

99-43975

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



*Aurora Aguado*

EVALUACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE LECHE EN POLVO  
COMERCIALIZADAS EN LA CIUDAD DE SAN SALVADOR

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR  
IVETTE ODILIA CASTILLO RAMOS  
CARMEN IVETTE ROSA CUBIAS  
CLAUDIA REBECA SUAREZ GIRON

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA



DICIEMBRE, 1999

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA



© 2001, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

T-UES  
1601  
C 3782

Ej 2

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

**DR JOSE BENJAMIN LOPEZ GUILLEN**

**SECRETARIO**

**LIC ENNIO ARTURO LUNA**

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

**DRA KENNY LUZ DE MARIA SOSA**

**SECRETARIO**

**LIC MARIA ISABEL RAMOS DE RODAS**

## **ASESORES**

LIC CORALIA FIGUEROA DE MURILLO

LIC JULIO CESAR VALLE VALDEZ

## **JURADO CALIFICADOR**

LIC NORMA ELIZABETH ZELAYA

LIC MERCEDES GOMEZ DE DIAZ

LIC MERCEDES HEYDI CORTEZ

## **AGRADECIMIENTOS**

- A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
- A LA FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
  - A NUESTROS ASESORES
  - AL JURADO CALIFICADOR

**A LOS SEÑORES LABORATORISTAS Y DE BODEGA**

**Por contribuir de una u otra forma en nuestra formación profesional**

## DEDICATORIA

### A DIOS TOSO PODEROSO:

Por la vida, salud, cuidado, y amor que siempre me ha brindado en todo camino y momento

### A MI MADRE:

ANA CECILIA, por su amor, comprensión y apoyo en todo momento, por los sacrificios hechos para lograr mi preparación y superación

### A MI HERMANA:

Karen, por su cariño y apoyo por mi sobrinita que es una luz en nuestras vidas

### A MIS ABUELOS:

Irma, Cheche, Lupe por la preocupación y cariño demostrado

A la memoria de mis abuelos maternos: María Antonia y Clemente (QDDG) por todo su cariño

### A MIS PRIMOS Y SOBRINOS:

Por preocuparse y por el cariño demostrado

### A LA FAMILIA ESTRADA RAMOS

Mariana y Manuel, Marianita, Manuelito y Paquito por todo su cariño y apoyo

### A MIS COMPAÑERAS DE TESIS:

Carmen y Rebeca por la paciencia, cariño y comprensión en los momentos más difíciles de nuestro trabajo por la fe que depositaron en mí

### A MIS AMIGOS

## DEDICATORIA

### A DIOS TODOPODEROSO:

Por el don de la vida y por permitir la culminación de todo un sueño

### A MARIA SANTISIMA:

Por acompañarme siempre y ser una luz en mi camino

### A MIS PADRES:

Jorge y Carmen por ser el pilar de mi hogar, por todo su apoyo incondicional y sacrificio por compartir conmigo tristezas y alegrías en todo momento, por los principios inculcados, por el consejo oportuno y sobre todo ser mis papás

### A MIS HERMANOS:

Mario, Marie, Cocki y Diego por aguantar mis malos ratos y apoyarme en todo momento

### A UNA PERSONAS SUPER ESPECIAL EN MI VIDA:

Por todo su amor y comprensión

### A MIS COMPAÑERAS DE TESIS:

Rebeca e Ivette por la paciencia y cariño demostrado y sobre todo su esfuerzo, sin ellas este sueño aún no sería posible

### A MIS FAMILIARES Y AMIGOS:

Por las muestras de cariño recibidas y por su preocupación constante

## DEDICATORIA

**A JEHOVA DIOS :**

Por iluminarme en todos los días de mi vida

**A MI MADRE CLELIA VIUDA DE SUÁREZ**

Por apoyarme en toda mi carrera y en todo momento

**A MI AMIGO Y ASESOR JULIO CESAR VALLE VALDÉS :**

Por ser tan especial, solidario, paciente y por brindarme su amistad, pero sobre todo por creer en mi

**A MIS COMPAÑERAS DE TESIS CARMEN ROSA E IVETT CASTILLO:**

Por su comprensión, apoyo, cariño y por creer en este proyecto desde el principio de su concepción

**A MIS AMIGOS OSCAR, LIGIA, CHAMBA, NORA, CLAUDIA, DOÑA GRICELDA Y MIS COMPAÑEROS DE UNIVERSIDAD:**

Por compartir su vivencias, alegrías y esperanza en momentos buenos y malos

**A LA FAMILIA SALAZAR, FAMILIA ROSA, FAMILIA PORTILLO, FAMILIA VEGA Y FAMILIA JULIAN:**

Por hacerme sentir parte de ellas cuando mas lo necesitaba

**A MI HERMANO JOSE MAURICIO:**

Por demostrarme su gran amor filiar

**A MI MAESTRO RENE AMERICO FERNÁNDEZ ( Q D D G ):**

Por encender la llama del conocimiento e incentivar me a estudiar esta carrera

**A LA ASOCIACION DE ESTUDIANTE DE QUIMICA Y FARMACIA ( ASEQFBO)**

Por desarrollar mis capacidades en otras áreas de la vida

**A LOS DOCENTES DE LA FACULTAD:**

Por formarme y compartir con los estudiantes sus conocimientos

Y a todos los que de alguna u otra forma a formado parte de mi vida durante estos 6 últimos años

**DEDICO ESTE TRABAJO GRADUACION COMO SIMBOLO DE AGRADECIMIENTO**

## INDICE

	Pág
INTRODUCCION	
OBJETIVOS	
CAPITULO I FUNDAMENTOS TEORICOS	4
1 Leche en polvo	5
1 1 Generalidades	5
1 2 Definición	6
1 3 Clasificación	7
1 4 Métodos de producción	8
2 Características microbiológicas	12
2 1 Microorganismos de importancia en los alimentos	12
2 2 Microbiología de los alimentos deshidratados	12
2 2 1 Antes de su recepción en la planta de tratamiento	13
2 2 2 Durante la estadía en la fábrica y antes del proceso de secado	13
2 2 3 Durante la desecación	13
2 2 4 Después de la desecación	14
2 3 Flora normal	14
2 4 Flora contaminante	15
2 5 Factores de contaminación	16
2 5 1 Medio ambiente	16
2 5 2 Agua	16
2 5 3 Condiciones de ordeño	17
2 5 4 Personal	17
2 5 5 Limpieza de utensilios y equipos	17
2 5 6 Area de producción	18
2 5 7 Envase y material de empaque	18



2 6 Factores que afectan el crecimiento de los microorganismos	18
2 6 1 Nutrientes	19
2 6 2 Concentración de iones hidrógeno (pH)	19
2 6 3 Temperatura	20
2 6 4 Oxígeno	21
2 6 5 Humedad	22
2 7 Parámetros de calidad microbiológica	22
2 7 1 Parámetros indicadores	22
2 7 1 1 Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios	23
2 7 1 2 Bacterias coliformes	24
2 7 1 3 Bacterias coliformes fecales	24
2 7 2 Parámetros patógenos	25
<b>CAPITULO II PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>27</b>
<b>1 Investigación de campo</b>	<b>28</b>
1 1 Universo de trabajo	28
1 2 Diseño de muestreo	29
1 2 1 Muestra de supermercados	29
1 2 2 Muestras de leches en polvo	32
<b>2 Metodología de análisis</b>	<b>34</b>
2 1 Recolección de muestras	34
2 2 Mantenimiento de muestras	35
2 3 Pre-tratamiento de muestras	35
2 4 Preparación de diluciones de la muestra	36
2 5 Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios	38
2 5 1 Procedimiento de análisis	38
2 6 Recuento de coliformes totales y determinación de <i>Escherichia coli</i> por el método del número más probable (Método BAM modificado)	40
2 6 1 Coliformes totales	40

2 6 1 1 Ensayo presuntivo	40
2 6 1 2 Ensayo confirmativo	40
2 7 Ensayo de <i>Escherichia coli</i>	43
<b>CAPITULO III ANALISIS DE RESULTADOS</b>	<b>47</b>
1 <b>Análisis de resultados</b>	<b>48</b>
1 1 Resultados de análisis microbiológicos de las marcas analizadas	59
1 1 1 Recuento total de mesófilos aerobios	59
1 1 2 Recuento de coliformes totales	59
1 1 3 <i>Escherichia coli</i>	59
2 <b>Apreciación global de los resultados de todas las marcas analizadas</b>	<b>59</b>
<b>CAPITULO IV CONCLUSIONES</b>	<b>64</b>
<b>CAPITULO V RECOMENDACIONES</b>	<b>69</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## INTRODUCCION

Con el constante crecimiento demográfico, la demanda de alimentos con un tiempo de vida prolongado, precio razonable y facilidad de preparación se ha visto incrementada, por lo que surge la necesidad de desarrollar diferentes productos que cumplan con tales características, además de poseer una calidad sanitaria que cumpla con los estándares establecidos para el consumo humano. Sin embargo, el aspecto sanitario ha sido relegado a un último lugar.

La leche de vaca ha sido definida como el alimento más completo porque contiene proteínas, vitaminas A y B. Su elevado contenido de calcio contribuye a formar y conservar fuertes los huesos y dientes. Al aplicar a la leche fluida el proceso de evaporación o deshidratación del agua, se obtiene como resultado la leche en polvo, producto que puede ser reforzado con vitaminas A, C y D, minerales como calcio, hierro y otros.

La leche en polvo es uno de los alimentos que los salvadoreños consumen significativamente en sus hogares, además de ser usada ampliamente en la industria alimenticia por sus múltiples ventajas para la elaboración de leches reconstituidas, quesos, yogurt, helados, etc.

Las diferentes industrias de alimentos y en este caso las productoras y emparadoras de leche en polvo deben garantizar la calidad y seguridad de sus productos, desde la materia prima, procesamiento, envasado, almacenamiento, distribución, venta y consumo final, para lo cual deben contar con sistemas de aseguramiento de la calidad.

Los microorganismos que contenga la leche en polvo pueden tener diferentes fuentes de contaminación desde la obtención de la materia prima, su manipulación y los tratamientos a que se somete durante la industrialización, pudiéndose introducir microorganismos patógenos que son perjudiciales para la salud del consumidor.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la calidad microbiológica de diferentes marcas de leche en polvo, comercializadas en la ciudad de San Salvador, estableciendo si dichos productos son aptos o no para el consumo humano

Para evaluar dicha calidad se investiga los parámetros indicadores de recuento total de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y *Escherichia coli*, empleando para tal fin, la metodología establecida en el Manual de Análisis Bacteriológico (Bacteriological Analytical Manual, BAM-7) de la Administración de Alimentos y Drogas (Food and Drug Administration, FDA) en su séptima edición (1992)

Se utilizan los límites microbiológicos establecidos en la Norma Centroamericana ICAITI 34044 con fecha de enero de 1976 denominada "Leche en polvo" elaborada por el Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI)

## Objetivos

### 1 Objetivo General

Evaluar microbiológicamente la calidad de la leche en polvo comercializada en la ciudad de San Salvador

### 2 Objetivos Específicos

- 2 1 Establecer las marcas de leche en polvo de mayor consumo en la ciudad de San Salvador
- 2 2 Determinar los recuentos de los siguientes parámetros indicadores:
  - 2 2 1 Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios
  - 2 2 2 Recuento de coliformes totales
- 2 3 Determinar la presencia de *Escherichia coli* en la leche en polvo
- 2 4 Evaluar de acuerdo a los resultado microbiológicos, si la leche en polvo comercializada en la ciudad de San Salvador está apta para el consumo humano o representa un riesgo para la salud del consumidor
- 2 5 Dar recomendaciones que contribuyan a asegurar la calidad microbiológica de la leche en polvo

**CAPITULO I**  
**FUNDAMENTOS TEORICOS**

## CAPITULO I

### FUNDAMENTOS TEORICOS

#### 1 Leche en polvo

##### 1 1 Generalidades

La producción de leche en polvo y el mejoramiento de su calidad, se vió impulsada durante la Segunda Guerra Mundial, por ser la leche desecada el producto más concentrado que podía hacerse de la leche

En la actualidad todos los productos secos de la leche tienen ciertas propiedades en común. Así, todos los que se han secado por pulverización tienen índices altos de solubilidad. Casi todos los productos lácteos secos se caracterizan por su elevada higroscopicidad, tienen que empaquetarse de modo que no puedan absorber humedad.

En los productos lácteos secos, el elevado contenido de humedad es perjudicial debido al oscurecimiento y a las reacciones que producen sabores extraños cuando el contenido de humedad es mayor del 4%. Este y otros factores perjudican la calidad de la leche en polvo, entre éstos pueden incluirse aquellos que provienen de la materia prima, la leche fluida, del proceso de obtención y las condiciones en que se realice, sumándose a lo anterior las sustancias que se le pueden agregar para alterar la leche. Por ejemplo, la adición de agua, realizado por el productor para obtener mayores utilidades, además de disminuir su calidad, suele contaminarla por la inoculación de los microorganismos que contiene, por lo que al emplearla en la leche en polvo provoca que la última también sea un producto contaminado.

Las leches en polvo que se encuentran en el comercio son de muy diversas calidades. La leche en polvo reconstituida debe tener las cualidades de leche pasteurizada, cualquiera que sean las condiciones de conservación del polvo (tiempo, clima) (11)

## 1.2 Definición

La leche en polvo es el producto obtenido por la eliminación o extracción del agua, por diferentes métodos, que incluyen el secado en rodillos y el procedimiento de pulverización, ya sea de la leche fluida entera, semidescremada o descremada previamente pasteurizada.

