades móviles pueden observarse flagelos, en número de 4 a 8 por bacilo, cortos, sin ramificaciones, finos y dispuestos por lo general alrededor del cuerpo de la bacteria, las cuales reciben el nombre de peritricas, o también agrupados en ambos polos: lofótricas.

COLORACION: Es GRAMNEGATIVO.

CULTIVOS: Se da con facilidad en abundancia en medios corrientes, por ejemplo, caldo y agar nutritivos. Las temperaturas en que se desarrolla están desde 10°C hasta 45°C, siendo su óptima de 37°C. Su cultivo se efectúa en presencia de oxígeno, es anaerobio facultativo; presentando algunas cepas desarrollo abundante en anaerobiosis. El rango de pH que presenta es de 4.4 a 8, siendo de PH 7 el que más le favorece.

**CALDO LACTOSADO:** E. coli se caracteriza por la producción fermentativa de ácido y gas a partir de glucosa y lactosa, entre otros carbohidratos. Por lo que se presentará una producción exuberante y persistente enturbiamiento.

**AGAR:** En este medio las colonias se presentan redondas, son grandes, tiene aproximadamente 4 mm de diámetro. Son cremosas de bordes ondulados, espesas, opacas y con reflejos irisados. Si se siembra por el método de estrías las encontraremos homogéneas y espesas. Inoculando por picadura habrá desarrollo en forma de trazo continuo, sin licuar el medio.

**ACCION FERMENTATIVA:** Hay abundante producción de ácido y gas. Fermenta la glucosa, sacarosa, maltosa, lactosa, manosa, levulosa, galactosa, xilosa, ramnosa, rafinosa, manitol, sorbitol y glicerina. Su acción fermentativa no incluye al almidón ni a la inulina.

**GENERO SALMONELLA.**— Se trata de bacilos cuya medida es de 0.5 a 0.7 micras de ancho por 1 a 2 micras de longitud. Son muy parecidos a los bacilos coliformes. Bastoncillos aislados de extremos redondeados, ligeramente curvados. Su movilidad es debida a que presentan flagelos peritricos, excepto Salmonella pullorum y Salmonella gallinarum. No producen esporas ni forman cápsula.

**COLORACION:** Estos microorganismos son GRAMNEGATIVOS.

**CULTIVO:** Las bacterias de este grupo tienen necesidades nutritivas simples, se desarrollan con facilidad en los medios comunes. En su mayoría son aerobias, llegando a presentarse anaerobias facultativas. Son capaces de tolerar concentraciones relativamente altas de bilis, un hecho que se utiliza para diseñar medios para el aislamiento de estos microorganismos.

**CALDO LACTOSADO:** Salmonella, con excepción de algún raro microorganismo aislado, no fermenta la lactosa, por lo que no hay presencia de gas en los tubos de caldo. En este medio el enturbiamiento se manifiesta a las 12 horas, mismo que se intensifica a las 24 horas. Al término de 48 horas se hace notoria la presencia de pequeños copos blancos precipitados en el fondo del tubo. No hay desprendimiento de olor.

**AGAR:** Las colonias desarrolladas poseen bordes irregulares, con un diámetro aproximado de 3mm., con nucleo espeso. Transparentes y un poco viscosos. Su desarrollo al inocular por estrias es abundante.

**GENERO SHIGELLA.**- Shigella es un bacilo inmóvil cuya medida es de 0.4 a 0.6 por 1 a 3 micras. Su desarrollo óptimo es a una temperatura de 37°C en condiciones de aerobiosis. Aunque puede tolerar bajas temperaturas si se dispone de la humedad adecuada. No se le puede identificar por su morfología pero se le diferencia de salmonella por reacciones de fermentación y serológicas. Se presenta solo y a veces dispuestos por parejas, no forma esporas y no posee cápsula.

