

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**ANALISIS MICROBIOLOGICO Y RECuento DE BACTERIAS ACIDO
LACTICAS EN YOGURES COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS
DEL DISTRITO DOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
MIRNA ISABEL ARRIOLA ALARCON
JOSE GIL MAGAÑA VANEGAS

OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

ENERO 2014

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ.

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA ANÁLISIS DE ALIMENTOS MICROBIOLÓGICO

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos.

ASESORA DE AREA ANÁLISIS DE ALIMENTOS QUÍMICA AGRÍCOLA

MSc. Ena Edith Herrera Salazar.

DOCENTE DIRECTORA

MSc. Coralia González de Díaz.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero expresar mi amplio agradecimiento a Dios por todas las bendiciones que me ha permitido tener en mi vida.

Luego, a la persona más importante de mi mundo, a mi héroe de siempre. Mami gracias por hacer que pueda estar aquí y acompañarme y cuidarme durante todo el camino, todo esto es para ti y por ti.

Gracias a mi abuela que siempre ha dado todo lo que ha estado en sus manos por mí, a mi hermana Melissa que sostuvo mi mano y me dio fuerzas casi en todo momento, a mi padre y su esposa que con sacrificios pagaron toda mi educación, y a mi hermana Jessica que siempre tenía una sonrisa para darme.

A la familia Servando Pleitez, quienes me dieron calor de hogar desde siempre y también en las largas noches de desvelo.

A ustedes, mis amigos, que se convirtieron en mi segunda familia, cada uno de ustedes sabe quiénes son, los quiero de todo corazón.

A todos esos buenos docentes, que se convirtieron en maestros y más que conocimiento académico, también me enseñaron de la vida con sus experiencias, con su cariño y con su respeto.

Mirna, gracias infinitas por haber emprendido esta aventura conmigo desde el primer día, ¡LO LOGRAMOS!

Gracias a todas las personas maravillosas con las que cuento en mi vida.

Gil M. Vanegas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios Todopoderoso que me ha regalado tantas bendiciones y me ha llenado de paciencia.

Agradezco a mis padres Dionisio Arriola y Clara Isabel Alarcón, a mi hermano Francisco Joel Arriola que me han apoyado durante todo el proceso de este trabajo y en mi vida entera.

A mi segunda familia Adriana González y Diana Roble con las que he compartido mi vida y que también han estado conmigo cuando más lo necesito.

Mi compañero Gil Vanegas, que ha sido un gran amigo para mí, y que le agradezco toda la paciencia que me ha tenido durante esta “aventura”, ¡Gracias Amigo!

A mis amigos que también me ayudaron a lo largo de estos años, llenos de alegrías, tristezas, emociones, preocupaciones y de todo un poco.

A Héctor Armando Núñez que me ha apoyado en los momentos difíciles y ha puesto una sonrisa en mi rostro cada día.

A mis amigas casi hermanas Cristina Aguilar, Nathalie Aquino, las quiero niñas.

A los docentes que merecen mi respeto y admiración entre ellos MSc. Coralia González de Díaz, MSc. Ena Edith Herrera Salazar, MSc. María Evelin Sánchez de Ramos, Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo que han tenido mucha paciencia con nosotros.

Mirna Arriola

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	xvi
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEÓRICO	20
3.1 Definición de Leche	20
3.2 Definición de Leche Fermentada	20
3.3 Clasificación de Leches Fermentadas	21
3.4 Composición Esencial de Factores de Calidad	22
3.5 Definición de Yogur	23
3.6 Clasificación del Yogur	24
3.7 Valor nutritivo del Yogur	24
3.8 Elaboración del Yogur	24
3.8.1 Características generales del producto	24
3.8.2 Características generales de los ingredientes, aditivos estabilizantes y colorantes alimentarios.	25
3.8.3 Materia Prima e ingredientes	25
3.8.4 Instalaciones y Equipo	26
3.8.5 Descripción del proceso	26
3.8.6 Control de Calidad	28
3.9 Probióticos, definición y antecedentes	29
3.10 Tipos de Probióticos	29

3.11	Importancia en la Industria Alimentaria	30
3.12	Alimentos Fortificados	31
3.13	Aportes a la Salud	32
3.14	Características Generales de las Bacterias Ácido Lácticas	
3.15	Importancia de las Bacterias Ácido Lácticas	34
3.15.1	Cultivos Indicadores	35
3.15.2	Deterioro de los Alimentos	35
3.15.3	Actividad Antimicrobiana de las Bacterias Ácido Lácticas	36
3.16	Clasificación de las Bacterias Ácido Lácticas	36
3.17	Géneros de las Bacterias Ácido Lácticas	36
		40
CAPITULO IV		
4.0	DISEÑO METODOLÓGICO	45
4.1.	Tipo de estudio: Campo, Prospectivo y Experimental	45
4.2.	Investigación de Campo	46
4.3.	Procedimiento para el muestreo	46
4.4.	Determinación de número de supermercados	47
4.5.	Determinación y Selección de yogures a muestrear	49
4.6.	Lista de chequeo a Consumidores	53
4.7.	Identificación de la Muestra	53
4.8.	Verificación de los datos en la Etiqueta del Producto	54
4.9.	Transporte de la Muestra	54
4.10.	Parte Experimental	54
4.10.1	Procedimiento para la preparación de la muestra	54
4.10.2	Medición de pH	54
4.10.3	Preparación de las diluciones	55
4.10.4	Recuento de Bacterias Ácido Lácticas	55
4.10.5	Recuento Total de Hongos y Levaduras	56
4.10.6	Recuento de Coliformes Totales	56

CAPÍTULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	60
5.1 Lista de Chequeo. Preferencias de Consumidores	65
5.2 Verificación del Etiquetado	68
5.3 Análisis Microbiológico: Recuento de Mohos y Levaduras	
5.4 Análisis Microbiológico: Recuento de Bacterias Ácido Lácticas	73 77
5.5 Coliformes Fecales	78
5.6 Medición de pH	80
5.7 Almacenamiento del Producto en el Supermercado	93
CAPÍTULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	82
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	85
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1. Lista de chequeo de preferencias del yogur.
2. Tabla de distribución normal.
3. Lista de chequeo del etiquetado de los yogures.
4. Tabla número más probable para 3 tubos.
5. Esquemas de trabajo (procedimiento de laboratorio)
 - a. Procedimiento para preparación de diluciones
 - b. Procedimiento para recuento de bacterias ácido lácticas
 - c. Procedimiento para recuento de hongos y levaduras
 - d. Procedimiento para determinación de *Escherichia coli*
6. Criterios
7. Mapa Distrito Dos de San Salvador
8. Fotografías

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág.
1. Bacterias Ácido Lácticas Homofermentativas y Heterofermentativas.	39
2. Lista de supermercados del Distrito Dos del área metropolitana San Salvador.	46
3. Lista los yogures comercializados en los supermercados del Distrito dos del área metropolitana de San Salvador.	50
4. Diferentes marcas de yogur a muestrear.	53
5. Características bioquímicas de <i>Escherichia coli</i> .	58
6. Resultados de la encuesta realizada a los consumidores de yogur en los supermercados seleccionados durante el muestreo.	60
7. Datos recolectados de las etiquetas de yogures analizados.	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág.
1. Porcentaje de cada cadena comercial de supermercados (estratos) del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador.	48
2. Número de supermercados a muestrear por estrato	49
3. Listado de supermercados a muestrear.	49
4. Cantidad de muestras por supermercado	52
5. Resultados del recuento de mohos y levaduras.	68
6. Resultados del análisis microbiológico de Bacteria Ácido Lácticas de las diferentes marcas de yogur.	73
7. Resultados detección de coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> .	77
8. Resultados de la medición de pH de los diferentes yogures.	78
9. Inspección del almacenamiento de los yogures, en las salas de venta de los supermercados muestreados.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág.
1. Elaboración del Yogur.	28
2. Etiqueta para identificación de los yogures muestreados.	54
3. Preferencias de los consumidores en cuanto a la presentación de los yogures.	61
4. Preferencias de los consumidores de yogur por las principales marcas existentes en nuestro país.	66
5. Preferencias de los consumidores antes yogures con o sin probióticos.	62
6. Preferencia de los consumidores en cuanto al sabor de los yogures.	63
7. Conocimiento de los consumidores acerca de los probióticos.	63
8. Opinión de los consumidores sobre de la importancia del consumo de probióticos.	64
9. Resultados del recuento de mohos y levaduras de los diferentes yogures seleccionados.	70
10. Resultados en porcentaje de los yogures que cumplen con el Recuento de Mohos y Levaduras especificado en el RTCA y los que sobrepasan el límite establecido.	71
11. Recuento de bacterias ácido lácticas de los diferentes yogures seleccionados.	76
12. Resultados en porcentaje de los yogures que cumplen con el recuento de bacterias ácido lácticas.	76
13. Medición de pH de los yogures seleccionados.	79

RESUMEN

Considerando que actualmente las bacterias con actividad probiótica están adquiriendo un buen posicionamiento dentro de la industria alimentaria, y que en nuestro país no se había realizado ninguna investigación similar; de ahí la importancia de una investigación que respalde la inocuidad y un recuento de bacterias ácido lácticas que refleje la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias recomendadas para que este producto ejerza el efecto probiótico en el consumidor.