Entre las características de este producto tenemos que debe presentar un contenido máximo de materia grasa de 40% m/m, ser un polvo homogéneo de color uniforme, blanco o crema claro, estará libre de partículas aglomeradas, partículas quemadas y de materia extraña (10)

Las cualidades que se exigen de una buena leche en polvo son:

- 1 Buena solubilidad que permita obtener fácilmente una solución homogénea, exenta de partículas macroscópicas
- 2 Un sabor agradable, lo que implica la ausencia de defectos muy comunes, como sabor a cocido, óxido, o rancio
- 3 Valor nutritivo inalterado y calidad higiénica garantizada



### **1 3 Clasificación**

La leche en polvo se clasificará, según sus características en los siguientes tipos:

#### **a) Tipo I**

La leche tipo I o leche entera en polvo es el producto obtenido por la deshidratación de la leche fresca de vaca, previamente pasteurizada, que cumple con las siguientes características (10) :

- **Materia grasa mínimo 26% en masa**
- **Humedad máximo 4% en masa**
- **Acidez máximo 1 5% en masa (expresada como ácido láctico)**
- **Cenizas máximo 7% en masa**
- **Proteínas mínimo 25% en masa**

#### **b) Tipo II**

La leche tipo II o leche parcialmente descremada en polvo es el producto obtenido por la deshidratación de la leche fresca de vaca, pasteurizada, a la que previamente se le ha eliminado parte de la grasa y que cumple con las siguientes características físicas y químicas (10):

- **Materia grasa menos de 26% y más de 1 5% en masa**
- **Humedad máximo 5% en masa**
- **Acidez menos de 2% y más de 1 5% en masa (expresada como ácido láctico)**
- **Cenizas menos de 9% y más de 7% en masa**
- **Proteínas mínimo 25% en masa**

### c) Tipo III

La leche tipo III o leche descremada en polvo es el producto obtenido por la deshidratación de la leche fresca de vaca, pasteurizada, a la que previamente se le ha eliminado casi la totalidad de la grasa, cuyos requisitos de sus características físicas y químicas son (10):

- Materia grasa máximo 1.5% en masa
- Humedad expresada en porcentaje en masa máximo 5%
- Acidez máximo 2% en masa (expresada como ácido láctico)
- Cenizas máximo 9% en masa
- Proteínas mínimo 33% en masa

### d) Leche instantánea

La leche instantánea, es la leche en polvo que presenta gran facilidad para solubilizarse al mezclarla con el agua. Esta facilidad para incorporarse al agua se debe a que contiene pequeñas cantidades de emulsionante como (4):

- Mono- y di- gliceridos, 2500 mg/Kg
- Lecitina, 5000mg/Kg

## 1.4 Métodos de producción

Hasta finales del siglo XIX no se había conseguido preparar mediante un procedimiento perfeccionado una leche en polvo utilizable por el ser humano como alimento. En la actualidad existen dos modos de preparación distintos en principio, el secado en rodillos y el procedimiento de pulverización (14).

Los métodos anteriormente mencionados son los métodos clásicos y éstos se aplican generalmente a la leche previamente concentrada

#### **1 4 1 Método secado en rodillos(procedimientos Hartmaker y variantes, "Roller")**

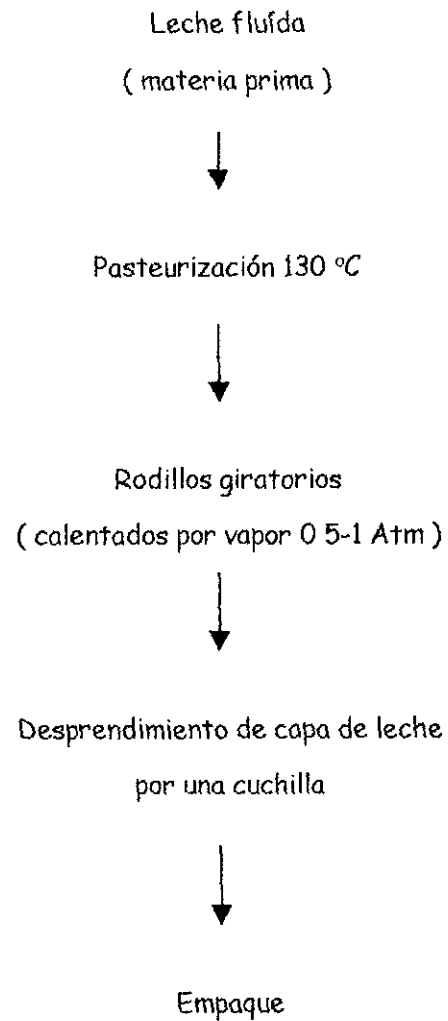
En este método existen a su vez dos rodillos calentados interiormente mediante vapor (115-130°C), y que giran en sentido inverso, la capa que se forma rápidamente se separa por medio de una cuchilla. El calentamiento es muy energético, y el producto obtenido presenta muy poca solubilidad en el agua, en general se reserva para la alimentación animal. La leche utilizada puede no ser de primera calidad. Si es muy ácida se neutraliza previamente con una base, casi siempre hidróxido de sodio (5)

#### **1 4 2 Método por pulverización de la leche en una corriente de aire caliente (procedimiento de niebla, "Spray" o "atomización")**

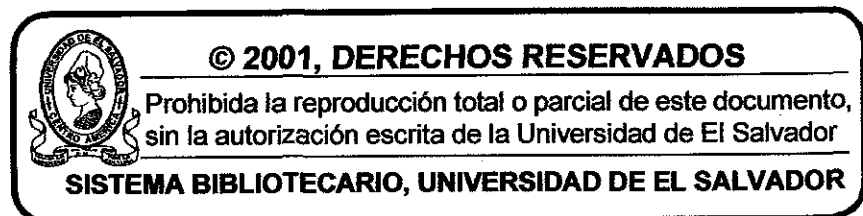
La leche se somete previamente a un tratamiento de ultra-alta temperatura (130° durante algunos segundos) y luego se pulveriza en el interior de una "torre" de secado mediante una corriente de aire caliente a 120-130°. La calidad del polvo depende de la concentración de la leche. La leche natural dá un polvo fino y no muy ligero, la masa pulverulenta ocupa un gran volumen y retiene mucho aire, lo que aumenta el riesgo de alteración por oxidación. El diámetro óptimo de las partículas parece ser de unas 100 micras. La preconcentración de la leche es necesaria (5)

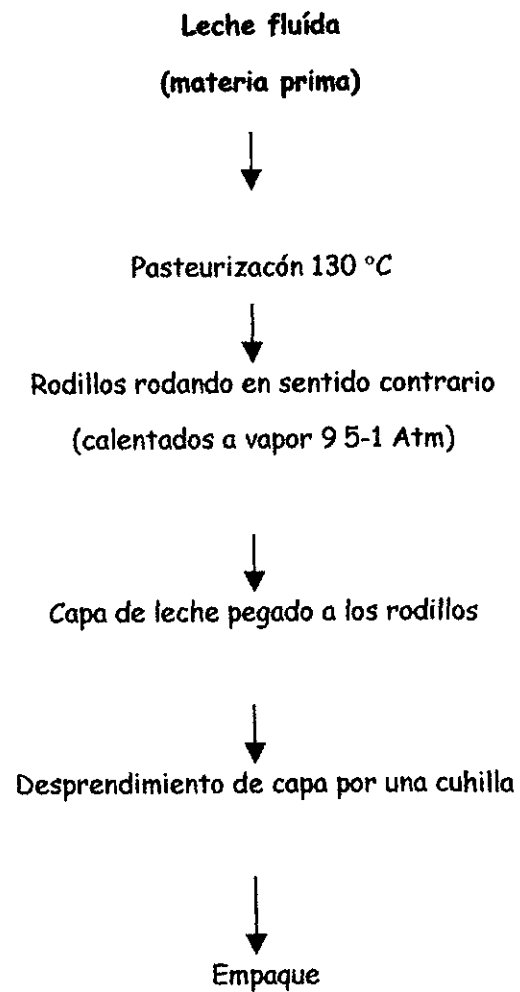
La desecación es instantánea, de modo que el polvo obtenido es más soluble en agua a la temperatura ordinaria que el obtenido por el sistema de rodillos. Esta leche en polvo se utiliza para la alimentación humana, ya sea directa o indirectamente en las galletas, chocolates, helados, yoghurt, etc

Esquema No 1 1  
Proceso de producción de la leche en polvo por el método  
de secado en rodillo ( Roller)



(14)



**Esquema No 1 2****Proceso de producción de la leche en polvo por el método  
secado en rodillo (Roller)**

## **2 Características microbiológicas**

### **2 1 Microorganismos de importancia en los alimentos**

Los microorganismos de interés en una evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos pueden dividirse en microorganismos indicadores, patógenos y putrefactivos

Los microorganismos indicadores tales como coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos y *Escherichia coli* tipo I revelan la posible presencia de ciertos patógenos, además de revelar un manejo poco higiénico del proceso de producción

Los microorganismos que producen infecciones o intoxicaciones, transmisibles por los alimentos son llamados microorganismos patógenos como por ejemplo *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Clostridium botulinum*, etc

Los microorganismos putrefactivos pueden ser bacterias proteolíticas y/o lipolíticas, levaduras y mohos que degeneran los alimentos de tal forma que cambian su olor, sabor y aspecto, haciéndolos inservibles para su consumo humano (7)

### **2 2 Microbiología de los alimentos deshidratados**

En la deshidratación de los alimentos se dá una serie de fases, las cuales tiene puntos críticos de contaminación microbiológica, es por eso que a continuación se describen las etapas más importantes del proceso de desecación de la leche en polvo, desde la obtención de la leche de la vaca hasta su rehidratación para su consumo

### **2 2 1 Antes de su recepción en la planta de tratamiento**

La leche líquida antes de su recepción en la planta procesadora contiene una carga alta de microorganismos, el crecimiento de muchos de éstos puede iniciarse a pesar de que se utilicen métodos para evitar su desarrollo

### **2 2 2 Durante la estadía en la fábrica y antes del proceso de secado**

Al llegar a la planta la leche es manipulada por el personal y es colocada en equipos que pudiesen estar contaminados, lo que contribuiría al aumento de la carga microbiana. Ciertos tratamientos previos al proceso de secado como la pasteurización de la leche disminuyen casi por completo los microorganismos que crecen durante su obtención o manipulación, pero esta puede contaminarse después del tratamiento

El aumento de la carga microbiana también puede deberse al uso de agua de mala calidad, a pesar de que se elimina durante el proceso de secado

### **2 2 3 Durante la desecación**

La aplicación de calor (115-130°C) durante la desecación, reduce el número total de microorganismos, disminución que varía con la clase y cantidad de gérmenes originalmente presentes

La desecación generalmente destruye las levaduras y la mayoría de las bacterias, pero las esporas bacterianas o fúngicas suelen sobrevivir, lo mismo que las formas vegetativas de algunas bacterias termorresistentes (8)

## 2 2 4 Después de la desecación

Si la desecación y las condiciones de almacenamiento son adecuados los microorganismos no se desarrollan en la leche en polvo

Los microorganismos que resisten a la desecación se desarrollan aumentando su número en el producto final. Durante el empaquetado y otras manipulaciones existe cierto riesgo de contaminación. La mayoría de las leches en polvo se vuelven a reempacar, para su venta al por menor y en este proceso están expuestas a nueva contaminación.

El grado de pureza del agua utilizada para hidratar la leche en polvo puede afectar la calidad de la misma (8)

## 2 3 Flora normal

Para destruir completamente todos los microorganismos de la leche se necesita someterla a tratamientos térmicos muy drásticos lo que ocasiona transformaciones en la leche, principalmente en el olor y el sabor.

Para poder eliminar los microorganismos y principalmente los que son patógenos se ideó el proceso de pasteurización. Los tiempos y temperaturas fijadas, aseguran la destrucción de los microorganismos patógenos (*Salmonella sp*, *Brucella sp*, *Mycobacterium tuberculosis*) pero no destruye a los microorganismos que se encuentran en las glándulas mamarias, que pueden acidificar la leche, por ejemplo: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Lactobacillus sp*. El grupo de *Enterococcus* son relativamente termoestables por lo que es normal que sobrevivan a los altos tratamientos térmicos que sufre la leche fluida al pasar a leche en polvo, por lo que es frecuente encontrarlos en ella (1)



El género *Mycobacterium* es un bacilo gram positivo relativamente pequeño, se encuentra regularmente en las máquinas de ordeñar y utensilios en contacto con la leche. Proceden posiblemente del intestino de las vacas, ya que se encuentran en grandes cantidades en los excrementos de ésta. Pertenece al grupo de bacteria más resistentes al calor dentro de las esporuladas, sobreviven incluso parcialmente a la pasteurización alta (130°C por unos segundos)(1)

En el caso de la leche en polvo, las temperaturas a las que se ve sometida para su obtención es de 115 - 130 °C, dependiendo del método escogido, por lo que las bacteria, hongos y levaduras son eliminados, pero cabe la posibilidad de que esporas, bacterias termófilas o las toxinas producidas puedan sobrevivir a tales condiciones (5)

De allí el motivo de la determinación del número de microorganismos por el método en placa, donde eventualmente se detecte la presencia de microorganismos

#### 2.4 Flora contaminante

Muchos de los microorganismos que contaminan la leche en polvo llegan a esta a través de diferentes factores como medio ambiente, materia prima, aguas, equipos y utensilios, envase, materiales de empaque y el personal que manipula el producto, dichos factores pueden transmitir al producto microorganismos como (5):

- a) Enterobacterias: *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Klebsiella*, etc
- b) Enterococcus: *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus faecium*, *Staphylococcus durans*
- c) Microorganismos esporulados: *Lactobacillus*, *Clostridium* y bacterias butíricas
- d) *Corynebacterium difteriae*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella*, *Shigella*, etc
- e) Bacterias gramnegativas como: *Pseudomona*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*

## **2 5 Factores de contaminación**

### **2 5 1 Medio ambiente**

Los microorganismos que se encuentran suspendidos en el aire son contaminantes del medio ambiente, ejemplo las bacteria del tipo enterobacterias y algunas veces enterococos, los excrementos y la paja son otros contaminantes del medio ambiente donde pueden encontrarse microorganismos esporulados (13)

En las plantas de producción de leche en polvo pueden encontrarse este tipo de microorganismos, a pesar que el equipo es completamente sellado, existe la posibilidad de contaminación en alguno de los puntos críticos del proceso ( enfriamiento, pasteurización, empackado y otros) así como en la etapa de envasado de la leche, dando la posibilidad de presencia de bacterias en la leche en polvo

### **2 5 2 Agua**

El agua es el elemento auxiliar más importante para la industria de la leche, sin agua la transformación de la leche cruda en productos lácteos sería totalmente imposible. Si el agua que se utiliza en estos procesos contiene un alto número de microorganismos y bacterias patógenas, puede convertirse en fuente de contaminación. Esto dará como resultado, defectos en la producción, así como la disminución de la calidad de los productos, resultando en perjuicios a la salud del consumidor. También hay que tomar en cuenta el agua de rehidratación que utiliza el usuario para regenerar el producto.

La leche en polvo no contiene agua ya que ésta se ha evaporado, pero el agua de la materia prima puede dejar esporas de microorganismos que pueden desarrollarse en condiciones adecuadas ya sea cuando la leche se encuentre en la bodega o en el estante de venta.