**COLORACION:** Son GRAMNEGATIVOS, se tiñen bien con los colorantes usuales de anilina.

**CULTIVOS:** Se desarrollan fácilmente en medios ordinarios de laboratorio con temperaturas óptimas de crecimiento a 37°C. Poseen necesidades nutritivas simples. Se ha logrado cultivarlo a 4°C, pudiendo hacerlo hasta a 45°C. Su pH óptimo es de 6.0 a 8.0.

**CALDO LACTOSADO:** A semejanza de salmonella, esta bacteria presenta desarrollo a las 12 horas manifestando un ligero enturbiamiento, a las 24 horas se incrementa este y al tercer día se observa el precipitado blanco.

**AGAR:** En este medio las colonias son incoloras o blancas-grisáceas, muchas veces translúcidas, de bordes irregulares, a las 48 horas ya se puede observar su presencia, con un diámetro de 3 mm.

**GELATINA:** *Shigella* no licúa la gelatina. Inoculando en placas a temperatura ambiente se pueden apreciar colonias de 3 mm. de diámetro, transparentes, azuladas de bordes irregulares.

**ESTAFILOCOCOS ( Staphylococcus aureus ):** estafilococos son células esféricas u ovales que miden de 0.8 a 1.0 micras de diámetro. Son invariablemente inmóviles y no esporógenos. Se sabe que algunas cepas de Staphylococcus aureus forman cápsula que se presentan como entidades morfológicas o se detectan por medios inmunológicos; sin embargo, la gran mayoría no son capsulados. Su característica morfológica más notable es su agrupación en forma de racimos irregulares que dan al organismo su nombre genérico. Estas masas celulares son tridimensionales. En las extensiones teñidas de exudados, los cocos se ven en racimos, dispuestos por parejas, aislados y aun en cadenas muy cortas.

**COLORACION:** Se tiñen fácil e intensamente con los colorantes básicos usuales de tinción simple y son fuertemente GRAMPOSITIVOS, pero pueden aparecer algunas formas GRAM-NEGATIVAS en el centro de los racimos, en los organismos fagocitados y en los cultivos viejos.

**CULTIVOS:** No son muy exigentes en relación a sus requerimientos nutritivos y proliferan fácilmente en medios ordinarios. Se desarrollan en un amplio margen de temperatura, es decir se presentan desde 6.5°C hasta a 46°C siendo su rango óptimo de 35°C a 37°C.

Los estafilococos son relativamente mas resistentes al calor y hasta cierto grado, a desinfectantes, que las formas vegetativas de la mayor parte de bacterias. Mientras casi todas las bacterias mueren en 30 minutos a 60 °C, estos a menudo necesitan temperaturas mayores por más tiempo, como 80 °C por una hora. También son resistentes a la desecación, pueden conservarse infecciosos por periodos de tiempo prolongados y capaces de crecer en presencia de concentraciones relativamente altas, por arriba de 15 por 100 de cloruro de sodio.

Son anaerobios facultativos, aunque su proliferación es mejor bajo condiciones aerobias.

Tienen un rango amplio de PH, siendo de 4.8 a 9.4, aunque su pH óptimo oscila entre 7.0 y 7.5.

**CALDO:** Esta bacteria presenta desarrollo al término de 12 horas. Vistos al microscopio se presentan dispuestos en parejas, en pequeños conglomerados y con tanta frecuencia en cadenas cortas, que es imposible diferenciarlos de los estreptococos solo por su morfología; sin embargo dichas cadenas están formadas rara vez por más de cuatro células.

**AGAR:** Los estafilococos crecen abundantemente en medios de agar, y las colonias son individuales, opacas, lisas y de aspecto brillante. Circulares, convexas-bajas y varían de 1 a 4 mm. de tamaño. Algunas estafilococos forman pigmentos carotenoides que dan a las colonias color amarillo oro o limón; otros no lo forman y son blancas. La intensidad del pigmento presentado será mayor cuando los organismos estén a temperatura ambiente ( 20°C ) y en un medio que contenga carbohidratos.

Los estafilococos son microorganismos que fermentan manitol y glucosa con formación de ácido. Reducen los nitratos a nitritos y su reacción con manitol es positiva.

