

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE SEMILLAS
PROCESADAS COMERCIALIZADAS EN SUPERMERCADOS Y MERCADO
DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

ALEJANDRA MARIA ASCENCIO NOVOA

LAURA JOHANNA CONTRERAS CEA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE 2018

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESORA DE AREA EN: MICROBIOLOGÍA.

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

ASESORA DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y COSMETICOS.

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

DOCENTE ASESORA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz.

AGRADECIMIENTOS

A Diosito primeramente que siempre ha estado conmigo dándome sabiduría, iluminando mi camino y sobre todo nunca dejándome sola, acompañarme en cada paso que doy para poder culminar mi carrera profesional con éxito siendo una Química Farmacéutica.

A mi Virgencita María por cuidarme, protegerme, darme fuerza y sabiduría en cada decisión tomada y porque siempre está conmigo.

A mi mami: María Carmen Novoa, por brindarme todo su apoyo incondicional, comprensión, por sus consejos, por amarme en fin no me alcanzan las palabras para decirte lo agradecida que estoy con Diosito por qué mejor madre que tu no he podido tener, gracias mami te amo muchísimo.

A mi Padre: Salvador Vidal Ascencio Aguilar por apoyarme siempre, por su amor, consejos, agradezco a Dios tenerte en mi vida, te amo Papi.

A mi Hermanita, mi uber, mi confidente, mi apoyo en fin gracias porque siempre me apoyas en todo y por preocuparte por mí, te amo muchísimo.

A mi familia por darme sus consejos y apoyo.

A mis amigos y mis baby's Elizabeth Flores y Marielos Ortiz por darme su apoyo, confianza, cariño y por compartir alegrías y tristezas. Agradezco a Dios el haber tenido la dicha de conocerlas.

A nuestra docente asesora MSc. Coralia de los Ángeles Gonzales de Díaz por su gran paciencia y brindarnos sus conocimientos y enseñanzas que ayudaron a fortalecer y mejorar nuestro trabajo de graduación.

A mi amiga y compañera de tesis, aventuras, locuras, mi casi hermana Laura Contreras (MI MABELSS) gracias por ser la mejor compañera de tesis, por tu comprensión, apoyo, cariño, conocimientos, por brindarme tu amistad sincera, y porque juntas hoy culminamos esta meta que tanto hemos anhelado, te quiero mucho amiga.

ALEJANDRA MARIA ASCENCIO NOVOA

DEDICATORIA

A Dios ya que, sin su ayuda, sabiduría, no hubiese logrado este triunfo en mi vida profesional porque siempre me guarda de todo peligro, también por todas esas personas que coloco en mi camino para ser mis guías a lo largo de estos años de estudio.

A nuestra madre María por cuidarme brindarme sabiduría en cada decisión tomada y por nunca dejarme sola en los momentos más difíciles en mi vida.

A mi Mami gracias por todas esas cosas lindas que hace por mí, por permitirme venir a este mundo, por sus sacrificios para sacarme adelante día con día, por su amor incondicional.

A mi Papi gracias por tu apoyo, porque sé que, aunque no estés conmigo en todo momento siempre puedo contar contigo, te amo papi.

A mi Hermana gracias por apoyarme siempre a pesar de tus enojos, estar ahí para mí, te amo mi gordita.

A toda mi familia por sus consejos y muestras de cariño.

A mis amigos por sus alegrías y apoyo a lo largo de mi carrera.

A todos los docentes, personal administrativo por brindarnos su apoyo.

A todas las personas que durante el transcurso de mi carrera tuvieron buenos consejos para mí.

ALEJANDRA MARIA ASCENCIO NOVOA

AGRADECIMIENTOS

Gracias primeramente a Dios por brindarme su guía, misericordia, sabiduría, por estar a mi lado en cada paso y así poder terminar con éxito mi carrera profesional como Química Farmacéutica.

A mi amado Padre Oscar Orlando Contreras por darme siempre su apoyo incondicional, su amor, consejos y confiar en mi sin dudar, agradezco a Dios por tenerlo en mi vida, te amo Padre.

A mi familia por darme sus consejos y apoyo.

A nuestra docente asesora MSc. Coralia de los Ángeles Gonzales de Díaz por su gran paciencia y brindarnos sus conocimientos y enseñanzas que ayudaron a fortalecer y mejorar nuestro trabajo de graduación.

A mis amigos y mis baby's Elizabeth Flores y Marielos Ortiz por darme su apoyo, confianza, cariño y por compartir alegrías y tristezas. Agradezco a Dios el haber tenido la dicha de conocerlas.

A mi amiga y Súper compañera de tesis, aventuras, locuras Alejandra Ascencio gracias por ser la mejor compañera de tesis, por tu enorme paciencia, cariño, conocimientos y por brindarme tu amistad sincera te quiero mucho mi alita de pollo, de igual manera a su familia por su cariño sincero y darme su apoyo.

LAURA JOHANNA CONTRERAS CEA

DEDICATORIA

A Dios mi padre por su protección, ayuda, por iluminar mi mente y darme la fortaleza cuando sentía que no podía más, por haberme colocado personas que me brindaron su guía a lo largo de estos años y así lograr culminar una de mis metas.

A mi madre Vilma Aracely de Contreras por traerme a este mundo, por darme su amor, su apoyo y fortaleza, ya que, si hoy estuvieras aquí, estoy segura de que estarías orgullosa de tu Señorita fortizon. Te lo dedico mamá por haberme amado tanto.

A mi padre Oscar Orlando Contreras por estar a mi lado cada día dándome tu apoyo y comprensión, enseñándome que para cumplir mis sueños debo trabajar duro día a día.

A toda mi familia por sus consejos y muestras de cariño.

A mi tía Argentina Cea por su apoyo, amor, consejos a lo largo de mi carrera y aunque hoy no está conmigo, puedo decir lo logre tía Gracias.

A mis amigos por sus alegrías y apoyo a lo largo de mi carrera.

A todos los docentes, personal administrativo por brindarnos su apoyo.

A todas las personas que Dios envió a mí para darme sus consejos en mis años de estudio y así lograr completar mi carrera.

LAURA JOHANNA CONTRERAS CEA

ABREVIATURAS

CENSALUD:	Centro de Investigación y Desarrollo en Salud.
ECDA:	<i>Escherichia coli</i> enteroadherente.
ECEAgg:	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa.
ECEI :	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva.
ECEH:	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica.
ECEP :	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena.
ECET:	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica.
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
FDA:	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América.
MIO:	Agar Movilidad-Indol-Ornitina.
NMP:	Número más probable.
RTCA:	Reglamento Técnico Centro Americano.
SB:	Agar Sulfito Bismuto.
SS:	Agar Salmonella-Shigella.
ST:	Termoestable.
TSA:	Agar tripteina soya.
TSI:	Agar Triple azúcar hierro.
VP:	Voges-Proskauer.

INDICE GENERAL

	Pág N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	22
3.1 Semillas	22
3.1.1 Proteínas	23
3.1.2 Lípidos	23
3.1.3 Carbohidratos	23
3.2 Maní	23
3.2.1 Factores generales de calidad de las semillas de maní	23
3.2.2 Envasado ideal de las semillas de maní	24
3.2.3 Almacenamiento y transporte del maní	24
3.3 Marañón	25
3.4 Almendra	26
3.5 Pecana	27
3.6 Pepita (Semilla de Ayote)	28
3.7 Macadamia	29
3.8 Microorganismo patógeno contaminante de alimentos	
<i>Escherichia coli</i>	30
3.8.1 Coliformes totales	30
3.8.2 Significado de las coliformes en los alimentos	31
3.8.3 Recuento	31
3.8.4 Coliformes fecales	31
3.8.5 Características del microorganismo	32
3.8.6 Síntomas	32
3.8.7 Fuentes y transmisión	33
3.8.8 Clasificación de microorganismo <i>Escherichia coli</i>	33

3.8.9	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ECET)	34
3.8.10	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (ECEH)	34
3.8.11	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	36
3.8.12	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (ECEP)	36
3.8.13	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (ECEAgg)	37
3.8.14	Diagnóstico de la <i>Escherichia coli</i>	38
3.8.15	Prevención y control de la <i>Escherichia coli</i>	38
3.9	Taxonomía del microorganismo <i>Salmonella spp</i>	39
3.9.1	Características	40
3.9.2	Características de las colonias de <i>Salmonella spp</i> en los diferentes medios de cultivo	41
3.9.3	Pruebas bioquímicas	42
3.9.4	Hábitat	44
3.9.5	Epidemiología	45
3.9.6	Tratamiento	45
3.9.7	Diagnóstico de Laboratorio	46
3.10	Mohos (Hongos)	47
3.10.1	Características morfológicas	47
3.10.2	Clasificación e identificación de los mohos	47
3.10.3	Propiedades fisiológicas	48
3.11	Hongos en semillas	48

Capítulo IV

4.0	Diseño Metodológico	51
4.1	Tipo de estudio	51
4.2	Investigación bibliográfica	51
4.3	Investigación de campo	52
4.4	Determinación del número de supermercados	52
4.5	Determinación y selección de la muestra	54
4.6	Identificación de la muestra	58
4.7	Transporte de muestra	58
4.8	Parte experimental	59
4.8.1	Procedimiento general para la determinación de <i>Escherichia coli</i>	59
4.8.2	Procedimiento general para la determinación de <i>Salmonella spp</i>	59
4.8.3	Identificación de <i>Salmonella spp</i>	60

4.8.4	Pruebas bioquímicas para la determinación de <i>Salmonella spp</i>	60
4.8.4.1	Prueba de agar triple hierro azúcar (TSI)	60
4.8.4.2	Reacción de Indol	61
4.8.4.3	Prueba de Voges Proskauer (VP)	61
4.8.4.4	Prueba de rojo de metilo	61
4.8.4.5	Prueba de movilidad	62
4.8.4.6	Prueba de citrato	62
4.9	Procedimiento general para la determinación de Hongos	62
Capítulo V		
5.0	Resultados y Discusión de Resultados	65
5.1	Evaluar por medio de una lista de chequeo las condiciones de almacenamiento y limpieza de los dispensadores de semillas a granel y empacadas.	65
5.2	Identificación de los microorganismos patógenos como <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp</i> en semillas seleccionadas, según el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08	70
5.3	Determinación la presencia de Hongos en las muestras seleccionadas, según la Norma Oficial Mexicana.	78
5.4	Comparación de los resultados obtenidos de las semillas con las normativas.	84
Capítulo VI		
6.0	Conclusiones	89
Capítulo VII		
7.0	Recomendaciones	
	Bibliografía	
	Anexos	

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Resultado del análisis microbiológico a las semillas a granel distribuidas en los supermercados del distrito dos.	71
2. Resultado del análisis microbiológico a las semillas empacadas de las marcas GRANUTS, PRO, CASHITAS.	73
3. Resultado del análisis microbiológico a las semillas a granel de ventas en el interior de la Universidad de El Salvador y un puesto en el mercado San Miguelito.	75
4. Resultado del análisis microbiológico para hongos las semillas a granel distribuidas en los supermercados del distrito dos.	78
5. Resultado del análisis microbiológico para hongos de las semillas empacadas de las marcas GRANUTS, PRO, CASHITAS.	80
6. Resultados de los análisis microbiológicos para hongos de las semillas a granel de ventas en el interior de la Universidad de El Salvador en las Facultades de Química y Farmacia, Humanidades y mercado San Miguelito.	82
7. Resultados de los análisis microbiológicos de las semillas a granel al compararlos con el RTCA y la Norma Mexicana.	84
8. Resultados de los análisis microbiológicos de las semillas empacadas compararlos con el RTCA y la Norma Mexicana.	86

Tabla N°	Pág. N°
9. Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08.	108
10. Tabla del número más probable (NMP).	111
11. Pruebas Bioquímicas para <i>Salmonella spp.</i>	119
12. Criterio para descartar la presencia de <i>Salmonella spp</i>	120
13. Resultado de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i> de semillas a granel del primer muestreo.	124
14. Resultado de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i> de semillas empacadas marca PRO del primer muestreo.	125
15. Resultado de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp</i> de semillas a granel del segundo muestreo.	127

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág.N°
1.	Lista de chequeo del supermercado Miralvalle dos para las semillas procesadas a granel y empacadas.	66
2.	Lista de chequeo del supermercado San Luis para semillas procesadas a granel y empacadas.	67
3.	Lista de chequeo del supermercado Metrocentro 6 ^{ta} etapa para semillas procesadas a granel y empacadas.	68
4.	Lista de chequeo del supermercado Dollar city UES para semillas procesadas empacadas.	69
5.	Resultados de la presencia de <i>Escherichia coli</i> .	76
6.	Resultados de la presencia de <i>Salmonella spp.</i>	77
7.	Resultados del crecimiento de Hongos en Semillas procesadas.	83

INDICE ANEXOS

ANEXO N°

1. Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empacadas.
2. Dispensación de Semillas procesadas a granel de los supermercados.
3. Recolección de las muestras en los diferentes establecimientos puntos de venta.
4. Semillas Procesadas a Granel.
5. Marcas de los diferentes supermercados.
6. Mapa del Distrito uno y Distrito dos del área metropolitana de San Salvador.
7. Etiqueta para la identificación de semillas a muestrear.
8. Sección del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08.
9. Determinación de coliformes totales y fecales
10. Identificación de Escherichia coli.
11. Tabla del número más probable (NMP).
12. Determinación de Salmonella spp.
13. Identificación de Salmonella spp.
14. Pruebas Bioquímicas para la identificación de Salmonella spp.
15. Pruebas bioquímicas para salmonella (Criterios según BAM).
16. Norma oficial mexicana NOM-247-SSA1-2008.
17. Determinación de hongos.
18. Resultados de primer muestreo
19. Resultados de segundo muestreo

RESUMEN

En la actualidad en El Salvador las semillas procesadas se han convertido en un alimento de mucho consumo por la población debido a sus beneficios, propiedades alimentarias, valor económico y que es de fácil acceso, lo que hace que sean preferidas por la población, tanto así que estas semillas son vendidas en Supermercados, Mercados, Universidades, Hospitales e incluso en las unidades de transporte.

Sin embargo, los controles de calidad para este grupo alimentario son muy escasos haciendo que la población desconozca el estado microbiológico de este alimento. Es por ello que con esta investigación se determinó la calidad de las semillas procesadas distribuidas en los Supermercados, Mercado San Miguelito y ventas en el Campus Universitario, realizándoles análisis microbiológicos para la determinación de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y Hongos, basándonos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:80 y la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-208.

La investigación se llevó acabo en el periodo de febrero a octubre del 2018, realizándose dos muestreos, uno al inicio del mes de junio y otro a finales del mes de Julio a las semillas procesadas a granel y empacadas de los lugares seleccionados, en los cuales los resultados obtenidos fueron que las semillas contaminadas por los microorganismos de *Escherichia coli* y *Salmonella spp* son la macadamia y almendra para las que se distribuyen a granel. Con respecto a las semillas procesadas empacadas la marca CASHITAS fue la que tuvo menor contaminación. Para los hongos la semilla que tuvo mayor contaminación fue la de almendra muestreada en el mercado San Miguelito. Por lo que es necesario tener un mayor control con la dispensación, empaque y almacenamiento de las semillas.

CAPITULO I
INTRODUCCION

I.INTRODUCCION

La inocuidad de los alimentos, es un aspecto importante para la salud de las personas, ya que un alimento que sea inocuo (tanto física, química y microbiológicamente) asegura que, al ser ingeridos, no provocaran algún daño al consumidor.

En la actualidad las semillas han tomado una gran relevancia en la alimentación de la población, debido a la preferencia porque son un buen suplemento en dietas vegetarianas y como snack, por su contenido de proteína, grasa y carbohidrato, sin embargo, dicho alimento puede contener suficiente agua para permitir el crecimiento de bacterias, hongos antes y durante su recolección y almacenamiento, por esta razón la importancia de asegurar la calidad y velar por la salud de los consumidores.

Se investigó los lugares de venta, así como presentación y tipos de semillas que se consumen y a las muestras se les determinó la presencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, además se investigó la presencia de Hongos en las semillas procesadas a granel y empacadas que se distribuyen en los Supermercados del distrito dos; también se consideró las semillas procesadas de venta en el mercado del distrito uno y en el interior de la Universidad de El Salvador del área metropolitana de San Salvador.

La investigación se llevó a cabo en el periodo de febrero a octubre del 2018 y los análisis se realizaron en el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD),

Con los resultados obtenidos se realizó una comparación con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 para Bacterias patógenas y la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 para hongos y así verificar si las semillas procesadas cumplen o no con la calidad microbiológica requerida.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de semillas procesadas comercializadas en supermercados y mercado del Área Metropolitana de San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Evaluar por medio de una lista de chequeo las condiciones de almacenamiento y limpieza de los dispensadores de semillas a granel y empacadas.

2.2.2 Identificar los microorganismos patógenos como *Escherichia coli* *Salmonella spp* en semillas seleccionadas, según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08.

2.2.3 Investigar la presencia de hongos en las muestras seleccionadas, según la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008.

2.2.4 Comparar los resultados obtenidos de las semillas procesadas a granel y empacadas, comercializadas en los Supermercados, Campus de la Universidad de El Salvador y Mercado San Miguelito con las especificaciones del Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 y la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008.

CAPITULO III
MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 SEMILLAS ⁽³⁾

Hay ciertas semillas que tienen una cubierta o cascara exterior más o menos rígida, siendo esta una barrera efectiva contra la invasión microbiana, en otros casos la integridad de la cubierta externa está relacionada directamente con la posibilidad de contaminación por microorganismos.

La mayoría de las semillas tienen un alto contenido de grasa, y algunos contienen cantidades apreciables de proteínas y carbohidratos. Las semillas tienen una humedad y actividad de agua demasiado baja como para permitir el crecimiento de bacterias.

Pero algunas semillas pueden ser lo suficientemente húmedas para permitir el crecimiento de hongos antes y durante la recolección.

Las semillas se dividen en dos grupos que son:

- Semillas subterráneas
- Semillas aéreas

Semillas subterráneas: Son aquellos que se derivan del suelo, puesto que crecen bajo tierra, un ejemplo de este tipo de semillas es el maní o cacahuate,

Semillas aéreas: Son esos frutos sanos y maduros tomados directamente del árbol.

Las semillas han formado parte de la alimentación desde hace miles de años, siendo muy apreciadas en una importante cantidad de platillos, preferentemente en dulces y postres. Desde el punto de vista nutricional, a pesar del elevado contenido en lípidos, las semillas son fuentes importantes de proteínas, fibra, vitamina E, ácido fólico, minerales y compuestos con características funcionales.⁽¹⁴⁾

3.1.1 PROTEINAS ⁽¹¹⁾

Las semillas contienen una notable proporción de proteínas, esta oscila entre el 20% en almendras y el 14% en nueces, piñones y avellanas. En los cacahuates (maní) el contenido proteico alcanza el 27%. Las semillas que desempeña un papel importante en los efectos cardiovasculares beneficiosos asignados a los frutos secos.

3.1.2 LÍPIDOS ⁽¹¹⁾

Las semillas poseen una atractiva composición nutricional con un predominio en el aporte de ácidos grasos insaturados donde los ácidos oleicos y linoleicos suministran más del 75% de aporte graso.

3.1.3 CARBOHIDRATOS ⁽¹¹⁾

Los hidratos de carbono presentes en los frutos secos son en su mayoría monosacáridos y disacáridos el contenido de estos es en promedio del 20%. La ingesta de semillas contribuye a aumentar las ingestas diarias de fibra.

3.2 MANÍ O CACAHUATE ⁽²⁰⁾

Es una semilla que pertenece a la familia de las Leguminosae que se obtiene de una vaina que se obtiene de forma subterránea.

3.2.1 Los Factores Generales de calidad de la semilla del maní son:

- El Maní deberá ser inocuo y apropiado para ser elaborado para el consumo humano.
- El Maní deberá estar exento de sabores, olores anormales, de insectos y ácaros vivos.
- Debe estar exento de microorganismos en cantidades que puedan representar un peligro para la salud.

- Debe estar exento de parásitos que puedan representar un peligro para la salud.
- No deberá contener sustancias procedentes de microorganismos incluidos hongos en cantidades que puedan representar un peligro para la salud.

3.2.2 El envasado ideal de las semillas de maní: ⁽²⁰⁾

- Se envasará de manera que se salvaguarden las cualidades higiénicas, nutricionales y organolépticas del producto.
- Debe ser resistente, estar limpio, seco y exento de la presencia de insectos y hongos.
- Deben estar fabricados con sustancias que sean inocuas y apropiadas para el uso al que se destinan, incluidos los sacos de yute, los envases de hojalata y las cajas o sacos de plástico o papel nuevos y limpios.
- No deberán transmitir al producto sustancias tóxicas, ni olores o sabores desagradables.