### 2 5 3 Condiciones de ordeño

La contaminación de la leche fluida se debe principalmente a las malas condiciones de limpieza de los animales, es fácil que durante el ordeño se depositen partículas como excremento, tierra, vegetales o alimentos (13)

Cabe decir que la contaminación de la leche en polvo en este caso, puede deberse a las esporas sobrevivientes de los procesos de transformación de leche fluida a leche en polvo, ya que dichas esporas son termorresistentes o también pueden darse casos de procesos con temperaturas poco controladas donde sobrevivan microorganismos

### 2 5 4 Personal

El personal que opera los equipos de ordeño también es una fuente de contaminación, sobre todo cuando esto se hace manualmente, debido a que las manos del ordeñador están en contacto directo con las mamas del animal, en la planta de producción de la leche en polvo y en las áreas de empaque y envase el personal a cargo puede convertirse en fuente potencial de contaminación. El personal es la fuente más común de contaminación por ser una variable difícil de controlar

### 2 5 5 Limpieza de utensilios y equipos

La forma de los aparatos y equipos puede favorecer el desarrollo de microorganismos ya que ciertos ángulos y rugosidades de éstos son difíciles de lavar, lugares en los que se almacenan residuos de la materia prima o de producto terminado. Entre los microorganismos que pueden encontrarse en los utensilios y maquinaria están algunas bacterias gramnegativas (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *Enterobacteria*) y bacterias termorresistentes como *Enterococos*, *Streptococcus thermophilus*, *Micrococcus luteus*, etc (13)

Por lo que el equipo debe estar sujeto a un programa de evaluación del grado de contaminación del mismo y, que además permita determinar los períodos y los procesos de limpieza y desinfección que debe aplicárseles

#### **2 5 6 Area de producción**

Esta área debe estar sometida a un programa de control ambiental, ya que algunos microorganismos, muchos hongos y levaduras emplean el aire como medio de transporte para alcanzar los substratos donde se desarrollaran (12)

#### **2 5 7 Envase y material de empaque**

Estos materiales deben someterse a los procesos de limpieza y desinfección adecuados al material de que están fabricados. La mayoría, si no bien todas las leches en polvo vienen en empaque aluminizados, que reducen la permeabilidad de la humedad por completo y la posibilidad que se introduzcan microorganismos del medio ambiente, disminuyendo el riesgo de una posible proliferación microbiana en el producto

#### **2 6 Factores que afectan el crecimiento de los microorganismos**

Los alimentos son un medio de cultivo adecuado que proveen todos los nutrimentos requeridos para que los microorganismos se desarrollen, además factores tales como pH, temperatura, oxígeno y humedad entre otros que propician el crecimiento de microorganismos, deberán ser controlados para evitar el desarrollo de posibles bacterias viables (7)

La leche en polvo contiene dichos nutrientes por su composición alta en grasas, proteínas y condiciones características tales como un pH, casi neutro que la hace fácil de ser invadida por bacterias y hongos propiciando las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo de ellas

### **2 6 1 Nutrimientos**

Con el objeto de crecer y multiplicarse, un microorganismo requiere que todos los elementos de su materia orgánica y el complemento total de iones necesarios para la producción de la energía y la realización de catálisis, elementos como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre e iones como: potasio, sodio, hierro, magnesio, calcio y cloruro, por lo que se requiere que estos y otros nutrimentos se encuentren en el medio que habitan

### **2 6 2 Concentración de iones hidrógeno (pH)**

El potencial de hidrógeno es una medida expresada en función de la concentración de iones hidrógeno, dicha medida nos determina la alcalinidad y acidez relativa

La mayoría de la bacterias crecen en rangos de pH entre 6.0 a 7.5 tendiendo la mayoría a crecer en un pH 7.0. Con los hongos y levaduras el pH adecuado para su desarrollo oscila en rangos amplios de pH, prefiriendo las condiciones ligeramente ácidas. Dependiendo a los rangos de pH donde los microorganismos tienen condiciones de crecimiento, se tiene la siguiente clasificación:

Tabla No 1 1

Clasificación de los microorganismos por su pH óptimo de crecimiento

Microorganismos	pH óptimo de crecimiento
Acidófilos	PH $\leq$ 5
Neutrófilos	PH entre 5.4 y 8.5
Basófilos	PH entre 7.0 y 11.5

(8)

La mayoría de microorganismos patógenos para los seres humanos son neutrófilos

En el caso de la leche en polvo por su pH casi neutro se convierte en un medio propicio para el desarrollo de bacterias y hongos que se encuentran en el medio ambiente de producción, áreas de envase o en el personal (8)

### 2 6 3 Temperatura

Entre las diferentes especies microbianas la temperatura óptima para su desarrollo varía ampliamente, por lo que se les ha clasificado de la siguiente forma:

Tabla No 1 2

Clasificación de los microorganismos por sus temperaturas óptimas de crecimiento

Tipo de Microorganismos	Temperaturas adecuadas de crecimiento
Psicrófilos	15 a 20 °C
Mesófilos	30 a 37 °C
Termófilos	50 a 60 °C

(8)

Entre los efectos que produce la temperatura en la velocidad de crecimiento, se considera que: temperaturas extremas matan a los microorganismos. El calor extremo se utiliza para esterilizar los alimentos, en el caso de la leche en polvo el proceso de transformación lleva consigo el tratamiento con calor pero queda la posibilidad de que sobrevivan bacterias termófilas o sus esporas que son aún más resistentes. El frío extremo también es utilizado en la destrucción de células microbianas, esto es debido a la formación de cristales de hielo a nivel intracelular durante el congelamiento, este método no puede usarse con demasiada seguridad para la esterilización.

#### 2.6.4 Oxígeno

Los microorganismos pueden clasificarse en función de su requerimiento de oxígeno de la siguiente forma (8):

a) Aerobios

Los microorganismos aerobios son aquellos que utilizan el oxígeno como receptor final de electrones en la respiración celular.

b) Aerobios obligados

Los microorganismos aerobios obligados son aquellos que no pueden vivir en un medio sin oxígeno.

c) Anaerobios facultativos

Los microorganismos anaerobios facultativos son aquellos que realizan fermentación si el oxígeno está ausente y si éste está presente también pueden usarlo como aceptor de electrones.

d) Anaerobios

Los microorganismos anaerobios son aquellos incapaces de emplear oxígeno para la respiración celular.

e) **Anaerobios obligados**

Los microorganismos anaerobios obligados son los que no utilizan el oxígeno en la respiración celular y además pueden ser lesionados por éste

f) **Microaerofílicos**

Los microaerofílicos no toleran el desarrollarse cuando las concentraciones de oxígeno en el aire alcanzan más del 20%, ya que requieren entre el 2-10% de oxígeno para su crecimiento y desarrollo

## **2 6 5 Humedad**

Debido a que la mayoría de células de los microorganismos están formadas por agua, la necesidad de humedad que ellas presentan es elevada alrededor de un 50%, por lo que la supervivencia de la mayoría de los microorganismos en la leche en polvo se ve restringida ya que el porcentaje de humedad máximo aceptado es de 2.6 a 5 % dependiendo del tipo de leche en polvo analizada, pero sobrevivirán las bacterias en estado latente, hasta que se añadan agua suficiente para revitalizarlas. Dependiendo del porcentaje de humedad que posea un alimento se podrá establecer el tipo de microorganismos que puedan desarrollarse en ellos

## **2 7 Parámetros de calidad microbiológica**

### **2 7.1 Parámetros indicadores**

Los métodos utilizados para el aislamiento y recuento de gérmenes patógenos en los alimentos son menos eficaces cuando éstos se encuentran en un pequeño número y sobre todo cuando abundan otros microorganismos. Sin embargo para los fines de esta investigación los grupos de gérmenes o



especies que se utilizan se denominan organismos indicadores y son de gran utilidad tanto para determinar la calidad bacteriológica de la leche en polvo como la garantía que ofrece al consumidor

Si los parámetros establecidos por la industria o por las organizaciones reguladores de cada país se encuentran dentro de los límites permisibles el producto se considera apto para el consumo humano, desde el punto de vista microbiológico

#### **2 7 1 1      Recuento total de microorganismos mesófilos aerobios**

El fundamento de este método se basa en que las células microbianas que contienen las muestras de leche en polvo producen unidades formadoras de colonias o colonias visibles al verter un medio nutritivo (en este caso agar recuento en placa) sobre ellas, los resultados se expresan en número de UFC/g (Unidades formadoras de colonias por gramo) Esto se hace con cada una de las diluciones de las muestras analizadas

Este método es indicativo en aquellos casos en los que se carece de datos sobre las condiciones de higiene, los tiempos y las temperaturas a que fueron sometidos los productos durante la producción, conservación y transporte Si el número de microorganismos mesófilos aerobios es alto o varía considerablemente en el análisis de lotes diferentes, esto indica con toda probabilidad que el control microbiológico fue inadecuado durante la industrialización o tratamiento de los alimentos o durante el transporte

También un recuento fuera de los límites establecidos por la norma, indica frecuentemente la contaminación de las materias primas, además la posibilidad que el alimento se descomponga

Los microorganismos mesófilos aeróbicos pueden considerarse como organismos indicadores, advirtiéndonos de posibles intoxicaciones alimentarias pero con menos seguridad que los demás indicadores (5)

### **2 7 1 2      Bacterias coliformes**

El significado de bacteria coliforme suele aplicársele a los miembros de la familia de Enterobacteriaceae que habitan en el intestino, estas bacterias comprenden a los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter*

Los gérmenes coliformes no indican necesariamente contaminación fecal en el sentido de contacto inmediato con heces o con superficies contaminadas con heces. En un alimento industrializado, las coliformes indican un tratamiento inadecuado o una contaminación posterior al tratamiento, muy probablemente a partir de los manipuladores o de instrumentos, máquinas y superficies sucias o también a partir de la materia prima no tratada, contaminada a su vez por contacto con personas, agua, suelo, etc (5)

### **2 7 1 3      Bacterias coliformes fecales**

Este es un nuevo término surgido de los intentos para encontrar métodos rápidos y seguros de detectar la presencia de *Escherichia coli*, sin recurrir a la purificación de los cultivos o de proceder a los ensayos IMVIC

Los coliformes fecales son los que se desarrollan y fermentan la lactosa a temperaturas superiores a la normal ( 44-45 °C)

En los alimentos la presencia de coliformes fecales como la *Escherichia coli*, es por lo general el indicador de una contaminación de origen fecal, por tanto la presencia de ella es mucho más indicativa que la de otros coliformes en cuanto a la garantía de la calidad del alimento se refiere, es decir el riesgo de que pueda producir una enfermedad en el consumidor

La presencia de *Escherichia coli* en un alimento se interpreta generalmente como contaminación directa o indirecta de origen fecal

Los coliformes fecales (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*) tienen una probabilidad mayor de contener organismos de origen fecal y por ello son indicadores más seguros de contaminación fecal que los coliformes totales (5,8)

## 2 7 2 Parámetros patógenos

### *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es una bacteria que forma parte de la familia de las Enterobacteriaceae del grupo de las coliformes fecales, se caracteriza por ser un bastoncillo gram negativo, anaerobio facultativo. Además fermentan la lactosa y la glucosa produciendo ácido y gas

La *Escherichia coli* es una bacteria muy versátil y adaptable a los diferentes tipos de hábitat como cambios de pH, temperatura y osmolaridad. La presencia de esta bacteria en el intestino humano y en las heces del mismo han llevado a establecerla como un microorganismo que sirve de parámetro indicador de contaminación fecal, pero debido a su potencial patogénico es considerada un riesgo para la salud

Hay varios tipos de *Escherichia coli* que perjudican a los humanos como lo son las del tipo enterotoxigénica que produce una toxina termolábil y otra termoestable, la *Escherichia coli* enteropatogénica, la *Escherichia coli* enteroinvasora y la *Escherichia coli* enterohemorrágica

La serotipificación de la estructura antigénica de la *Escherichia coli* se basa en la distribución de los antígenos O, K, y H

Entre las enfermedades causadas por los diferentes antígenos de *Escherichia coli* están:

**Tabla No 1 3**

**Enfermedades causadas por los diferentes tipos de antígenos de la *Escherichia coli***

ENFERMEDAD	ANTIGENO
Infección del tracto urinario	K <sub>1</sub> , O tipo
Infección del tracto urinario	4,7 y 75
Meningitis neonatal	K <sup>1</sup>
Diarrea del viajero	LT

(12)

**CAPITULO II**  
**PARTE EXPERIMENTAL**

## CAPITULO II

## PARTE EXPERIMENTAL

## 1 Investigación de campo

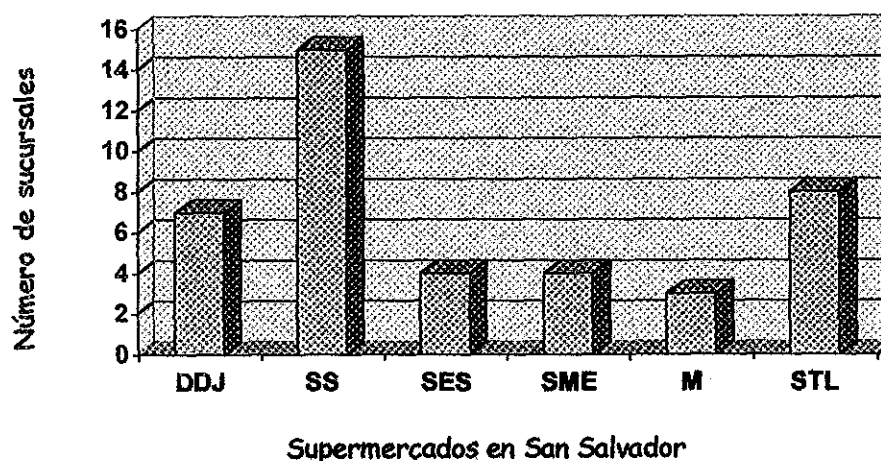
## 1.1 Universo de trabajo

El universo de la presente investigación es el grupo de 41 supermercados ubicados en las distintas zonas de la ciudad de San Salvador (ver anexo No 1 y No 2) Los detallamos a continuación: La Despensa de Don Juan (7 sucursales), Super Selectos (15 sucursales) Supermercados El Sol (4 sucursales), Supermercados Europa (4 sucursales), Multimart (3 sucursales), Supertienda La Tapachulteca (8 sucursales)

La información anterior se muestra en la tabla y gráfica siguiente:

Tabla No 2.1  
Número de los diferentes supermercados  
de la ciudad de San Salvador

Nombre del supermercado	Simbología	Número de sucursales
La Despensa de Don Juan	DDJ	7
Super Selectos	SS	15
Supermercados El Sol	SES	4
Supermercados Europa	SME	4
Multimart	M	3
Supertienda La Tapachulteca	STL	8
Total		41



Gráfica No. 2.1

Número de las diferentes sucursales de los supermercados de la ciudad de San Salvador

## 1.2 Diseño de muestreo

### 1.2.1 Muestra de supermercados

El muestreo de supermercados corresponde a un muestreo aleatorio estratificado proporcional. Se utiliza este tipo de muestreo debido a que la ciudad de San Salvador se encuentra dividida en zonas, esto para realizar la distribución del universo de supermercados. Cada zona contribuirá a construir la muestra global (anexo No. 1).