MEDIOS DE CULTIVO, COLONIAS  
CARACTERISTICAS E IDENTIFICACION  
POR PRUEBAS BIOQUIMICAS

I.- ESCHERICHIA COLI:

ENDO.- La acción fermentativa de este microorganismo sobre la lactosa hace aparecer a sus colonias de color rojo, circundadas por una zona de tono rosa, debido a la difusión de los ácidos producidos que hacen virar el indicador, que en este caso se trata de fushina básica transformada a incolora por el sulfito de sodio anhidro.

BILIS VIOLETA CRISTAL (B.V.C.).- Presenta colonias de color rojo con una zona opaca del precipitado de las sales biliares  
S.S. - 110.- Este microorganismo se encuentra inhibido.

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS.- Muchas cepas son móviles, fermentan lactosa y producen gas por fermentación de glucosa. A continuación se muestra un cuadro con sus características utilizando pruebas bioquímicas seleccionadas:

PRUEBA	REACCION
Indol	+
Lisina descarboxilasa	+
Lactosa	+
Movilidad	+
Manitol	+
Citrato	-
TSI	-
Urea	-
Reducción de nitratos	+

II.- SALMONELLA Y SHIGELLA:

ENDO.- Presentan desarrollo en este medio, mostrando sus colonias características, transparentes, incoloras, sin alterar el color del medio.

BILIS VIOLETA CRISTAL (B.V.C.).- Las sales biliares inhiben el desarrollo de algunos microorganismos, no así el de estos, que presentan colonias transparentes, generalmente convexas y lisas, predominando en tamaño ligeramente las del género SALMONELLA.

S.S. - 110.- El presente medio contiene sustancias inhibitoras para la mayor parte de las bacterias, no así para SALMONELLA y SHIGELLA, que se manifiestan en colonias transparentes, características.

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS:

SALMONELLA.- No fermentan lactosa, son móviles y producen SH<sub>2</sub> de tiosulfato y gas de la fermentación de glucosa. Sin embargo Salmonella typhi no produce gas de la fermentación de glucosa y la producción de SH<sub>2</sub> puede ser muy pobre.

A continuación se muestra un cuadro en el que figuran las características bioquímicas principales:

P R U E B A	R E A C C I O N
Indol	-
Lisina descarboxilasa	+
Lactosa	-
Movilidad	+
Manitol	+
Citrato	-
H.S de TSI	+
Urea	-
Reducción de nitratos	+



SHIGELLA.— Son inmóviles, no producen SH, y excepto para ciertos tipos de Shigella flexneri, no producen gas durante la fermentación de hidratos de carbono. Estos factores la distinguen de salmonellas. En contraste con E. coli, no producen lisina descarboxilasa, utilizan el acetato como fuente de carbono, o fermentan lactosa rápidamente.

En el cuadro siguiente se observan algunas de las características bioquímicas principales:

P R U E B A	R E A C C I O N
Indol	-
Lisina descarboxilasa	-
Lactosa	-
Movilidad	-
Manitol	-
Citrato	-
TSI	-
Urea	-
Reducción de nitratos	+

## C A P I T U L O   I I

### A N A L I S I S   B A C T E R I O L O G I C O

El análisis bacteriológico a que fueron sometidas las paletas es el mismo que se emplea para la leche.

La investigación incluyó el método de análisis para el patógeno esperado, tal como Shigela, Salmonella, Staphilococcus aureus, Escherichia coli patógenas y Enterococos. Para eso se hizo uso del material requerido y medios de cultivo necesarios para su aislamiento e identificación.

El análisis se llevó a cabo en dos partes:

En la primera parte se efectuó la INVESTIGACION DE CONTAMINACION FECAL, la cual se dividió a su vez, en tres partes: PRUEBA PRESUNTIVA, PRUEBA CONFIRMATIVA y PRUEBA TOTAL. La primera se hizo sembrando en caldo lactosado. La siguiente se llevó a cabo inoculando en medios especiales. Finalmente la tercera prueba se hizo con el fin de identificar la bacteria mediante pruebas bioquímicas.