En el presente documento de investigación se detalla el procedimiento que se realizó para el análisis microbiológico y recuento de bacterias ácido lácticas en yogures comercializados en supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

Primeramente se expone una definición y clasificación de las bacterias ácido lácticas presentes en los diferentes yogures que fueron analizados.

Se recolectaron muestras de yogures en los diferentes supermercados, que mediante un muestreo aleatorio fueron seleccionados y a los consumidores de yogur se les realizó una lista de chequeo con el fin de conocer las preferencias que estos tienen de las diferentes marcas, sabores y presentaciones de los yogures; con los yogures seleccionados se realizó una guía de observación del almacenamiento de estos en los supermercados y una verificación del etiquetado según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10. Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados), obteniendo como resultado que el 100% de yogures cumplen con esta norma, también se les realizó la determinación de microorganismos patógenos *Escherichia coli*, Recuento de Mohos y Levaduras de acuerdo a los requerimientos de Inocuidad dados por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 y en los resultados se observa que el 85% de las marcas de yogur cumple con estos

requerimientos; en cuanto al Recuento de bacterias ácido lácticas según la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, se concluye que el el 85% de las marcas de yogur analizadas cumplen con el contenido de bacterias ácido lácticas que la norma establece.

Por lo que se puede concluir que el 85% de yogures comercializados en el distrito 2 del área metropolitana de San Salvador cumplen con los requerimientos de calidad establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano y la Norma Oficial Mexicana en diferentes aspectos complementándose entre sí.

Los diferentes análisis de laboratorio fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD)

Se recomienda monitorear frecuentemente para así asegurar la calidad de los yogures.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCION

El yogur es un producto lácteo obtenido mediante la fermentación bacteriana de la leche. La elaboración de yogur requiere la introducción de bacterias “benignas”. Generalmente en un cultivo se incluyen dos o más bacterias diferentes para conseguir una fermentación más completa, principalmente ***Streptococcus thermophilus*** subsp. ***salivarius***, y miembros del género ***Lactobacillus***, tales como ***L. bulgaricus***, ***L. casei*** y ***L. bífidus***.

Nutricionalmente, el yogur es rico en proteínas procedentes de la leche. También contiene la grasa de la leche con la que se produjo. Además se le considera como un alimento probiótico debido a que mejoran la absorción de los alimentos, la intolerancia a la lactosa, disminuyen el colesterol sanguíneo, presentan un efecto preventivo frente a la cancerogénesis, mejoran el tono intestinal, estimulan el sistema inmunitario, etc.

Por lo anteriormente mencionado es necesario conocer acerca de la calidad microbiológica de este alimento en el mercado salvadoreño. Además se vuelve importante realizar un análisis acerca de la preferencia de los consumidores acerca de este producto, y verificar que cumpla con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10. Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados), también es necesario realizar un conteo de bacterias ácido lácticas consideradas como probióticas debido a que en la actualidad no existe ningún estudio acerca del recuento de este tipo de bacterias en los diferentes yogures, por lo que los consumidores se encuentran desinformados en este tema

El desarrollo práctico de esta investigación fue realizado en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud durante Junio – Agosto 2013.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

Realizar el análisis microbiológico y recuento de bacterias ácido lácticas en yogures comercializados en supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

2.2 Objetivos Específicos.

2.2.1 Investigar por medio de una guía de observación la preferencia de los consumidores acerca de los yogures comercializados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

2.2.2 Verificar si el etiquetado de las principales marcas de yogur cumple lo establecido por Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10. Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados).

2.2.3 Realizar un recuento de hongos y levaduras y determinar la presencia de *Escherichia coli*, en las principales marcas de yogures y comparar con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

2.2.4 Cuantificar bacterias ácido lácticas presentes en los principales yogur comercializados en el área metropolitana de San Salvador comparando con la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010 Yogurt Denominación Especificaciones Fisicoquímicas y Microbiológicas, Información Comercial y Métodos de Prueba.

2.2.5 Proporcionar los resultados obtenidos a la Defensoría del Consumidor.

CAPITULO III

MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 DEFINICIÓN DE LECHE

El término leche y productos lácteos incluye todo tipo de productos lácteos derivados de la leche de cualquier animal que suele ser ordeñado (vaca, oveja, cabra, búfala). En esta categoría, un producto simple es uno que no contiene ningún saborizante, ni contiene frutas, vegetales u otros ingredientes no lácteos; tampoco se ha mezclado con otros ingredientes no lácteos, salvo lo permitido por las normas correspondientes. Similares (sucedáneos, similar o imitación) son productos en los cuales la grasa láctea ha sido reemplazada parcial o totalmente por grasas o aceites vegetales. ⁽²¹⁾

Leche: Producto integro, no alterado, no adulterado y sin calostro, procedente del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de vacas, ovejas, cabras o búfalas sanas y bien alimentadas. ⁽²⁾

Leche cruda: es la leche producida por la secreción de la glándula mamaria de vacas, ovejas, cabras o búfalas que no haya sido calentada a una temperatura mayor a 40°C ni sometida a un tratamiento equivalente. ⁽²⁾

3.2 DEFINICIÓN DE LECHE FERMENTADA ⁽⁶⁾

Se le denomina leche fermentada al producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en la composición según, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica).

Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables.

Leche fermentada concentrada es una Leche Fermentada cuya proteína ha sido aumentada antes o luego de la fermentación a un mínimo del 5,6%.

Las **leches fermentadas aromatizadas** son productos lácteos compuestos, tal como se define en la Sección 2.3 de la Norma General para la Utilización de Términos Lácteos ⁽⁶⁾ que contienen un máximo del 50 % (w/w) de ingredientes no lácteos (tales como carbohidratos nutricionales y no nutricionales, frutas y verduras así como jugos, purés, pastas, preparados y conservadores derivados de los mismos, cereales, miel, chocolate, frutos secos, café, especias y otros alimentos aromatizantes naturales e inocuos) y/o sabores. Los ingredientes no lácteos pueden ser añadidos antes o luego de la fermentación.

Las **bebidas a base de leche fermentada** son productos lácteos compuestos, según se definen en la Sección 2.3 de la Norma General para el Uso de Términos Lecheros ⁽⁶⁾, obtenidas mediante la mezcla de Leche Fermentada, según se describen en la Sección 2.1, con agua potable, con o sin el agregado de otros ingredientes tales como suero, otros ingredientes no lácteos, y aromatizantes. Las bebidas a base de leche fermentada tienen un contenido mínimo de leche fermentada del 40% (m/m).

3. 3 CLASIFICACIÓN DE LECHE FERMENTADAS ⁽¹⁴⁾

Las leches fermentadas se clasifican de acuerdo a sus características:

Según el contenido de grasa

- Tipo I. Elaborado con leche entera, leche integra o leche integral.
- Tipo II. Elaborado con leche semi descremada o semidesnatada.
- Tipo III. Elaborado con leche descremada o desnatada.

De acuerdo a los ingredientes:

- natural
- con fruta

- azucarado
- edulcorado
- saborizado o aromatizado

De acuerdo al proceso de elaboración

- batido
- coagulado o aflanado
- bebible
- concentrado
- deslactosado

De acuerdo al contenido de etanol, el Kéfir se clasifica en:

- Kéfir suave
- Kéfir fuerte

3. 4 COMPOSICIÓN ESENCIAL Y FACTORES DE CALIDAD ⁽⁶⁾**Materias primas**

- Leche y/o productos obtenidos a partir de la leche.
- Agua potable para usar en la reconstitución o recombinación.

Ingredientes permitidos

- Cultivos de microorganismos ino cuos
- Cloruro de Sodio
- Ingredientes no lácteos
- Agua potable
- Leche y productos lácteos
- Gelatina y almidón en leches fermentadas tratadas térmicamente luego de la fermentación, leche fermentada aromatizada, bebidas a base de leche fermentada, y leches fermentadas simples si lo permite la legislación nacional del país de venta al consumidor final siempre y cuando se agreguen solamente en cantidades funcionalmente necesarias de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación.