3.2.3 Almacenamiento y transporte del maní ⁽²⁰⁾

El maní en cascará o descascarado deberá almacenarse en un grado de humedad suficientemente baja como para que el producto pueda conservarse en condiciones normales de almacenamiento sin que se forme moho o sin deterioro notable por cambios oxidativos o enzimáticos. Los medios de transporte deben ser limpios, secos, impermeables, estar libres de infestación y ser herméticos para impedir que el agua, los roedores o los insectos lleguen al maní. Se debe tomar precauciones extremas para impedir la condensación durante la descarga del maní de un almacén frío o de un vehículo refrigerado. En tiempo caluroso y húmedo, se dejará que el maní alcance la temperatura ambiente antes de exponerlo a las condiciones externas.

Para proteger la calidad e impedir la formación de mohos deberá mantenerse un ambiente con una humedad relativa entre 55% y 65%. Un solo valor de actividad acuosa puede corresponder a diferentes niveles de humedad en diferentes variedades de maní. Por tanto, los países productores deberán determinar para cada una de sus variedades de maní, el nivel de humedad que corresponda a un valor seguro de actividad acuosa indicado en el código. No deberá almacenarse maní a una distancia menor de 0.5 metros (1 ½ pies) de cualquier pared exterior.

3.3 MARAÑÓN. ⁽¹³⁾

Su nombre científico es *Anacardium occidentale* son conocidas como nueces de Anacardo profundamente reniformes, marginadas en un lado y marcadas ahí con una cicatriz que ha dejado el estilo, de una semilla, de color verde-grisáceo, de brillo tenue, de 2,5-3 cm de largo y 2-2,5 cm de ancho. La nuez tiene forma de pera, carnosa, de color amarillo o rojo y brillante; el pedicelio, o la manzana del marañón es de 4-8 cm de largo y 4-6 cm de grueso. El marañón se desarrolla en los trópicos de América Asia y África, Es una de las nueces más comercializadas en el mundo. En donde Brasil e India, quienes son los exportadores más grandes. El comprador más fuerte hasta el momento son los Estados Unidos. El marañón es demandado para ser consumida directamente después de tostada o frita; así mismo, se utiliza en la repostería (para hacer confites y chocolates), en la industria panadera, para acompañar el vino, en la cocina, siendo recomendado en algunos casos como dieta alimenticia. Además, se extrae aceite que es utilizado en la industria.

La fruta del anacardo puede comerse como fruta o postre y procesado como bebida fresca o fermentada (vino), vinagre, gelatina, jaleas o cubierta con miel.

La semilla de marañón está cargada de antioxidantes, vitaminas, magnesio, fósforo, manganeso, zinc, cobre e hierro (estos dos últimos eliminan los radicales libres), además de que no tiene colesterol. La fibra de las semillas de

marañón ocasiona que quien las consuma se sienta satisfecho rápidamente, apoyando los procesos para mantener un peso ideal, pero eso no es todo porque la fibra brinda energía y acelera el metabolismo, apoyando un adecuado proceso digestivo. Las semillas de marañón son una rica fuente de magnesio; este es muy bueno para controlar la presión arterial alta, evitar que suframos espasmos musculares, fatiga y migrañas. A su vez, refuerza los huesos y regula el tono de los nervios para mantenerlos sanos.

3.4 ALMENDRA ⁽¹⁶⁾

La almendra es el fruto del almendro que pertenece a la familia de las rosáceas y que su nombre científico es *Prunus amygdalus*. Se trata de un fruto de cáscara un tanto dura y quebradiza de color marrón-beige, cuya semilla es la parte comestible. Tiene forma de lágrima aplanada, y mide 1-2 cm de largo. Nace del almendro, un árbol que alcanza hasta 10 m de altura, y cuyas flores pueden ser de color blanco, rosado o blanco rosáceo.

Dependiendo de las variedades, que pueden ser dulces o amargas, su sabor varía desde el suave lechoso hasta el amargo seco. Las almendras dulces, a diferencia de las amargas, son las que se consumen como fruto seco y comprenden dos variedades, de cáscara blanda y de cáscara dura. En cambio, todas las almendras amargas tienen cáscara dura. Las almendras pueden ser agrupadas en dos tipos principales: las dulces, orientadas al consumo humano directo o industrial; y las amargas, para uso industrial en la producción de aceites, saborizantes o en cosmética. Se estima que la demanda por el consumo directo de almendras seguirá creciendo tanto a nivel nacional e internacional, debido a la consideración que ha ganado como alimento sano y natural, dado que aporta a la dieta ácidos grasos esenciales y es un excelente antioxidante natural y protector cardíaco. El contenido en fibra de la almendra destaca sobre el resto de semillas, por lo que tiene un efecto laxante mayor.

Entre los minerales destacan el fósforo y magnesio. Una ración de 20g de almendras sin cáscara aporta el 15% de las ingestas diarias recomendadas para estos minerales, y alrededor del 6% de las señaladas para el hierro, potasio y calcio. Es una de las fuentes vegetales más rica en este último mineral, de ahí que la leche de almendras se emplee como sustituto de la leche de vaca cuando ésta no se tolera, y se recomienda su consumo para fortalecer los huesos y prevenir la osteoporosis.

3.5 PECANA ⁽¹³⁾

El Pecano, *Carya illinoensis Koch*, es una especie frutal perteneciente al grupo de las nueces; miembro de la familia Juglandaceae, la misma del nogal común (*Junglans regia*). Es nativa del sur de Estados Unidos, extendiéndose por Texas y Norte de México. La especie es abundante en los ríos y arroyos de Oklahoma central y oriental.

El fruto es una drupa, de 2,5 a 4,5 centímetros de longitud. La nuez es de forma oblonga, lisa, de cáscara delgada y puntiaguda. Su periodo de desarrollo es largo y se extiende aproximadamente por siete meses. La nuez de pecana es un alimento altamente saludable, es libre de colesterol, con altos contenidos de proteínas y ácidos grasos insaturados que reducen el contenido de colesterol en la sangre. Cabe destacar que este contenido de ácido oleico es similar al que poseen las mejores variedades de olivo para aceite. Además, los frutos son fuente de calcio, hierro, potasio y vitamina A.

Esta semilla es muy apreciada por su sabor y textura agradable, y es utilizada (cruda, tostada y/o salada) en ensaladas, postres, helados, “snacks” y en productos de panadería y confitería. Las nueces son comercializadas con o sin cáscara, en mitades, en pedazos de diferentes tamaños o molidas (harina), y también pueden servir como materia-prima para la extracción de aceite.

Las nueces Pecana contienen ácidos grasos de 16 y 18 carbonos. Aproximadamente 98% de los triacilglicéridos son compuestos por los ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico. Los ácidos grasos insaturados representan la mayor parte de la fracción lipídica, siendo el ácido oleico el ácido graso predominante. Algunos estudios sugieren que puede existir una relación entre el consumo frecuente de nueces y la reducción de la incidencia de enfermedades cardíacas coronarias.

La calidad de las nueces y su estabilidad dependen de la composición inicial, además de las prácticas de manejo durante el cultivo y cosecha y de los métodos utilizados en el procesamiento, envase y almacenamiento. El envase representa un papel fundamental, una vez que representa una barrera para algunos de los factores involucrados en el proceso de oxidación y en la pérdida de calidad, como luz, oxígeno y vapor de agua.

3.6 PEPITA (SEMILLAS DE CALABAZA) ⁽¹³⁾

La calabaza pertenece a la familia de las cucurbitáceas y su nombre científico es *Curcubita argyrosperma*, cuya planta es originaria de México, siendo cosechada por los precolombinos en el Cono Sur y en Mesoamérica. Pertenece a la familia de las cucurbitáceas, El cultivo de la calabaza necesita pocos insumos y en muchos países se cosecha todo el año, obteniendo un número considerable de semillas que se utiliza como hortaliza o fruto maduro, prospera en muchas regiones del mundo y en América se distribuye desde Estados Unidos hasta Argentina.

El cultivo de calabaza ha adquirido gran importancia desde hace algunos años debido al bajo costo del cultivo, a las propiedades nutritivas de los compuestos de sus frutos, tales como el contenido de proteína, carbohidratos y minerales, así como a su alta digestibilidad.

La semilla de calabaza clasifica como oleaginosa abundante en proteína (32 a 40 %), grasas poli-insaturadas, fitoesteroles, minerales y vitaminas (A, E), aceite vegetal (40 a 50 %) cuyos valores son similares y en algunos casos superiores a las oleaginosas convencionales. Su pulpa es rica en carbohidratos, fibra soluble y provitamina A.

3.7 MACADAMIA ⁽⁴⁾

La macadamia pertenece a la familia de las potaceas y su nombre científico es *Macadamia integrifolia*, dicha semilla es originaria de los bosques lluviosos costaneros del litoral de Australia, por consiguiente, se adapta a regiones comprendidas entre las zonas de vida denominadas bosque húmedo tropical, bosque muy húmedo tropical, y bosque muy húmedo.

La macadamia produce una nuez muy fina de alto valor nutritivo y exquisito sabor. Estas nueces no contienen colesterol y son bajos en sodio y grasas saturadas. Más de un 80 % de los ácidos grasos en las macadamias son monoinsaturadas. La grasa monoinsaturada (generalmente conocida como grasa buena) ha demostrado disminuir el colesterol en la sangre, posiblemente teniendo un efecto limpiador en las arterias y reduciendo el riesgo de una enfermedad cardiaca. También tiene un altísimo contenido en aceites.

Es utilizada en alimentación y en la industria de la cosmética. Hay muchos otros productos que incorporan nuez de macadamia en su composición como licores, mermeladas, y jaleas, sopas y aceites cosméticos que son rápidamente absorbidos por la piel.

La cáscara de la macadamia generalmente regresa al campo como material para abono, la concha encuentra su mejor uso en las calderas de vapor para las plantas procesadoras.

El cultivo de macadamia ha alcanzado un buen nivel de área sembrada, ya que por sus condiciones se puede asociar fácilmente con el café. Permitiendo un mejor manejo en el aspecto financiero. Los principales mercados de la nuez de macadamia son: Estados Unidos de América, Europa y Asia, aunque también se nota un incremento en la demanda de Latinoamérica y países en vías de desarrollo. Los países productores de Macadamia son: Australia, Estados Unidos de América (Hawai), Sudáfrica, Kenia, Guatemala, Costa Rica y Brasil.

3.8 MICROORGANISMO PATÓGENO CONTAMINANTE DE ALIMENTOS, *Escherichia coli*.

3.8.1 COLIFORMES TOTALES. ⁽⁹⁾

Coliforme significa con forma de coli, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor von Escherich en 1860.

Este es un grupo conocido como “bacterias coliaerogenes de origen fecal”, estos son microorganismos bacilos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, con característica de fermentar la lactosa con producción de gas dentro de 48 horas de incubación a 35°C.

Estos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y colonizan el tracto intestinal del hombre y, en general, de los animales de sangre caliente. Las coliformes totales son bacterias de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. La mayoría de estos organismos se encuentran en el medio ambiente y materia en descomposición, excepto el género *Escherichia* que vive solo en microorganismos, como el hombre y animales de sangre caliente.

Las coliformes son el grupo indicador con mayor tradición en la microbiología sanitaria siendo desde sus inicios asociados a la presencia con contaminación

fecal en el agua. Y en aquellos alimentos que han recibido un tratamiento sugieren que estos han tenido contacto con materiales sucios y por tal razón su presencia en los alimentos nos ayuda a vigilar la calidad sanitaria del agua y los alimentos.

3.8.2 SIGNIFICADO DE LAS COLIFORMES EN LOS ALIMENTOS. ⁽⁹⁾

Su presencia en los alimentos indica el posible contacto con materia fecal, así como contacto con el medio ambiente y en caso de ser encontrados luego de un tratamiento de desinfección, no indica que han tenido contacto con alguna clase de materia sucia o que el tratamiento realizado no funciono.

3.8.3 RECUESTO. ⁽⁹⁾

El recuento se realiza por el NMP (número más probable), este requiere de un mayor volumen de material de laboratorio siendo trabajoso y lento, pero a su vez es muy sensible. El NMP se determina consultando tablas especialmente diseñadas en las que se indica la concentración estimada de coliformes por 100 mL de muestra.

3.8.4 COLIFORMES FECALES. ⁽⁹⁾

Se define como coliformes fecales aquellos que fermentan la lactosa a 44.5-45.5 °C o de 44 a 45 °C análisis que permite descartar a *Enterobacter*, puesto que esta no crece a esta temperatura. Si se aplica este criterio crecerán en el medio de cultivo principalmente *Escherichia coli* (90%) y algunas bacterias de los géneros *Klebsiella* y *Citrobacter*. La prueba de coliformes fecales positiva indica un 90% de probabilidad de que la Coliforme aislada sea *Escherichia coli*.

Estos nos sirven como indicadores más confiables que las coliformes totales, sabiendo que un porcentaje mayor de coliformes aislados de material fecal humana y de animales de sangre caliente fermentan la lactosa a estas temperaturas, con respecto a las coliformes provenientes de fuentes no fecales.

3.8.5 Características del microorganismo ⁽²¹⁾

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia enterobacteriaceae, aerobio o anaerobio facultativo, bacilo no esporulado, puede poseer flagelos periticos o ser inmóvil. La temperatura mínima para su crecimiento es de 2.5°C y la máxima de 45°C; puede sobrevivir a temperaturas de refrigeración y de congelación. El rango de pH en el cual se ha observado crecimiento es de 4.4 a 9.0 y la mínima actividad de agua para su desarrollo es de 0.95.

Es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos.

La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas.

E. coli productora de toxina Shiga se destruye cociendo los alimentos hasta que todas las partes alcancen una temperatura de 70 °C o más. *E. coli* O157: H7 es el serotipo de *E. coli* productora de toxina Shiga más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos.

3.8.6 SÍNTOMAS ⁽³⁾

Entre los síntomas de la enfermedad causada por *E. coli* se destacan los calambres abdominales y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). También puede haber fiebre y vómitos. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una mediana de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en

el término de diez días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal, como el síndrome hemolítico urémico (SHU). El SHU se caracteriza por una insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia (deficiencia de plaquetas).

3.8.7 FUENTES Y TRANSMISIÓN ⁽³⁾

La mayor parte de la información disponible sobre *E. coli* productora de toxina Shiga guarda relación con el serotipo O157: H7, pues es el más fácil de distinguir bioquímicamente de otras cepas de *E. coli*.

E. coli O157: H7 se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida y leche cruda. La contaminación fecal del agua y de otros alimentos.

3.8.8 Clasificación del microorganismo patógeno *Escherichia coli* ⁽²⁶⁾ ⁽¹³⁾

Con base en su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico, las cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican en seis grupos:

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), genera una enterotóxina.
- *Escherichia coli* enterohemorrágica también conocidas como productoras de toxina Vero o toxina semejante a Shiga (ECEH), adherencia a la íntima de la célula del huésped.
- *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), por invasión a la célula
- *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), generada por adherencia íntima a la célula huésped.
- *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEAgg).

- *Escherichia coli* enteroadherente (ECDA), generada por una producción de enterotóxina.

3.8.9 *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)

EPEC se caracteriza por incluir cepas que elaboran enterotoxinas ya sea termoestable (ST) y/o termolábil (LT). Se encontró que el sobrenadante del cultivo de cepas de *E. coli* aisladas de individuos con diarrea ocasionaban la distensión del intestino del conejo. El efecto observado era similar al inducido por cultivos de *Vibrio cholerae* O1, lo que condujo a plantear que las cepas de *E. coli* también elaboraban enterotoxinas.

Manifestaciones clínicas.

El cuadro clínico que inducen estas bacterias es similar al que se observa en el caso del cólera, presentándose de ocho a 12 evacuaciones al día por un periodo de cuatro a cinco días. Las cepas EPEC son una causa importante de diarrea en niños menores de cinco años de edad y una de las causas más frecuentes de diarrea del viajero.

Epidemiología.

Las cepas EPEC son una causa frecuente de diarrea en lactantes de países en desarrollo, así como la causa más común de diarrea en individuos de países industrializados que viajan a zonas menos desarrolladas del mundo.

3.8.10 *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

El grupo EHEC incluye cepas de diferentes serotipos que presentan las mismas características clínicas, epidemiológicas y patogénicas del serotipo O157:H7, considerado como prototipo del grupo. EHEC se relaciona con brotes causados

por alimentos en países desarrollados. Puede causar diarrea con sangre, colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica.

Manifestaciones clínicas.

La colitis hemorrágica es un padecimiento autolimitado, caracterizado por diarrea de inicio brusco con dolor abdominal. Las evacuaciones líquidas se acompañan de una descarga hemorrágica. El síndrome urémico hemolítico es una de las principales causas de daño renal en niños, se define por la presencia de anemia hemolítica microangiopática, insuficiencia renal aguda y trombocitopenia.

Epidemiología.

Diferentes serotipos EHEC se han relacionado con la etiología de la diarrea esporádica en adultos, en brotes asociados a la ingesta de alimentos contaminados, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica. Estos padecimientos se han observado con mayor frecuencia en países con climas templados como los Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, Argentina, Alemania y Japón.

Los serogrupos involucrados más comunes son: O26, O111, O121, O145 y particularmente O157. Hasta el momento no existen reportes de cuadros de colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico en nuestro país relacionados con el aislamiento de *E. coli* O157:H7 o algún otro serotipo EHEC. Interesantemente, el principal brote de síndrome urémico hemolítico presentado en el año 2011 fue causado por una cepa de *E. coli* de serotipo no reconocido como enterohemorrágico (O104:H4) o serogrupos enterohemorrágicos (O26, O111, O121, O145) o el clásico serotipo enterohemorrágico O157:H7. El brote se inició en Europa central, principalmente en Alemania y ocasionó más de 900 casos de HUS y 54 personas muertas.

3.8.11 *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI)

Manifestaciones clínicas.

Las cepas EIEC afectan la mucosa del colon y producen un cuadro disentérico similar, aunque menos severo, al que produce *Shigella dysenteriae* tipo 1. Las manifestaciones clínicas asociadas con ésta infección son evacuaciones de escasas acompañadas de moco y sangre, dolor abdominal tipo cólico y fiebre.

Epidemiología.

EIEC presenta una distribución mundial y se ha reportado como causa frecuente de diarrea en Brasil, Estados Unidos y Europa. Estudios epidemiológicos realizados en México, muestran que las cepas EIEC son poco frecuentes como agentes causales de diarrea, identificándose preferentemente después del sexto mes de vida.

3.8.12 *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP)

Se considera una de las principales etiologías de diarrea infantil en países en desarrollo.

Manifestaciones clínicas.

EPEC se caracteriza por la lesión histopatológica de la superficie apical de los enterocitos, conocida como "Adherencia y Esfascelamiento" (A/E). Afecta la mucosa intestinal al conducir a la disolución del borde en cepillo por vesiculación de las microvellosidades, con pérdida de disacaridasas, lo que a su vez altera la absorción y conduce a la producción de una diarrea secretora, que puede estar asociada a fiebre.

Una vez que se inician los trastornos intestinales, las manifestaciones de la enfermedad incluyen diarrea, anorexia y desgaste rápido, que puede causar la muerte en el transcurso de días si no se maneja adecuadamente. Aunque la

diarrea EPEC se autolimita, esto depende de la respuesta inmune del hospedero, y puede dar lugar a diarrea secretora persistente, deshidratación y muerte.

Epidemiología.

Uno de los aspectos más importantes de la epidemiología de la diarrea producida por EPEC es la población afectada. Esta se presenta principalmente como una enfermedad de niños menores de 2 años de edad. En la actualidad los casos de diarrea por cepas EPEC en países industrializados son poco frecuentes. Sin embargo, en los últimos años se han reportado varios brotes en diferentes países, principalmente en guarderías y otros centros de atención a niños. En los países en desarrollo, la incidencia de diarrea producida por EPEC sigue siendo alta. Diferentes estudios realizados en México, Brasil, y África del Sur refieren que entre 30 y 40% de los casos de diarrea puede ser atribuido a cepas EPEC.

3.8.13 *Escherichia coli* enteroagregativa (ECEAgg).