En esta investigación el porcentaje representativo de la población para el muestreo se establece del 25% (0.25) del universo de trabajo.

Por lo que el tamaño de la muestra viene dado por:

$$n = N \times 0.25 \quad (\text{Ec.1})$$

Donde:

n: número de supermercados a muestrear.

N: universo de trabajo (supermercados de la ciudad de San Salvador).

Aplicando la ecuación 1 se tiene:

$$n = N \times 0.25$$

$$n = 41 \times 0.25$$

$$n = 10.25$$

$$n = 10 \text{ supermercados}$$

Para obtener el número de supermercados con los que cada zona contribuirá para obtener la muestra global de 10 supermercados, se procede de la siguiente manera:

$$S_1 = n (N_1 / N) \quad (\text{Ec 2})$$

Donde:

$S_1$  = representa el número de supermercados con los que la zona 1 de la ciudad de San Salvador contribuirá para obtener  $n$

$N_1$  = representa el total de supermercados de la zona 1

$N$  = representa el total de supermercados en las zonas de la ciudad de San Salvador

Por la ecuación 2:

Zona 1:

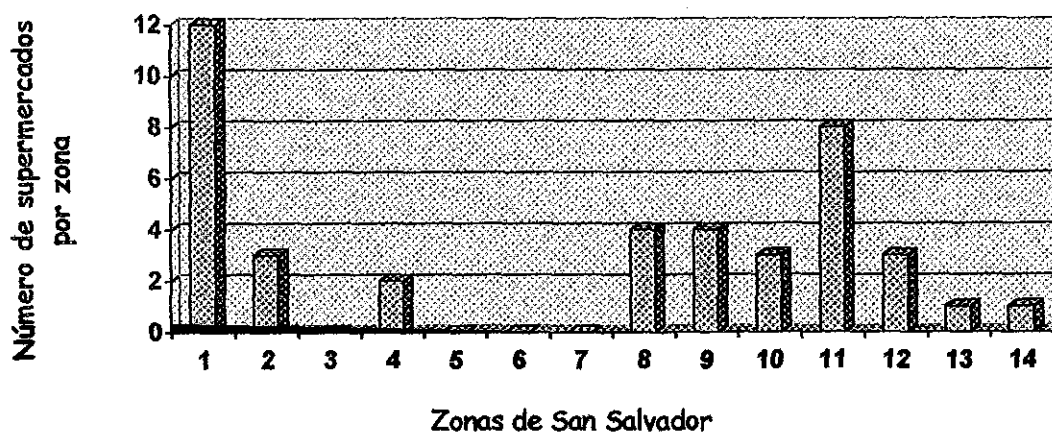
$$S_1 = 10 (12/41) = 2.93 = 3$$

La tabla 2.2 contiene los resultados de lo expuesto anteriormente. Al aplicar la fórmula para obtener el número de supermercados para la muestra global indica que el total de supermercados a muestrear son 10 (19)



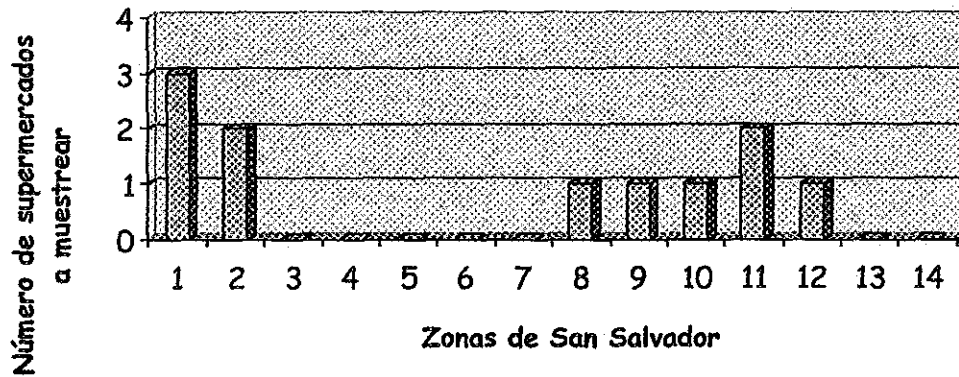
Tabla No. 2.2  
Número de supermercados a muestrear por zona

Zona	Número de supermercados por zona	Porcentaje de supermercados por zona (%)	Número de supermercados a muestrear
1	12	29.3	3
2	3	7.3	1
3	0	0.0	0
4	2	4.9	0
5	0	0.0	0
6	0	0.0	0
7	0	0.0	0
8	4	9.8	1
9	4	9.8	1
10	3	7.3	1
11	8	19.5	2
12	3	7.3	1
13	1	2.4	0
14	1	2.4	0
Total	41	100.0	10



Gráfica No 2.2

Número de supermercados por zona de San Salvador



Gráfica No. 2.3

Número de supermercados a muestrear por zona de San Salvador

### 1.2.2 Muestras de leche polvo

La extracción de las unidades de leche en polvo (muestras para análisis) se obtendrán aleatoriamente del total presente en los supermercados que se muestrearán. Para la obtención de la muestra se tomará en cuenta la variedad y la marca de la leche en polvo (ver anexo No. 4)

Debido a que existen diversas marcas de leche en polvo comercializadas en las zonas de la ciudad de San Salvador y cada una de las marcas posee su propia variedad, se procederá a tomar una muestra de cada variedad, de cada marca presente en el lugar de muestreo, en forma aleatoria, pudiéndose obtener una muestra de hasta 10 unidades de leche en polvo por cada supermercado muestreado (tabla No. 2.4)

En cualquier caso, el número de muestras por variedad, por supermercado viene dado por la siguiente tabla:

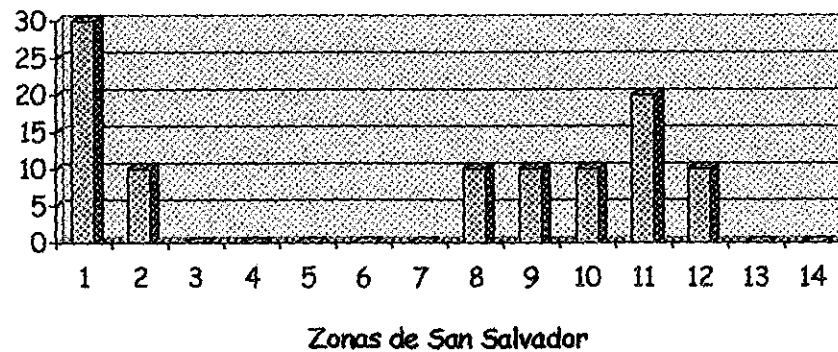
**Tabla No 2 3**  
**Extracción de unidades pequeñas para emplearlas para el muestreo**

Total de unidades	Cantidad de unidades tomadas
1 a 100	1
101 a 1,000	2
1,001 a 10,000	3
Más de 10,000	4, más 1 por cada 2,500 unidades adicionales o fracciones de esa cantidad

Fuente: Norma ICAITI 34046 h1, "Leche y Productos Lácteos Métodos de ensayo y análisis Toma de muestras", apartado 4 inciso 4 2, "Cantidad de muestras"

**Tabla No 2 4**  
**Número de muestras de leche en polvo correspondiente a cada zona de San Salvador**

Zona	Número de supermercados a muestrear	Número de muestras de leche en polvo
1	3	30
2	1	10
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	1	10
9	1	10
10	1	10
11	2	20
12	1	10
13	0	0
14	0	0
Total	10	100



**Gráfica No. 2.4**

**Número de muestras de leche en polvo correspondiente a cada zona de San Salvador.**

## **2. Metodología de análisis**

Los análisis microbiológicos de cada muestra de leche en polvo, recolectados en las diferentes supermercados de la ciudad de San Salvador, se describen en este siguiente apartado.

### **2.1 Recolección de muestras**

Para la escogitación de las muestras, primero se realizó la selección de supermercados aportados por cada zona, de la siguiente forma:

Se colocó los nombres de todas las sucursales de supermercados de la zona en papel, que luego fueron llevados a un frasco, de donde se sustrajo por sorteo un número determinado de sucursales aportados para la obtención de la muestra global.

Las sucursales escogidas al azar de cada zona, aportaron un total de 10 muestras de leche en polvo cada una, recolectándose como mínimo una muestra para análisis de cada variedad, de cada marca de leche en polvo

Las muestras recolectadas se trasladaron al laboratorio para su respectivo análisis microbiológico

## **2 2      Mantenimiento de muestras**

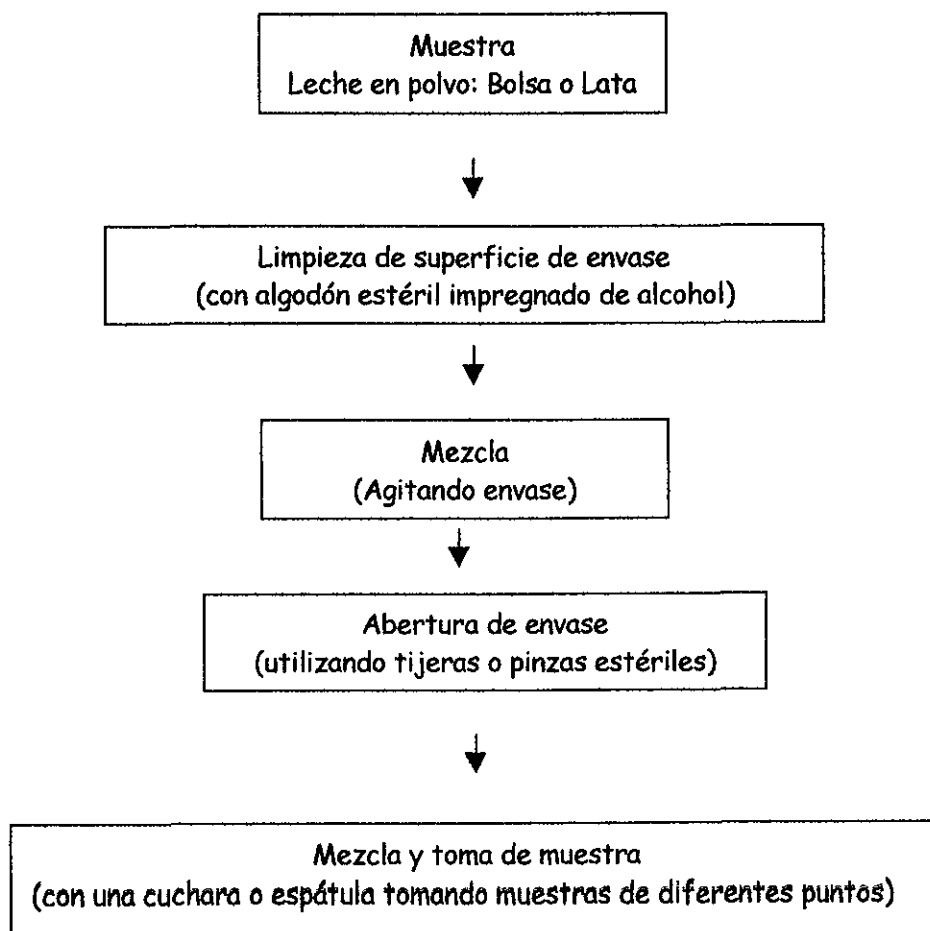
Durante el traslado, almacenamiento y hasta el momento de su análisis las muestras de leche en polvo se mantuvieron en condiciones similares a las del estante de venta al público en los supermercados, teniendo cuidado de la fecha de vencimiento de cada una de las muestras

## **2 3      Pre-tratamiento de muestras**

A las muestras de leche en polvo se les aplicó un tratamiento previo a su análisis microbiológico, esto se realizó para evitar cualquier tipo de contaminación externa. Dicho procedimiento se especifica a continuación:

Se tomó el contenedor de la muestra (lata, bolsa) en forma aséptica, posteriormente se limpió la superficie del contenedor con algodón estéril, previamente impregnado con alcohol isopropílico, con el objetivo de eliminar microorganismos o suciedad que pudiera estar adherida al contenedor de la leche en polvo

La leche en polvo de los contenedores se mezcló antes de abrir los envases, invirtiéndolo varias veces, seguidamente se procedió a retirar los sellos y abrir los contenedores con tijeras o pinzas estériles. Se introdujo en el envase una espátula o cuchara estéril para mezclar homogéneamente la leche en polvo(2)

**Esquema No 2 1: Pre-tratamiento de muestra****2 4 Preparación de diluciones de la muestra**

Para la preparación de las diluciones a utilizar en los análisis se procedió de la siguiente forma(2):

Dilución  $10^{-1}$ : Se pesó  $10.0 \pm 0.1$  g de muestra de leche en polvo con una espátula o cuchara estéril directamente en el frasco de dilución, conteniendo previamente 90 mL de solución de peptona

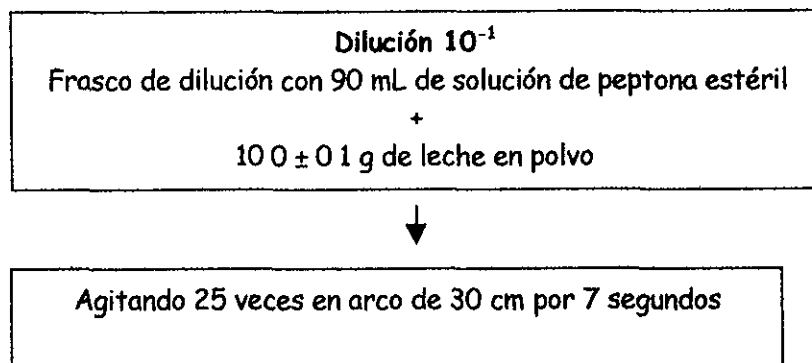
estéril. Luego se mezcló la muestra completamente, agitando 25 veces, en un arco de 30 cm, durante 7 segundos. No debe transcurrir más de 15 minutos entre la preparación de la muestra y su inoculación. Esta mezcla corresponde a la dilución  $10^{-1}$ .