3. 5 DEFINICIÓN DE YOGUR

Yogur: es el producto lácteo pasteurizado obtenido por fermentación láctica mediante la acción de ***Lactobacillus bulgaricus*** y ***Streptococcus thermophilus*** a partir de leche entera, semidescremada o descremada fortificada o no con sólidos de leche. Los microorganismos vivos presentes en el producto final deben ser de los tipos antes mencionados y su contenido abundante. Pueden contener cultivos prebióticos. (13)

El yogur es un alimento suave, viscoso y de sabor propio, con una estructura proteica o gel débil, características que son desarrolladas durante la fermentación de la leche por bacterias ácido lácticas. (1)

El yogur forma parte de la dieta, no solo como bebida refrescante, sino como ingrediente principal de una gran variedad de platos, incluyendo ensaladas y sopas. (1)

Tipos de yogur: (13)

Yogur natural: es el yogur que no lleva colorantes, aromatizantes ni edulcorantes.

Yogur edulcorado: es el yogur al que se han añadido azúcar u otro edulcorante autorizado.

Yogur saborizado y/o aromatizado: es el yogur natural adicionado de sustancias aromatizantes, saborizantes y colorantes naturales o artificiales autorizados.

Yogur con fruta: es el yogur al cual se han añadido alimentos aromatizantes u otros ingredientes tales como: frutas (frescas, en conserva, en polvo), puré de fruta, pulpa de fruta, jugo de fruta y otros ingredientes naturales o artificiales autorizados.

3. 6 CLASIFICACIÓN DEL YOGUR

El yogurt se encuentra en el mercado, generalmente en dos presentaciones, como yogurt asentado y como yogurt batido. Aunque Benezech y Maingonnat (1994) incluyen el yogurt bebible como un tercer tipo, este último será incluido dentro del tipo batido o agitado. En el primero, la estructura de gel es desarrollada durante la fermentación llevada a cabo dentro del envase; mientras que en el yogurt batido la estructura es formada durante la incubación a granel y desintegrada en los procesos posteriores para producir el yogurt semi-viscoso. El yogurt batido/bebible, cuyo consumo está aumentando notoriamente en norte América, contiene por lo general preparados de fruta y sustancias saborizantes. ⁽¹⁰⁾

3. 7 VALOR NUTRITIVO DEL YOGUR

La leche y los productos lácteos son fuentes importantes de minerales y elementos traza, particularmente calcio, fósforo, magnesio y zinc, y en adición al contenido, la biodisponibilidad de los mismos es un aspecto muy importante en el ser humano. La biodisponibilidad se refiere a la porción de un nutriente que es absorbida y utilizada por una persona; en el caso del calcio, se ha especulado que la absorción de este mineral proviene de productos lácteos es mayor. Las cualidades nutrimentales del yogurt provienen no sólo de la presencia de los compuestos de la leche, sino también de la transformación de éstos, como resultado de la actividad metabólica causada por la fermentación de los microorganismos. ⁽¹⁰⁾

3. 8 ELABORACIÓN DEL YOGUR ⁽¹³⁾

3.8.1. Características generales del producto

Dependiendo del tipo de yogur, éste puede ser líquido, semilíquido o de consistencia cremosa y su fermentación es procedente de la acción bacteriana de fermentos lácticos, no por otro tipo de fermentación química y gaseosa; no debe tener desprendimiento visible de suero.

3.8.2. Características generales de los ingredientes, aditivos estabilizantes y colorantes alimentarios.

Leche. La leche con la cual se elabora el yogur deberá ser pasteurizada y cumplirá con las especificaciones indicadas en la Norma NSO 67.01.02:06 Productos Lácteos. Leche Pasteurizada Y Ultra Pasteurizada. Especificaciones.

Inóculo láctico. Deberá contener microorganismos seleccionados de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y puede contener cultivos probióticos mantenidos en pleno vigor.

Fruta fresca. Los trozos de fruta fresca que se incorporan al yogur deberán provenir de fruta madura, sana, convenientemente lavada. Los trozos estarán libres de fragmentos de cáscara, semillas u otras sustancias gruesas y duras y deberán ser higiénicamente manipuladas inmediatamente antes de incorporarlos al yogur.

Fruta elaborada. Los jugos, néctares, pulpas, jaleas, mermeladas o frutas elaboradas en otras formas que se incorporen al yogur, deberán ser pasteurizados inmediatamente antes de incorporarlos.

Sustancias edulcorantes. Se permitirá el agregado de carbohidratos como sustancias edulcorantes, las que estarán perfectamente limpias y cumplirán con las especificaciones indicadas en las normas salvadoreñas correspondientes. Adicionalmente se podrá utilizar edulcorantes artificiales autorizados.

Aditivos alimentarios aprobados por la Legislación Nacional, el Codex Alimentarius o el Reglamento Técnico Centroamericano sobre Aditivos Alimentarios.

3.8.3. Materia prima e ingredientes ⁽¹²⁾

- Leche entera

- Leche en polvo
- Cultivo láctico
- Mermelada de frutas

3.8.4. Instalaciones y equipo ⁽¹²⁾

Instalaciones

El local debe ser lo suficientemente grande para albergar las siguientes áreas: recepción de la leche, pasteurización, coagulación, moldeado, empaque, cámara de frío, bodega, laboratorio, oficina, servicios sanitarios y vestidor. La construcción debe ser en bloc y las paredes deben estar cubiertas de azulejo hasta una altura de 2 metros.

Los pisos deben ser de concreto recubiertos de losetas o resina plástica, con desnivel para el desagüe. Los techos de estructura metálica, con zinc y cielorraso. Las puertas de metal o vidrio y ventanales de vidrio. Las puertas y ventanas deben cubrirse con cedazo para impedir la entrada de insectos. La planta debe tener un sistema para el tratamiento de los residuos líquidos y sólidos.

Equipo necesario

- Fuente de calor
- Sistema de enfriamiento
- Termómetro
- Ollas
- Recipientes con graduación de litros
- Balanza
- Equipo para medir acidez

3.8.5. Descripción del proceso ⁽¹²⁾

El proceso consiste en ajustar el contenido de sólidos, pasteurizar la mezcla, enfriar hasta 42°C, agregar la mezcla del cultivo láctico e incubar por tres horas

hasta alcanzar una acidez de 0.7%, para que en el cuarto frío llegue a 0.85 - 0.90 %. Antes de llenar en los envases se puede agregar frutas en forma de mermelada.

Recepción: La leche que es de buena calidad se pesa, para conocer cuánto entrará al proceso. La leche se filtra a través de una tela fina para eliminar cuerpos extraños.

Análisis: La leche debe ser sometida a un análisis para ver si es buena para el proceso. Deben hacerse pruebas de acidez, porcentajes de grasa, antibióticos y sensoriales.

Formulación: La leche se estandariza al 2% de grasa y se agrega 3% de leche en polvo descremada para aumentar el contenido de sólidos totales que contribuyen con la consistencia final del yogurt.

Pasteurización: La mezcla se pasteuriza a 85°C durante 10 minutos. Luego se enfría a 42°C, haciendo circular agua fría.

Inoculación del cultivo láctico: Se agrega un 2% de cultivo. También se puede agregar entre 2 a 3 % de un yogurt natural si no se cuenta con cultivo madre. Cuando se agrega el cultivo debe agitarse lentamente. El cultivo láctico puede adquirirse comercialmente y una vez iniciado el proceso pueden mantenerse cultivos propios, o comprarlos cada vez que sea necesario.

Incubación: Se hace en un baño maría a temperatura de 42 °C, por un tiempo de 3 a 4 horas, o cuando la acidez haya alcanzado 0.70%. En este tiempo la leche se coagula como un flan, evitando el desprendimiento de suero.

Enfriamiento: Se deja enfriar al ambiente, para evitar el desuerado.

Batido: Se hace agitándolo lentamente para homogeneizarlo, aquí se le puede agregar 10 a 15% de mermelada de frutas en proporción 50:50 fruta: azúcar. También se le puede agregar color y sabor artificial.

Envasado: Se vierte en frascos de vidrio o plástico, luego debe ser refrigerado por un tiempo que no exceda los 7 días. Los envases deben ser esterilizados previamente en agua caliente por un tiempo de 15 minutos.