En la segunda parte se realizó lo que llamamos RECUESTO BACTERIANO EN PLACA, inoculando en agar nutritivo.

Para la identificación del microorganismo se efectuó un muestreo propio de este alimento, teniendo cuidado de no incrementar el número de microorganismos existentes en el producto alimenticio

a) MUESTREO.- Para efectuar la investigación es necesario evitar la contaminación de muestras, para lo cual todo el equipo empleado en la toma de muestras debió ser debidamente esterilizado.

Se tomaron muestras tal como se ofrecen para su venta, teniendo la debida precaución de no tocarlos con los dedos, antes bien flamear la boca del frasco de recolección, que en este caso se hizo con ayuda de un encendedor y tapar rápidamente.

Se dejó ablandar a temperatura ambiente, se agitó por unos cuantos segundos y se procedió a tomar la muestra para su determinación.

b) MATERIAL.-

Pipetas de 10 y 2 c.c.

Cajas de petri

Tubos de ensayo con 10 c.c. de agar nutritivo

Tubos de ensayo con 10 c.c. de caldo lactosado

Tubos de ensayo con 9 c.c. de agua destilada

Tubos de ensayo con medios de cultivo:

S-110, Endo, Bilis violeta cristal.

Tubos de cultivo con tapón rosca.

Todo el equipo usado para el análisis bacteriológico debe estar químicamente limpio y bacteriológicamente estéril. La esterilización del material empleado en esta determinación se hizo de dos formas diferentes:

- ESTERILIZACION EN HORNO DE AIRE CALIENTE

- ESTERILIZACION POR MEDIO DE VAPOR, A PRESION ELEVADA (AUTOCLAVE).

El primer método se usa para esterilizar pipetas, cajas de petri y demás equipo de muestreo de vidrio o metal. El equipo se colocó envuelto en papel adecuado y se sometió a una temperatura de 170°C por espacio de 2 horas.

La autoclave se usa para medios de cultivo, sometiéndose a 15 libras de presión durante 15 minutos.

c) INVESTIGACION DE CONTAMINACION FECAL:

Consta este examen de tres partes:

1) PRUEBA PRESUNTIVA, 2) PRUEBA CONFIRMATIVA y 3) PRUEBA TOTAL.

1) PRUEBA PRESUNTIVA.— Se siembran una serie de cinco tubos de fermentación conteniendo caldo lactosado, con 10 c.c. de la muestra, la que se toma del frasco en que se recogió, con pipeta estéril y flameando al sembrar, la boca del tubo, al igual que la del frasco para evitar contaminaciones. La cantidad del medio debe ser de cuando menos 2 veces mayor que el volumen de la muestra sembrada, puede usarse tubo de ensayo con campana de Durham. La incubación se efectúa a 37°C, examinándose cada tubo a las 24 y 48 horas, ocupando el gas desprendido, cuando menos la décima parte del tubo invertido, indica un resultado positivo de la prueba presuntiva. Si al cabo de las 24 horas, no se hubiera formado gas o si este ocupase menos de la décima parte, se continúa la incubación hasta las 48 horas. Si no hay producción de gas en este tiempo la prueba será negativa. La presencia de cualquier cantidad de gas en el tubo de fermentación representa una reacción dudosa que requiere siempre una confirmación.

2) PRUEBA CONFIRMATIVA.— El material procedente del tubo que haya dado mayor formación de gas, se siembra en estrias en el medio de Endo, Bilis violeta cristal y S-110. El trasplante se hace lo antes posible después de la producción de gas. Se incuban a 37°C, durante 24 horas. Si desarrollan colonias típicas ha de considerarse positiva, si no, no por ello puede darse la prueba como definitivamente negativa ya que es frecuente ver cómo los miembros del grupo coli-aerógenos dejan de formar colonias en estos medios de cultivo.