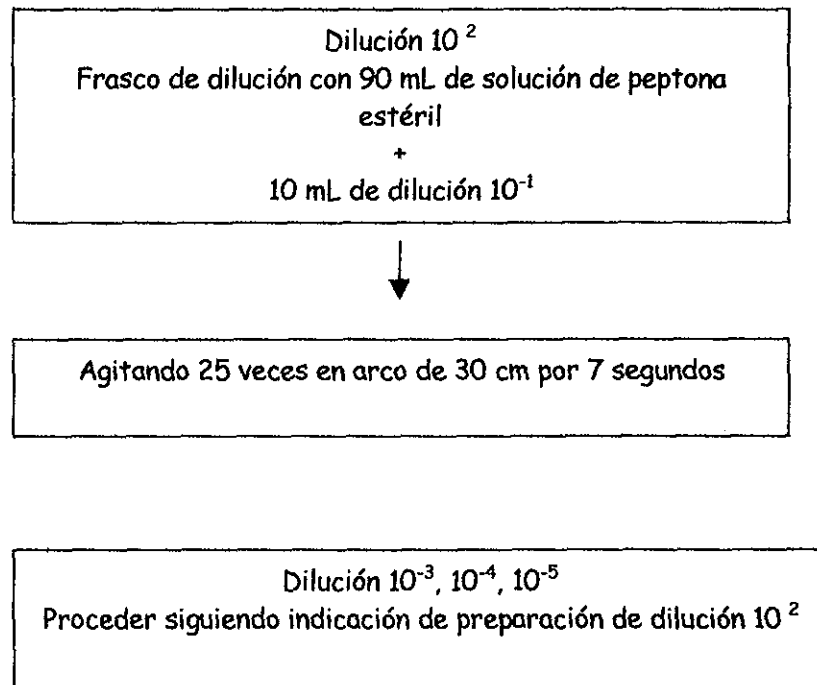
Dilución  $10^{-2}$ : Se tomó 10 mL de la dilución  $10^{-1}$ , con la ayuda de una pipeta estéril y se transfirió a un segundo frasco de dilución que contenía 90 mL de solución de peptona estéril, agitando 25 veces la dilución, en un arco de 30 cm, durante 7 segundos.

Para las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  se procedió con el mismo mecanismo de preparación que la dilución  $10^{-2}$ .

Nota: Al momento de verter los 10 mL de la pipeta al frasco de dilución se deberá tener en cuenta que no debe haber contacto entre la pipeta y el diluyente.

#### Esquema No 2 2: Preparación de diluciones





(2)

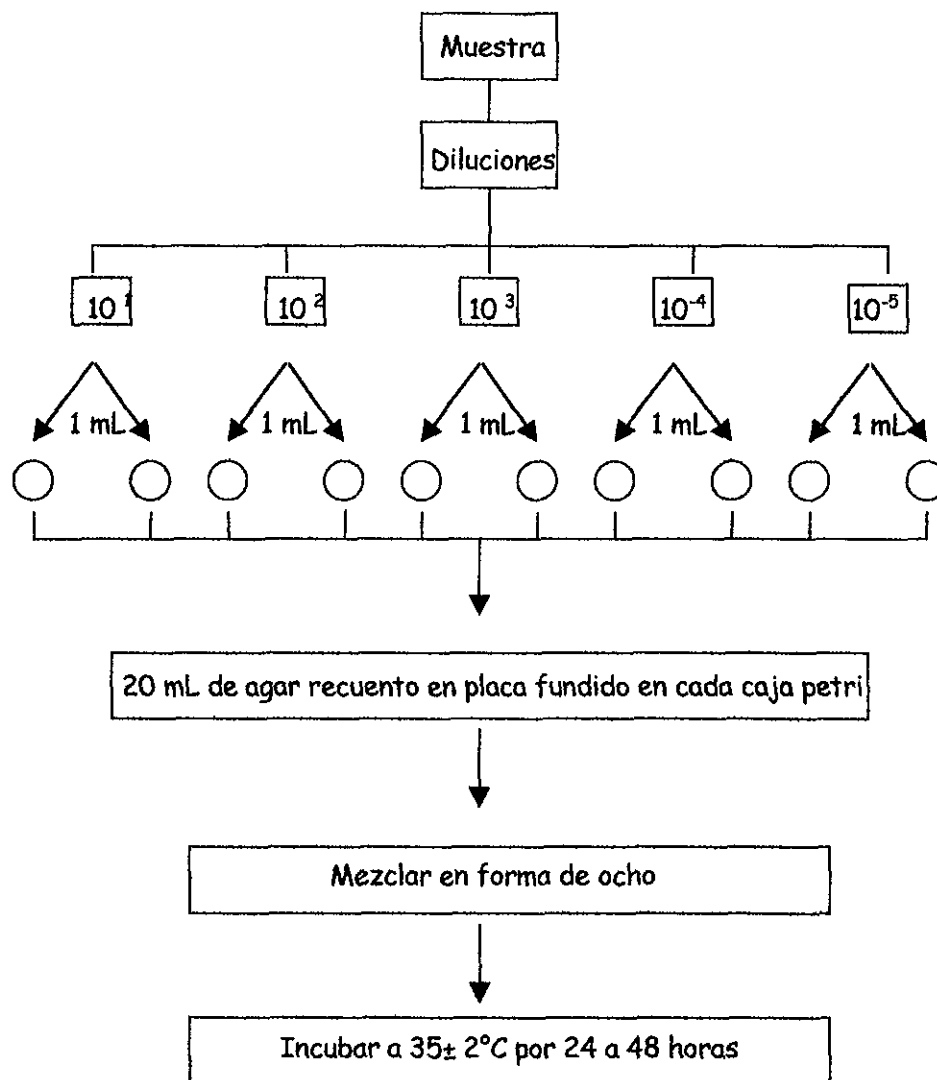
## 2 5 Recuento total de microorganismos mesófilos aeróbicos

### 2 5 1 Procedimiento del análisis

Con una pipeta estéril, se transfiere, por duplicado, 1 mL de cada una de las diluciones mencionadas anteriormente ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ), a cajas de petri vacías y estériles. Luego se vierte sobre cada placa que contiene 1 mL de dilución, de 15 a 20 mL de agar recuento en placa fundido y a una temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$  aproximadamente. Posteriormente se agitan más placas ya inoculadas, con movimientos lentos y rotatorios dejando solidificar el medio. Seguidamente se incuban las placas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por un período de 24 a 48 horas(2)



**Esquema No 2 3**  
**Recuento total de mesófilos aeróbicos**



(2)

## **2 6 Recuento de coliformes totales y determinación de *Escherichia coli* por el método del número más probable (Método BAM modificado)**

### **2 6 1 Coliformes totales**

#### **2 6 1 1 Ensayo presuntivo**

Transferir con una pipeta estéril y por triplicado 1 mL de cada una de las diluciones ( Dilución  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) a sus respectivos tubos de fermentación que contienen 10 mL de caldo lauril sulfato triptosa (LST) con campana de Durham

(Nota: Las diluciones deben agregarse de tal modo que el extremo inferior de la pipeta no toque el tubo)

Los tubos se incubarán a una temperatura de  $35 \pm 2$  °C por un período de  $24 \pm 2$  horas Se observará en los tubos si hay formación de gas, verificando si hay desplazamiento del medio en la campana de Durham o formación de burbujas cuando los tubos son agitados

Los tubos que den negativo se incubarán por un período de  $24 \pm 2$  horas adicionales y se examinarán nuevamente

Se tomarán solo aquellos tubos que den positivo la prueba presuntiva, para someterlos a la prueba confirmativa

#### **2 6 1 2 Ensayo confirmativo**

Agitar cada uno de los tubos con caldo lauril sulfato que mostraron formación de gas y con una asa circular estéril se toma una porción de los tubos positivos de LST y se transferirá a otro tubo que

contiene caldo verde brillante lactosa bilis (BGLB) Al tomar la porción con el asa del tubo de LST dicho tubo debe colocarse en un ángulo de inclinación de tal forma que al insertar el asa se evite la transferencia de la película

Los tubos inoculados de BGLB se incuban a 35 °C por un período de  $48 \pm 2$  horas Examinar cada uno de los tubos después de 24 horas y luego a las 48 horas observar la formación de gas

Dependiendo del número de tubos positivos que de esta prueba resultaren se calculará el número más probable (NMP) de bacterias coliformes totales por gramo de muestra de leche en polvo, utilizando la siguiente tabla, donde se nos muestra las distintas combinaciones de tubos positivos, de las diferentes diluciones

**Tabla No 2 5**  
**Número más probable ( NMP ) por gramo de muestra, usando 3 tubos cada uno con porciones**  
**de 0 1, 0 01, 0 001 g (  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  )**

Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo
$10^1$	$10^2$	$10^3$		$10^1$	$10^2$	$10^3$		$10^1$	$10^2$	$10^3$	
0	0	0	< 3	1	1	1	11	2	2	2	35
0	0	1	3	1	1	2	15	2	2	3	42
0	0	2	6	1	1	3	19	2	3	0	29
0	0	3	9	1	2	0	11	2	3	1	36
0	1	0	3	1	2	1	15	2	3	2	44
0	1	1	6	1	2	2	20	2	3	3	53
0	1	2	9	1	2	3	24	3	0	0	23
0	1	3	12	1	3	0	16	3	0	1	39
0	2	0	6	1	3	1	20	3	0	2	64
0	2	1	9	1	3	2	24	3	0	3	95
0	2	2	12	1	3	3	29	3	1	0	43
0	2	3	16	2	0	0	9	3	1	1	75
0	3	0	9	2	0	1	14	3	1	2	120
0	3	1	13	2	0	2	20	3	1	3	160
0	3	2	16	2	0	3	26	3	2	0	93
0	3	3	19	2	1	0	15	3	2	1	150
1	0	0	4	2	1	1	20	3	2	2	210
1	0	1	7	2	1	2	27	3	2	3	290
1	0	2	11	2	1	3	34	3	3	0	240
1	0	3	15	2	2	0	21	3	3	1	460
1	1	0	7	2	2	1	28	3	3	2	1100
								3	3	3	≥ 2400

(2)

## 2.7 Ensayo de *Escherichia coli*

De los tubos positivos (formación de gas) de caldo lauril sulfato se transfiere con una asa circular estéril una porción a caldo EC que también contiene las campanas Durham, siempre teniendo el cuidado de colocar los tubos de caldo lauril en un ángulo tal que al introducir el asa se evite transferir la película formada en la superficie del medio (si está presente)

Incubar los tubos de caldo EC por  $48 \pm 2$  horas a una temperatura de  $45.5 \pm 0.2$  °C, examinar a las 24 y 48 horas(2)

Los tubos de caldo EC que presentan formación de gas se les extraerá una porción con ayuda de un asa circular

La porción extraída se pasará a placas de petri con agar eosina azul de metilo ( EMB ), la siembra de dichas placas se hará en forma de estrías sobre la superficie del medio

Se incubarán las placas a  $35 \pm 2$  °C, durante un período de 18 a 24 horas

Pasado el período de incubación se examinarán las placas para detectar algunas colonias sospechosas de *Escherichia coli*

(Nota: Las colonias sospechosas de *Escherichia coli* se caracterizan por poseer un centro oscuro con o sin brillo verde metálico)

Dichas colonias sospechosas se resiembran en placas de petri que contienen agar recuento en placa por el método de estrías y se incubarán a  $35 \pm 2$  °C por 18 a 24 horas, transcurrido dicho período se les pueden realizar las pruebas bioquímicas correspondientes (2)

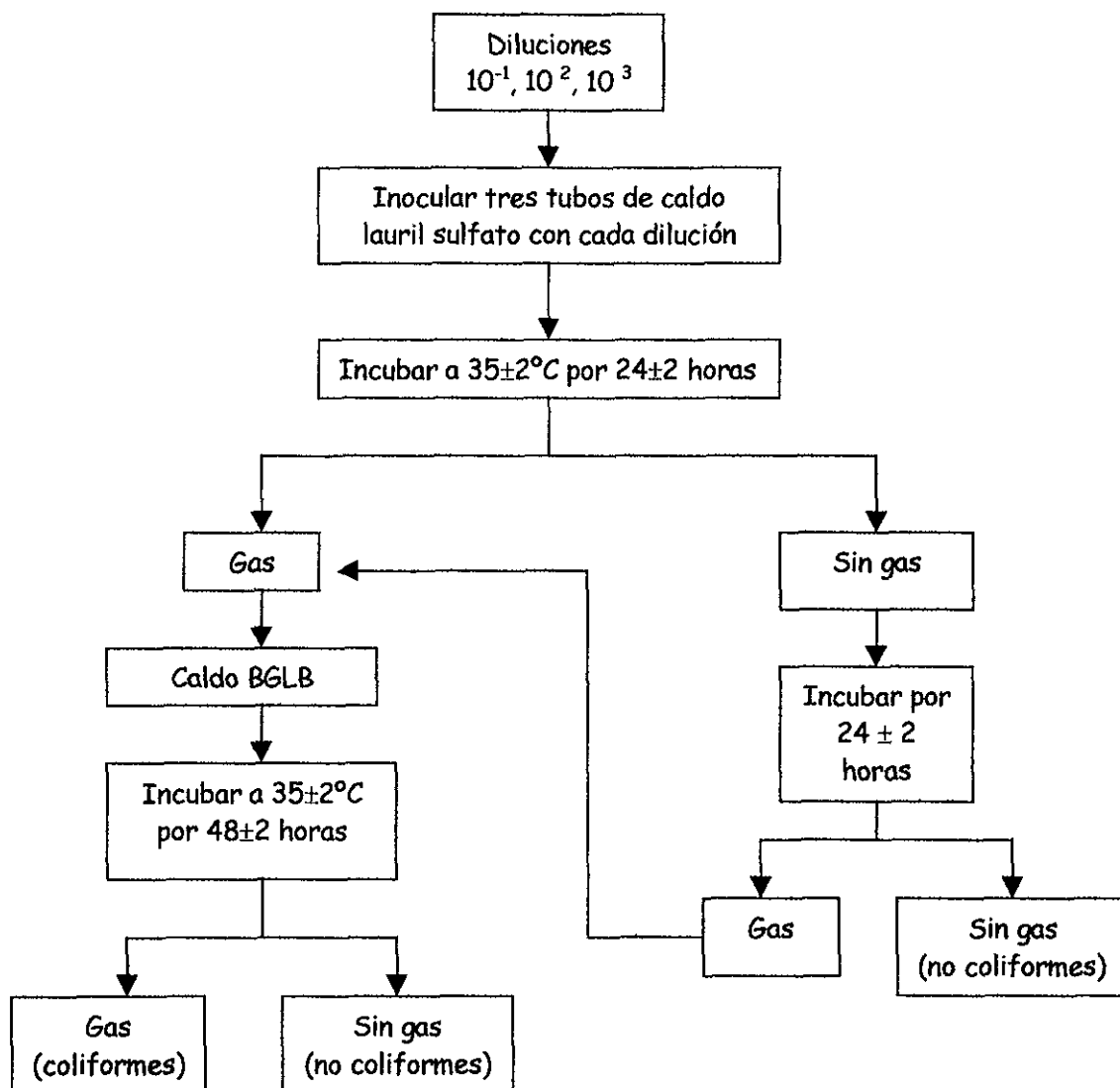
Para considerar que un cultivo es de *Escherichia coli*, éste debe presentar las características bioquímicas que aparecen en la siguiente tabla:

**Tabla No 2 6**  
**Características bioquímicas la *Escherichia coli***

REACCION	RESULTADO	EVIDENCIA DE LA PRUEBA
Indol	Positivo o negativo	Coloración roja (+) color de los reactivos trasparente (-)
Rojo de metilo	Positivo	Coloración roja
Voges Proskauer	Negativo	Coloracion roja
Citrato	Negativo	Color del medio verde

(15A)

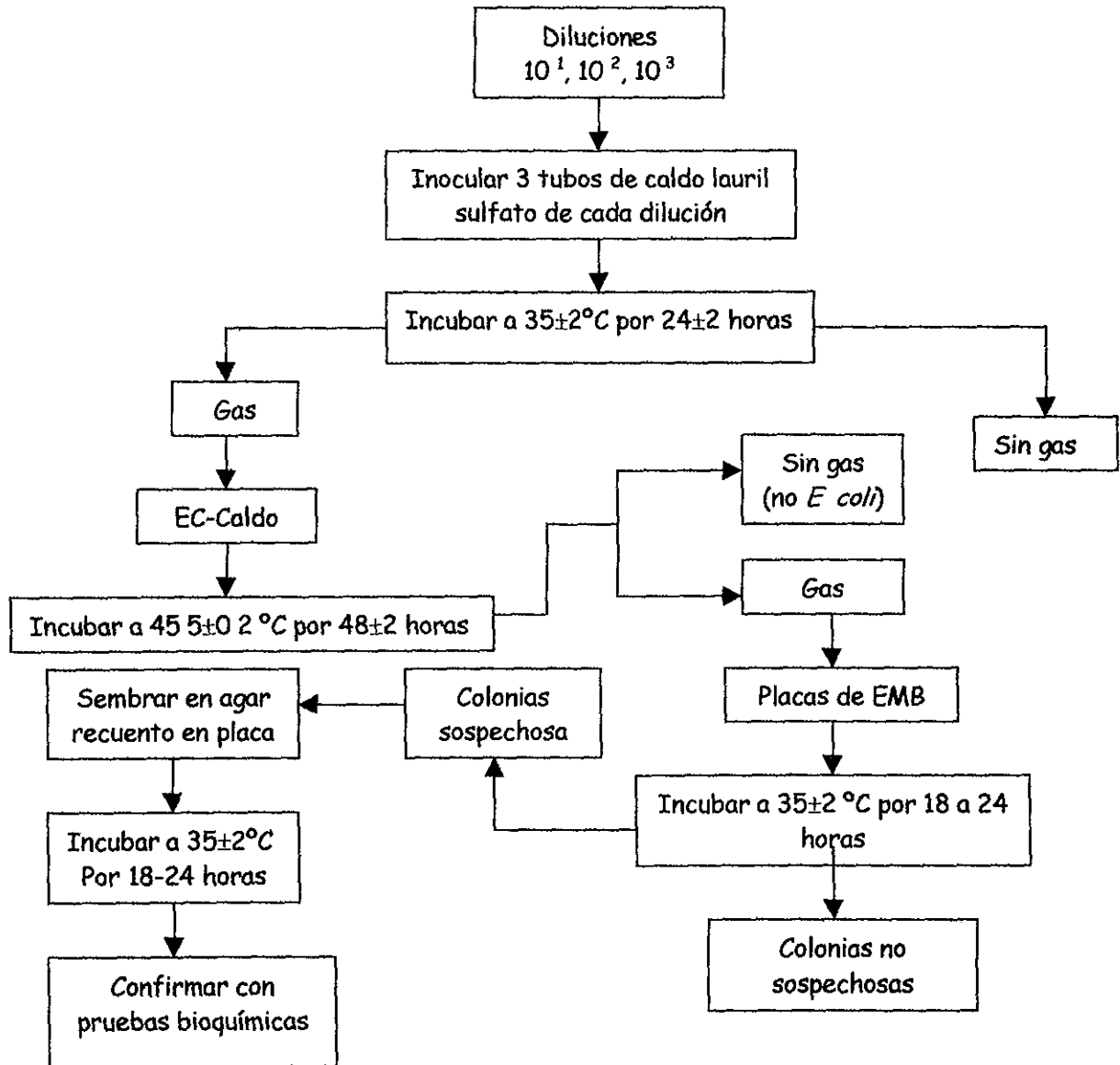
Esquema No 2 4  
Determinación del número más probable (NMP) para coliformes totales



BGLB: Caldo verde brillante lactosa bilis

(2)

Esquema No 25  
Determinación de *Escherichia coli*



(2)



**CAPITULO III**  
**ANALISIS DE RESULTADOS**

## CAPITULO III

### ANALISIS DE RESULTADOS

#### Análisis de resultados

En este capítulo se presentan los análisis de los resultados que se obtuvieron en la investigación. De acuerdo a los resultados se determinó si el producto es apto o no para el consumo humano desde el punto de vista microbiológico. Para determinar este criterio se tomó como base los límites de recuento total de mesófilos aerobios, coliformes totales y *Escherichia coli* establecidos en la norma ICAITI 34044.

A continuación se presentan los resultados de todas las marcas analizadas, en sus respectivas variedades, de acuerdo a los parámetros microbiológicos que indica la norma ICAITI 34044. Se detallan los resultados de cada parámetro (Recuento total de mesófilos aerobios, coliformes totales y *Escherichia coli*) para todas las marcas en conjunto, así como la apreciación global para las mismas.

## **1 1 Resultados de análisis microbiológicos de las marcas analizadas**

### **1 1 1 Recuento total de Mesófilos Aerobios**

Se determinó recuentos entre menos de  $1.0 \times 10^1$  y  $5.5 \times 10^2$  UFC/g, obteniendo que el 100% de las muestras analizadas cumplen con el límite establecido en la norma

### **1 1 2 Recuento de coliformes totales**

Se determinó recuentos menores de 3 coliformes/g obteniendo que un 100% de las marcas analizadas cumplen con el límite establecido en la norma

### **1 1 3 *Escherichia coli***

Se determinó ausencia de *Escherichia coli* en un 100%, en todas las marcas analizadas, las cuales cumplen con el límite establecido en la norma

## **2 Apreciación global de los resultados de todas las marcas analizadas**

La tabla 3 1 que a continuación presentamos agrupa cada uno de los resultados obtenidos y que corresponden a los parámetros microbiológicos analizados en cada una de las marcas de leche en polvo comercializadas en la ciudad de San Salvador

CUADRO No.1 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA ANCHOR						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	
	Límites Microbiológicos					
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	5.0x10 <sup>4</sup> UFC/g	90 coliformes/g	Negativo	C/ACh
			4.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	
Entera, No Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	5.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, No Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, No Instantánea	Dispensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	1.5x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	2.3x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Dispensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super tienda La Tapachuliteca Sucursal Masferrier	24 05 99	1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalle	24 05 99	2.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup>= No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 2 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA CETECO						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recoleccion	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	
	Límites Microbiológicos					
			5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	90 coliformes/g	Negativo	
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	1.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	5.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	<1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	6.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	<1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supertienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	4.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalle	24 05 99	4.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	7.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 3 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA COAST							
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS				Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>		
Límites Microbiológicos							
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	90 coliformes/g	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	<1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	4.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	7.5X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	<1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Super tienda La Tapachuliteca Sucursal Masferre	24 05 99	7.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalle	24 05 99	1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	2.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh	
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%	
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%	

UFC/g= Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 4 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA IRA 26						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesófilos aerobios 5.0 x10 <sup>4</sup> UFC/g	Coliformes totales 90 coliformes/g	<i>Escherichia coli</i>	
Límites Microbiológicos						
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	3.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	5.5X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	4.8X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	6.5X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	2.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Super tienda La Tapachulteca Sucursal Masferrier	24 05 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, No Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACH = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 5 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA KLIM						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios 5.0x10 <sup>4</sup> UFC/g	Califormes totales 90 coliformes/g	Escherichia coli	
	Límites Microbiológicos					
Hi-Calcium, Descremada	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Life-Line, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
1-2-3 Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Life-Line, Instantánea	Despenso de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Life-Line, Instantánea	Despenso de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Life-Line, Instantánea	Supertienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Hi-Calcium, Descremada	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC./g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano



CUADRO No. 6 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA GOLD STAR						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios 5.0x 10 <sup>7</sup> UFC/g	Coliformes totales 90 coliformes/g	<i>Escherichia coli</i>	
Límites Microbiológicos						
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	1.5x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea (fresa)	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea (chocolate)	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	4.3x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Dispensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea (chocolate)	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	2.5x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea (fresa)	Dispensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea (fresa)	Super tienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	3.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalle	24 05 99	<1.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	4.5x10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACH
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACH = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 7 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA 5 MOLINOS							
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS				Apreciación global
			Mesofilos aerobios 5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	Coliformes totales 90 coliformes/g	Escherichia coli		
	Limites Microbiológicos						
Entera, Instantanea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	9.0x10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	1.4X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Despensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	3.5X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	5.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Supertienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	4.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, Instantanea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	1.2X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Entera, No Instantanea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo		C/ACH
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%	0%

UFC./g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACH = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 8 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA NIDO						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	
Límites Microbiológicos						
Entera, Instantánea (Crecimiento)	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	90 coliformes/g	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea (Crecimiento)	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	3.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Temazas	26 04 99	<1.0X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	<1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	2.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	4.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super tienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	<1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	4.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo

&lt; 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 9 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA DOS PINOS						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recolección	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	
Límites Microbiológicos						
			5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	90 coliformes/g	Negativo	
Desgranada, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	4.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	<1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	1.4 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Despensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	4.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super tienda La Topachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	<1.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	2.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Desgranada, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	1.0 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC./g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

CUADRO No. 10 RESULTADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE LA MARCA ROYALAC						
Variedad	Lugar de recolección	Fecha de Recoleccion	RESULTADOS			Apreciación global
			Mesofilos aerobios	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	
	Límites Microbiológicos		5.0X10 <sup>4</sup> UFC/g	90 califormes/g	Negativo	
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Centro	21 03 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Multimart Sucursal Zona Rosa	10 04 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal España	16 04 99	3.7 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Dispensa de Don Juan Sucursal Terrazas	26 04 99	1.0 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal San Luis	02 05 99	3.2 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Gigante	09 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Dispensa de Don Juan Sucursal Centro	16 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supertienda La Tapachulteca Sucursal Masferrer	24 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Super Selectos Sucursal Miravalles	24 05 99	3.0 X10 <sup>1</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Entera, Instantánea	Supermercados El Sol Sucursal Beethoven	09 06 99	3.5 X10 <sup>2</sup>	< 3	Negativo	C/ACh
Porcentaje de muestras que cumplen norma			100%	100%	100%	100%
Porcentaje de muestras que no cumplen norma			0%	0%	0%	0%

UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo

< 3 = No se detecta su presencia

<1.0x10<sup>1</sup> = No se detecta su presencia

C/ACh = Conforme/ Apto para el consumo humano

**Tabla 3 1**  
**Porcentaje de muestras que cumplen con los límites especificados por la norma**  
**ICAITI 34044**

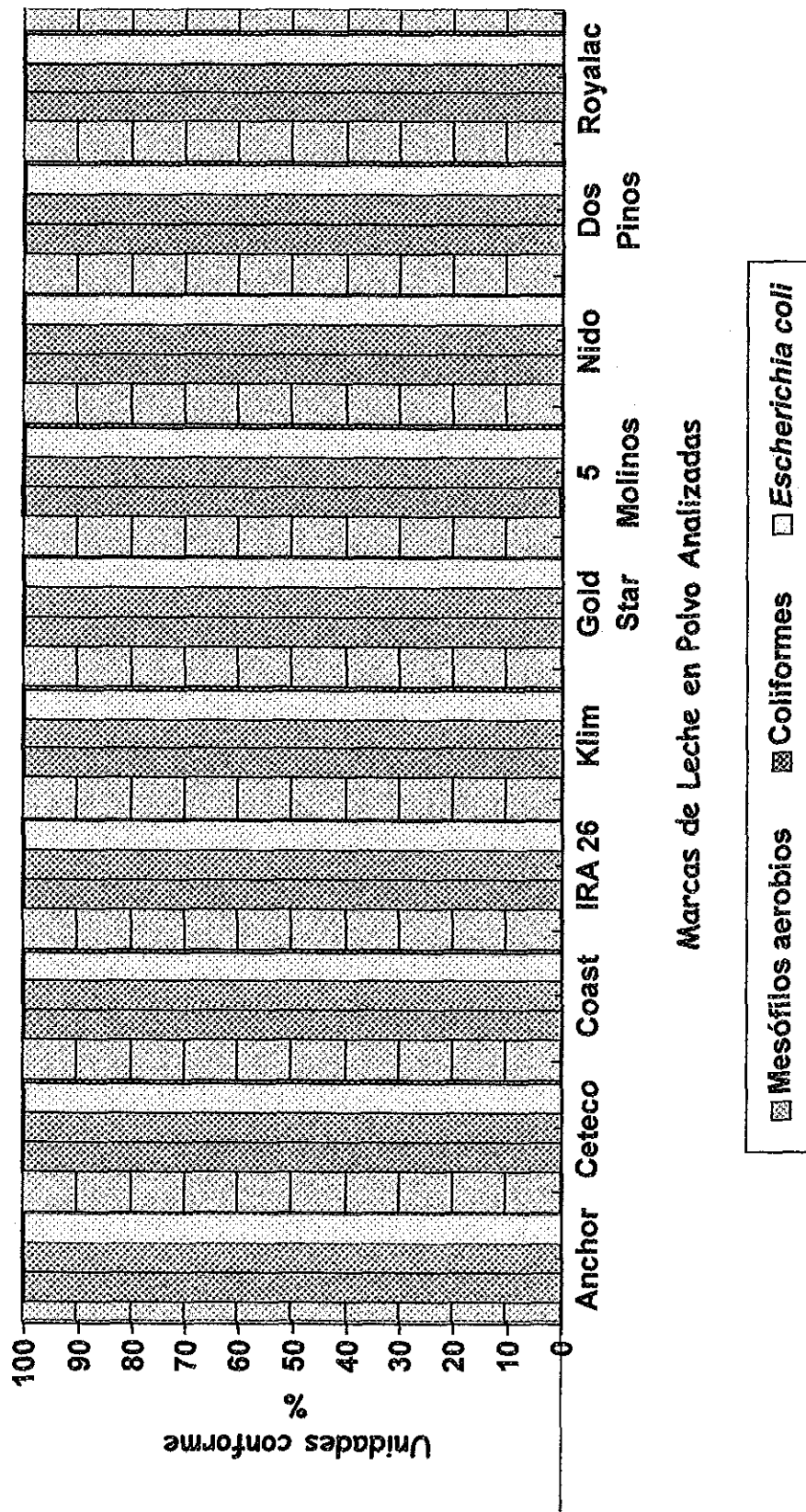
<b>Marca</b>	<b>Anchor</b>	<b>Ceteco</b>	<b>Coast</b>	<b>IRA</b>	<b>Klim</b>	<b>Gold</b>	<b>5</b>	<b>Nido</b>	<b>Dos</b>	<b>Royalac</b>
<b>Parámetro</b>				<b>26</b>		<b>Star</b>	<b>Molinos</b>		<b>Pinos</b>	
<b>Mesófilos aerobios</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Coliformes totales</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Escherichia coli</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