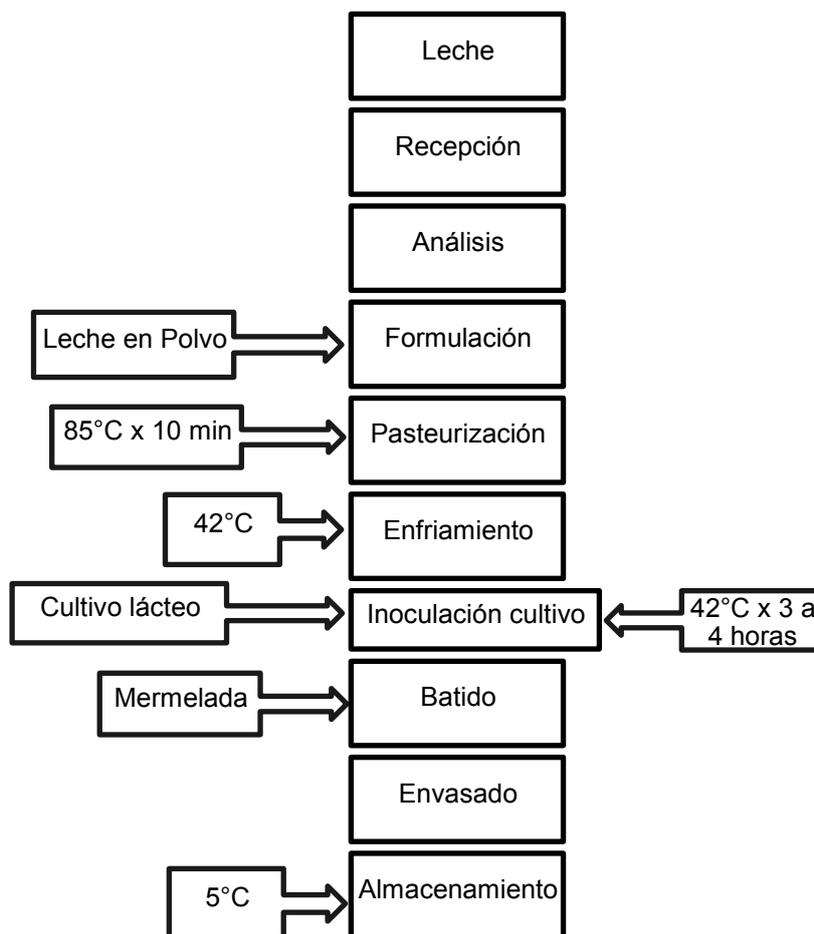


Figura. N° 1. Elaboración del Yogur. (9)

3.8.6. Control de calidad (12)

Materia Prima

Debe usarse leche con la acidez adecuada (no mayor de 0.18%) y sin agregar agua. La leche debe estar libre de impurezas.

Proceso

Mantener muy buenos hábitos de higiene personal y de equipo. Dar los tiempos y temperaturas recomendadas durante el proceso. El cultivo madre agregado en una proporción mayor a la indicada puede generar un sabor amargo.

3. 9 PROBIÓTICOS. DEFINICIÓN Y ANTECEDENTES ⁽¹⁰⁾

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que afectan beneficiosamente el huésped una vez que se consumen cantidades adecuadas.

Los beneficios a la salud asociados a las bacterias “amigables” llamó la atención del público en general por primera vez en 1908, cuando el biólogo Ruso Dr. Elie Metchnikoff escribió “*The Prolongation of Life*” (*La prolongación de la vida*).

El Dr. Metchnikoff reconoce que ciertos glóbulos blancos conocidos como fagocitos ingerían y destruían las bacterias que representaban un peligro.

Simultáneamente con su trabajo del sistema inmune, estudió las bacterias productoras de ácido láctico. Después de mucha investigación, estaba convencido de haber descubierto porque muchos búlgaros viven notablemente más que otras personas. En base a este fenómeno, estableció la teoría, que debido a su consumo de grandes cantidades de alimentos de cultivo, especialmente el yogur, del cual creía que ayudaba a mantener las bacterias benignas que habitan en el tracto gastrointestinal.

Fue él quien llamó al principal cultivo bacteriano del yogur ***Lactobacillus bulgaricus***, en honor a los búlgaros amantes del yogur.

3. 10 TIPOS DE PROBIÓTICOS ⁽⁵⁾

Probióticos naturales: Están presentes en la alimentación de todos los días, pero no siempre lo sabemos. En forma natural, los probióticos se

encuentran en lácteos fermentados como yogures, leche y quesos; vegetales fermentados -aceitunas, chucrut, soya, cereales-; productos cárneos y pescados fermentados; y bebidas alcohólicas artesanales. Sin embargo, se requieren estudios científicos que garanticen la existencia de cepas probióticas entre la microflora láctica silvestre de los alimentos.

Probióticos comercializados: Durante años, distintas poblaciones han consumido probióticos naturales en su dieta. La industria tomó nota de esta realidad y comenzó a comercializar los productos que contenían probióticos haciendo foco en ello. Es algo similar a lo que sucede con las formulaciones para lactantes, que tratan de emular la leche materna con el objetivo de generar el desarrollo de una microflora intestinal benéfica.

Suplementos alimenticios que contienen probióticos: Se trata de suplementos dietarios que contienen probióticos en forma de cápsulas o en polvo. No es un medicamento y su distribución se rige por las leyes de los alimentos.

Productos medicinales o agentes bioterapéuticos: Es un probiótico con un efecto terapéutico probado; es decir, es un medicamento. El uso de probióticos en medicina se conoce también con el nombre de “bioterapia”. Los agentes bioterapéuticos son microorganismos que tienen un efecto demostrado. Para ser eficaces deben:

- Ser resistentes a la gran mayoría de los antibióticos que se usan comúnmente.
- Tener efectos terapéuticos inmediatos.
- Tener efectos múltiples: inhibición de la adhesión de los patógenos, efectos de inmunomodulación, competencia con las toxinas por los receptores de éstas y, por supuesto, competencia por los nutrientes.

3. 11 IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA ⁽¹⁵⁾

En el siglo que ha transcurrido desde que el trabajo del Dr. Metchnikoff, el concepto de probióticos ha sido aceptado por científicos y consumidores a

través del mundo. Intentos de perfeccionar la práctica del uso de leches agrias para preparaciones que contienen un microorganismo específico han ocupado los pensamientos y los esfuerzos de los científicos en diferentes países del mundo. Pero a pesar de la gran cantidad de esfuerzos hechos en el intento de explicar y definir su efecto, se ha admitido que se conoce poco acerca de la manera en la que los probióticos actúan.

La falta de conocimiento fundamental del mecanismo del efecto de los probióticos no ha disuadido el desarrollo de una gran cantidad de preparados con probióticos destinados al tratamiento de varias afecciones en animales y humanos. Actualmente existen más de 20 productos en el mercado del Reino Unido.

Un factor que ha definido el uso en la selección del cultivo de probióticos ha sido la habilidad que tienen para adherirse a las células epiteliales del intestino del animal del cual el probiótico se alimenta.

3. 12 ALIMENTOS FORTIFICADOS ⁽⁵⁾

Los probióticos se usan cada vez más como complementos funcionales en productos de consumo diario y en productos nuevos, tales como la leche de soya, jugos de fruta, derivados cárnicos, alimentos a base de cereales y principalmente el yogur con beneficios fisiológicos comprobados. ⁽¹⁰⁾

A nivel internacional, los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran disponibles a través de laboratorios o industrias alimenticias, así como en colecciones de cultivos (ATCC, DSM, CRL [CERELA-CONICET]).

También están presentes en preparados en forma de tabletas y polvos, que incluyen un solo microorganismo o una mezcla de ellos, como Multibiota (L. acidophilus, Bifidobacterium bifidum y B. longum) en Inglaterra y Protexin (Streptococcus, dos cepas de bifidobacterias y cuatro lactobacilos).

Otros ejemplos en el mundo son:

- ***Lactobacillus acidophilus*** NCFM (Rhone-Poulenc, Estados Unidos)
- ***Lactobacillus reuteri*** 106 (BioGaia, Estados Unidos)
- ***Bifidobacterium longum bb536*** (Morinaga Milk Ind. Japón)
- ***Lactobacillus plantarum 299*** (ProViva, Finlandia)
- ***Lactobacillus casei defensis*** DN 114-001 (Danone-La Serenísima)
- ***Bifidobacterium animalis*** DN 173-010 (Danone-La Serenísima)
- ***Lactobacillus casei*** YIT9018, Shirota, (Yakult, Japón)
- ***Lactobacillus johnsonii*** LJ-1 (Nestlé, Suiza)
- ***Lactobacillus casei*** CRL 431, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (CERELA, Argentina)
- ***Lactobacillus reuteri*** CRL 1098 (patente en trámite nro. p040103130, CERELA, Argentina).

Como su nombre lo indica, los probióticos lácticos están incluidos en diversos productos lácteos que se encuentran actualmente en el mercado, como los denominados “**bio-yogurts**” o simplemente “**yogur**”, las leches fermentadas, los quesos probióticos y la leche BIO entre otros. Estos productos son comercializados con el eslogan: “Mejoran el balance de la flora intestinal”.