3) PRUEBA TOTAL.— Con el fin de saber que bacterias se desarrollaron, serán sembradas en baterías de bioquímica, propias para cada bacteria y en manitol sal agar. Posteriormente se incuba a 37°C por 24 horas. Se hacen las lecturas correspondientes y se identifican mediante flujos de identificación. Se emplean las siguientes pruebas:

- 1) Kliger o TSI
- 2) SIM
- 3) Citrato de Simmons
- 4) LIA
- 5) Urea
- 6) Sacarosa y Manitol.

d) RECUENTO BACTERIANO EN PLACA:

1) DILUCIONES.— Después de agitar perfectamente la muestra, se hacen diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1000 en tubos con agua destilada esteril a partir de 1 c.c. de muestra.

2) IDENTIFICACION EN PLACAS.— Disponer cajas de petri estériles, debidamente identificadas, para hacer la siembra de cada dilución.

3) INOCULACION DE LA MUESTRA.— Con pipeta esteril ( distinta para cada dilución ) transferir 1 c.c. de cada una de las diluciones a la caja de petri correspondiente y añadir a cada caja 10 c.c. de agar nutritivo fundido y enfriado a 45°C. Mezclar con suavidad por movimientos rotativos para distribuir y homogenizar, dejar solidificar sobre una superficie nivelada.

4) INCUBACION DE LA MUESTRA.— Incubar todas las placas a 37°C, durante 24 y 48 horas. Contando las colonias en cada caso.

5) CONTEO DE COLONIAS.— Se seleccionan las placas que muestren de 30 a 300 colonias, haciendo el recuento con ayuda del aparato cuentacolonia. Si el número pasa de 300, se toma en cuenta sólo la mitad de la placa y el número resultante se multiplica por dos y por la dilución correspondiente.

El promedio de la suma de los resultados obtenidos en cada una de las tres placas será el número total de bacterias por mililitro.

#### e) DETERMINACION DE STAPHYLOCOCCUS:

Se elabora un frotis para verificar morfología y agrupamiento. Posteriormente se procede a la identificación de la bacteria.

FROTIS.— Con una asa se toma una mínima cantidad de muestra de una de las colonias de la placa, se deposita sobre un portaobjetos de vidrio, se seca al aire y se fija con calentamiento suave.

COLORACION.— Se tiñe con cristal violeta durante 30 segundos. Se lava con agua, cubriendo con lugol por espacio de 1 minuto. Se decolora con alcohol-cetona ( a partes iguales ). Lavamos con agua hasta que no arrastre color. Se tiñe con fucsina durante 10 segundos, volviendo a lavar con agua y se espera a que seque. Finalmente se observa al microscopio con el objetivo de inmersión.

## C A P I T U L O   I I I

### R E S U L T A D O S   O B T E N I D O S

Los cuadros mastrados a continuación resumen los resultados obtenidos. Señalando: Fermentación en caldo lactosado. Número de colonias, Reproducción en medios de cultivo; ENDO, B.V.C. y S-110, indicando los resultados después de 24 y 48 horas. En caso de que la muestra inoculada diera un resultado positivo, se señaló con el símbolo " + " y por el contrario, de resultar negativo se hizo uso del signo " - ".

En el cuadro I se condensa el resultado del análisis de paletas cuya marca es conocida.

El cuadro II da a conocer los resultados de la investigación a que fueron sometidas las muestras de paletas heladas de marca desconocida.







De las colonias que se presentaron en los diferentes medios de cultivo, se tomaron las más sospechosas para verificar morfología y tinción, elaborando un frotis y observándose al microscopio, así como también fueron sometidas a pruebas bioquímicas. Los resultados de estos exámenes se condensan en dos cuadros, que se muestran a continuación.

El cuadro III muestra los resultados obtenidos al someter las muestras de paletas heladas cuya marca es conocida.

En el cuadro IV se exponen los resultados del análisis de colonias sospechosas de las muestras de paletas heladas de marca desconocida.

CUADRO III.- MORFOLOGIA, TINCION Y CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE MICROORGANISMOS EN MUESTRAS DE PALETAS HELADAS DE MARCA CONOCIDA.