Esta categoría (EAEC) es heterogénea, se asocia con casos de diarrea aguda o persistente en niños y adultos a nivel mundial. En los últimos diez años ha recibido mayor atención como causante de diarrea acuosa, la cual se presenta como patología persistente e inflamatoria (>14 días) en infantes y niños de países en desarrollo. También se han identificado algunos brotes, de los cuales dos se reportaron en la Ciudad de México. Se ha observado, de manera reciente, un aumento de la incidencia de aislados EAEC resistentes a antibióticos.

Manifestaciones clínicas.

Las características clínicas de la infección intestinal por EAEC es una diarrea secretora acuosa con moco y sangre, y febrícula. Un gran porcentaje de pacientes presentan lactoferrina fecal detectable (un indicador sensitivo de leucocitos fecales) y niveles elevados de IL-8 en las heces. Datos de un estudio realizado por Eslava muestran que Pet tiene efecto estimulante sobre

macrófagos e induce en estos, la expresión de interleucinas proinflamatorias. Esto sugiere que la infección por EAEC puede estar acompañada de una forma sutil de inflamación de la mucosa.

Epidemiología.

Este grupo de *E. coli* se ha implicado como agente responsable de brotes de diarrea en diferentes partes del mundo, como causante de diarrea acuosa en turistas que viajan a países en desarrollo y de niños y adultos infectados con HIV. EAEC se describe como un patógeno entérico emergente responsable de cuadros de diarrea aguda y persistente.

3.8.14 DIAGNÓSTICO DE *Escherichia coli* ⁽¹⁵⁾

E. coli se aísla de heces en medios como MacConkey o eosina azul de metileno (EMB), estos permiten la diferenciación de las bacterias intestinales por sus características morfológicas y de afinidad a la lactosa. Para la identificación de la bacteria a nivel de especie, se utilizan métodos automatizados. Para la tipificación serológica de *E. coli* se identifican los antígenos: somático, flagelar y capsular.

3.8.15 PREVENCIÓN Y CONTROL DE *Escherichia coli* ⁽¹⁵⁾

El control general de infecciones por cualquier cepa de *E. coli* exige mejores condiciones sanitarias, ambientales, en la preparación adecuada de alimentos en la mejoría de la higiene personal. Las medidas son análogas cuando se trata del control de brotes intrahospitalarios. Adicionalmente se están desarrollando trabajos en ese sentido para disponer de productos inmunizantes a base de enterotoxinas y de factores adhesivos que poseen cepas de los diferentes grupos de *E. coli* asociadas con procesos diarreicos, los cuales podrán contribuir a

disminuir la morbilidad causada por estas bacterias, en particular en la población infantil y en los individuos que viajan de una zona de bajo riesgo de diarrea a una de alta prevalencia.

3.9 TAXONOMIA *Salmonella spp*, MICROORGANISMO PATÓGENO ⁽¹²⁾

Salmonella spp. Es un género de bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa.

Todas las bacterias pertenecientes al género *Salmonella* son patógenas para el hombre los animales en mayor o menor grado.

El género *Salmonella* se consideraba integrado por una sola especie denominada *Salmonella* entérica que se subdividía en siete subespecies a partir de los resultados obtenidos mediante estudios para establecer sus perfiles bioquímicos y confirmados por técnicas de hibridación del ADN/ADN y métodos serológicos.

Cuadro N°. 1 Clasificación taxonómica de *Salmonella* ⁽¹²⁾

SUB-GRUPO	SEROGRUPOS
Sub-grupo 1	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> , <i>Salmonella gallinarum</i> , <i>Salmonella pullorum</i> .
Sub-grupo 2	<i>Salmonella salamae</i>
Sub-grupo 3	<i>Salmonella arizonae</i>
Sub-grupo 3b	<i>Salmonella diarizonae</i>
Sub-grupo 4	<i>Salmonella houtenae</i>
Sub-grupo 5	<i>Salmonella bongori</i>
Sub-grupo 6	<i>Salmonella choleraesuis</i> subespecie Indica

Con importancia clínico epidemiológica, las más de 2000 serovariedades de *Salmonella* pueden agruparse en tres divisiones ecológicas (spp. Son sub-especies):

- *Salmonella spp.*: adaptadas a vivir en el ser humano, entre ellas, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A, B y C*.
- *Salmonella spp.*: adaptadas a hospederos no humanos, que circunstancialmente pueden producir infección en el hombre, entre ellas, *Salmonella dublin* y *Salmonella choleraesuis*.
- *Salmonella spp.*: Sin adaptación específica de hospedero, que incluye a unas 1800 serovariedades de amplia distribución en la naturaleza, las cuales causan la mayoría de las salmonelosis en el mundo.

3.9.1 CARACTERÍSTICAS ⁽¹⁹⁾

La *Salmonella* puede vivir en presencia de oxígeno o en ausencia como la mayoría de la enterobacterias, circunstancia que permite a estos microorganismos adaptarse a todo tipo de ambientes.

Este tipo de bacteria cuando el medio de cultivo es apropiado crece dentro de intervalos de temperaturas, de pH, de a_w más amplios que cuando se trata de un medio de cultivo con escasez de nutrientes.

La mayoría crece rápido en los medios de cultivo y solo unas pocas especies lo hacen de modo más lento y escaso. Después de 24 horas de incubación producen colonias de un tamaño de entre 0.2 y 0.3 mm de diámetro, aunque si los medios contienen derivados asimilables de azufre pueden ser más grandes hasta 2 -3 mm. En condiciones desfavorables o poco favorables, algunas cepas pueden dar un tipo de crecimiento mucóide después de 24 horas de incubación, con un tamaño de hasta dos veces el normal, adoptando la apariencia de grandes gotas de mucílago. En medios líquidos (caldos de cultivo) las cepas lisas dan lugar a un tipo de turbidez uniforme.

Cuadro N°. 2 Factores que afectan el crecimiento de *Salmonella*

PARÁMETROS	VALORES
Temperatura mínima	0 ± 2.0°C
Temperatura máxima	46 °C
pH mínimo	3.7
pH máximo	9.5
Aw mínima	0.945

3.9.2 Características de las colonias de *Salmonella* en los diferentes medios de cultivo.

- Agar MacConkey: Colonias pequeños, brillantes convexas, incoloras o palidas po no fermentar lactosa.
- Agar Xilosa, Lisina, Dexosicolato (XLD): colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
- Agar Verde Brillante (VD) : colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas.
- Agar entérico Hektoen: colonias verdes o azulverdes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
- Agar Sulfito de Bismuto : las colonias típicas de *Salmonella* pueden ser cafés, grises o negras; con o sin brillo metálico. Generalmente el medio

circundante (halo) es café, tornándose posteriormente negro. Algunas cepas producen colonias verdes sin la formación del halo oscuro. Si las placas no muestran colonias típicas o no se observa crecimiento, incubar 24 h adicionales.

- Agar Shigella Salmonella (SS): colonias translúcidas, ocasionalmente opacas. Algunas colonias dan centro negro. Las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas.

3.9.3 PRUEBAS BIOQUÍMICAS ⁽⁸⁾

- Indol: Es uno de los productos de degradación metabólica del aminoácido triptófano. La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos porque debido a que las bacterias poseen la triptofanasa que es capaz de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y aminoácido. Esta prueba está basada en la formación de un complejo rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es principio activo de los reactivos de Kovacs y Ehrlich, en donde el medio de cultivo utilizado debe ser rico en triptófano por la reacción antes mencionada. El aparecimiento de un color rojo indica la que la prueba es positiva porque se libera indol. Si aparece un color amarillo indica que la prueba es negativa y que no se liberó indol porque la bacteria no tiene triptofanasa
- Rojo de Metilo: Es un indicador de pH con un intervalo entre 6.0 (amarillo) y 4.4 (rojo) que se utiliza para visualizar la producción de ácidos por vía de fermentación ácido mixta. Una característica taxonómica que se utiliza para identificar los diferentes géneros de enterobacterias lo constituyen el tipo y

la proporción de productos de fermentación que se originan por la fermentación de la glucosa. Se conocen 2 tipos generales:

- La fermentación ácido mixta: Se forman fundamentalmente ácido láctico, acético y succínico, además de etanol, Hidrógeno y Dióxido de carbono.
 - La fermentación del 2,3 butanodiol: Se forman cantidades menores de ácido (acetato y succinato) y los principales productos son el butanodiol, etanol, Hidrógeno y Dióxido de carbono.
-
- Vogues Proskahuer: En esta prueba se determina la vía de fermentación del butanodiol descrita en la prueba de rojo de metilo. El acetilmetilcarbinol (acetoína) es un producto intermediario en la producción de butanodiol. En medio alcalino y en presencia de alfa-naftol dando un color rojo-fucsia. La prueba es negativa si el color se torna amarillo, café, oscuro.
 - Agar Citrato: Esta prueba es útil en la identificación de enterobacterias, ya que se utiliza al citrato como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. El aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a un pH de 7.6. La prueba es positiva cuando aparece el color azul. La prueba es negativa si el color permanece verde (original)
 - Prueba de Movilidad: Esta prueba permite identificar bacterias de acuerdo a su movilidad a la reacción de indol a la descarboxilación de la ornitina. La prueba es positiva si hay crecimientos en todo el medio se dice que es móvil. La prueba es negativa si la cepa crece solo en la picadura se dice que es inmóvil.

- Prueba de TSI (Triple Sugar Iron o Triple Azúcar Hierro): El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio.

También permite la identificación de la producción de Sulfuro de Hidrógeno. Esta es una prueba específica para la identificación a nivel de género en la familia *Enterobacteriaceae*, con objetivo de diferenciar entre:

- Bacterias fermentadoras de glucosa
- Bacterias fermentadoras de lactosa
- Bacterias fermentadoras de sacarosa
- Bacterias aerogénicas
- Bacterias productoras de Sulfuro de Hidrógeno a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.

3.9.4 HABITAT ⁽²⁰⁾

La *Salmonella* se encuentra en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, y más raramente en peces, moluscos y crustáceos. Las fuentes de contaminación por *Salmonella* son los animales domésticos, el hombre (tracto intestinal), los pájaros y algunos reptiles. *S. Typhi* y *S. Paratyphi* A, B y C generalmente causan bacteriemia y producen, respectivamente, fiebre tifoidea y fiebre entérica en seres humanos. La dosis infectante es menor que 15-20 células, pero depende de la edad y estado de salud del hospedante y de las diferentes cepas entre las especies.

El problema puede verse agravado por el amplio uso de alimento de animales que contienen antimicrobianos, lo cual favorece la proliferación de especies de *Salmonella* resistentes a los fármacos y su posible transmisión al ser humano.

3.9.5 EPIDEMIOLOGIA ⁽¹⁹⁾

La salmonelosis, que generalmente se caracteriza por la aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y, a veces, vómitos, es una enfermedad provocada por *Salmonella*.

Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 horas (generalmente 12 a 36 horas) después de la ingesta de *Salmonella*, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días.

La composición química del alimento es otro factor determinante en la salmonelosis además de la heterogeneidad inmunológica en la población humana y la virulencia de las cepas infectivas. Un denominador común de los alimentos involucrados, es la presencia de un alto contenido de grasa en alimentos como el chocolate, el queso y la carne. Se ha sugerido que las células de *Salmonella* englobadas en las micelas lipídicas pueden resistir el efecto lítico de los ácidos gástricos.

Las infecciones por *Salmonella* en humanos pueden originar varias condiciones clínicas, incluyendo fiebre entérica (tifoidea), enterocolitis e infecciones sistémicas por microorganismos no tifoideas. La fiebre entérica es una infección grave asociada con las cepas tifoidea y paratifoidea, las cuales están particularmente bien adaptadas para invadir y sobrevivir en los tejidos del huésped. El diagnóstico de la enfermedad radica en la detección del agente infeccioso en etapas tempranas en la sangre o en heces al inicio de la sintomatología clínica.

3.9.6 TRATAMIENTO ⁽²⁰⁾

En los casos graves el tratamiento es la reposición de los electrolitos perdidos a raíz de los vómitos y la diarrea (suministro de electrolitos como iones de sodio, potasio y cloruro) y la rehidratación.

La terapia antimicrobiana sistemática no está recomendada para casos leves o moderados en personas sanas. Esto se debe a que los antimicrobianos podrían no eliminar completamente la bacteria y seleccionar cepas resistentes, con lo cual el fármaco se volvería ineficaz.

Sin embargo, los grupos de riesgo, como los lactantes, los ancianos y los pacientes inmunodeprimidos, podrían necesitar tratamiento antimicrobiano. Los antimicrobianos se administran también si la infección se propaga desde el intestino a otras partes del organismo. Ante el aumento de la resistencia a los antimicrobianos a nivel mundial, las directrices de tratamiento deberían revisarse periódicamente, teniendo en cuenta los patrones de resistencia de la bacteria en función del sistema local de vigilancia.

3.9.7 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO ⁽¹²⁾

Se utilizarán los respectivos medios de cultivos para su posterior identificación con los siguientes pasos:

- Pre enriquecimiento: es el paso en donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas, logrando de esta manera una condición fisiológica estable.
- Enriquecimiento selectivo: se logra a partir de un medio de cultivo que conjunte dos condiciones, por un lado, debe incrementar las poblaciones de *Salmonella* y por otro inhibir otros microorganismos presentes en la muestra.
- Selección en medios sólidos: este punto se deriva directamente del anterior y se utilizan medios selectivos, que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y que permitan el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas.
- Identificación bioquímica: este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

3.10 HONGOS ⁽³⁾

El termino moho se suele aplicar para designar a ciertos hongos filamentosos multicelulares cuyo crecimiento en la superficie de los alimentos con su típico aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces pigmentado y que generalmente todo alimento enmohecido se considera no apto para el consumo. La parte principal de su crecimiento suele tener un aspecto blanco, aunque puede tener colores distintos, color oscuro o color de humo.

3.10.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS ⁽³⁾

La morfología de los hongos es su forma y estructura conceptuadas mediante sus observaciones macroscópicas y microscópicas, se utiliza para identificarlos y clasificarlos.

- Hifas y micelio: El talo de los mohos está formado por una masa de filamentos ramificados y entrelazados llamados hifas, denominándose micelio al conjunto de estas hifas.

3.10.2 CLASIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS ⁽³⁾

Los principales criterios utilizados para identificar y clasificar los mohos son los siguientes:

- Hifas septadas o no septadas
- Micelio transparente u oscuro
- Micelio coloreado o incoloro
- Tipo de esporas sexuales: esporangiosporas, conidios o artrosporas´.
- Aspecto de los esporangioforos o conidióforos: simples o ramificados y si son ramificados, tipo de ramificación; tamaño.
- Aspecto microscópico de las esporas asexuales sobre todo de los conidios: forma, tamaño, color; lisos o rugosos; monocelulares, bicelulares o pluricelulares.

3.10.3 PROPIEDADES FISIOLÓGICAS ⁽³⁾

- Necesidad de humedad: En general, en comparación con la mayoría de las levaduras y de las bacterias, la mayoría de los hongos necesitan menos cantidad de humedad disponible.
- Necesidad de temperatura: La mayoría de los mohos podrían considerarse mesofilos, es decir que son capaces de crecer bien a temperaturas normales. Para la mayoría de los hongos, la temperatura óptima de crecimiento es de 25 a 30 °C, aunque pueden crecer también en temperaturas de 35 a 37°C. Algunos mohos son psicrótrofos, que crecen a temperaturas de refrigeración y son capaces de crecer lentamente a temperaturas inferiores a la de congelación como a -5 y -10°C.
- Necesidad de oxígeno y de pH: Los hongos son aerobios, es decir que necesitan oxígeno para crecer. Casi todos los mohos son capaces de crecer dentro de un amplio intervalo de valores de concentración de iones hidrógeno (pH comprendido entre 2 y 8.5), aunque la mayoría crecen mejor a pH ácido.

3.11 HONGOS EN LAS SEMILLAS ⁽¹⁷⁾

Los microorganismos se desarrollan en la superficie de las semillas cuando los niveles de humedad son adecuados, de este modo penetran directamente a través de la cubierta seminal, de poros o de heridas producidas por daño mecánico.

Al respecto en semillas de maní, la relación entre el nivel de infección natural y la calidad en términos de viabilidad y vigor no ha sido establecida claramente. La semilla de maní es entre las oleaginosas, una de las más susceptibles al ataque

por hongos Estudios previos han establecido la frecuencia de aparición de determinados géneros, transportados por semillas de maní tipo Virginia (Runner) y Spanish (Colorado). Los géneros predominantes fueron *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* *Rhizoctonia spp.*, *Cercospora arachidicola*, *Phoma spp.*, *Pythium spp.* Entre los géneros mencionados se destaca *Aspergillus* como potencial productor de aflatoxinas, sustancias tóxicas carcinogénicas.

Los hongos invaden a la semilla de maní, a través de las conexiones vasculares en planta madre, como ocurre con algunas especies de *Fusarium sp.* y *Neergard*. En otros casos, el inóculo de *Aspergillus spp.* y *Phytium spp.*, llega a la superficie de la semilla proveniente de partes de la planta, senescentes o muertas. Así también durante la etapa de desarrollo del cultivo, los patógenos pueden infectar las vainas que están en contacto directo con el suelo.

La humedad de las semillas tiene una gran influencia sobre el tiempo en que una semilla permanece viable en niveles altos de humedad, la semilla puede germinar o es posible que se desarrollen mohos y esta pierda su viabilidad en unos cuantos días. A temperatura ordinaria si la humedad relativa del aire que rodea las semillas es de más de 75%, es muy probable que se desarrollen mohos en ellas, al grado que no deben almacenarse en esas condiciones, a un por un tiempo corto. El contenido de la humedad de las semillas en equilibrio con esta humedad relativa critica, varia con las diferentes clases. Para varios granos de cereales, a una humedad atmosférica relativa de 75% corresponden contenidos de humedad en el rango 13.5 a 15%. A esta misma humedad atmosférica, las semillas ricas en aceites tienen un menor contenido de humedad. ⁽⁶⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

3.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

Campo: Se realizó una visita a los supermercados que pertenecen a la zona Metropolitana de San Salvador del distrito dos, para inspeccionar las diferentes semillas procesadas a granel y empacadas que se comercializan en cada uno de los supermercados. De igual modo se tomaron en cuenta el campus de la Universidad de El Salvador y el mercado de San miguelito para observar las semillas comercializadas en las ventas dentro de las instalaciones.

Experimental: A las muestras recolectadas de semillas procesadas a granel, empacadas, ventas en el interior de la Universidad y mercado se realizó un análisis microbiológico que permitió investigar la presencia o ausencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, Hongos. Los estudios microbiológicos se desarrollaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo de Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

Transversal: Esta investigación se realizó en un tiempo determinado y lo que interesa es estudiar el problema en el presente, en el momento que se realiza el estudio.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRAFICA

Se consultó en las siguientes Bibliotecas:

- “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador (UES).
- Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de El Salvador (UES).
- Central de la Universidad de El Salvador (UES).
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Universo:

Todos los supermercados del distrito dos, ventas en el interior de la universidad y mercado del distrito uno del área Metropolitana de San Salvador. (Ver anexo N° 6)

Muestra:

Las muestras fueron las semillas procesadas a granel y empacadas de las marcas existentes en los supermercados, ventas en el interior de la Universidad de El Salvador y Mercado. Por medio de un muestreo dirigido y puntual a cuatro marcas BAZZINI, GRANUTS, PRO, CASHITAS. (Ver anexo N°4)

Para obtener el número total de muestras a ser analizadas se aplicó un muestreo estadístico, aleatorio sistemático en la que se aplica la siguiente ecuación: ⁽²²⁾

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2pq}$$

Donde:

N= Tamaño conocido de la población.

pq= Desviación típica

Z= Grado de confianza al 95%

d= Error muestral máximo permisible en la investigación.

4.4 DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE SUPERMERCADOS. ⁽²²⁾

Para determinar el número de Supermercados para las muestras procesadas a granel se tomaron en cuenta los supermercados del cuadro N°3.

Cuadro N° 3 : Supermercados del distrito dos, Ventas en el interior del Campus de la Universidad de El Salvador y Mercado San Miguelito.