3. 13 APORTES A LA SALUD ^(7,26)

Grandes poblaciones de lactobacilos y bifidobacterias en el tracto intestinal son generalmente un indicador de un intestino sano.

Así, las cepas de ***Lactobacillus*** y ***Bifidobacterium*** han sido el foco de muchas investigaciones que estudian el rol de los probióticos en el mantenimiento de un intestino sano.

Los probióticos han comprobado suprimir la diarrea, aliviar la intolerancia a la lactosa y complicaciones postoperatorias, reducir los síntomas del colon irritable, prevenir la enfermedad inflamatoria intestinal, presenta actividades antimicrobianas y contra cáncer colo-rectal, a través de varios mecanismos propuestos. Sin embargo, para ejercer sus efectos beneficiosos, los probióticos deben ser capaces de sobrevivir dentro del tracto gastrointestinal, y sostenidos a niveles suficientemente altos dentro del intestino.

La dosis general de probióticos observada vía oral es en exceso de 10^9 UFC/día. La mayoría de células probióticas administradas, ejercen sus beneficios a la salud con la adhesión satisfactoria a las células intestinales. Sin embargo, se ha recomendado que la administración oral de probióticos se continúe en una base diaria, debido a que las células son constantemente eliminadas del tracto digestivo en las heces ante cambios fisiológicos del huésped y/o por la administración de agentes antimicrobianos como los antibióticos.

Dentro de los efectos benéficos que se han atribuido a estos microorganismos se incluyen:

- Mejoría en las enfermedades infecciosas.
- Mejoría en enfermedades crónicas intestinales como colitis ulcerosa
- Reducción del colesterol sérico.
- Mejora en la absorción del calcio.
- Producción de enzimas útiles en la pre-digestión de proteínas, carbohidratos y lípidos de la leche, lo que permite a un individuo con intolerancia a la lactosa consumir leche o productos derivados.
- Contribución a la prevención de cáncer colon-intestinal.

Estos efectos pueden deberse directa o indirectamente a la regulación de la microflora intestinal o de la respuesta inmunológica. Entre las bacterias probióticas utilizadas para el consumo humano se encuentran las BAL, que incluyen a las siguientes cepas: ***Lactobacillus acidophilus***, ***Lb. plantarum***, ***Lb. casei***, ***Lb. casei*** subsp. ***rhamnosus***, ***Lb. delbrueckii*** subsp.

***bulgaricus*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* spp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*.**

3.14 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS ⁽⁷⁾

Las BAL poseen características ecológicas y metabólicas de importancia económica y tecnológica en los alimentos. Su clasificación se basa en la morfología, la forma de fermentar la glucosa, desarrollo a diferentes temperaturas, la configuración del ácido láctico producido, la habilidad de crecer a altas concentraciones de sal y tolerancia a la alcalinidad y acidez.

Las BAL son anaerobias, aunque pueden ser aerotolerantes, aunque algunas especies, como las que se encuentran en el intestino de los animales, son anaerobias estrictas. Incluso en presencia de oxígeno no son capaces de llevar a cabo la fosforilación oxidativa lo que está muy relacionado con su incapacidad de sintetizar el núcleo hemo de las porfirinas. Son bacterias anaerobias facultativas o microaerófilas (soportan tensiones reducidas de oxígeno); capaces de fermentar tanto en aerobiosis como en anaerobiosis. Algunas captan oxígeno por mediación de las oxidasas de las flavoproteínas, oxidación que se utiliza para producir peróxido de hidrógeno y/o para oxidar de nuevo el NADH producido durante la deshidrogenación de los azúcares son catalasa y oxidasa negativa porque están desprovistas de citocromos, y generalmente son nitrato reductasa negativas.

Las BAL son mesófilas, aunque algunas son capaces de crecer a temperaturas tan bajas como 5°C y otras a temperaturas tan altas como a 45°C, generalmente su temperatura óptima se encuentra entre 25°C y 30°C. Con respecto al pH de crecimiento, existen algunas que pueden desarrollarse desde pH 3.2 hasta 9.6, pero la mayoría crece entre 4.0 y 4.5. Otra característica de las BAL es que son débilmente proteolíticas y lipolíticas. La

tolerancia a la sal (6.5% NaCl) puede ser utilizada para distinguir a los ***Enterococcus, Lactococcus y Streptococcus***.

Son muy exigentes en su nutrición nitrogenada y vitamínica; sólo pueden crecer en medios ricos en vitaminas, bases nitrogenadas y fuentes de carbono; así, el medio debe aportar una mezcla compleja de las vitaminas B, aminoácidos, péptidos, bases púricas y pirimídicas.

A pesar de la utilidad que las BAL tienen en la industria, es difícil cultivarlas por la necesidad de una gran cantidad de requerimientos nutricionales. Se utilizan varios medios de cultivo (selectivos o diferenciales) para el aislamiento y recuento de estos microorganismos a partir de alimentos, entre los que se encuentran agar MRS (de Man-Rogosa-Sharpe); agar APN (Actidiona-polimixinanitrito); agar de Lee y el agar de Chalmers.

3.15 IMPORTANCIA DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

3.15.1 Cultivos iniciadores ⁽⁷⁾

Un cultivo iniciador se define como aquel cultivo formado por una o varias cepas de bacterias activas, capaces de multiplicarse en un alimento para propiciar la acidificación rápida del medio donde producen cambios específicos en el aroma, sabor, textura, cuerpo, acidez, humedad, digestibilidad y aspecto de los alimentos. Se utilizan para la elaboración de productos como col agria, embutidos productos lácteos y bebidas alcohólicas.

Las bacterias que se emplean como cultivos iniciadores en quesos pertenecen principalmente a los géneros ***Streptococcus, Lactococcus, Leuconostoc y Lactobacillus***, los cuales se adicionan para producir la acidificación adecuada para las temperaturas de fabricación, lo que permite controlar y frenar el desarrollo de la flora microbiana presente en la leche y descende el pH favoreciendo la actividad de coagulante del cuajo. La elección del cultivo iniciador determina el sabor, aroma y textura de la cuajada.

3.15.2 Deterioro de los alimentos

En cuanto a los aspectos negativos, las BAL están implicadas en la descomposición o deterioro de la carne, las verduras, vinos, la leche y otros productos de consumo diario, originando cambios en la composición de algunos alimentos y provocar un mal sabor, olores desagradables, acidez y turbidez. Algunos son el agriado en productos lácteos, frutas y alimentos perecederos, espesamiento en productos que contienen líquidos azucarados (almíbares), mucosidad y enverdecimiento de embutidos. (7)

3.15.3 Actividad antimicrobiana de las Bacterias Ácido Lácticas

El efecto antimicrobiano de las BAL contra otras bacterias se conoce desde hace muchos años. Metchnikof señalaba que una flora nativa intestinal estable regula la toxemia crónica natural que tiene un papel primordial en el envejecimiento y muerte. Aparte de la competencia por sustratos, los sitios de colonización y los productos de la fermentación, resultan inhibitorios para muchos patógenos. (12)

La fermentación reduce la cantidad de carbohidratos disponibles y produce diversas moléculas orgánicas de bajo peso molecular que pueden presentar actividad antimicrobiana, siendo las más comunes el ácido láctico, acético y propiónico. No obstante, también se conoce que las bacterias ácido lácticas producen otras sustancias antagónicas, como son el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), reuterina, dióxido de carbono (CO₂), diacetilo (2,3-butanodiona), acetaldehído y compuestos de alto peso molecular. (7)

3.16 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (17)

Las bacterias ácido lácticas pertenecen al **Phylum Firmicutes** que comprenden alrededor de 20 géneros: **Lactococcus**, **Lactobacillus**, **Streptococcus**, **Leuconostoc**, **Pediococcus**, **Aerococcus**, **Carnobacterium**, **Enterobacterium**, **Oenococcus**, **Tetragenococcus**, **Vagococcus** y **Weisella** son los principales miembros de las bacterias ácido lácticas, siendo **Lactococcus** el más común de estos géneros.

El tipo y característica de los organismos iniciadores que son utilizados en la producción de leches fermentadas, son los dos más importantes factores que determinan la calidad del producto final. El criterio esencial para la selección de iniciadores incluye acidificación, aroma, sabor, estabilidad y textura. Estos se pueden clasificar de varias maneras, dependiendo de su forma, temperatura de crecimiento, funciones, etc.

a) Según la fermentación de la lactosa las bacterias ácido lácticas se clasifican en homofermentativas (producen solo ácido láctico) y heterofermentativas (produce ácido láctico y otras sustancias).