La gráfica 3 1 presenta, en forma comparativa, los resultados de los análisis microbiológicos de todas las marcas investigadas

En general, se obtuvo que un 100% de muestras son conformes, las cuales son aptas para el consumo humano, ésto indica, que las industrias dedicadas a la producción o fabricación de leche en polvo cumplen con los parámetros microbiológicos establecidos en la norma

Gráfica No. 3.1

Comparación entre parámetros microbiológicos evaluados en las diferentes muestras de leche en polvo



La siguiente tabla refleja el porcentaje de las marcas de leche en polvo conformes con la norma ICAITI 34044 y la gráfica 3 2 permite apreciar estos resultados

**Tabla No 3 2**

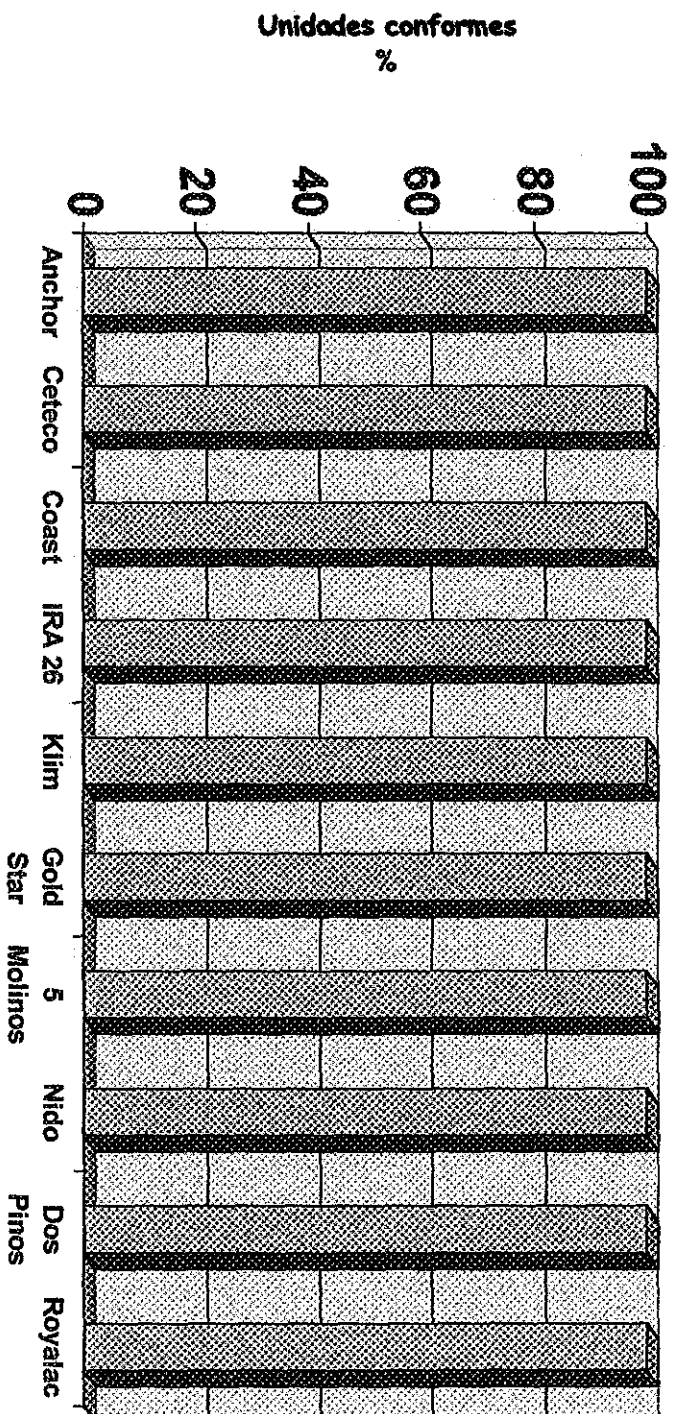
**Porcentaje de muestras de leche en polvo conformes con la norma ICAITI 34044**

<b>Marcas</b>	<b>Porcentaje de muestras conformes</b>
Anchor	100
Ceteco	100
Coast	100
IRA 26	100
Klim	100
Gold Star	100
5 Molinos	100
Nido	100
Dos Pinos	100
Royalac	100



Gráfica No. 3.2

Porcentaje de muestras de leche en polvo conformes a la norma ICALITI 34044



Marcas de leche en polvo analizadas

**CAPITULO IV**  
**CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

- 1 En general, la leche en polvo comercializada en la ciudad de San Salvador, en un 100% se encuentra apta para el consumo humano, desde el punto de vista microbiológico
- 2 Las diferentes marcas de leche en polvo comercializadas en los supermercados ( La Despensa de Don Juan, Super Selectos, Supermercados el Sol, Supermercados Europa, Multimart, Supertienda La Tapachulteca) de la ciudad de San Salvador desde el punto de vista microbiológico se encuentran dentro de los parámetros declarados por la Norma ICAITI 34044
- 3 Dentro de los parámetros indicadores , el recuento de microorganismos mesófilos aerobios está dentro de los límites de la Norma ICAITI 34044 lo que nos indica que el proceso de tratamiento de la leche en polvo, control de las áreas y aire de la planta ha sido eficaz
- 4 La ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli* en todas las marcas, nos lleva a conjeturar que existe un adecuado control de los operarios y de equipo en cuanto a las normas de limpieza se refiere, así como una adecuada desinfección de los envases y material de empaque
- 5 Conforme a los resultados obtenidos se determinó que las marcas Klim, Coast, 5 Molinos Anchor, Goldstar, Royalac, IRA 26, Ceteco, Nido, Dos Pinos, en sus diferentes variedades investigadas, se encuentran conformes con los parámetros establecidos por la Norma ICAITI 34044

- 6 Los recuentos más altos de microorganismos mesófilos aerobios (  $1 \times 10^1$ - $5 \times 10^2$  ) corresponden a las marcas 5 Molinos, IRA 26, Gold Star, Royalac. Lo anterior puede deberse a que estos productos a pesar de ser importados son reenvasados en el país y por tanto son expuestos a contaminación ambiental durante dicho proceso, sin sobrepasar los límites establecidos previamente en las normas.

**CAPITULO V**  
**RECOMENDACIONES**

## RECOMENDACIONES

- 1 Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), organismo salvadoreño encargado de homologar las normas salvadoreñas, que establezca la norma microbiológica salvadoreña de leches en polvo, ya que hasta el momento según la Ley del CONACYT de acuerdo al Artículo 123 (Aplicaciones transitorias de otras normas técnicas ) del Título VII, Capítulo único, se toman como normas técnicas oficiales las del Instituto Centoamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), por lo que consideramos que dicha norma debe ser revisada, re-estructurada y actualizada para un mejor control sanitario de las leches en polvo que en nuestro país se comercializan
- 2 Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a los organismos involucrados en incluir parámetros microbiológicos de leches en polvo, recomendamos tomar en cuenta dentro de ellos el recuento total de hongos y levaduras, ya que se encuentran incluida dentro de las normas internacionales y las condiciones de nuestro país permiten una rápida proliferación de estos microorganismos en productos secos cuya humedad se ve aumentada al contacto mínimo con el ambiente
- 3 A las empresas que distribuyen las diversas marcas, que sean más cuidadosos al manipular los empaques o cajas que contienen las unidades ( bolsas o latas) de leche en polvo que se pondrán a disposición de los consumidores, para evitar romper o dañar los empaques primarios que contienen la leche en polvo, que en condiciones sanitarias normales son aptos para ser consumida por el ser humano, ya al producirse algún perjuicio en los empaques las condiciones de esterilidad se pierde, pudiendo entonces ser un producto que ponga en riesgo la salud del consumidor

- 4 Que el consumidor tenga el cuidado de sellar o cerrar bien los envases (Bolsa o lata) de la leche para evitar que ésta pierda sus propiedades de esterilidad o de bajo contenido de microorganismos, así como el contenido de humedad
  
- 5 Al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social se recomienda que mantenga un control sobre este alimento (leche) para prevenir futuros problemas de salud en nuestra población. Además de un programa de inspección periódica de las plantas procesadoras de leche en polvo, garantizando condiciones óptimas de funcionamiento
  
- 6 Al consumidor que al momento de realizar la compra de cualquier leche en polvo verifique que el envase (bolsas, cajas) no se encuentre roto o perforado, oxidado o dañado en el caso de latas, además debe observar que la fecha de caducidad no se encuentre próxima
  
- 7 Al público en general recomendamos preparar la leche sea ésta instantánea o no con agua purificada o hervida, en recipientes limpios con el fin de evitar proliferación de microorganismos en el producto
  
- 8 Recomendamos a los distribuidores y consumidores en general guardar la leche en polvo en un lugar fresco y seco para evitar que la humedad afecte la calidad del producto.  
Al consumidor, que al utilizar un envase de leche en polvo éste sea cerrado adecuadamente para evitar un prolongado contacto con la luz, a fin que el producto conserve sus características

## BIBLIOGRAFIA

**1 ALAIS, Charles**

Ciencia de la leche, Principio de técnica lechera, Compañía Editorial Continental, S A, 1ª Reimpresión, Junio 1971 (1ª Edición)

**2 ASOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY**

Food and Drug Administration of United States Bacteriological Analytical Manual, 7<sup>th</sup> Edition, AOAC, USA, 1992

**3 BACTERIOLOGY AT UNIVERSITY OF WISCONSIN-MADISON**

Bacteriology 330, lecture topics: Pathogenic *E coli* <http://www.bact.wisc.edu/bact330>

**4 CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA, CONACYT**

Norma Salvadoreña Leche entera en polvo, leche en polvo parcialmente desnatada y leche en polvo desnatada, NS 34044:1995

**5 DEMETER, et al,**

Elementos de Microbiología Lactológica, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1971

**6 FAO (1989)**

Factores que influyen en la actividad microbiológica de los alimentos Separata estudios FAO alimento y nutrición, 1989

**7 FAO/OMS (1979)**

Criterios microbiológicos con relación a los alimentos Informe del grupo de trabajo FAO/OMS Ginebra, 20-26 de febrero de 1979



**8 FRAZIER, W C**

Microbiología de los alimentos/ W C Frazier, D C Westhoff tr Manuel Rámis Vergis 4ª Edición, Zaragoza, Editorial Acribia, 1993

**9 INSTITUTO CENTROAMERICANO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGIA INDUSTRIAL, ICAITI**

Norma Centroamericana: Carne y Productos Cárnicos Análisis Microbiológico ICAITI 34125 H 13, Guatemala, Agosto de 1978

**10 INSTITUTO CENTROAMERICANO DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGIA INDUSTRIAL, ICAITI**

Norma Centroamericana: Leche en Polvo, ICAITI 34044, 1976, Guatemala

**11 KIRK, Raymond E**

Enciclopedia de tecnología química / Raymond E Kirk, Donald F Othmer, tr Oscar G Carrera, (et al ), 1ª Edición en español México UTHEA, 1961 Tomo II

**12 MANZANO AYALA, H R , et al**

Evaluación de la calidad microbiológica del yogurt comercializado en la ciudad de San Salvador Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciado en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, 1998

**13 MORENO, Armando Santos**

Leche y sus derivados Editorial Trillas, México, 1987, 1ª Impresión 1991

**14 ULLMAN, Dr Fritz**

Enciclopedia de Química Industrial, Sección VI: Productos agrícolas, alimenticios y medicinales, Editorial Gustavo Gili S A , 1950

**15 VOLK, Wesley A**

Microbiología médica, 3ª Edición por Wesley A Volk y otros México, Interamericana, 1988

**15A Win/Koneman/Allen/Dowell/Janda /Sommers**

Diagnostico microbiológico, 3ª Edición por Win/Koneman/Allen/Dowell/Janda /Sommers, Mexico, Editora Medica Panamericana 1997

**16 MANUAL DE MICROBIOLOGIA APLICADA II,**

Departamento de Bioquímica y Contaminación Ambiental, Facultad de Química y Farmacia, UES, 1997