SUPERMERCADOS DISTRITO DOS		UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR	MERCADO SAN MIGUELITO
SEMILLAS A GRANEL	SEMILLAS EMPACADAS		
Súper Selectos Miralvalle uno	Súper Selectos Miralvalle uno	Facultad de Ciencias y Humanidades	Puesto Bendición de Dios
Súper selectos Miralvalle dos	Súper selectos Miralvalle dos		
Súper Selectos San Luis	Súper Selectos San Luis		
Súper Selectos Metrocentro 6 etapa	Súper Selectos Metrocentro 6 etapa		
Metrocentro 8 etapa	Metrocentro 8 etapa	Facultad de Química y Farmacia	
Súper Selectos Gigante	Súper Selectos Gigante		
	Dollar city UES		
	Dollar city Miralvalle		
	Dollar city Metrocentro 6 etapa		

Sustituyendo en la ecuación:

$$n = \frac{6(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(6 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 2.6 \approx 3$$

Al sustituir los valores en la ecuación se observó un valor de 3 que nos indica que son tres de los seis los supermercados a los cuales se le realizaran los muestreos.

Para las muestras Procesadas empacadas se tomaron en cuenta los Supermercados del cuadro N° 3.

Sustituyendo en la ecuación:

$$n = \frac{9(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(9 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 2.9 \approx 3$$

Al sustituir los valores en la ecuación se observó un valor de 3 que nos indica que son tres de los nueve los supermercados a los cuales se le realizaran los muestreos.

4.5 DETERMINACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Para la selección de las muestras de semillas procesadas a granel y empacadas se realizó de forma dirigida ya que se identificaron las semillas y marcas en común de los 3 Supermercados. Para las semillas procesadas a granel se tomaron 8 muestras de cada supermercado, 6 del Campus Universitario, y 4 del mercado San Miguelito codificándolas por semillas y sucursal. Para las semillas procesadas empacadas se tomaron 3 marcas por supermercado. Haciendo un total de 66 muestras por mes. En la cual se tomaron 3 onzas de cada una de las semillas de los diferentes establecimientos.

El primer muestreo se realizó a inicios del mes junio. Para el segundo muestreo se tomó en cuenta variar la fecha y se muestreo en la tercera semana de julio.

A continuación, se presentan las 66 muestras de semillas seleccionadas para el análisis microbiológico con su respectivo código y marca.

Cuadro N° 4: Semillas a granel de supermercados del Distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

NOMBRE DEL SUPERMERCADO	SUCURSAL	CÓDIGO	SEMILLAS
Súper Selectos	Miralvalle Dos	SMVPEPITA	PEPITA
		SMVMACADAMIA	MACADAMIA
		SMVMD	MANÍ DULCE
		SMVALMENDRA	ALMENDRA
		SMVMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		SMVPECANA	PECANA
		SMVMARAÑON	MARAÑÓN
		SMVMS	MANÍ SALADO
	San Luis	SSLPEPITA	PEPITA
		SSLMACADAMIA	MACADAMIA
		SSLMD	MANÍ DULCE
		SSLALMENDRA	ALMENDRA
		SSLMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		SSLPECANA	PECANA
		SSLMARAÑON	MARAÑÓN
		SSLMS	MANÍ SALADO
	Metrocentro 6 ^{ta} etapa	SMCPEPITA	PEPITA
		SMCMACADAMIA	MACADAMIA
		SMCMD	MANÍ DULCE
		SMCALMENDRA	ALMENDRA
		SMCMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		SMCPECANA	PECANA
		SMCMARAÑON	MARAÑÓN
		SMCMS	MANÍ SALADO

Cuadro N° 5 Semillas granel de ventas en el interior de la Universidad de El Salvador y del Mercado San Miguelito del área metropolitana de San Salvador.

VENTAS AMBULANTES	PUNTOS DE VENTA	CÓDIGO	SEMILLAS
Universidad de El Salvador	Facultad de Química y Farmacia	FQFMD	MANÍ DULCE
		FQFMS	MANÍ SALADO
	Facultad de Ciencias y Humanidades	UBCMD	MANÍ DULCE
		UBCMS	MANÍ SALADO
		UBCMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		UBCMARAÑON	MARAÑÓN
	Mercado San Miguelito	Puesto Bendición Dios	MSMMARAÑON
MSMMD			MANÍ DULCE
MSMMS			MANÍ SALADO
MSMALMENDRA			ALMENDRA

Cuadro N° 6: Semillas empaçadas de los Supermercados del Distrito
dos del área metropolitana de San Salvador.

NOMBRE DEL SUPERMERCADO	SUCURSAL	MARCA	CÓDIGO	SEMILLAS
Súper Selectos	Miralvalle Dos	GRANUTS	SMVGMARAÑON	MARAÑÓN
			SMVGMAD	MANÍ DULCE
			SMVGMMS	MANÍ SALADO
			SMVGMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
			SMVGALMENDRA	ALMENDRA
		CASHITAS	SMVCPEPITA	PEPITA
			SMVCMARAÑON	MARAÑÓN
			SMVCMS	MANÍ SALADO
			SMVMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		PRO	SMVPMARAÑON	MARAÑÓN
			SMVPMMD	MANÍ DULCE
			SMVPMMSL	MANÍ SAL Y LIMÓN
			SMVPMMS	MANÍ CHILE
			SMVPALMENDRA	ALMENDRA
	SMVPMMS		MANÍ SALADO	
	Metrocentro 6 ^{ta} etapa	GRANUTS	SMCGMARAÑON	MARAÑÓN
			SMCGMD	MANÍ DULCE
			SMCGMCL	MANÍ CHILE LIMÓN
		CASHITAS	SMCCPEPITA	PEPITA
			SMCCMARAÑON	MARAÑÓN
			SMCCMS	MANÍ SALADO
SMCCMCL			MANÍ CHILE LIMÓN	
PRO		SMCPMARAÑON	MARAÑÓN	
		SMCPMD	MANÍ DULCE	
		SMCPMS	MANÍ SALADO	
		SMCPMS	MANÍ SALADO	
		SMCPMS	MANÍ SALADO	
Dollar city	UES	CASHITAS	DUCPEPITA	PEPITA
			DUCMARAÑON	MARAÑÓN
		PRO	DUPMD	MANÍ DULCE
			DUPMS	MANÍ SALADO
			DUPMS	MANÍ SALADO
			DUPMS	MANÍ SALADO
			DUPMSL	MANÍ SAL Y LIMÓN

4.6 IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA

Todas las muestras de semillas se identificaron con los siguientes datos: nombre de muestra, número de muestra, código de muestra, Fecha de Recolección, hora de recolección. (Ver anexo N°7)

Cuadro N° 7 Cuadro descriptivo de las características organolépticas de las semillas analizadas.

SEMILLA	CARACTERÍSTICAS				
	OLOR	COLOR	SABOR	TEXTURA	ASPECTO
Pepita	Característico	Verde	Salada	Lisa	Ovalada
Macadamia	Característico	Blanca marfil	Suave	Cremosa	Esférica
Maní dulce	Característico	Café Oscuro	Dulce	Rugosa	Ovalada
Almendra	Característico	Café claro	Simple	Grietas	Ovalada
Maní chile limón	Característico	Pardo rojizo	Acido	Lisa	Ovalada
Pecana	Característico	Café	Simple	Grumosa	Ovalada
Marañón	Característico	Beige o marrón	Salado	Lisa	Forma de Riñón
Maní salado	Característico	Pardo o crema	Salada	Lisa	Ovalada

4.7 TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Las muestras se tomaron tal cual las personas consumidoras de semillas lo hacen, para posteriormente colocarlas en bolsas herméticas e identificarlas con viñetas. (Ver anexo N°3)

4.8 PARTE EXPERIMENTAL

4.8.1 PROCEDIMIENTO GENERAL PARA DETERMINAR *Escherichia coli*. ⁽¹⁾ (Ver anexo N°9 y N°10)

Procedimiento:

- Pesar asépticamente 25.0 g de muestra.
- Verter 225.0 mL de agua Peptonada.
- Homogenizar la muestra con el diluyente durante 3 minutos en el Stomacher a 260 rpm.
- Transferir asépticamente la mezcla homogenizada a un recipiente estéril de boca ancha (Dilución 10^{-1}), luego pipetear 10 mL y transferirlos a un frasco con 90 mL de agua Peptonada (Dilución 10^{-2}), agitar, de esta dilución pipetear otros 10 mL y transferirlos a un frasco con 90 mL de agua Peptonada (Dilución 10^{-3}), agitar.
- Llevar una serie de 9 tubos, 3 por cada dilución y añadir 1 mL de muestra a cada tubo con 9 mL de Caldo Rapid Hi Coliform.
- Incubar los tubos por 24 a 48 horas a 35°C. Los tubos positivos (con coloración azul), indican presencia de coliformes totales.
- Los tubos que presenten prueba positiva para coliformes totales, observarlos con luz UV, la presencia de fluorescencia es prueba positiva para *Escherichia coli*, y la formación de un anillo color violeta con el reactivo indol, indica prueba positiva para *Escherichia coli*.
- Comparar con la tabla del NMP para una serie de 9 tubos (Ver anexo N° 11).

4.8.2 PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA DETERMINACION DE *Salmonella spp.* ⁽¹⁾ (Ver anexo N°12)

Procedimiento.

- Pesar asépticamente 25.0 g de muestra.

- Verter 225.0 mL de caldo lactosado estéril (medio de Pre-enriquecimiento).
- Homogeneizar la muestra con el diluyente durante 1 minuto en el Stomacher a 260 rpm.
- Transferir asépticamente la mezcla homogenizada a un recipiente estéril
Incubar la muestra homogénea a 35 ± 2 °C durante 24 h.

4.8.3 IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella spp.*⁽¹⁾ (Ver anexo N°13)

- Agitar suavemente, transferir respectivamente 1 mL de la mezcla a un tubo que contenga 10 mL de caldo tetrionato y a otro con 10 mL de caldo selenito cistina. (Como alternativa, en sustitución del caldo tetrionato puede emplearse el medio Rappaport).
- Incubar de 18 a 24 h a 35°C, para alimentos fuertemente contaminados a 42°C por el mismo periodo.
- Estriar los productos que fueron directamente enriquecidos en medios selectivos.
- Mezclar el tubo con caldo rappaport y estriar en los medios selectivos de agar Sulfito de Bismuto y Agar Shigella Salmonella).
- Realizar el mismo procedimiento para el caldo tetrionato.
- Incubar las placas 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Sembrar las colonias positivas en medio de enriquecimiento Agar TSA (AGAR TRIPTICASA SOYA) e incubar a 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.8.4 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp.*⁽¹⁾ (Ver anexo N°14 y N° 15)

4.8.4.1 Prueba de Agar triple hierro azúcar (TSI)

- Inocular los tubos de TSI con asa de punta, introduciendo la punta hasta 5 mm del fondo del tubo, retirar el asa de punta del fondo.

- Estriando sobre la superficie.
- Incubar a 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$.

4.8.4.2 Reacción de Indol

- Sobre 1 mL de medio de caldo triptófano inocular las colonias del microorganismo patógeno de prueba.
- Incubara $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.
- Luego de la inoculación añadir 5 gotas de reactivo de Erlich por la pared interior del tubo.
- El desarrollo de un anillo color rojo en la interfase del reactivo y el caldo, segundos después de añadir el reactivo indica la presencia de indol y una prueba positiva, si el anillo formado es amarillo o del mismo color que el reactivo la prueba es negativa.

4.8.4.3 Prueba de Voges Proskauer (VP)

- Inocular el caldo rojo de metilo-Voges proskaguer (RMVP) con las colonias del microorganismo patógeno de prueba.
- Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.
- Al finalizar el tiempo de incubación adicionar al tubo de ensayo tres gotas de Alfa-naftol, más dos gotas de Hidróxido de Potasio.
- Agitar cuidadosamente el tubo y dejar reposar de 10 a 15 minutos. El desarrollo de un color rojo luego de 15 minutos indica prueba positiva la presencia de diacetilo.

4.8.4.4 Prueba de Rojo de Metilo

- Inocular el caldo rojo de metilo-Voges proskaguer (MRVP) con las colonias del microorganismo patógenos en estudio
- Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.

- Al finalizar el tiempo de incubación agregar una o dos gotas del reactivo de Rojo de metilo.
- La prueba es positiva si se desarrolla de un color rojo en el tubo. Esto indica que la producción de ácido es suficiente para producir el viraje del indicador y el microorganismo fermentó la glucosa.

4.8.4.5 Prueba de Movilidad

- Inocular las colonias del microorganismo patógeno de prueba por punzada en el Agar Movilidad-Indol-Ornitina (MIO).
- Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.
- Al finalizar el tiempo de incubación observar la movilidad de la bacteria en el medio de cultivo, sin desprejar más allá de la punzada de siembra.

4.8.4.6 Citrato

- Inocular por estría el microorganismo patógeno de prueba sobre el agar inclinado de citrato.
- Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.
- La prueba es positiva cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría acompañado o no de un viraje del indicador color azul.

Los resultados obtenidos se compararon con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08. Para grupo 15 “Bocadillos o boquitas” (Ver anexo N°8)

4.9 PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA DETERMINACION DE HONGOS. ⁽¹⁴⁾ (Ver anexo N°17)

- Se tomó de la Dilución 10^{-1} para la determinación de *Escherichia coli*; Colocando por duplicado en placas de Petri 1 mL de la dilución primaria, utilizando una pipeta estéril.

- Verter de 15 a 20 mL de agar papa dextrosa acidificado, fundido y mantenido a $45 \pm 1^\circ\text{C}$ en un baño de agua.
- Mezclar cuidadosamente en el sentido de las manecillas del reloj, sobre una superficie lisa. Permitir que la mezcla se solidifique dejando las placas de Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.
- Preparar una placa control con 15 mL de medio, para verificar la esterilidad.
- Las placas se dejaron a temperatura ambiente.
- Contar las colonias de cada placa después de 5 a 7 días de incubación.

Los resultados obtenidos se compararon con la norma mexicana **NOM-247-SSA1-2008**, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. (Ver anexo N°16)

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1 Evaluar por medio de una lista de chequeo las condiciones de almacenamiento y limpieza de los dispensadores de semillas a granel y empacadas.

Se visitaron los diferentes supermercados para ver las condiciones en la que estaban almacenadas y dispensadas las semillas a granel, de igual modo se tomó en consideración la manera en la que los consumidores dispensaban las semillas, si había una persona destinada al área de semillas proporcionada por la marca o por el supermercado.

Una vez realizada la visita se procedió a verificar los parámetros de la lista de chequeo (Ver anexo N°1) para determinar si cumple con las condiciones de limpieza y almacenamiento para garantizar la calidad microbiológica de las semillas procesadas a granel. En todas las visitas realizadas a cada supermercado fueron de la misma forma en que los consumidores lo hacen.

Obteniendo los siguientes resultados, el supermercado Miralvalle 2 no cumple con un 72.7%, para Metrocentro 6^{ta} etapa no cumple con un 63.6% y San Luis no cumple con un 63.6%. Y debido a que las condiciones de almacenamiento y limpieza no son las adecuadas ya que muchas veces las cucharas estaban sucias llenas de caramelo, o se encontraban dentro de los depósitos de las semillas, además se observó que hay 3 a 4 cucharas para tomar las semillas; lo que hace que las personas utilicen la misma cuchara para todas las semillas que desean comprar y otras lo hacen por simple comodidad. Otro punto muy importante es que para guardar las semillas sobrantes solo se amarra en una bolsa y se guarda en un compartimiento debajo de los dispensadores, el cual se observó, que es un lugar oscuro y húmedo apto para la proliferación de microorganismo patógenos. También es de relevancia el hecho que los depósitos (Ver anexo N°2) no tienen la limpieza necesaria, es decir, no se lavan con agua y jabón, sino que sólo son refileados y o en otros casos cambian la semilla de depósito y sólo

sacuden y retiran el nombre de la semilla anterior; provocando una contaminación cruzada, como se puede observar en las siguientes listas de chequeo.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empacadas dispensadas en los supermercados, del área metropolitana de San Salvador.

Nombre de Supermercado: Super Selectos - Miralvalle

Marca de Semilla: Bazzini PRO Fecha: 24/05/16 Hora: 9:30am
CASHITAS, GRAJOTS

Tipo de Semillas	Parámetro	Si	No	Observación
A granel	1. Facilidad al Público.	✓		
	2. Cierre Adecuado del Frasco.		✓	
	3. Manipulación por una o más personas.	✓		
	4. Las Personas cierran el frasco plástico después de servirse.	✓	✓	algunas veces dejan cuchara adentro de los posillos y queda mal tapado.
	5. Hay una persona encargada de servir las semillas.	✓		La persona encargada no está en la noche, ni fines de semana.
	6. La cuchara con la que se sirve se encuentra al descubierto o en una bolsa plástica.	✓	✓	algunas están en una cazo plástico y otras en los posillos de las semillas.
	7. Se utiliza la misma cuchara para servir las diferentes semillas.	✓		No hay una cuchara para cada semilla.
	8. La cuchara dispensadora se encuentra limpia.		✓	algunas cucharas estaban llenas de dulce y caramelo.
	9. El almacenamiento de las semillas sobrantes es el adecuado.		✓	las bolsas solo son amarradas y guardados en un compartimiento de madera.
	10. Hay una limpieza periódica de los posillos donde están dispensadas las semillas, o solo se refila el posillo.		✓	La mayoría de las veces solo son refilados.
	11. El área donde están dispensadas las semillas se encuentra limpia.	✓	✓	En los posillos habían restos de semillas en los posillos.
Empacadas	1. Facilidad al público		✓	Se encuentran en un estante muy escondido
	2. El estante donde se encuentran está limpio	✓		
	3. Las semillas están colocadas por marca o se encuentran desordenadas	✓		Las semillas están desordenadas y era difícil encontrarlas y estaban todos amontonados

Figura N° 1 Lista de chequeo del supermercado Miralvalle dos para las semillas procesadas a granel y empacadas.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empaçadas dispensadas en los supermercados, del área metropolitana de San Salvador.

Nombre de Supermercado: Súper Selectos - San Luis

Marca de Semilla: Bozzini PRO Fecha: 24/05/18 Hora: 10:30am
GRANOS CASITAS

Tipo de Semillas	Parámetro	Si	No	Observación
A granel	1. Facilidad al Público.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	2. Cierre Adecuado del Frasco.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	3. Manipulación por una o más personas.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	4. Las Personas cierran el frasco plástico después de servirse.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	a veces queda mal cerrado por la cuchara que está adentro.
	5. Hay una persona encargada de servir las semillas.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Solo se encuentra en las mañanas y a veces solo se pesan la foto los que sirven.
	6. La cuchara con la que se sirve se encuentra al descubierto o en una bolsa plástica.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Está dentro de los posillos de las semillas.
	7. Se utiliza la misma cuchara para servir las diferentes semillas.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Solo hay 3 cucharas para servir las semillas.
	8. La cuchara dispensadora se encuentra limpia.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	9. El almacenamiento de las semillas sobrantes es el adecuado.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
	10. Hay una limpieza periódica de los posillos donde están dispensadas las semillas, o solo se refila el posillo.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Los posillos solo son refilados.
	11. El área donde están dispensadas las semillas se encuentra limpia.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Empacadas	1. Facilidad al público	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	2. El estante donde se encuentran está limpio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	3. Las semillas están colocadas por marca o se encuentran desordenadas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Figura N^o 2 Lista de chequeo del supermercado San Luis para semillas procesadas a granel y empaçadas.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empacadas dispensadas en los supermercados, del área metropolitana de San Salvador.

Nombre de Supermercado: Súper Selectos - Metrocentro 6^{ta} etapa

Marca de Semilla: Bazzini, PRO Fecha: 20/03/18 Hora: 4:00pm
CASHITAS, GRAUOTS

Tipo de Semillas	Parámetro	Si	No	Observación
A granel	1. Facilidad al Público.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	2. Cierre Adecuado del Frasco.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
	3. Manipulación por una o más personas.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	4. Las Personas cierran el frasco plástico después de servirse.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	5. Hay una persona encargada de servir las semillas.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
	6. La cuchara con la que se sirve se encuentra al descubierto o en una bolsa plástica.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Todos los cucharos se encuentran en una bolsa plástica.
	7. Se utiliza la misma cuchara para servir las diferentes semillas.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	8. La cuchara dispensadora se encuentra limpia.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	9. El almacenamiento de las semillas sobrantes es el adecuado.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
	10. Hay una limpieza periódica de los posillos donde están dispensadas las semillas, o solo se refila el posillo.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Solo son refilados.
	11. El área donde están dispensadas las semillas se encuentra limpia.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Empacadas	1. Facilidad al público	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	2. El estante donde se encuentran está limpio	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Se encontraba una bolsa de carne encima de los semillos.
	3. Las semillas están colocadas por marca o se encuentran desordenadas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Las semillas estaban desordenadas porque fue difícil encontrarlas y se encontraban amontonadas

Figura N^o 3 Lista de chequeo del supermercado Metrocentro 6^{ta} etapa para semillas procesadas a granel y empacadas.


 UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
 

Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empacadas dispensadas en los supermercados, del área metropolitana de San Salvador.

Nombre de Supermercado: Dollar city - UES

Marca de Semilla: PRO, CASHITAS Fecha: 24/05/18 Hora: 11:30am

Tipo de Semillas	Parámetro	Si	No	Observación
A granel	1. Facilidad al Público.			
	2. Cierre Adecuado del Frasco.			
	3. Manipulación por una o más personas.			
	4. Las Personas cierran el frasco plástico después de servirse.			
	5. Hay una persona encargada de servir las semillas.			
	6. La cuchara con la que se sirve se encuentra al descubierto o en una bolsa plástica.			
	7. Se utiliza la misma cuchara para servir las diferentes semillas.			
	8. La cuchara dispensadora se encuentra limpia.			
	9. El almacenamiento de las semillas sobrantes es el adecuado.			
	10. Hay una limpieza periódica de los posillos donde están dispensadas las semillas, o solo se refila el posillo.			
	11. El área donde están dispensadas las semillas se encuentra limpia.			
Empacadas	1. Facilidad al público	✓		Estaban en un lugar visible
	2. El estante donde se encuentran está limpio	✓		
	3. Las semillas están colocadas por marca o se encuentran desordenadas	✓		Las semillas estaban ordenadas y colgadas en los estantes.

Figura N^o 4 Lista de chequeo del supermercado Dollar city UES para semillas procesadas empacadas.

5.2 Identificación de los microorganismos patógenos *Escherichia coli*,
Salmonella spp en semillas seleccionadas, según el Reglamento Técnico
Centroamericano 67.04.50:08

Se realizaron 2 muestreos, el primer muestreo se llevó a cabo los primeros días del mes de junio y el segundo muestreo en los últimos días del mes de julio

De las 132 muestras recolectadas en cuatro supermercados, dos ventas al interior de la Universidad de El Salvador y un puesto del Mercado San Miguelito, se comparó con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08. Para grupo 15 “Bocadillos o boquitas”, (Ver Anexo N° 8) para los microorganismos *Escherichia coli*, *Salmonella spp* comprobando así la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y el límite < 3 NMP/g para *Escherichia coli* a las semillas procesadas a granel y empacadas, cuyos resultados son los siguientes:

Tabla N° 1 Resultados del análisis microbiológico a las semillas a granel distribuidas en los Supermercados del distrito dos.

Código	Primer Muestreo		Segundo Muestreo	
	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP /g)	<i>Salmonella</i> <i>spp</i> (Ausencia)	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/ g)	<i>Salmonella</i> <i>spp</i> (Ausencia)
SSLPEPITA	<3	Ausencia	< 3	Presencia
SSLMACADAMIA	>1100	Ausencia	93	Ausencia
SSLMD	<3	Presencia	< 3	Ausencia
SSLALMENDRA	23	Presencia	23	Ausencia
SSLMCL	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SSLPECANA	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SSLMARANON	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SSLMS	9.1	Ausencia	< 3	Ausencia
SMVPEPITA	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SMVMACADAMIA	>1100	Ausencia	460	Ausencia
SMVMD	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SMVALMENDRA	75	Ausencia	23	Ausencia
SMVMCL	23	Ausencia	< 3	Ausencia
SMVPECANA	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
SMVMARANON	6.1	Ausencia	< 3	Ausencia
SSVMS	23	Ausencia	< 3	Ausencia
SMCPEPITA	21	Ausencia	13	Ausencia
SMCMACADAMIA	93	Ausencia	210	Presencia
SMCMD	<3	Ausencia	9	Ausencia
SMCALMENDRA	3.6	Ausencia	43	Ausencia
SMCMCL	<3	Ausencia	<3	Ausencia
SMCPECANA	<3	Ausencia	<3	Ausencia
SMCMARANON	<3	Ausencia	<3	Ausencia
SMCMS	<3	Ausencia	3.6	Ausencia

En la tabla N°1; se observa los resultados obtenidos en los análisis realizados:

Primer muestreo

Las muestras de semillas que salieron contaminadas con el microorganismo *Escherichia coli* son: Macadamia, Almendra, Maní salado, Maní chile limón, Marañón y Pepita. Así mismo las semillas que tuvieron presencia de *Salmonella spp* fueron las semillas de Almendra y Maní dulce.

Segundo muestreo

Las muestras de semillas contaminadas con el microorganismo *Escherichia coli* son: Macadamia, Almendra, Pepita, Maní dulce y Maní salado. Sin embargo, las semillas que tuvieron presencia de *Salmonella spp* fueron la Pepita y Macadamia.

Las muestras de semillas que presentan contaminación microbiana con *Escherichia coli* y *Salmonella spp* en el primer y segundo muestreo es la Macadamia, Almendra Maní dulce y Pepita.

La contaminación por estos microorganismos pudo ser por varios factores, entre ellos: la contaminación cruzada por los consumidores y los trabajadores de los diferentes supermercados; porque no hay una limpieza periódica de los depósitos donde están dispensadas las semillas, ya que cuando los depósitos están vacíos, sólo son refileados; otro factor es que no existe un adecuado almacenamiento para el sobrante de las semillas ya que son guardadas en bolsas plásticas no herméticas que posteriormente son colocadas en un compartimiento de madera, donde el espacio es oscuro, húmedo y se encuentra cerca del suelo, creando un medio propicio para la proliferación de microorganismos patógenos.

Al estar contaminado en este grupo alimentario puede causar serias enfermedades como la salmonelosis que es una aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea náuseas y a veces vomito que si no se trata a tiempo puede causar la muerte, de igual manera es con la *Escherichia coli* que también puede generar calambres abdominales, fiebre, vómitos y diarrea que en algunos casos puede ser sanguinolenta.

Tabla N° 2 Resultados del análisis microbiológico a las semillas empacadas de las Marcas GRANUTS, PRO, CASHITAS.

Marca	Código	Primer Muestreo		Segundo Muestreo	
		<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	<i>Escherichia coli</i> (< 3NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)
GRANUTS (Miralvalle dos)	SMVGMARANON	23	Ausencia	3	Ausencia
	SMVGMMD	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVGMMS	23	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVGMCL	<3	Ausencia	6.2	Ausencia
	SMVGALMENDRA	95	Ausencia	9.2	Ausencia
GRANUTS (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCGMARANON	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCGMMD	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCGMCL	6.2	Ausencia	< 3	Ausencia
PRO (Miralvalle dos)	SMVPMARANON	23	Ausencia	29	Ausencia
	SMVPMMD	9	Presencia	< 3	Ausencia
	SMVPMS	3	Ausencia	3	Ausencia
	SMVPMSL	6.2	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVPMC	43	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVPALMENDRA	290	Ausencia	< 3	Ausencia
PRO (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCPMARANON	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCPMMD	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCPMS	9	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCPMC	16	Ausencia	< 3	Ausencia
PRO (Dollar City UES)	DUPMMD	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
	DUPMS	240	Ausencia	< 3	Ausencia
	DUPMC	23	Ausencia	< 3	Ausencia
	DUPMSL	3.6	Ausencia	< 3	Ausencia
CASHITAS (Miralvalle dos)	SMVCPEPITA	23	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVCMARANON	93	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVCMCL	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMVCMS	23	Ausencia	< 3	Ausencia
CASHITAS (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCCPEPITA	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCCMARANON	<3	Ausencia	9	Ausencia
	SMCCMCL	< 3	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCCMS	<3	Ausencia	< 3	Ausencia
CASHITAS (Dollar City UES)	SMCCPEPITA	6.2	Ausencia	< 3	Ausencia
	SMCCMARANON	9	Ausencia	< 3	Ausencia

En la tabla N° 2 se observa los resultados obtenidos de los análisis en las diferentes marcas GRANUTS, PRO, CASHITAS. (Ver anexo N° 5)

Primer muestreo

Las muestras de semillas que presentaron contaminación con *Escherichia coli* de la Marca GRANUTS: Marañón, Maní salado, Almendra y Maní con chile. Marca PRO: Marañón, Maní dulce, Maní salado, Maní sal y limón, Maní con chile y Almendra. Marca CASHITAS: Pepita, Marañón y Maní salado. De igual manera para *Salmonella spp* la que tuvo crecimiento fue la semilla de Maní dulce de la Marca PRO.

Segundo muestreo

Las muestras de semillas que salieron contaminadas con *Escherichia coli* de la Marca GRANUTS: Marañón, Maní chile y limón y Almendra. Marca PRO: Marañón, Maní salado. Marca CASHITAS: Marañón. Así mismo para *Salmonella spp* ninguna de las marcas tuvo presencia.

La marca empacada que presentó menor contaminación microbiana fue la marca CASHITAS, tanto para el primer como en el segundo muestreo, siendo la más adecuada para el consumo humano.

La contaminación por *Escherichia coli* y *Salmonella spp* pudo deberse a los siguientes factores: la manipulación de los empleados en la fábrica donde procesan y empacan las semillas porque los empleados de una fábrica deben ser consciente de la necesidad de las correctas practicas higiénicas, la cadena de transporte desde donde se fabrican hasta el lugar de venta, las condiciones de almacenamiento (Temperatura, humedad e Iluminación) en las bodegas de los fabricantes, equipo y maquinaria con que se procesan, materiales que se utilizan para su embalaje, las condiciones de recolección de las semillas ya que pueden ser contaminadas en el momento de su recolección.

Tabla N° 3 Resultados del análisis microbiológico a las semillas a granel de ventas en el Interior de la Universidad de El Salvador y un puesto en el mercado San Miguelito.

Código	Primer Muestreo		Segundo Muestreo	
	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)
FQFMD	240	Ausencia	<3	Ausencia
FQFMS	93	Ausencia	3.6	Ausencia
UBCMD	<3	Ausencia	<3	Ausencia
UBCMS	240	Ausencia	3	Ausencia
UBCMCL	95	Ausencia	43	Ausencia
UBCMARAÑON	240	Ausencia	< 3	Ausencia
MSMMARAÑON	43	Ausencia	<3	Ausencia
MSMMD	<3	Ausencia	93	Ausencia
MSMMS	93	Ausencia	23	Ausencia
MSMALMENDRA	240	Ausencia	3	Ausencia

En la tabla N° 3 se observan los resultados obtenidos de las ventas en el interior de la universidad de El Salvador y un puesto del mercado San Miguelito.

Primer muestreo

Las muestras de semillas que presentaron contaminación con *Escherichia coli* son: Maní dulce, Maní salado, Maní chile limón, Marañón y Almendra.

En cambio, para *Salmonella spp* ninguna de las semillas de las ventas tuvo presencia de este microorganismo.

Segundo muestreo

Las muestras de semillas que presentaron contaminación con *Escherichia coli* son: Maní salado, Maní chile limón, Maní dulce y Almendra. Para *Salmonella spp* ninguna de las semillas de las ventas tuvo presencia de este microorganismo.

La contaminación por *Escherichia coli* en las ventas en el interior de la Universidad y mercado puede ser causada por los siguientes factores: la contaminación cruzada por los vendedores ya que estos son la principal fuente de contaminación si sus hábitos higiénicos son deficientes, los enseres sin higienizar utilizados para la dispensación de las semillas, el almacenamiento no es el indicado porque utilizan cajas sucias y en mal estado para guardar las semillas al cerrar el puesto de venta, las condiciones de los puestos de venta no son las adecuadas porque no cuentan con la limpieza y calidad para vender las semillas; debido a que en el caso del mercado las semillas se encontraban en una caja cerca del piso mojado y sucio.

En el caso de *Salmonella spp* ninguna semilla tuvo presencia de este microorganismo.

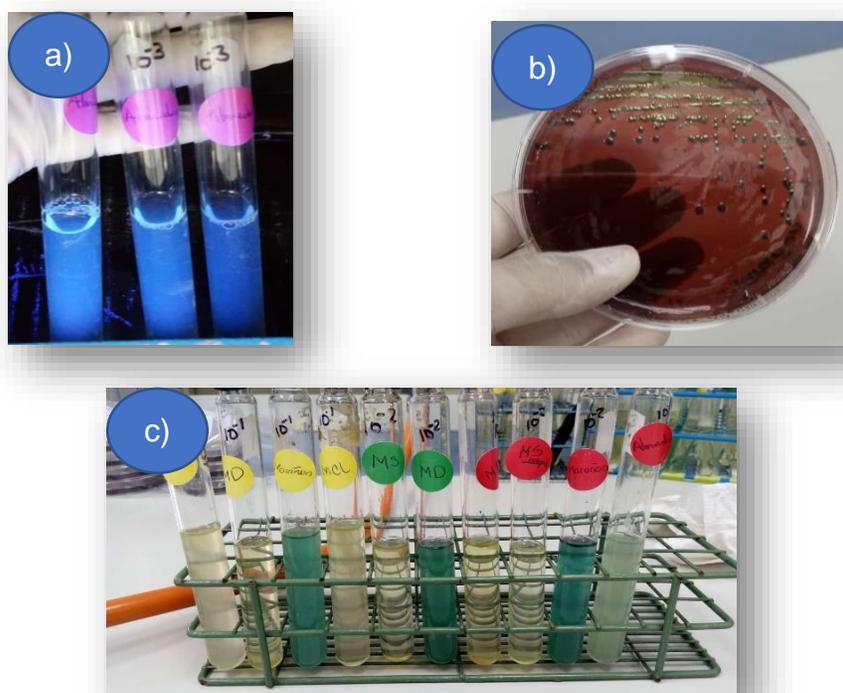


Figura N° 5 Resultados de la presencia de *Escherichia coli*.

- a) Tubos con fluorescencia.
- b) Colonias color verde brillante.
- c) Confirmación con el anillo violáceo.

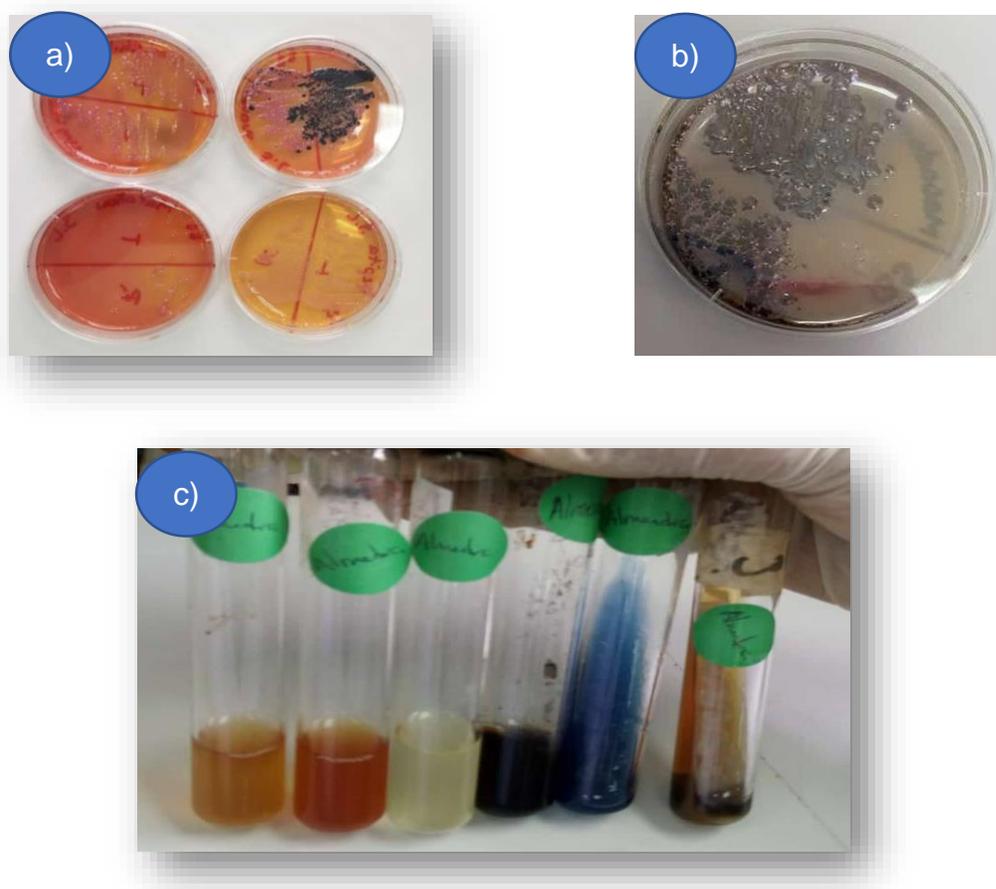


Figura N° 6 Resultados de la presencia de *Salmonella spp.*

- a) Colonias traslucidas con punto negro.
- b) Colonias negras con brillo metálico.
- c) Pruebas bioquímicas (ver anexo 26).

5.3 Determinar la presencia de Hongos en las muestras seleccionadas, según la Norma Oficial Mexicana.

Se realizaron dos muestreos de los cuales se tomó en cuenta la Norma Mexicana NOM-247-SSA1-2008 para Hongos (Ver Anexo N° 16), en base al diseño metodológico. El primer muestreo se llevó a cabo los primeros días del mes de junio y el segundo se realizó a finales del mes de julio, donde se determinó el crecimiento de Hongos y se obtuvieron los siguientes resultados

Tabla N° 4 Resultados del análisis microbiológico para hongos a las semillas a granel distribuidas en los supermercados del distrito dos.

Código	Primer Muestreo	Segundo Muestreo
	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)
SSLPEPITA	10	0
SSLMACADAMIA	60	80
SSLMD	0	0
SSLALMENDRA	2320	2290
SSLMCL	0	10
SSLPECANA	0	0
SSLMARAÑON	10	0
SSLMS	0	10
SMVPEPITA	0	0
SMVMACADAMIA	100	120
SMVMD	10	0
SMVALMENDRA	2460	1660
SMVMCL	20	0
SMVPECANA	0	10
SMVMARAÑON	0	0
SSVMS	0	0
SMCPEPITA	0	20
SMCMACADAMIA	210	60
SMCMD	0	0
SMCALMENDRA	120	1700
SMCMCL	0	0
SMCPECANA	0	10
SMCMARAÑON	10	0
SMCMS	0	10

En la tabla N° 4 se presentan los resultados para hongos obtenidos en los análisis realizados:

La única muestra de semilla que tuvo crecimiento de Hongos y cuyo valor sobrepasa el límite permitido por la Norma Oficial Mexicana es la Almendra, tanto para el primer y segundo muestreo.

El crecimiento de estos hongos se puede deber a las condiciones de almacenamiento de estas semillas ya que es un compartimiento oscuro y húmedo propicio para el crecimiento de estos hongos. También puede influir el ambiente del Supermercado ya que las esporas de los hongos pueden ser transportadas por los aires acondicionados e invadir las semillas; otro factor muy importante es la temperatura porque la mayoría de estantes donde se encuentran las semillas están cerca de los freezer generando una disminución de la temperatura y aumento de la humedad favoreciendo así el crecimiento de hongos. Al consumir las esporas de los hongos puede causar graves intoxicaciones que principalmente producen el síndrome hepatotóxico que causa fiebre alta y daño al riñón.

Tabla N° 5 Resultados del análisis microbiológico para hongos de las semillas empacadas de las marcas GRANUTS, PRO, CASHITAS distribuidas en los supermercados.

Marca	Código	Primer Muestreo	Segundo Muestreo
		Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)
GRANUTS (Miralvalle Dos)	SMVGMARANON	0	0
	SMVGMD	0	0
	SMVGMS	0	0
	SMVGMCL	0	0
	SMVGALMENDRA	0	0
GRANUTS (Metrocentro 6 ^{ta} Etapa)	SMCGMARANON	0	0
	SMCGMD	0	0
	SMCGMCL	0	10
PRO (Miralvalle Dos)	SMVPMARAÑON	0	20
	SMVPMD	0	0
	SMVPMS	0	0
	SMVPMCL	0	0
	SMVPMC	0	0
	SMVPALMENDRA	0	0
PRO (Metrocentro 6 ^{ta} Etapa)	SMCPMARAÑON	0	0
	SMCPMD	0	0
	SMCPMS	0	10
	SMCPMC	0	50
PRO (Dollar City UES)	DUPMD	0	0
	DUPMS	0	0
	DUPMC	0	0
	DUPMCL	0	0
CASHITAS (Miralvalle Dos)	SMVCEPITA	0	0
	SMVCMARAÑON	0	0
	SMVCMCL	0	0
	SMVCMS	0	0
CASHITAS (Metrocentro 6 ^{ta} Etapa)	SMCCPEPITA	0	0
	SMCCMARANON	0	10
	SMCCMCL	0	0
	SMCCMS	0	0
CASHITAS (Dollar City UES)	SMCCPEPITA	0	0
	SMCCMARAÑON	0	0

En la tabla N° 5 se presentan los resultados para hongos obtenidos en los análisis realizados:

Tanto en el primero como en el segundo muestreo, ninguna de las muestras de semillas sobrepasa el límite establecido por la Norma Oficial Mexicana.