– **Homofermentativas** ⁽¹⁸⁾

Compuesto de ***Lactococcus***, ***Pediococcus***, ***Streptococcus***, ***Enterobacterium*** producen más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa en contraste con las bacterias heterofermentativas que producen cantidades iguales de lactato, dióxido de carbono y etanol a partir de glucosa; usando la hexosa monofosfato o la vía de las pentosas y generan la mitad de la energía del grupo homofermentativa.

Las bacterias pertenecientes a este grupo poseen las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa, pero carecen de fosfocetolasa. Dentro de este grupo se tiene: Lactobacilos de bastones largos, aislados o en cadenas cortas, termófilos, acidificantes muy energéticos y de actividad caseolítica notable. **Streptococcus**, de formas esféricas en cadenas, acidificación rápida y poca actividad caseolítica.

– **Heterofermentativas** ⁽¹⁷⁾

Producen solamente el 50% de ácido láctico. Este grupo está compuesto de un número de géneros incluyendo: ***Lactococcus***, ***Enterococcus***, ***Streptococcus***, ***Leuconostoc*** y ***Pediococcus***. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfocetolasa, pero carece de la aldolasa y hexosa

isomerasa; así que utilizan la vía de la hexosa monofosfato o la de la pentosa.

Las especies heterolácticas obligadas utilizan solamente la ruta dependiente fosfoacetolasa para metabolizar azúcares, y además de ácido láctico ellas producen cantidades significantes de ácido acético y/o etanol con la generación de dióxido de carbono.

Miembros de las bacterias ácido lácticas pueden ser subdivididas en dos distintos grupos basados en su metabolismo de carbohidratos.

En la fermentación heteroláctica los ***Lactobacillus*** están formados por: ***plantarum, ramnosus, coryneformis, curvatus, casei, paracasei, brevis, buchneri, fermentun, kéfir, reuteri, leuconostoc***. Y en la homoláctica ***Lactobacillus acidophilus, delbrueckii*** subsp. ***delbrueckii, delbrueckii*** subsp. ***lactis, delbrueckii*** subsp. ***bulgaricus, lactis, thermophilus***.

Las Bacterias ácido lácticas se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento en mesófilas y termófilas.

b) Según la temperatura. ⁽¹⁷⁾

– Mesófilas

Temperatura ideal de incubación: 20 a 25°C, volumen de cultivo líquido 1-2%, tiempo de incubación: 18-20 horas, acidez final 0.8% de ácido láctico, especies

Lactococcus lactis subsp. ***lactis***, ***Lactococcuslactis*** subsp. ***cremoris***, ***Lactococcus lactis***, biovariedad ***diacetylactis***, etc., utilización: kumis, quesos semi-madurados.

– Termófilas

Temperatura ideal de incubación: 40-45°C, volumen de cultivo líquido 2-3%, tiempo de incubación: 2-4 horas, acidez final 0.9% de ácido láctico, especies: ***Lactobacillus delbrueckii*** subsp. ***bulgaricus***, ***Lactobacillus***

lactis, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, etc., utilización: yogurt y quesos madurados. Algunas de las pruebas para selección de bacterias lácticas para cultivos iniciadores son fermentación de la leche y producción de cultivos.

Cuadro N° 1. Bacterias Ácido Lácticas Homofermentativas y Heterofermentativas

Bacterias Ácido Lácticas		
Homofermentativas	Heterofermentativas	Heterofermentativas Facultativas
<i>Lactobacillus:</i> <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus.</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. jensenii</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subesp. <i>lactis</i> <i>Lb. Farciminis</i> <i>Lb. salivarius</i> subesp <i>salivarius</i> <i>Lb. Gasseri</i>	<i>Lactobacillus:</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. buchneri</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. hilgardii</i> <i>Lb. sanfrancisco</i> <i>Lb. trichodes</i> <i>Lb. Fructivorans</i> <i>Lb. collinoides</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. Maleferementans</i>	<i>Lb. acetotolerans</i> <i>Lb. hamsteri</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. coryniformis</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. sake</i> <i>Lb. paracasei</i> <i>Lb. Rhamnosus</i> <i>Lb. pentosus</i> <i>Lb. alimentarius</i> <i>Lb. Agilis</i>
<i>Pediococcus:</i> <i>P. damnosus</i> <i>P. dextranicum</i> <i>P. parvulus</i>	<i>Leuconostoc:</i> <i>Lc. amelibiosum</i> <i>Lc. argentinum</i> <i>Lc. lactis</i> <i>Lc. mesenteroides</i> <i>Lc. Gelidum</i>	<i>Pediococcus:</i> <i>P. acidilactici</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>P. damnosus</i> <i>P. dextrinicus</i> <i>P. inopinatus</i>

Cuadro N° 1. Continuación

Bacterias Ácido Lácticas		
Homofermentativas	Heterofermentativas	Heterofermentativas Facultativas
<i>Streptococcus:</i> <i>S. bovis</i> <i>S. thermophilus</i>	<i>Carnobacterium:</i> <i>C. divergens</i> <i>C. mobile</i> <i>C. gallinarum</i> <i>C. piscícola</i>	
<i>Lactococcus:</i> <i>L. lactissubesp. lactis</i> <i>L. lactissubesp. cremoris</i> <i>L. lactissubesp. hordmiae</i> <i>L. garviae</i> <i>L. plantarum</i>	<i>Weissella:</i> <i>W. confusus</i> <i>W. paramesenteroides</i> <i>W. confusus</i> <i>W. halotolerans</i> <i>W. minor</i> <i>W. viridescens</i>	
<i>Vagococcus:</i> <i>V. fluvialis</i> <i>V. salmoninarum</i>		

3. 17 GÉNEROS DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS. (7)

Al tratarse de un grupo heterogéneo, las bacterias lácticas están representadas por varios géneros de importancia: ***Streptococcus***, ***Lactobacillus***, ***Lactococcus***, ***Enterococcus***, ***Leuconostoc***, ***Pediococcus***, ***Vagococcus***, ***Weissella***, ***Lactosphaera***, ***Oenococcus*** y ***Tetragenococcus*** los cuales tienen células en forma de cocos y el género ***Lactobacillus***, con células en forma de bacilos. A estos géneros se han añadido recientemente algunos ***Lactobacillus*** heterofermentativos no acidodúricos que han sido reclasificados e incluidos en el nuevo género ***Carnobacterium***.

Los géneros que se describen brevemente a continuación son los que tienen mayor importancia en la microbiología de los alimentos:

El género ***Streptococcus***, son cocos esféricos u ovoides de 0.8-1.2 μm , típicamente dispuestos en pares o en cadenas, y son anaerobios facultativos. Tienen la característica de ser homofermentativos puesto que su fermentación es de tipo homoláctico, transformando la lactosa a ácido láctico. Son más sensibles al oxígeno y poseen una considerable actividad superóxido-ismutasa. Estas bacterias tienen en general una completa necesidad de factores de crecimiento: vitamina B, aminoácidos, péptidos, bases púricas y piridimícas. Ésta es una de las razones por las que abundan en un medio rico como la leche.

Los más conocidos son ***S. lactis*** y ***S. cremoris***, los cuales son responsables de la acidificación de la leche, y el ***S. diacetylactis*** que produce también la fermentación del ácido cítrico a diacetilo, sustancia característica del aroma de la mantequilla. Es también importante el ***S. thermophilus*** que se desarrolla bien a 40-45°C, por lo que se emplea para conseguir la acidificación del yogur durante su maduración a 45°C y para la maduración de los quesos de pasta cocida.

El género ***Leuconostoc*** se aísla de productos lácteos y cárnicos, vinos, frutas, hortalizas (en particular la remolacha), vegetales en fermentación, productos de panificación y de soluciones viscosas de azúcar. Son cocos en pares o en cadenas como los ***Streptococcus*** pero esta bacteria es heterofermentativa. Produce ácido láctico levógiro D (+), etanol y CO₂. Estas especies son mesófilas (óptimo: 20-30°C) y se caracterizan por la producción de ácido a partir del citrato de la leche, algunas bacterias pueden fermentar la crema con producción de diacetilo (***Leuconostoc citrovorum***) y a veces por la síntesis de dextranos y de levanos extracelulares en presencia de sacarosa. Se encuentra involucrado en el deterioro de alimentos ricos en carbohidratos simples, pero utilizados en forma controlada, se usan en la elaboración de algunos quesos debido a la generación de aromas apreciables.