**17 MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO**

E Merck, Darmstadt, Alemania,1994

**18 AYALA, Luis**

Empacadora de leche en polvo Río Grande, Entrevista 3 de agosto de 1999

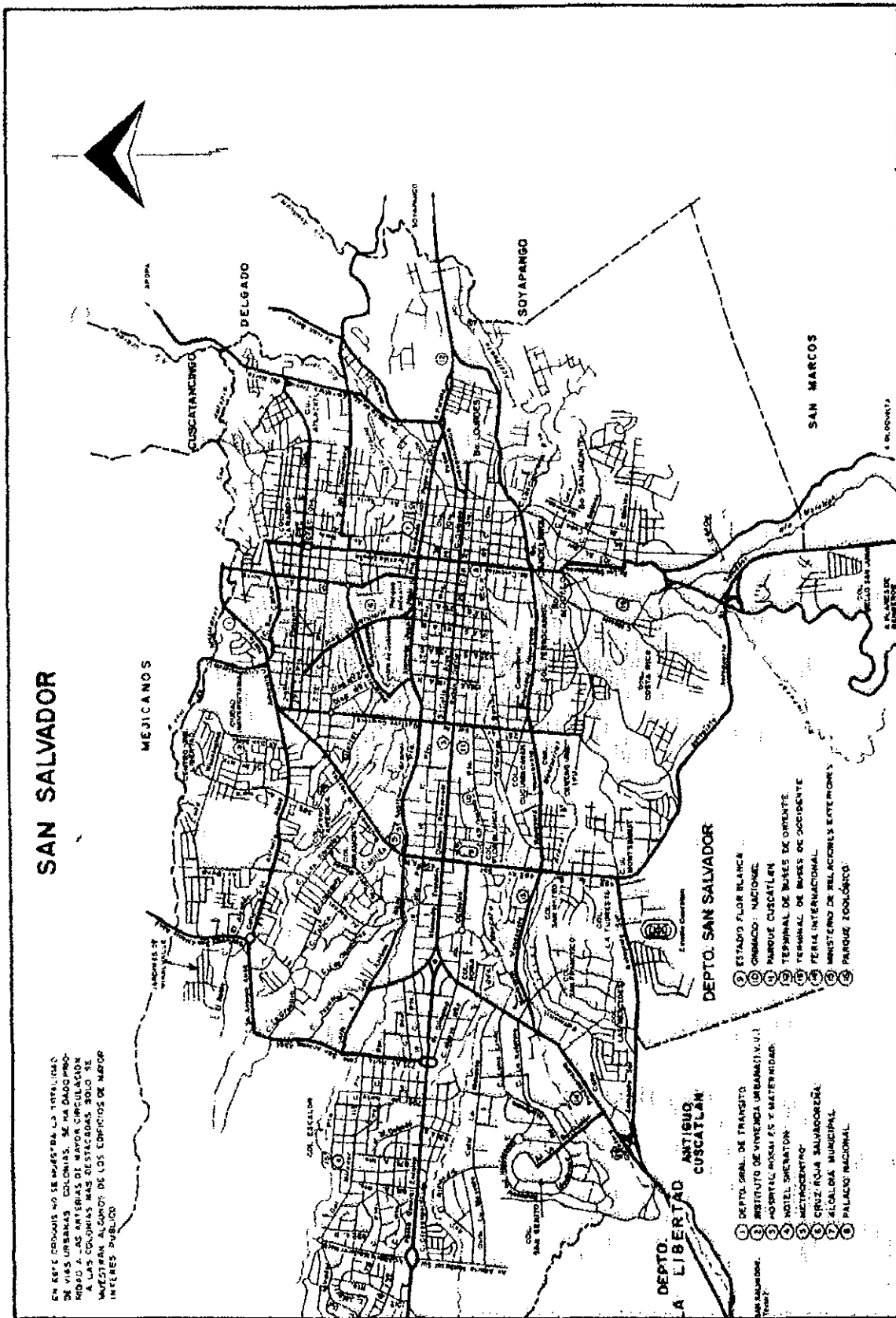
**19 BONILLA, Gildaberto,**

Universidad Centroamericana (UCA), Entrevista 27 y 28 de enero de 1999

## **ANEXOS**

# Anexo No 1

## Zonas de San Salvador



## ANEXO No 2

### Distribución de las diferentes sucursales de los supermercados en las zonas de la ciudad de San Salvador

No de Zona	Supermercados y sus Sucursales
Zona 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La Despensa de Don Juan Centro Darío Arce</li> <li>• Super Selectos Centro</li> <li>• Supermercados El Sol Arce España Morazán</li> <li>• Supermercado Europa Centro</li> <li>• Multimart Centro</li> <li>• Supertienda La Tapachulteca ANTEL San José La Libertad</li> </ul>
Zona 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Super Selectos Gigante</li> <li>• Supertienda La Tapachulteca Olimpica</li> <li>• Multimart Salvador del Mundo</li> </ul>

Zona 3	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay supermercados</li> </ul>
Zona 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La Despensa de Don Juan San Jacinto</li> <li>• Super Selectos San Jacinto</li> </ul>
Zona 5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay supermercados</li> </ul>
Zona 6	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay supermercados</li> </ul>
Zona 7	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay supermercados</li> </ul>
Zona 8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La Despensa de Don Juan Las Terrazas</li> <li>• Super Selectos San Miguelito Trigueros</li> <li>• Supertienda La Tapachulteca San Miguelito</li> </ul>
Zona 9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Super Selectos Metrocentro Metrosur San Luis</li> <li>• Supermercado Europa Bernal</li> </ul>
Zona 10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La Despensa de Don Juan 75 av Norte</li> <li>• Super Selectos Miralvalle</li> <li>• Supertienda La Tapachulteca Miralvalle</li> </ul>

Zona 11	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Super Selectos Caribe Los Santos Santa Emilia Escalón</li> <li>• Supermercados El Sol Beethoven</li> <li>• Supermercado Europa Beethoven</li> <li>• Multimart San Benito</li> <li>• Supertienda La Tapachulteca Masferrer</li> </ul>
Zona 12	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La Despensa de Don Juan San Benito</li> <li>• Multimart Zona Rosa</li> <li>• Supermercado Europa Hiper Europa</li> </ul>
Zona 13	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Super Selectos Feria Rosa</li> </ul>
Zona 14	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Super Selectos Autopista Sur</li> </ul>

### ANEXO No 3

#### Marcas y variedades de leche en polvo comercializadas en los supermercados de San Salvador

MARCA	VARIEDAD
ANCHOR	Entera instantánea Entera no instantánea
CETECO	Entera
COAST	Entera instantánea Entera no instantánea
IRA 26	Entera instantánea
KLIM	Entera instantánea Instantánea lite line Entera niños en crecimiento (1-2-3), Descremada Hi - calcium
GOLD STAR	Descremada instantánea Entera instantánea Entera no instantánea Entera instantánea con sabor a fresa chocolate y vainilla
CINCO MOLINOS	Entera instantánea Entera no instantánea
NIDO	Entera descremada Entera parcialmente descremada (ambas crecimiento) Entera instantánea
ROYALAC	Entera instantánea

Nota: Las observaciones anteriores fueron obtenidas a partir de un muestreo de los supermercados de las zonas de la ciudad de San Salvador



**ANEXO No 4**  
**Material y equipo utilizado**

**EQUIPO**

- Trípode
- Autoclave
- Incubadora
- Baño de María
- Mechero Bunsen
- Malla de asbesto
- Balanza Granataria
- Cabina de flujo laminar
- Contador de colonias Quebec

**MATERIAL**

- Gradilla
- Fósforos
- Papel kraft
- Papel toalla
- Gasas estériles
- Microespátulas
- Algodón estéril
- Jabón bactericida
- Eyectores de 10 mL
- Asas bacteriológicas
- Cinta adhesiva opaca
- Espátulas metálicas

## CRISTALERIA

- Cajas petri
- Campanas Durham
- Probetas de 100 mL
- Agitadores de vidrio
- Erlenmeyer de 1000 mL
- Tubos de ensayo 12x125 mm
- Frascos de dilución de 250 mL
- Vasos de precipitado de 500 mL
- Pipetas de Mohr graduadas de 1 y 10 mL

**ANEXO No 5**  
**MEDIOS DE CULTIVO**

**AGAR EMB (Agar-Eosina-Azul de metileno-lactosa-sacarosa), 500g**

Agar selectivo para el aislamiento y diferenciación de *Escherichia coli* y *Enterobacter*

**Composición (g/litro)**

Peptona 10 0, hidrógenofosfato dipotásico 2 0, lactosa 5 0, sacarosa 5 0, eosina amarillenta 0 4, azul de metileno 0 07, agar-agar 13,5

**Preparación**

Disolver 36 0 g del medio en 1000 mL de agua destilada, mediante ebullición, esterilizar en autoclave (15 min a 121° C) y verter en forma aséptica un aproximado de 20 0 mL en placas estériles

PH: 7 1 ± 0,1 (17)

**AGAR PLATE COUNT (Agar-peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura o Agar recuento en placa), 500 g**

Medio de cultivo que no contiene sustancias inhibidoras ni indicadoras, concebido esencialmente para la determinación del número total de gérmenes en leche, productos lácteos, aguas y otros materiales

**Composición (g/litro)**

Peptona de caseína 5 0, extracto de levadura 2 5 D(+)-glucosa 1 0, agar-agar 14 0

### **Preparación**

Disolver 22.5 g del medio en un litro (1000 mL) de agua destilada, mediante ebullición y esterilizar en autoclave (15 min a 121° C)

PH:  $7.0 \pm 0.1$  (17)

### **CALDO LAURIL SULFATO, 500 g**

Medio de cultivo selectivo para el ensayo previo orientativo de coliformes y para el enriquecimiento selectivo de los mismos, en la investigación de aguas, productos lácteos y alimentos

#### **Composición (g/litro)**

Triptosa 20.0 lactosa 5.0, cloruro sódico 5.0 laurilsulfato, sal sódica 0.1, hidrógenofosfato dipotásico 2.75 dihidrógenofosfato potásico 2.75

#### **Preparación**

Disolver 35.5 g del medio deshidratado en 1000 mL de agua destilada, por medio de agitación, distribuir en tubos de ensayo provistos de campanas Durham y esterilizar en autoclave (15 min a 121° C)

PH:  $6.8 \pm 0.1$

El caldo distribuido y esterilizado es claro y amarillento (17)

### **CALDO BRILA (Caldo-verde brillante-bilis-lactosa), 500 g**

Para el enriquecimiento selectivo y numeración de *Escherichia coli* en aguas, leche, alimentos y otros materiales, mediante la determinación del título, o según la técnica NMP

**Composición (g/litro)**

Peptona 10 0 lactosa 10 0, bilis de buey, desecada 20 0, verde brillante 0 0133

**Preparación**

Disolver 40 0 g del medio deshidratado en 1000 mL de agua destilada, agitando hasta completa disolución, distribuir en tubos de ensayo provistos de campanas de Durham y esterilizar en autoclave (15 min a 121° C)

PH: 7 2 ± 0 1

El caldo preparado es claro y de color verdoso (17)

**CALDO EC, 500 g**

Para la demostración selectiva de coliformes y de *Escherichia coli* en aguas, alimentos y otros materiales

**Composición (g/litro)**

Peptona caseína 20 0 lactosa 5 0, mezcla de sales biliares 1 5 cloruro sódico 5 0, hidrógenofosfato dipotásico 4 0, dihidrógenofosfato potásico 1 5

**Preparación**

Disolver 37 g del medio en 1000 mL de agua destilada, distribuir en tubos provistos de campanas de Durham y esterilizar en autoclave ( 15 min a 121° C)

PH: 6 9 ±0 1

El caldo preparado y distribuido es claro y amarillento (17)

### **PEPTONA, 1000g**

Para el enriquecimiento previo no selectivo de bacterias, especialmente Enterobacteriáceas patógenas a partir de alimentos y otros materiales

Utilizada para preparar el agua peptonada, mezclándose con cloruro sódico (reactivo)

#### **Composición (g/litro)**

Peptona 10 0

#### **Preparación**

Disolver 10 0 g de peptona mezclado con 5,0 g de cloruro sódico en 1000 mL de agua destilada, distribuir en frascos de dilución y esterilizar en autoclave (15 min a 121° C)

El caldo preparado es claro e incoloro

### **CALDO TRIPTOFANO, 500 g**

Medio utilizado para el ensayo de la formación de indol

#### **Composición (g/litro)**

Peptona de carne 10 0 DL triptofano 1 0, cloruro sódico 5 0

#### **Preparación**

Disolver 16 0 g del medio de cultivo por 1000 ml de agua destilada, distribuir en tubos de ensayo en porciones de 5 0 mL y esterilizar en autoclave (20 min a 115° C)

PH: 7 2 ± 0 1 (17)

### **CALDO MR-VP ( CALDO ROJO DE METILO SEGUN VOGES Y PROSKAUER), 500 g**

Medio de cultivo de ensayo para la realización de la prueba del Rojo de metilo y del ensayo de Voges-Proskauer para la diferenciación bioquímica, especialmente dentro del grupo Coli-Aerogenes

La forma en que actúa el medio es a través de la utilización de la glucosa con gran formación de ácido

#### **Composición (g/litro)**

Peptona de carne 70, D(+)-glucosa 50, tampón de fosfatos 50

#### **Preparación**

Dísolver 170 g en un litro de agua destilada, agitando hasta completa disolución, distribuir en razón de 50 mL en tubos de ensayo y esterilizar en autoclave (15 min a 121° C)

PH: 6.9 ± 0.1 (17)

### **REACTIVO DEL INDOL SEGUN KOVACS, 100 mL**

El indol producido microbiológicamente, para la identificación de microorganismos indol-positivos e indol-negativos, según KOVACS, es necesario conservar el reactivo en la oscuridad y en refrigeradora, pues en caso contrario, puede presentarse una coloración de tono pardo

#### **Composición (g/litro)**

n-Butanol, ácido clorhídrico, 4-dimetilaminobenzaldehído (17),

Las bacterias que la enzima triptofanasa son capaces de metabolizar el triptofano produciendo indol, ácido piruvico y amoniaco La presencia del indol puede detectarse en un medio de prueba con triptofano observando la producción de una coloración roja luego de agregar una solución que

contiene p-dimetilaminobenzaldehido ( reactivo de Kovac ), debe agregarse cloroformo al medio antes de añadir el reactivo de Kovac (15A)

## **REACTIVOS DE VOGES-PROSKAUER**

### **a) Solución alcohólica al 5% de alfa-Naftol**

#### **Composición**

Alfa-naftol 5 0 g, alcohol etílico csp 100 0 mL

#### **Preparación**

Se prepara disolviendo 5 0 g de alfa-naftol en cantidad suficiente de alcohol etílico para 100 ml

### **b) Solución al 40% de Hidróxido de Potasio**

#### **Composición**

Hidróxido de potasio 40 0 g, agua csp 100 mL

#### **Preparación**

Disolver 40 0 g de hidróxido de potasio (KOH) en agua destilada y se completa a volumen de 100 mL con el mismo disolvente

La fermentación de la glucosa da como resultado del metabolismo del piruvato por medio de dos vías alternativas ácidos mixtos y butilenglicol, las bacterias que siguen la vía de fermentación de ácidos mixtos a menudo producen suficiente ácido para mantener un pH por debajo de 4.4( el punto ácido limite del indicador rojo de metilo) (15A )



## **SOLUCION INDICADORA DE ROJO DE METILO**

### **Preparación (17)**

Disolver 0.04 g de rojo de metilo en 60 mL de etanol absoluto y ajustar el pH aproximadamente 5.0. La solución deberá tener un color anaranjado.

Esta prueba se basa en la conversión del acetyl-methyl-carbinol (acetoina) en diacetyl a través de la acción del Hidróxido de potasio y oxígeno atmosférico. El diacetyl es convertido en un complejo rojo bajo la acción catalítica del  $\alpha$ -naftol y creatina (15A).

## **CITRATO**

Para la demostración de la utilización microbiana del citrato.

En el marco de la investigación bacteriológica, este medio de cultivo sirve especialmente para la identificación de *Escherichia coli*,

### **Composición(g/litro)**

Dihidrógenofosfato amónico 1.0, hidrógenofosfato de dipotásico 1.0, cloruro sódico 5.0, citrato sódico 2.0, sulfato de magnesio 0.2, Azul de bromotimol 0.08, Agar-agar 15.0

### **Preparación:**

Disolver 24.3 g/litro, distribuir en tubos, esterilizar en autoclave (15 min a 121 °C) y dejar enfriar en posición inclinada.

pH: 6.8  $\pm$  0.1

El medio de cultivo es claro y de color verde (17)

El principio de la prueba de utilización de citrato es determinar la capacidad de un microorganismo de utilizar citrato de sodio como una fuente de carbono para su metabolismo y crecimiento. El color azul del medio prueba después de la incubación indica la presencia de productos alcalinos y un resultado positivo de la prueba de utilización de citratos, si la prueba es

negativa el color del medio es verde, evidenciando la no utilización de citrato como fuente de carbono (15A)