Y el leve crecimiento de hongos que se observa en la tabla N° 5, pudo deberse a que el personal responsable, no cuidó las condiciones de fabricación y almacenamiento, esto puede generar que el número de hongos crezca y exceda el límite permitido por la norma; otro factor que puede influir es la cadena de transporte, la recolección de las semillas, ya que si no se tiene el cuidado necesario puede hacer que se favorezca el crecimiento de hongos; las condiciones de fabricación, almacenamiento, temperatura, humedad e iluminación ya que la fábrica debe tener un ambiente que evite que las esporas de los hongos puedan invadir a este alimento y así evitar un daño hepático y renal a los consumidores.

Tabla N° 6 Resultado del análisis microbiológico para hongos de las semillas a granel de ventas en el interior de la Universidad de El Salvador en las Facultades de Química y Farmacia, Humanidades y mercado San Miguelito.

Código	Primer Muestreo	Segundo Muestreo
	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)
FQFMD	10	0
FQFMS	0	0
UBCMD	10	0
UBCMS	0	0
UBCMCL	20	0
UBCMARAÑON	20	0
MSMMARAÑON	10	0
MSMMD	0	20
MSMMS	30	10
MSMALMENDRA	3060	10

En la tabla N° 6 se presentan los resultados para hongos obtenidos en los análisis realizados:

Primer muestreo

La única muestra de semilla que tuvo crecimiento de Hongos y cuyo valor sobrepasa el límite permitido de la Norma Oficial Mexicana es la Almendra del Mercado San Miguelito.

Segundo muestreo

Ninguna de las muestras de semillas sobrepasa el límite permitido por la Norma Oficial Mexicana.

El crecimiento de hongos se debió a que los puestos no contaban con las condiciones de temperatura y humedad, ya que se encontraban cerca del suelo húmedo; Cabe destacar que las semillas que pueden ser más sensibles a ser invadidas por hongos son las semillas de almendra ya que ellas en su superficie forman una capa blanca que muchas veces es confundida con sal. Otro factor que pudo influir es que los puestos están cerca de donde hay afluencia de personas, ya que con el flujo de estas puede favorecer a que las esporas migren e invadan a las semillas.

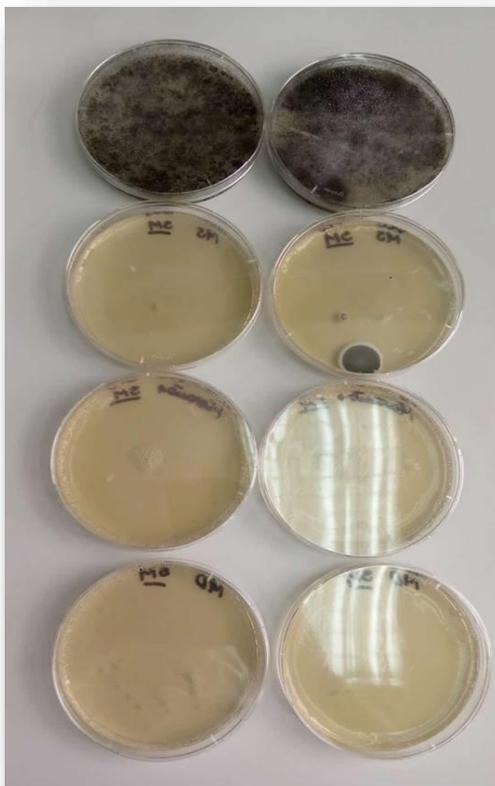


Figura N° 7 Resultado del crecimiento de Hongos en Semillas procesadas.

5.4 Comparar los resultados obtenidos de las semillas procesadas a granel y empacadas, comercializadas en los Supermercados, Campus de la Universidad de El Salvador y Mercado San Miguelito con las especificaciones del Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 y la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008.

Tabla N° 7 Resultados de análisis de las semillas a granel al compararlos con el RTCA y la Norma Mexicana.

Código	Primer Muestreo			Segundo Muestreo		
	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP /g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/ g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)
SSLPEPITA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple
SSLMACADAMIA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
SSLMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SSLALMENDRA	No cumple	Cumple	No cumple	No cumple	Cumple	No cumple
SSLMCL	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SSLPECANA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SSLMARAÑON	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SSLMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMVPEPITA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMVMACADAMIA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
SMVMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMVALMENDRA	No cumple	Cumple	No cumple	No cumple	Cumple	No cumple
SMVMCL	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMVPECANA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMVMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SSVMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMCPEPITA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
SMCMACADAMIA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	No cumple	Cumple
SMCMD	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
SMCALMENDRA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	No cumple
SMCMCL	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMCPECANA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMCMARAÑON	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
SMCMS	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
FQFMD	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

Tabla N° 7 Continuación de resultados.

FQFMS	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
UBCMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
UBCMS	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
UBCMCL	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
UBCMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
MSMMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
MSMMD	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
MSMMS	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
MSMALMENDRA	No cumple	Cumple	No Cumple	No cumple	Cumple	Cumple

En la tabla N° 7 se presentan los resultados obtenidos de los análisis realizados de las semillas a granel que fueron comparados con el RTCA y la Norma Mexicana.

En general ambos muestreos presentaron contaminación microbiana, pero, el primer muestreo tuvo mayor crecimiento de microorganismos en las semillas de macadamia, almendra, pepita, maní salado, marañón, maní chile limón y maní dulce, he ahí la importancia de la manipulación, las condiciones de limpieza y almacenamiento para las semillas procesadas a granel.

Esta contaminación pudo ser influenciada a que, en el primer muestreo, no se tuvo el cuidado necesario en las buenas prácticas de higiene y las condiciones de almacenaje. Cabe recalcar que la única semilla que estuvo exenta de crecimiento microbiano fue la semilla de pecana.

Tabla N° 8 Resultados de análisis de las semillas empacadas al compararlos con el RTCA y la Norma Mexicana.

Marca	Código	Primer Muestreo			Segundo Muestreo		
		<i>Escherichia coli</i> (< 3 NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (< 3NMP/g)	<i>Salmonella spp</i> (Ausencia)	Hongos Dilución 10 ⁻¹ (300 UFC/g)
GRANUTS (Miralvalledos)	SMVGMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
	SMVGMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVGMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVGMCL	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
	SMVGALMENDRA	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
GRANUTS (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCGMARAÑON	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCGMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCGMCL	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
PRO (Miralvalledos)	SMVPMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
	SMVPMMD	No cumple	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
	SMVPMMSL	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVPMMSL	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
PRO (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCPMARAÑON	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCPMMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
PRO (Dollar City UES)	DUPMMD	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	DUPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	DUPMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	DUPMMSL	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
CASHITAS (Miralvalledos)	SMVCPEPITA	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVCMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVCMCL	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMVCMMS	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
CASHITAS (Metrocentro 6 ^{ta} etapa)	SMCCPEPITA	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCCMARAÑON	Cumple	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
	SMCCMCL	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCCMMS	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
CASHITAS (Dollar City UES)	SMCCPEPITA	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
	SMCCMARAÑON	No cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

En la tabla N° 8 se presentan los resultados obtenidos de los análisis realizados a las semillas empacadas, que fueron comparados con el RTCA y la Norma Mexicana.

Las semillas con mayor contaminación microbiológica fueron las de la marca PRO, ya que, los valores sobrepasan los límites dados por el reglamento y la norma, por lo que es necesario cuidar las condiciones de fabricación, almacenamiento, embalaje, transporte, número de lote, fecha de vencimiento en de las semillas para garantizar la calidad de ellas y cuidar la salud de la población consumidora.

La marca de semillas con menor contaminación fue la marca CASHITAS, siendo aptas para el consumo de los salvadoreños; un factor que pudo influir es las fechas de vencimiento hasta el año 2019, por lo que es necesario revisar siempre los vencimientos de todos los alimentos empacados.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Al evaluar los diferentes anaqueles donde están dispensadas las semillas procesadas a granel y empacadas, ninguno de los supermercados, cumple con los parámetros de calidad y limpieza establecidos según la lista de chequeo para dichas semillas.
2. Las semillas procesadas que no cumplen con el RTCA 67.04.50:08 para *Escherichia coli* son la macadamia y la almendra; para el microorganismo *Salmonella spp* las semillas que no cumplen son macadamia, almendra, pepita y maní dulce. Siendo estos microorganismos indicadores de la calidad higiénica en los alimentos.
3. La semilla procesada que no cumple con la Norma Mexicana NOM-247-SSA1-2008, para hongos es la almendra, la cual no es apta para el consumo.
4. El consumo de estas semillas puede causar daños a la salud como enfermedades gastrointestinales e intoxicaciones porque son sensibles a ser contaminadas por *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y Hongos.
5. En los análisis realizados a las semillas procesadas empacadas la que presenta menor contaminación microbiana fue la marca CASHITAS.
6. Los productos empacados en fábricas presentan mejores resultados en comparación con los productos a granel, porque la manipulación por los consumidores es menor.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Las instituciones respectivas realicen una vigilancia sanitaria sobre limpieza y almacenamiento de las semillas procesadas a granel, que se comercializan en los diferentes Supermercados, las cuales son dispensadas en depósitos a los cuales se les debe realizar periódicamente una limpieza y desinfección antes de ser refiladas nuevamente.
2. Promover la adecuada venta y dispensación de semillas a granel, estableciendo en los diferentes supermercados una persona encargada de empacarlas y sellarlas previamente, para evitar la contaminación cruzada por los consumidores y los manipuladores.
3. Que las condiciones de almacenamiento de las semillas procesadas a granel, se mantengan en un ambiente libre de humedad, para preservar la calidad y garantizar la salud de los consumidores.
4. Para las marcas empacadas de las semillas procesadas es necesario realizar controles de las buenas practicas higiénicas, almacenamiento y transporte porque son ingresadas al país, ya que son producidas fuera de éste y se desconocen las condiciones del fabricante.
5. Las autoridades correspondientes deben controlar la distribución de la semilla de almendra, porque este tipo de semilla resulta ser más sensible a contaminarse por hongos, creando en su superficie ciertas coloraciones blancas que suelen ser confundidas con sal, un aditivo muy utilizado en este tipo de alimento.

6. Tener un control interno en el Campus Universitario de los alimentos que se comercializan, en especial los puestos y ventas en la Facultad de Ciencias y Humanidades y Química y Farmacia para garantizar la calidad de las semillas y evitar futuras enfermedades en la población estudiantil.
7. Educar a la población sobre el consumo de los alimentos secos como las semillas, ya que estos no están exentos de ser contaminados con microorganismos patógenos que afectan la salud de los consumidores provocando enfermedades gastrointestinales.
8. Promover el consumo de semillas empacadas en fábricas ya que se puede controlar de una mejor manera la manipulación, almacenamiento, transporte de ellas

BIBLIOGRAFÍA

1. Administration, F. a. (1992). *Manual Analítico Bacteriológico*. (7^o Edición ed.). 2200 Wilson Blvd., Sulte 400 Arlington,VA 22201-3301: AOAC International.
2. Administration., F. a. (2006). *FDA*. Recuperado el 18 de Enero de 2018, de <https://www.fda.gov/iceci0+i/criminalinvestigations/ucm465896.htm>.
3. Alimentos, C. I. (1980). *Ecología Microbiana de los Alimentos 2*. Zaragoza, España: ACRIBIA S.A.
4. ANACAFE, A. N. (s.f.). *Macadamia*. Obtenido de http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Cultivo_de_nuez_macadamia
5. Ángeles., R. (2002). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli, Salud Pública. Mexico*. Obtenido de www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf
6. Anuario de Agricultura Semillas. (1963). En *Anuario de Agricultura (2^o Impresión en Español ed.)*. DF, Mexico : Continental S.A.
7. Dr. Valdivia Flores, D. A. (s.f.). *Implicaciones de la Contaminación de Alimentos por Aflatoxinas*.
8. Echeveria., C. B. (s.f.). *Scribd*. Recuperado el 25 de Enero de 2018, de <https://es.scribd.com/doc/4743830/pruebas-bioquimicas-para-enterobacterias>
9. Estrada., E. (2000). *Microbiología e Inocuidad de los Alimentos*. Mexico.
10. EMPRES. (2012). *Prevención y control de Salmonella y la E. coli enterohemorrágica en los frutos secos. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura*.

11. Luna Guevara J.J, G. B. (2010). Algunas características de compuestos presentes en los frutos secos y su relación con la salud. En *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 4* (págs. 37-48). España.
12. Melara. S. L, S. B. (2012). *Determinación de la Multirresistencia a los antimicrobianos de salmonella aislada a partir de muestras de chorizo comercializadas en Mercados de Santa Tecla*. Obtenido de www.ri.ues.edu.sv/2279/1/Aislamiento_de_salmonella_AC.pdf
13. Mendoza., R. A. (2002). *Cincuenta Especies de la Flora Medicinal Existente en El Salvador*. El Salvador: Imprenta Díaz.
14. Mexicana, N. O. (2008). *NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios, cereales y sus productos, cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harina, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación*. Obtenido de <https://www.ecolex.org/es/details/legislation/nom-247-sa12008productos-servicios-cereales-y-sus-productos-cereales-harinas-de-cereales-sémolas-o-semolinas-alimentos-a-base-de-semillas-comestibles-de-harinas-semolas-faoc088981>
15. Molina Lopez Jose., C. E. (s.f.). *Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM, Escherichia coli, Diarrogénica*. Recuperado el 2 de Febrero de 2018, de www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html
16. Mora G. Marcos, D. M. (2007). Cadena de la Almendra y su relación con la Innovación. En *Cadena de Hortalizas de la IV Región y su relación con la innovación*. (págs. 13-29). Valparaiso, Chile.

17. Pérez Maria Alejandra, A. R. (2007). Nivel de infección fungica natural en relacion a la calidad de semillas de mani. *Revista Brasileira de Sementes*, 29, 53 - 59. Recuperado el 19 de Febrero de 2018
18. Pérez. M.A, C. D. (2007). Nivel de Infección Fúngica Natural en Relación a la Calidad de Semillas de Maní. *Revista Brasileira de Sementes.*, Vol. 29(Nº 2), Páginas 50-55.
19. Rodríguez Ferri Elias, G. M. (1999). *Lo que debe saber de las: Salmonelas y Salmonelosis*. Obtenido de www.saber.es/web/biblioteca/libros/salmonelosis/salmonelas-y-salmonelosis.pdf
20. Salud, O. M. (Agosto de 2016). *Peligros Biologicos, Inocuidad de Alimentos-Control Sanitaria-HACCP*. Obtenido de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015peligrosbiologicos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&langesProgramaConjuntoFAO/OMSsobreNormasAlimentariasComisiondelCodexAlimentarius.
21. Torres., M. (1999). *Agentes patógenos transmitidos por alimentos*. (Primera. ed., Vol. 1). Universidad de Guadalajara, México., Madrid, España: Díaz de Santos.
22. Vallejo., P. M. (13 de Diciembre de 2012). *Estadística Aplicada a las Ciencias Sociales, Tamaño necesario de la muestra*. Obtenido de Universidad Pontificia Comillas, Madrid, Facultad de Humanidades.: <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oMuestra.pdf>

ANEXOS



ANEXO N° 1

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Lista de chequeo para verificar el cumplimiento de la calidad de las semillas a granel y empacadas dispensadas en los supermercados, del área metropolitana de San Salvador.

Nombre de Supermercado: _____

Marca de Semilla: _____ Fecha: _____ Hora: _____

Tipo de Semillas	Parámetro	Si	No	Observación
A granel	1. Facilidad al Público.			
	2. Cierre Adecuado del Frasco.			
	3. Manipulación por una o más personas.			
	4. Las Personas cierran el frasco plástico después de servirse.			
	5. Hay una persona encargada de servir las semillas.			
	6. La cuchara con la que se sirve se encuentra al descubierto o en una bolsa plástica.			
	7. Se utiliza la misma cuchara para servir las diferentes semillas.			
	8. La cuchara dispensadora se encuentra limpia.			
	9. El almacenamiento de las semillas sobrantes es el adecuado.			
	10. Hay una limpieza periódica de los posillos donde están dispensadas las semillas, o solo se refila el posillo.			
	11. El área donde están dispensadas las semillas se encuentra limpia.			
Empacadas	1. Facilidad al publico			
	2. El estante donde se encuentran está limpio			
	3. Las semillas están colocadas por marca o se encuentran desordenadas			

ANEXO N° 2



Figura N° 8 Dispensación de Semillas procesadas a granel de los supermercados.

- a) Estante de dispensación de semillas procesadas del Supermercado Miralvalle dos
- b) Estante de dispensación de Semillas procesadas a granel del Supermercado San Luis.
- c) Depósito designado para las cucharas con las que se dispensan las semillas procesadas a granel de los Supermercados

ANEXO N° 3

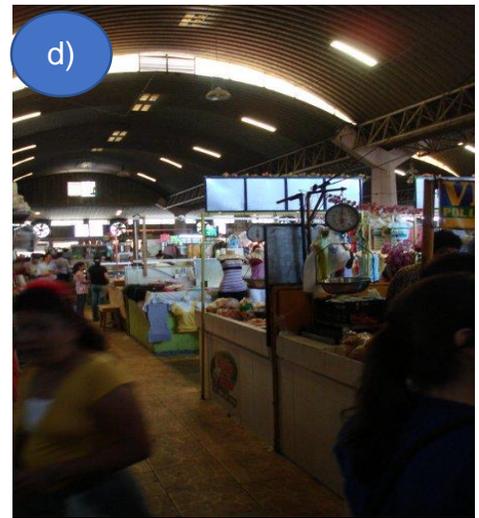
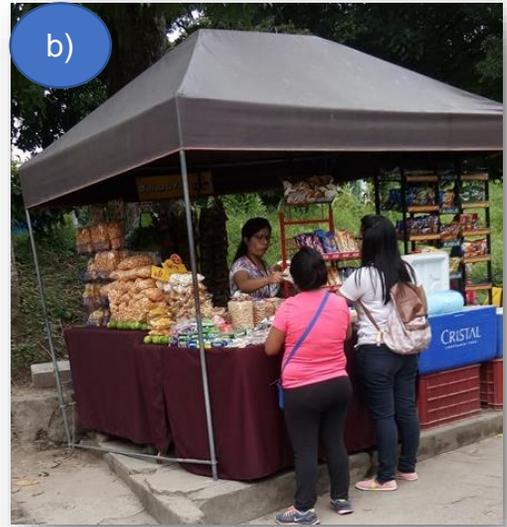


Figura N° 9 Recolección de las muestras en los diferentes establecimientos y puntos de venta.

- a) Estante de dispensación de Semillas procesadas a granel del Supermercado Metrocentro 6^{ta} etapa.
- b) Puesto de semillas procesadas de la Facultad de Humanidades.
- c) Venta ambulante de la Facultad de Química y Farmacia.
- d) Venta mercado San Miguelito.

ANEXO N° 4

Semillas Procesadas a Granel



Figura N° 10 Semilla de Maní salado o Cacahuates



Figura N° 11 Presentación de la Semilla de Marañón



Figura N° 12 Presentación de la Semilla de Maní chile limón.



Figura N° 13 Presentación de la Semilla de Almendra entera.



Figura N° 14 Presentación de la Semilla de Maní Dulce.



Figura N° 15 Presentación de la Semilla de Pecana .

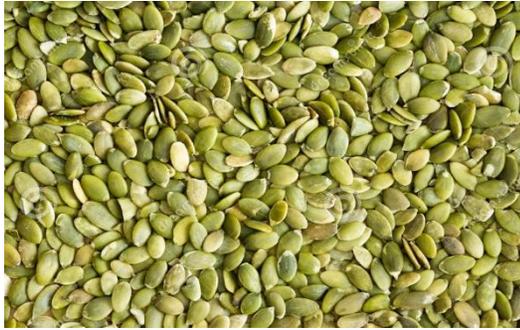


Figura N° 16 Semilla de Pepita



Figura N° 17 Presentación de la Semilla de Macadamia

ANEXO N°5



Figura N° 18 Semillas de las diferentes Marcas.

a) Granuts, b) PRO c) Cashitas

ANEXO N° 6

Mapa del distrito uno y distrito dos del área Metropolitana de San Salvador.