El género **Lactobacillus** comprende bacterias Gram positivas, en forma de bastoncillos, esporógenas, catalasa negativa, aerotolerantes o anaerobios, acidófilos, con requerimientos nutricionales muy complejos, vitaminas, aminoácidos. Incluye especies homofermentativas obligadas las cuales se dividen en termófilos y mesófilos, heterofermentativas facultativas y heterofermentativas obligadas. Producen mayor cantidad de ácido láctico que los **Streptococcus** y tienen una intensa actividad proteolítica, la cual se aprovecha en la maduración de los quesos. En los de pasta cocida son importantes las especies termófilas como **Lb. helveticus** y el **Lb. Lactis** y para los quesos de pasta dura no cocida se utilizan las especies mesófilas como **Lb. Casei** y **Lb. Plantarum**.

El género **Carnobacterium** se desprendió del **Lactobacillus** cuando se observaron diferencias significativas de cepas aisladas de carne de vacuno, de pescado y de aves envasadas al vacío y almacenadas a baja temperatura. Son bacilos de 0.5-0.7 x 1.1-3.0 µm; en cultivos viejos se alargan. Son psicrótrofos con metabolismo homofermentativo y menos rigurosos en sus demandas nutricionales y de intolerancia al oxígeno. Originalmente se distinguen seis especies en el género: **C. alterfunditum**, **C. funditum**, **C. mobile**, **C. divergens**, **C. gallinarum** y **C. piscicola**. Dos caracteres que distinguen este género del género **Lactobacillus** es la ausencia de crecimiento en acetato y la composición en ácidos grasos.

Las diferentes especies del género **Pediococcus** están en los vegetales en descomposición, a veces en las bebidas: cerveza, sidra y vino. Son cocos esféricos, 1.0-2.0 µm, anaerobio facultativo; cepas inhibidas en presencia de oxígeno. Los **Pediococcus** están formados por células agrupadas en pares. Son homofermentativos que fermentan los azúcares produciendo ácido láctico DL o L (+). Sus exigencias nutricionales, su débil actividad proteolítica y en la mayor parte de las especies su incapacidad para utilizar la lactosa, no les permite acidificar y coagular la leche. Las especies se diferencian por su tolerancia a la temperatura, al pH y al NaCl.

El género **Lactococcus** es utilizado como cultivo iniciador en la obtención de productos lácteos. Consiste en células ovoides Gram positivas que aparecen aisladas, en forma de pares o en cadenas, las cuales producen ácido L(+) láctico. Son homofermentativos y no forman esporas, tampoco tienen flagelos. Para su nutrición necesitan diversos aminoácidos y son también dependientes de diversas vitaminas.

Son utilizados para la producción de lácteos. Dentro de las especies de **L. lactis**, dos subespecies, **lactis** y **cremoris** son las más ampliamente encontradas en las fermentaciones de productos lácteos. Los **Lactococcus** tienen influencia en la calidad sensorial del queso durante su manufactura y maduración.

Las bacterias del género **Enterococcus** consisten en células esféricas en forma de cocos Gram positivas dispuestas en pares o cadenas cortas, y son catalasa negativa. Son organismos que crecen entre 10-45°C, en 6.5% de NaCl y un pH de 9.6.

Puede sobrevivir a temperaturas de 60°C por 30 min. Son muy comunes en quesos, se detecta en más del 96% de diferentes variedades de quesos italianos. En muchos quesos se utilizan como cultivos iniciadores y las células que sobreviven a la pasteurización se muestran activas y participan en la generación de aromas.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4. 1. TIPO DE ESTUDIO: CAMPO, PROSPECTIVO Y EXPERIMENTAL

Campo: Se recolectaron muestras de yogur de las principales marcas en los supermercados seleccionados; además se utilizó una guía de observación para conocer las condiciones de temperatura a la cual se encuentra el alimento y una lista de chequeo para conocer la preferencia de los consumidores por los diferentes tipos de yogur y sus marcas, también se realizó una inspección del etiquetado del producto.

Experimental: Con las muestras recolectadas se realizó la determinación de microorganismos patógenos *Escherichia coli*, determinación de coliformes totales, Recuento de Mohos y Levaduras y el Recuento de bacterias ácido lácticas; en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

Prospectivo: Queda un antecedente del estudio microbiológico preliminar de los principales yogures con probióticos comercializados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, además como los resultados se proporcionan a la Defensoría del Consumidor, quien se encargará de su manejo pertinente.

Investigación Bibliográfica.

Se ha consultado en las Bibliotecas:

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

- Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Internet.

4. 2. INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Universo: Todos los yogures que en su etiqueta rotulen con probióticos, distribuidos en los supermercados del distrito dos de la zona metropolitana de San Salvador.

Muestra: Trece yogures, en cada muestreo siendo un total de 26, que en su etiqueta rotulan “con probióticos” seleccionados por medio de un proceso estadístico (muestreo aleatorio simple) por cada una de las 6 marcas y presentaciones que se distribuyen en dichos supermercados. Los sabores se eligieron de acuerdo a las preferencias de los consumidores por medio de una lista de chequeo.

Muestreo: Se realizó un muestreo aleatorio estratificado a partir de los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador para la agrupación y determinación del número de supermercados a muestrear además para seleccionar las sucursales de los supermercados donde se tomaron las muestras de yogur. Para seleccionar el número de estas muestras se utilizó un muestreo aleatorio simple, donde se consideraron los resultados de la lista de chequeo para la selección de los sabores y presentaciones de los yogures a ensayar.

4. 3. PROCEDIMIENTO PARA EL MUESTREO

Cuadro N° 2: Lista de supermercados del Distrito Dos del área metropolitana San Salvador.

SÚPER SELECTOS	DESPENSA DE DON JUAN
Metro Sur	Los Héroes
Metro Centro	
Miralvalle 1	
San Luís	Escalón Norte
Miralvalle 2	
Gigante	

4. 4. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE SUPERMERCADOS

El muestreo estratificado se realizó clasificando los 8 supermercados (universo) del distrito dos de la zona metropolitana de San Salvador, por sus cadenas comerciales, como estratos.

Para elegir los supermercados a muestrear por estrato, se utilizó un muestreo aleatorio simple, en donde se eligió al azar.

Estrato se entiende como cadena comercial (Súper Selectos y Despensa de Don Juan).

Fórmula para determinar el tamaño muestral por el método del muestreo estratificado ⁽³⁾

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

Dónde:

N = Universo

n = Muestra

Z = Intervalo de confianza al 97.5%

p = Población que posee la característica de interés

q = Población que no posee la característica de interés

d = Error muestral máximo permisible en la investigación

En este caso se asumirá **varianza máxima** por lo que los valores de p y q serán 0.5.

Así tenemos:

$$n = \frac{(8)(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2(8 - 1) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 2.83 \cong 3 \text{ Tamaño de la muestra}$$

Nota: Z = 1.96; para un intervalo de confianza de 97.5% se busca en la tabla de distribución normal el valor de 0.975, en la columna el valor es de 1.9 y

en la fila es de 0.06 por lo que la suma de estos dos valores equivale a $Z = 1.96$.

Por lo que el número de supermercados que serán muestreados son 3.

El porcentaje representativo de cada estrato se representa así: ⁽³⁾

$$\% = \left(\frac{Ni}{N} \right) \times 100$$

Dónde:

Ni: Número de supermercados por estrato

N: Número de supermercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$\% = \left(\frac{6}{8} \right) \times 100$$

$$\% = 75\%$$

Por tanto la cadena comercial Súper Selectos representa un 75% del muestreo.

Tabla N° 1 Porcentaje de cada cadena comercial de supermercados (estratos) del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador.

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1 (Súper Selectos)	$(6/8) \times 100$	75
2 (Despensa de Don Juan)	$(2/8) \times 100$	25
Total		100

La unidad que se muestreará en cada estrato se obtiene de la siguiente fórmula: ⁽³⁾

$$ni = n \times \left(\frac{Ni}{N} \right)$$

Dónde:

ni: Número de supermercados a muestrear por cada estrato

n: Tamaño de la muestra

Ni: Número de supermercados por estrato

N: Número de supermercados en el universo

Así tenemos para el estrato 1:

$$ni = 3 \times \left(\frac{6}{8}\right)$$

$$ni = 2.25 \cong 2$$

Es decir que se muestrearon 2 supermercados de la cadena comercial Súper Selectos.

Tabla N° 2. Número de supermercados a muestrear por estrato

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1 (Súper Selectos)	$3 \times (6/8)$	2
2 (Despensa de Don Juan)	$3 \times (2/8)$	1
	Total	100

La selección se realizó aleatoriamente, obteniéndose el listado de la cantidad de sucursales que se muestrearon de los diferentes supermercados, la cual se presenta en la siguiente tabla:

Tabla N° 3.Listado de supermercados a muestrear.