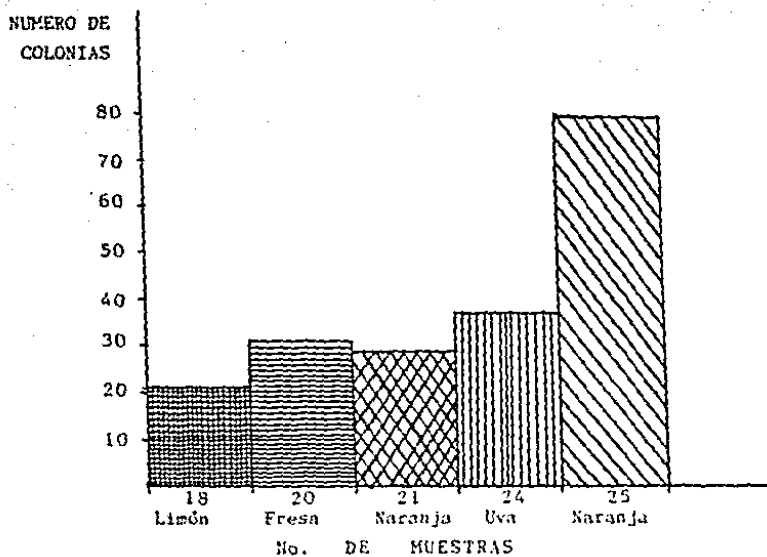
# DE MUESTRA	TINCION Y MORFOLOGIA EN LOS MEDIOS:			IDENTIFICACION POR PRUEBAS BIOQUIMICAS
	ENDO	B.V.C.	S-110	
18	LEVADURAS	_____	LEVADURAS	_____
20	LEVADURAS	LEVADURAS	LEVADURAS	_____
21	BACILOS Gramnegativos	LEVADURAS	COCOS Gramnegativos	ESCHERICHIA COLI
24	LEVADURAS	LEVADURAS	BACILOS Gramnegativos	SALMONELLA
25	LEVADURAS	LEVADURAS	BACILOS Gramnegativos	SALMONELLA

CUADRO IV.- MORFOLOGIA, TINCIÓN Y CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE MICROORGANISMOS EN MUESTRAS DE PALETAS HELADAS DE MARCA DESCONOCIDA.

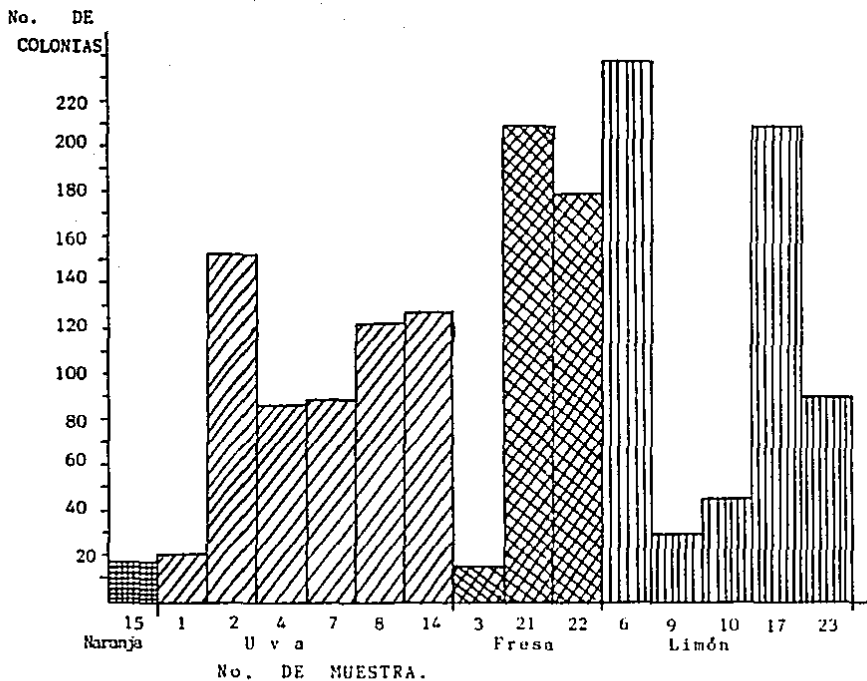
# DE MUESTRA	TINCIÓN Y MORFOLOGÍA EN LOS MEDIOS:			IDENTIFICACIÓN POR PRUEBAS BIOQUÍMICAS
	ENDO	B.V.C.	S - 110	
1	LEVADURAS	LEVADURAS	LEVADURAS	-----
2	LEVADURAS	LEVADURAS	LEVADURAS	-----
3	-----	BACILOS Gramnegativos	BACILOS Gramnegativos	SALMONELLA
4	BACILOS Gramnegativos	BACILOS Gramnegativos	BACILOS Gramnegativos	SALMONELLA
6	BACILOS Gramnegativos	-----	BACILOS Y COCOS Gramnegativos	ESCHERICHIA COLI SALMONELLA
7	LEVADURAS	LEVADURAS	LEVADURAS	-----
8	LEVADURAS	LEVADURAS	-----	-----
9	LEVADURAS	-----	-----	-----
10	LEVADURAS	-----	-----	-----
14	LEVADURAS	-----	-----	-----
15	LEVADURAS	LEVADURAS	-----	-----
17	LEVADURAS	-----	-----	-----
21	LEVADURAS	LEVADURAS	BACILOS Y COCOS Gramnegativos	SALMONELLA
22	BACILOS Gramnegativos	BACILOS Gramnegativos	BACILOS Gramnegativo COCOS Grampositivos	ESCHERICHIA COLI SALMONELLA Y STAPHYLOCOCCUS
23	LEVADURAS	LEVADURAS	-----	-----