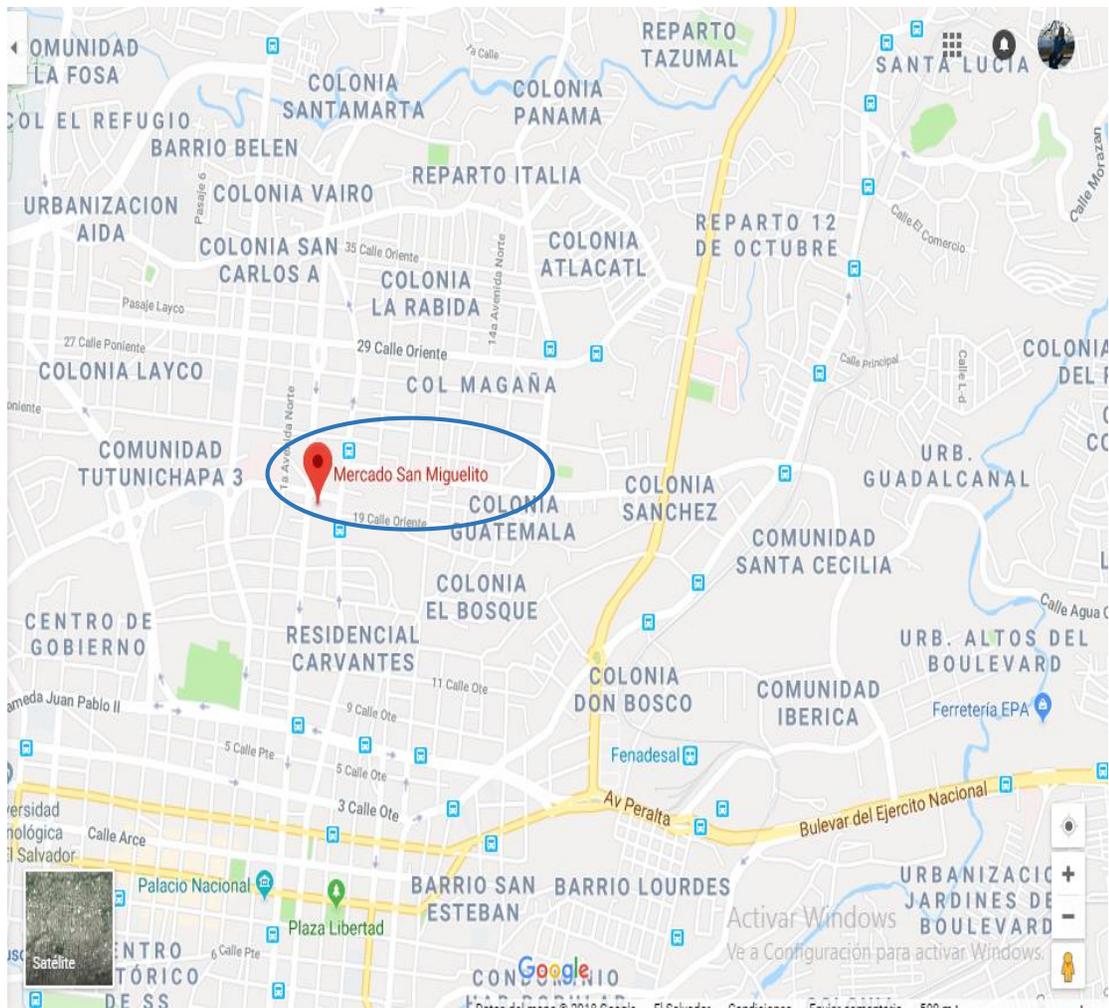


Figura N° 19 Mapa del distrito uno del área metropolitana de San Salvador

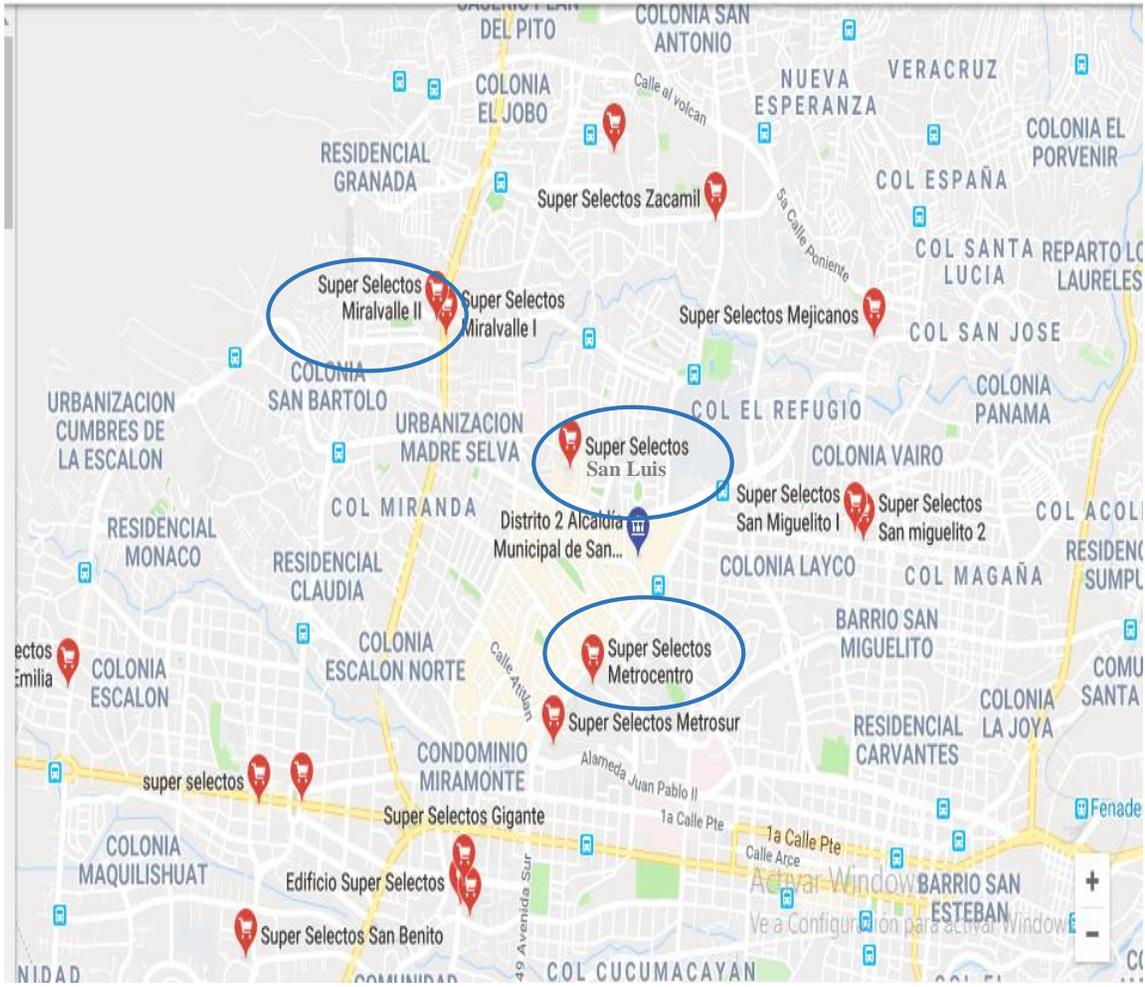


Figura N° 20 Mapa del distrito dos del área metropolitana de San Salvador

ANEXO N° 7

NOMBRE DE MUESTRA: _____	
NUMERO DE MUESTRA: _____	CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN: _____
FECHA DE RECOLECCIÓN: _____	HORA DE RECOLECCIÓN: _____

Figura N° 21 Etiqueta para la identificación de semillas a muestrear.

ANEXO N° 8

SECCION DEL REGLAMENTO TECNICO CENTROAMERICANO

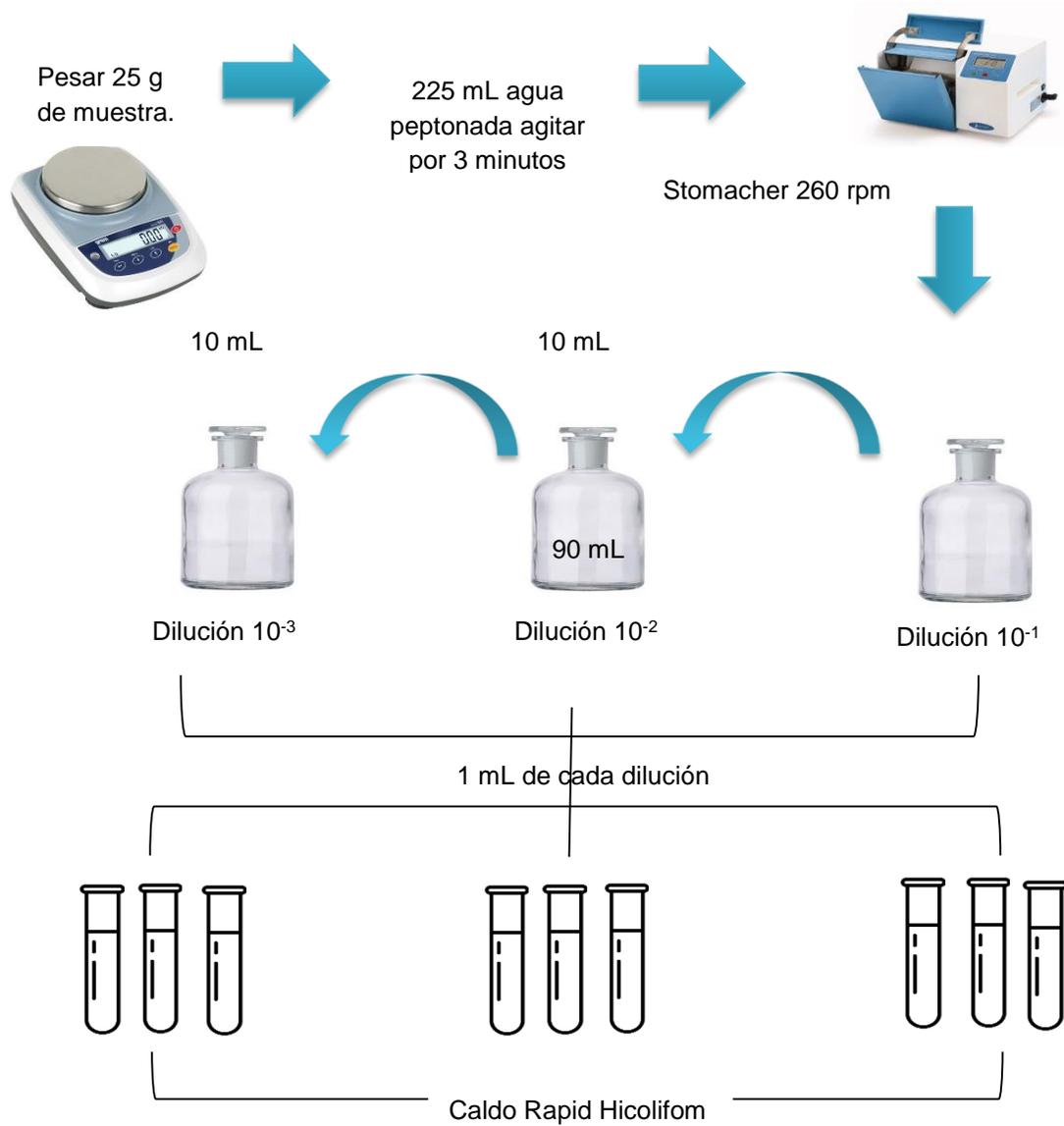
Tabla N° 9 Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08

15.2 Subgrupo del alimento: Semillas y nueces			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	B	< 3 NMP/g
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	10		Ausencia

ANEXO N° 9

DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES

PREPARACION DE LA MUESTRA



Incubar los tubos por 24 a 48 horas a 35°C. Los tubos positivos (con coloración azul), indican presencia de coliformes totales.

Figura N° 22 Procedimiento de la preparación de la muestra para el análisis de *Escherichia coli*.

ANEXO Nº 10

IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*

Tubos positivos en caldo Rapid Hicoliform

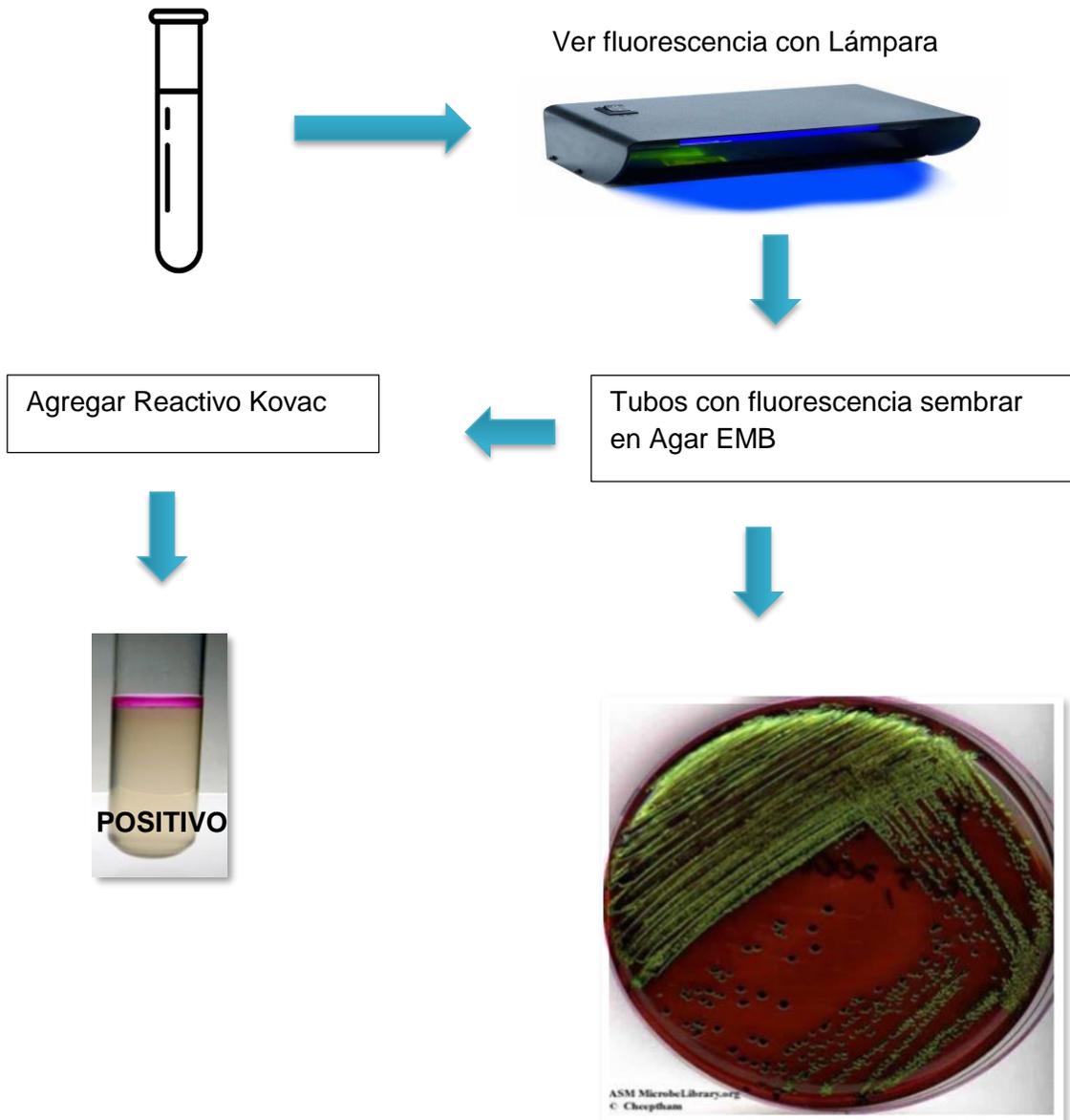


Figura Nº 23 Procedimiento para identificación de *Escherichia coli*.

ANEXO N° 11

Tabla N°10 Tabla del número más probable (NMP) por 1 g de muestra,
utilizando una serie de 3 tubos inoculados con 0.1, 0.01 y 0.001 g.

Tubos Positivos							
0.1	0.01	0.001	NMP	0.1	0.01	0.001	NMP
0	0	0	<3	2	0	0	9.1
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6.1	2	1	1	20
0	1	2	9.2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6.2	2	2	0	21
0	2	1	9.3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9.4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	3.6	3	0	0	23
1	0	1	7.2	3	0	1	39
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	19	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1100

Food y Drug Administration. Manual Analítico Bacteriológico. 7 edición, Publicado y distribuido por AOAC Internacional, 2200 Wilson Blvd. Suite 400 Arlington, VA 22201-3301. ISBN 0-935584-49- (Pág 451).

ANEXO N° 12

DETERMINACIÓN DE *Salmonella spp*

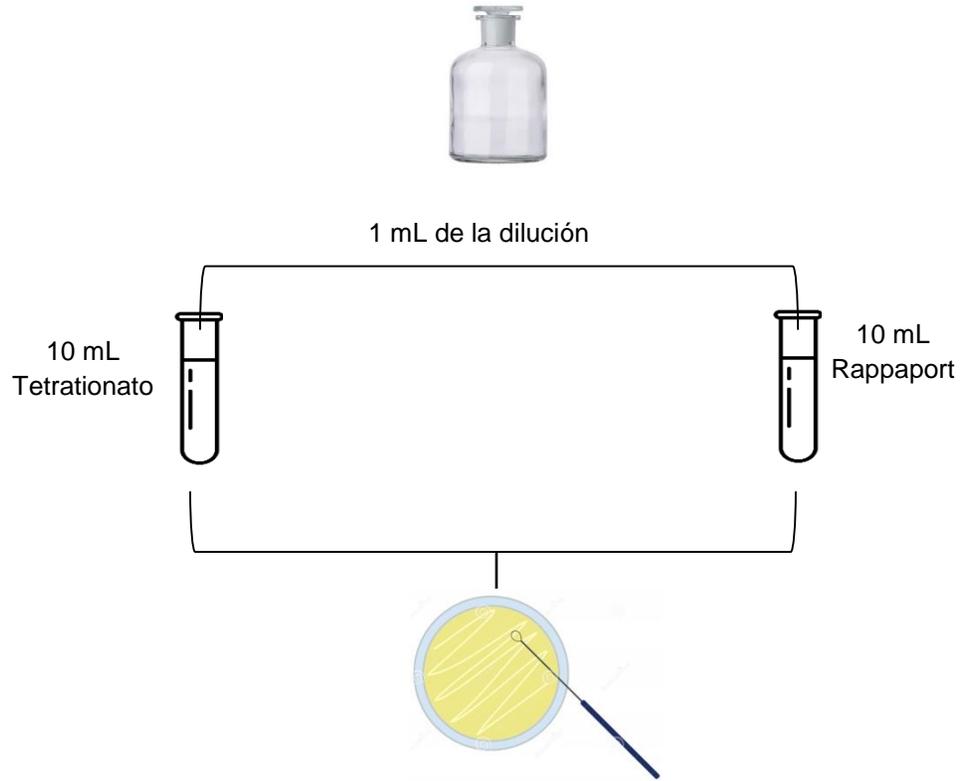
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA



Figura N° 24 Procedimiento de la preparación de la muestra para el análisis de *Salmonella spp*.

ANEXO N°13

IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella spp*



Incubar las placas 24 ± 2 horas a 35°C .

Agar Sulfito Bismuto: colonias negras o grises con un brillo metálico característico.

Agar Salmonela-Shiguela: Colonias traslucidas con centro negro.

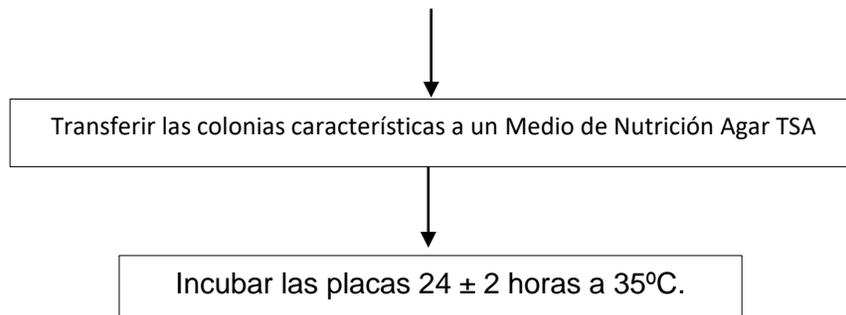
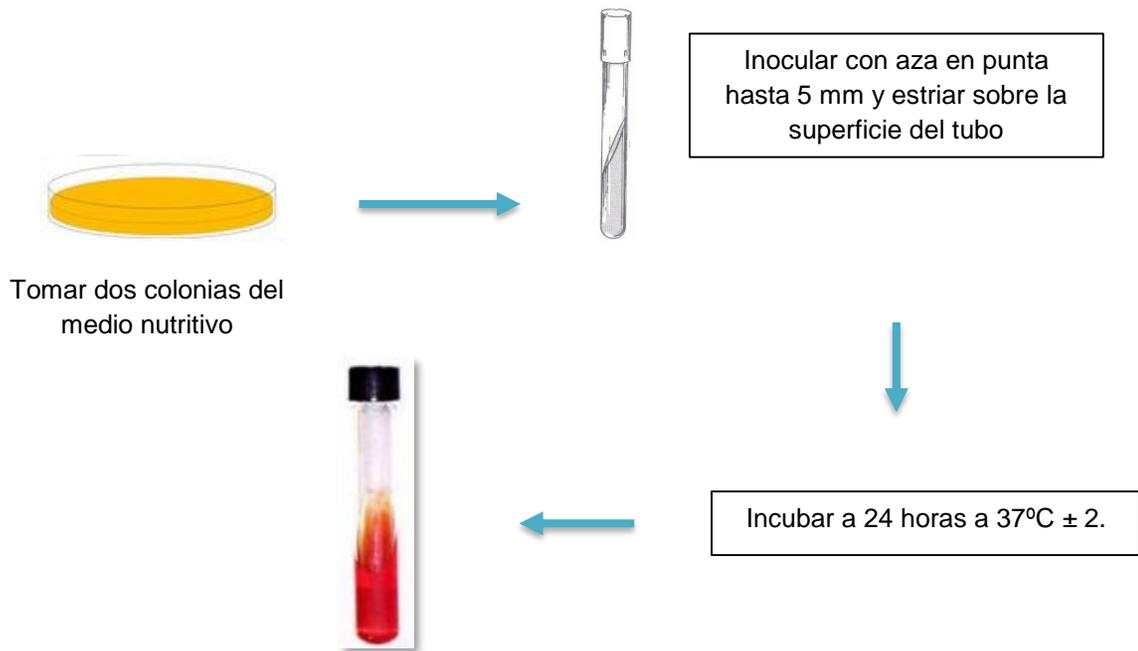


Figura N° 25 Procedimiento de la Identificación de *Salmonella spp*.

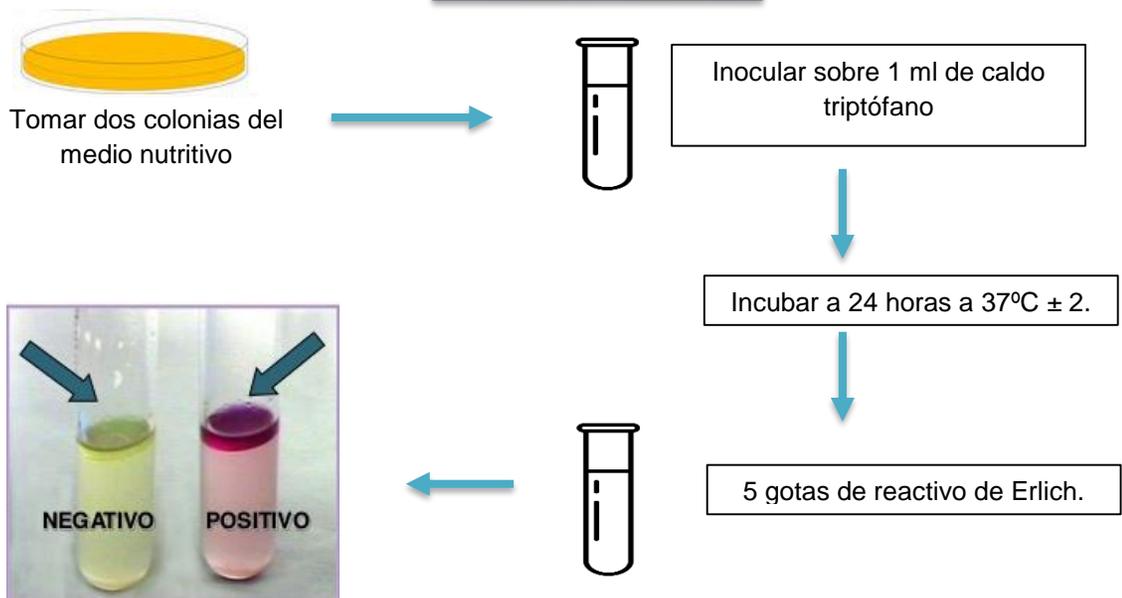
ANEXO N° 14

Pruebas Bioquímicas para la identificación de *Salmonella* spp.

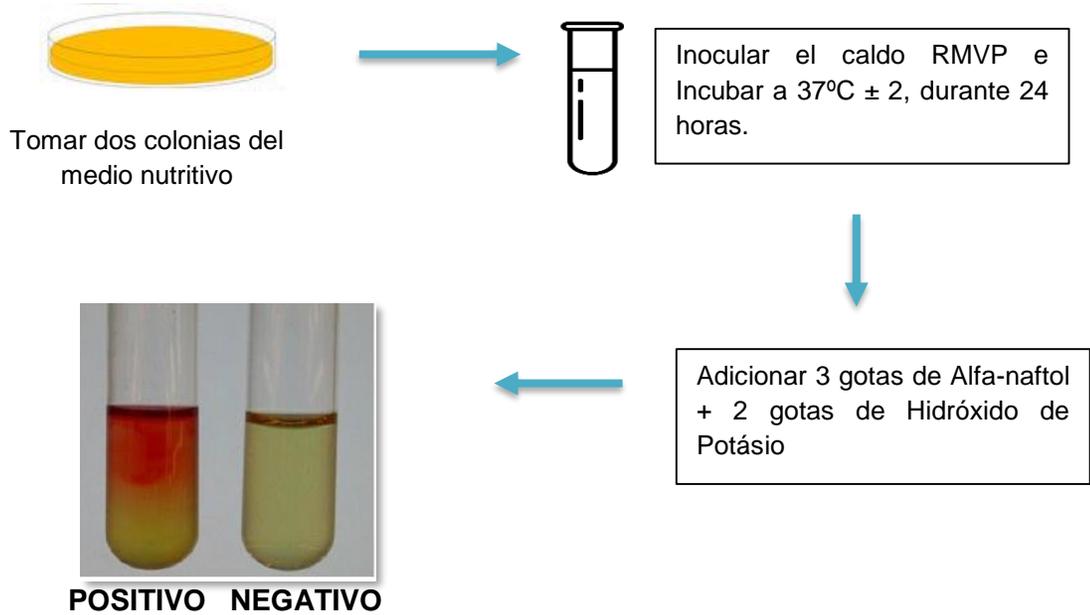
Agar TSI



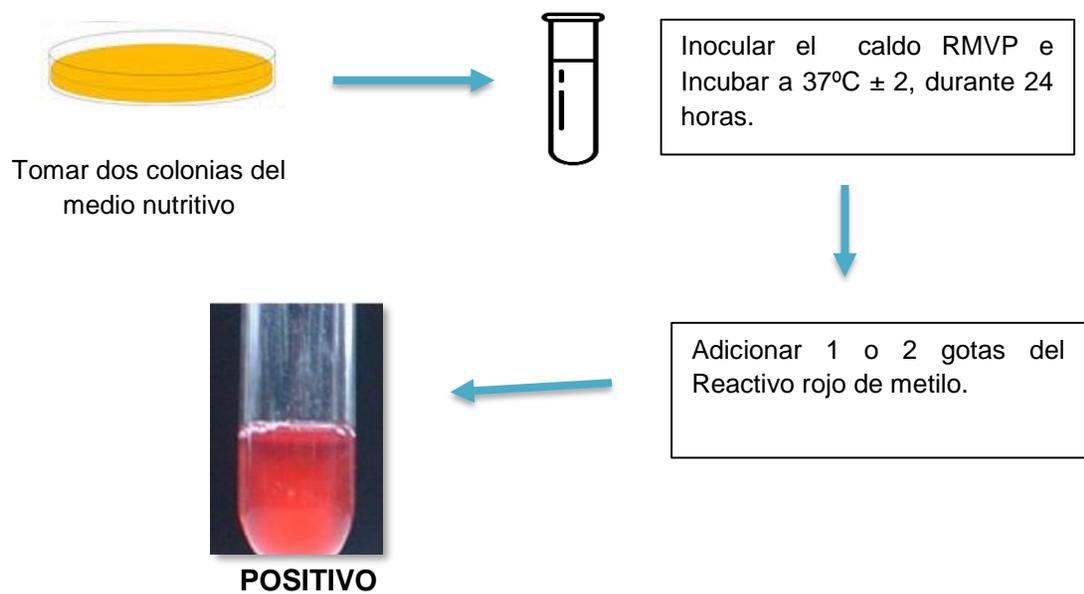
Reacción de Indol



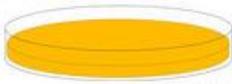
Agar VP



Rojo de Metilo

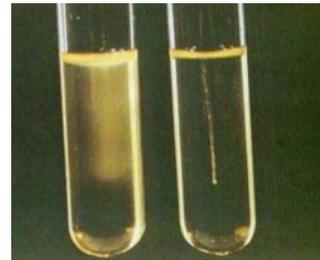


Movilidad


Tomar dos colonias del
medio nutritivo



Inocular con aza en punta en el
agar e Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$,
durante 24 horas.



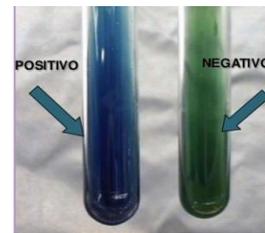
POSITIVO NEGATIVO

Citrato


Tomar dos colonias del
medio nutritivo



Inocular con aza en punta y
estriar el agar citrato e Incubar
a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 24 horas.



ANEXO N° 15

Pruebas bioquímicas para *salmonella spp* (Criterios según BAM)

Tabla N° 11 Pruebas bioquímicas para *Salmonella*

PRUEBA O SUSTRATO	RESULTADO		REACCIÓN DE LA ESPECIE SALMONELLA
	POSITIVO	NEGATIVO	
1. Glucosa (TSI)	Fondo amarillo	Fondo rojo	+
2. Lisina Descarboxilada (LIA)	Fondo morado	Fondo Amarillo	+
3. H ₂ S (TSI)	Ennegrecido	No ennegrecido	+
4. Ureasa	Color de rojo-morado	No cambia de color	-
5. Caldo Lisina Descarboxilada	Color morado	Color amarillo	+
6. Caldo rojo fenol dulcitol	Color amarillo y /o gas	No cambia de color ni hay gas	+ ^b
7. Caldo KCN	Hay Crecimiento	No hay crecimiento	-
8. Caldo malonato	Color azul	No cambia de color	- ^c
9. Prueba Indol	Anillo violeta en la superficie	Anillo amarillo en la superficie	-
10. Polivalente flagelar	Aglutinación	No hay aglutinación	+
11. Polivalente somatico	Aglutinación	No hay Aglutinación	+
12. Caldo lactosado de rojo fenol	Color amarillo y /o gas	No cambia de color ni hay gas	- ^c
13. Caldo sacarosa de rojo fenol	Color amarillo y /o gas	No cambia de color ni hay gas	-
14. Voges-Proskauer	Color de rojo a rosado	No cambia de color	-
15. Rojo de Metilo	Color rojo difuso	Color amarillo difuso	+
16. Citrato Simmons	Color azul y crecimiento	No cambia de color y no hay crecimiento	V

^a+ 90% o más positivos en 1 o 2 días;

- 90% o más negativos en 1 o 2 días.

V variable.

^bMayoría de *S. arizonae* culturas son negativas.

^cMayoría de *S. arizonae* culturas son positivas.

Food y Drug Administration. Manual Analítico Bacteriológico. 7 edición, Publicado y distribuido por AOAC Internacional, 2200 Wilson Blvd. Suite 400 Arlington, VA 22201-3301. ISBN 0-935584-49- (Pág 64)

Tabla N°12 Criterio para descartar la presencia de *Salmonella*. (BAM Pág. 65)

PRUEBA O SUSTRATO	RESULTADOS
1. Ureasa	Positivo (color rojo-morado)
2. Indol	Positivo (anillo violeta en la superficie)
Polivalente flagelar (H) o	Negativo (No hay aglutinación)
Prueba Indol	Positivo (anillo violeta en la superficie)
Spicer-Edwards flagelar	Negativo (No hay aglutinación)
3. Lisina descarboxilada y	Negativo (color amarillo)
Caldo KCN	Positivo (crecimiento)
4. Caldo lactosado de rojo fenol	Positivo (color amarillo y /o gas) ^{a,b}
5. Caldo sacarosa de rojo fenol	Positivo (color amarillo y /o gas) ^b
6. Caldo KCN	Positivo (crecimiento)
Voges-Proskauer	Positivo (color de rojo –rosado)
Rojo de Metilo	Negativo (color amarillo difuso)

^a Prueba del caldo malonato positivo aún más para determinar si es *S. arizonae*.

^b No descartar el caldo positivo si es correspondiente a LIA da una reacción típica para *Salmonella*; la prueba aún mas determina si es una especie de *Salmonella*.

Food y Drug Administration. Manual Analítico Bacteriológico. 7 edición, Publicado y distribuido por AOAC Internacional, 2200 Wilson Blvd. Suite 400 Arlington, VA 22201-3301. ISBN 0-935584-49- (Pág 65)

ANEXO N° 16

SECCION DE LA NORMA OFICIAL MEXICANA

NORMA Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-247-SSA1-2008, PRODUCTOS Y SERVICIOS. CEREALES Y SUS PRODUCTOS. CEREALES, HARINAS DE CEREALES, SEMOLAS O SEMOLINAS. ALIMENTOS A BASE DE: CEREALES, SEMILLAS COMESTIBLES, DE HARINAS, SEMOLAS O SEMOLINAS O SUS MEZCLAS. PRODUCTOS DE PANIFICACION. DISPOSICIONES Y ESPECIFICACIONES SANITARIAS Y NUTRIMENTALES. METODOS DE PRUEBA.

MIGUEL ANGEL TOSCANO VELASCO, Comisionado Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en el artículo 39 fracción XXI de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4o. de la Ley Federal del Procedimiento Administrativo; 3o. fracciones XXIV, 13 apartado A, fracciones I y II, 17 bis fracciones II y III, 17 bis2, 114, 115, fracción VII, 194 fracción I, 197, 199, 201, 205, 210, 212, 215 fracción I, 216 de la Ley General de Salud; 38 fracción II, 40 fracciones I, II y XI, 41, 43, 46, 47 fracciones III y IV de la Ley Federal de Metrología y Normalización; 28 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 1o. fracción VII, 4o., 8o., 13, 15, 25, 30, 112, 113, 116, y quinto transitorio del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios; 2o. inciso C, fracción X y 36 del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud; 3o. fracción I inciso C y fracción II, 10 fracciones IV y VIII y 12 fracción III del Reglamento de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito ordenar la publicación en el Diario Oficial de la Federación de la Norma Oficial Mexicana NOM-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.

5.2.2.8 Aditivos para alimentos.

Sólo está permitido utilizar los aditivos señalados en el Apéndice Normativo A.

5.2.3 Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas

Los productos objeto de este apartado, deben cumplir con las siguientes especificaciones:

5.2.3.1 Microbiológicas.

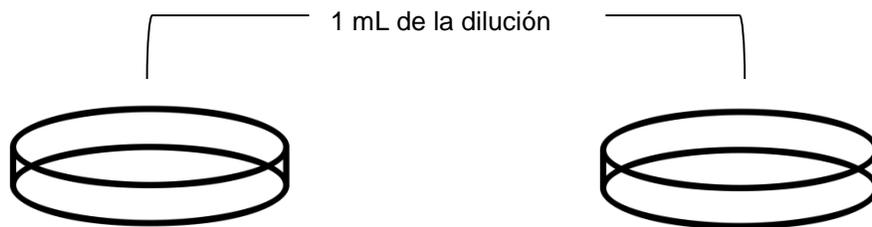
Especificaciones	Límite máximo
Mesofílicos aerobios	10 000 UFC/g
Hongos	300 UFC/g
Coliformes totales	<30 UFC/g
* <i>Salmonella</i> spp en 25 g	negativa

ANEXO N° 17

DETERMINACIÓN DE HONGOS



Dilución 10^{-1} Agua Peptonada (*Escherichia coli*)



Adicionar a cada placa 20 mL de Agar Papa Dextrosa y mezclar el medio en el sentido contrario al reloj.



Invertir las cajas y conservar a Temperatura Ambiente

Figura N° 26 Procedimiento de la Identificación de hongos.

ANEXO N° 18

RESULTADOS DE PRIMER MUESTREO

Tabla N°13 Resultados de Pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp* de Semillas a granel del primer muestreo.

Muestras (Código)	Prueba	Resultado Esperado	Resultado o Obtenido	Observaciones
SSL.MD	TSI	Positivo (Producción de H ₂ S y Gas)	Positivo	Formación de gas y H ₂ S.
	CITRATO	Positivo	Positivo	Coloración azul en el bisel.
	MOVILIDAD	Positivo	Positivo	Movilidad más allá de la punzada de siembra.
	INDOL	Negativo	Negativo	No hubo formación del anillo violeta.
	ROJO DE METILO	Positivo	Positivo	Cambio de color de amarillo a rojo.
	VOGES-PROSKAUER	Negativo	Negativo	No cambio de color de amarillo a rojo.
SSL.ALM ENDRA	TSI	Positivo (Producción de H ₂ S y Gas)	Positivo	No hubo formación de gas y H ₂ S.
	CITRATO	Positivo	Positivo	Coloración azul en el bisel.
	MOVILIDAD	Positivo	Positivo	Movilidad más allá de la punzada de siembra.
	INDOL	Negativo	Negativo	No hubo formación del anillo violeta.
	ROJO DE METILO	Positivo	Positivo	Cambio de color de amarillo a rojo.
	VOGES-PROSKAUER	Negativo	Negativo	No cambio de color de amarillo a rojo.

Tabla N°14 Resultados de Pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp* de Semillas empacadas de la marca PRO del primer muestreo.

Muestras (Código)	Prueba	Resultado Esperado	Resultado Obtenido	Observaciones
SMVPM	TSI	Positivo (Producción de H ₂ S y Gas)	Positivo	Formación de gas y H ₂ S.
	CITRATO	Positivo	Positivo	Coloración azul en el bisel.
	MOVILIDAD	Positivo	Positivo	Movilidad más allá de la punzada de siembra.
	INDOL	Negativo	Negativo	No hubo formación del anillo violeta.
	ROJO DE METILO	Positivo	Positivo	Cambio de color de amarillo a rojo.
	VOGES-PROSKAUER	Negativo	Negativo	No cambio de color de amarillo a rojo.

ANEXO N°19

RESULTADOS DE SEGUNDO MUESTREO

Tabla N°15 Resultados de Pruebas Bioquímicas para *Salmonella spp* de Semillas a granel del segundo muestreo.

Muestras (Código)	Prueba	Resultado Esperado	Resultado Obtenido	Observaciones
SSLPEPITA	TSI	Positivo (Producción de H ₂ S y Gas)	Positivo	Formación de gas y H ₂ S.
	CITRATO	Positivo	Positivo	Coloración azul en el bisel.
	MOVILIDAD	Positivo	Positivo	Movilidad más allá de la punzada de siembra.
	INDOL	Negativo	Negativo	No hubo formación del anillo violeta.
	ROJO DE METILO	Positivo	Positivo	Cambio de color de amarillo a rojo.
	VOGES-PROSKAUER	Negativo	Negativo	No cambio de color de amarillo a rojo.
SMCMACADAMIA	TSI	Positivo (Producción de H ₂ S y Gas)	Positivo	Formación de gas y H ₂ S.
	CITRATO	Positivo	Positivo	Coloración azul en el bisel.
	MOVILIDAD	Positivo	Positivo	Movilidad más allá de la punzada de siembra.
	INDOL	Negativo	Negativo	No hubo formación del anillo violeta.
	ROJO DE METILO	Positivo	Positivo	Cambio de color de amarillo a rojo.
	VOGES-PROSKAUER	Negativo	Negativo	No cambio de color de amarillo a rojo.