A continuación se presentan dos gráficas donde se observa el número de colonias de cada una de las muestras sospechosas después de 48 horas, dándose a conocer el sabor a que corresponde cada una de ellas.

GRAFICA I : MUESTRA DE PALETAS HELADAS DE MARCA CONOCIDA.



GRAFICA II : NUESTRAS DE PALETAS HELADAS DE MARCA  
DESCONOCIDA.



C A P I T U L O      I V

C O N C L U S I O N E S .

Se cumplió satisfactoriamente el objetivo de la presente investigación, ya que se compararon los resultados obtenidos en el análisis de paletas heladas de marca conocida, con las paletas de marca desconocida, esto en cuanto al contenido de bacterias entéricas patógenas y cantidad de bacterias por mililitro.

De las 25 muestras de paletas de marca conocida que se examinaron, solamente cuatro presentaron gas en tubos de caldo lactosado y de estos, sólo en dos muestras se identificó Salmonella, otro al someterse a pruebas bioquímicas mostró la presencia de Escherichia coli y por último, en los dos restantes, al observarse al microscopio se detectó la presencia de levaduras.

En contraste con las paletas de marca conocida, las de marca desconocida, presentaron formación de gas en 15 casos de los 25 que se sometieron a investigación. De ellos, 10 mostraron ser levaduras al microscopio. En tres se verificó la presencia de Salmonella únicamente. En uno de los casos se detectaron dos microorganismos contaminantes: E. coli y Salmonella. Por último en otro de ellos se observaron 3 bacterias: E. coli, Salmonella y Staphylococcus.

Los cuadros que aparecen a continuación, muestran los porcentajes de contaminación en cada caso:

I.- PALETAS DE MARCA CONOCIDA.

a) Contaminación total .....	20%
b) Contaminación por levaduras .....	20%
c) Contaminación por Salmonella .....	8%
d) Contaminación por <u>E. coli</u> .....	4%

II.- PALETAS DE MARCA DESCONOCIDA.

a) Contaminación total .....	60%
b) Contaminación por levaduras .....	44%
c) Contaminación por Salmonella .....	20%
d) Contaminación por <u>E. coli</u> .....	8%
e) Contaminación por Staphylococcus .....	4%

Los resultados eran de esperarse, ya que las paletas que se analizaron se presentan en envolturas selladas en ambos extremos que ofrecen más seguridad al cliente, suponen tener menos contacto con el medio exterior, eliminando así la posibilidad de una contaminación por inadecuada manipulación. Además dichos sobres ostentan orgullosamente el nombre de una empresa importante en el ramo de la elaboración de productos de leche y sus derivados, tienen una imagen que conservar, por lo que para ellos resulta de gran importancia la limpieza y conservación del producto. Por el contrario, las paletas que se muestrearon de los famosos carritos de paletas que deambulan por las calles, tuvieron mayor cantidad de bacterias por mililitro.



ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Entre los factores que contribuyen a la presencia de microorganismos coliformes en las paletas, se pueden citar: el agua con que se elaboran y la fruta o puré de la misma adicionado a la paleta durante su procesamiento. Algo muy importante que no debemos pasar por alto son las condiciones de limpieza, manipulación del producto terminado y su envoltura, incluyendo el palito de madera que se le introduce y el papel con el cual se envuelven.

La muestra de paletas que presentó tres microorganismos contaminantes (Escherichia coli, Salmonella y Staphylococcus) fue de sabor fresa y en las que se detectó la presencia de Salmonella eran de sabor uva uvas y de limón otras.

La fresa es una fruta, que debido a sus condiciones de cultivo, está expuesta a contaminación por muchos y variados microorganismos, que van desde bacterias coliformes hasta parásitos intestinales, obtenidos de la tierra y del agua de riego.

A las paletas de marca desconocida se les observó la fresa en trocitos y se supone no recibieron un tratamiento de calor adecuado. Siendo esto último una de las causas de su excesiva contaminación. En cambio, a las de marca conocida, según lo especifica su envoltura, se prepararon con jarabe, mermelada y puré de fresas, que ya ha recibido un previo tratamiento térmico adecuado para su preparación y a la vez elimina los microorganismos existentes. Estas últimas están adicionadas con estabilizantes, ácido cítrico, saborizantes y colorantes artificiales, lo que puede restarle contenido nutricional, porque en el procesamiento se pueden perder algunos nutrientes como vitaminas sensibles al calor, por ejemplo.

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

- Jay J.H. MICROBIOLOGIA MODERNA DE LOS ALIMENTOS, 2<sup>a</sup> Edición, España, Ed. Acribia...1985.
- Desrosier N.W.. ELEMENTOS DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2<sup>a</sup> Impresión, México, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. ...1984.
- Joklik W.K., Willett H.P., Amos D.B., MICROBIOLOGIA ZINSSER, edición No. 17, Argentina, Editorial Médica Panamericana... 1983.
- Reid R.D., Peliczar H.J. Jr., Chan E.C.S., MICROBIOLOGIA, 2<sup>a</sup> Edición, México, Ediciones N<sup>c</sup> Graw Hill... 1982.
- Carpenter P.L., MICROBIOLOGIA, 4<sup>a</sup> Edición, México, Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V....1979.
- Freeman B.A., TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS, Edición No. 21, México, Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. ...1983.
- Davis B.D., Dulbeco R., Ginsberg H.S., Wood W.B. Jr., N<sup>c</sup> Carty M. TRATADO DE MICROBIOLOGIA, 2<sup>a</sup> Edición, España, Salvat Editores, S.A....1983.
- Tettweiler P., LOS HELADOS - UN MERCADO "FRIO" CALUROSAMENTE DISPUTADO, Industria Alimentaria, Volumen 8, número 1, pags. 7 - 11, Enero Febrero 1986.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods, ECOLOGIA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS, 2<sup>a</sup> Edición, España, Editorial Acribia S.A....1985.
- Ramos Cordova M., MANUAL DE METODOS DE ANALISIS DE LECHE Y LACTICINIOS, 2<sup>a</sup> Edición, México, Berna 12, Desp. 201...1976.
- Senez J.C., MICROBIOLOGIA GENERAL, 1<sup>a</sup> Edición, España, T. Alhambra, Selecciones Gráficas (Ediciones)...1976.