Número	Cadena comercial	Sucursal
1	Súper Selectos	Metro Centro
2	Súper Selectos	Miralvalle 2
3	Despensa de Don Juan	Los Héroes

4. 5. DETERMINACIÓN Y SELECCIÓN DE YOGURES A MUESTREAR

Se realizó una investigación previa acerca de la variedad de yogures que se comercializan en los diferentes supermercados seleccionados obteniéndose el siguiente cuadro:

Cuadro N° 3: Listado de yogures comercializados en los supermercados del Distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

MARCA	VARIETADES	PROBIÓTICOS QUE ROTULA
Yes	Líquido	
	200 mL y 750 g (manzana, aloe, uva, melocotón, banano-fresa, piña colada, banano-fresa light, fresa, 4 pack liquido).	No rotula especie
	200 mL y 750 g light (banano-fresa, melocotón, fresa,)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Cremosos	
	1 kg y 125 g (fresa, melocotón, natural manzana, banano-fresa, conga, fresa, vainilla, fresa fruta al fondo, tutti-frutti fruta al fondo, 4 pack light, natural, cherry fruta al fondo).	No rotula especie
	1 kg y 125 g Light (fresa light, tutti-frutti light, 4 pack light, natural).	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Línea Infantil Yes Kids 100 g	
	Fresa, banano-fresa, uva, chicles, manzana, 4 pack kids, marshmallows	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Líquido Yes Safari 100 mL	
	Durazno, fresa, manzana, 4 pack safari.	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Yes Cool 125 g		
Fresa, banano-fresa, uva.	No rotula especie	
Yoplait	Frutas	
	Batido 200mL (Fresa, Durazno, Frutas y Cereales, Manzana, Mango, Frutas Tropicales, Frutas Rojas)	<i>Bifidobacterium lactis</i>
	Líquido 200mL (Fresa, Manzana, Mango, Durazno y Piña-Coco)	
	Light	
Líquido 200mL Fresa, Natural, Durazno	<i>Bifidobacterium lactis</i>	

Cuadro N° 3: Continuación

MARCA	VARIEDADES	PROBIÓTICOS QUE ROTULA
Dos pinos	Deligurt	
	Líquido 200 mL (Fresa, Frutas, Melocotón, Arándano) y 750 mL en botella plástica (Fresa, Frutas, Arándano).	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
	4 pack 500 g: 4 yogurts de 125 g en envase plástico termoformado (Fresa, Frutas, Fresa, Fresa- Naranja).	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
	In line	
	Líquido: 200 mL y 750 mL en botella plástica Fresa y Frutas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
	Clásicos in line: 150 g (natural, fresa, frutas con cereal) y 500 g (natural, fresa) envase plástico termoformado	
	Funcionales	
	Biobalance 200 mL fresa y ciruela	<i>Bifidobacterium lactis</i>
	Delactomy 200 mL fresa	
	Bioplus 200 mL naranja y vainilla	
Gaymont's	Batido 200mL Natural, fresa, mora, melocotón, cereza, higo, mango.	<i>Bifidobacterium lactis</i>
Mi yogurt	Líquido 200mL (Manzana, melocotón, fresa)	Rotula probióticos no específica
Salud	Líquido botella 200mL Bolsa 125mL vaso postre 200mL (fresa, melocotón, coco con piña, fresa, kiwi con fresa, banano y banano con fresa)	<i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>

Para conocer el número muestras de yogures a tomar en cada supermercado se utiliza la siguiente formula: ⁽³⁾

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Dónde:

n = Muestra

Z = Intervalo de confianza del 95%

p = Población que posee la característica de interés (asumiendo varianza máxima)

q = Población que no posee la característica de interés (asumiendo varianza máxima)

d = Error muestral máximo permisible

Así tenemos:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.5)(0.5)}{(0.5)^2}$$

$n = 3.84 \cong 4$ Muestras de yogur por supermercado.

Por lo tanto tenemos para el estrato 1 (Súper Selectos)

$n_T = n \times \text{número de supermercados por estrato}$

$n_T = 4 \times 2$

$n_T = 8$ muestras de marca de yogur

Tabla N° 4. Cantidad de muestras por supermercado

Estrato	Supermercados	Muestras de yogur
1	Súper Selectos Metro Centro Súper Selectos Miralvalle 2	$4 \times 2 = 8$
2	Despensa de Don Juan Los Héroes	$4 \times 1 = 4$ (ver nota)
Total		12 muestras

Nota: Durante la realización del diseño estadístico no se contaba con que la marca Doña Laura tenía yogur con probióticos por lo que se agregó una muestra de esta marca al muestreo.

Se realizaron dos muestreos de la siguiente manera: en el primer muestreo se tomaron 12 muestras y el segundo muestreo realizado quince días después el segundo muestreo con igual número de muestras.

La selección de la presentación de los diferentes yogures se realizó aleatoriamente colocando las marcas de los diferentes yogures en una tómbola, obteniéndose el listado de las marcas de yogur a muestrear, las cuales se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro N° 4. Diferentes marcas de yogur a muestrear.

Estrato	Sucursal	Nº	Marcas de yogur
1	Súper Selectos (Meto Centro)	4	<ul style="list-style-type: none"> - Yes (Líquido 200 mL) - Yoplait (Frutas Batido) - Gaymont's - Salud (líquido botella)
	Súper Selectos (Miralvalle 2)	4	<ul style="list-style-type: none"> - Yes (Líquido Yes Safari 100 mL) - Yoplait (Frutas Líquido) - Dos Pinos(In line Líquido: 200 mL) - Salud(vaso postre)
2	Dispensa de Don Juan (Los Héroe)	4	<ul style="list-style-type: none"> - Yes (líquido 200 mL light) - Salud(líquido) - Dos Pinos (Biobalance 200 mL) - Yoplait (Light) - Doña Laura (200 mL)

4. 6. LISTA DE CHEQUEO A CONSUMIDORES

Se realizaron diferentes preguntas a los consumidores de yogures en los supermercados para conocer las preferencias de estos, en cuanto a marcas y presentaciones de yogur. (Ver anexo N° 1).

4. 7. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Cada muestra se identificó con sus datos completos: lugar de muestreo, fecha, hora de toma de muestra, análisis requerido, nombre del muestreador, temperatura a la cual se encuentra la muestra en el lugar de comercialización; es decir la cámara de refrigeración del supermercado donde de tomo la muestra.

Fecha: __/__/__	Hora: _____	Numero de Muestra: _____
Temperatura: _____°C		
Lugar de muestreo: _____		
Muestreado por: _____		

Figura N° 2 Etiqueta para identificación de los yogures muestreados.

4. 8. VERIFICACIÓN DE LOS DATOS EN LA ETIQUETA DEL PRODUCTO:

Se realizó una lista de chequeo para conocer si el producto cumple con el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10. Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados). (Ver Anexo N° 3)

4. 9. TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Las muestras se tomaron y se colocaron en hieleras a una temperatura aproximada de 2°C y se llevaron al laboratorio donde se conservaron a temperatura de refrigeración (5°C) evitándose lo más posible las agitaciones extremas y protegidas de la luz para no modificar la consistencia del producto

4. 10. PARTE EXPERIMENTAL

4.10. 1 Procedimiento para la preparación de la muestra.

Tomar la muestra para análisis en forma aséptica, usando un algodón impregnado de alcohol y frotando el empaque original de la muestra con el fin de quitar cualquier suciedad externa que pudiera existir y alterar los resultados; agitar 25 veces en forma de arco de 30 cm para homogenizar el contenido.

4.10. 2 Medición de pH

- Calibrar el pH-metro modelo: GCP 22 CRISON
- Introducir el electrodo en buffer pH 7.0, presionar CAL

- Introducir el electrodo en buffer pH 4.0, presionar CAL
- Introducir el electrodo en el yogur (si es necesario utilizar copitas)
- Anotar la lectura de pH, cuando la temperatura se encuentre de un rango de 25 ± 1 ° C.

4.10. 3 Preparación de las diluciones

Dilución 10^{-1}

- En un frasco de dilución, con 225.0mL de agua peptonada buferada pH 7.2, agregar en forma aséptica con pipeta estéril 25.0 g ó mL de yogur.
- Mezclar cuidadosamente la dilución agitando 25 veces en forma de arco de 30 cm.

Dilución 10^{-2}

- Tomar con una pipeta estéril una alícuota de 10.0 mL de la dilución 10^{-1}
- Transferir a un frasco de dilución con 90.0 mL de agua peptonada buferada pH 7.2.
- Mezclar cuidadosamente la dilución agitando 25 veces en un arco de 30 cm.

Realizar el procedimiento anterior hasta la dilución 10^{-6} .

Al terminar el procedimiento anteriormente descrito, no deberá transcurrir más de 15 minutos entre la dilución de la muestra y su inoculación en un medio adecuado.

4.10. 4 Recuento de Bacterias Ácido Lácticas

- De la dilución 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} transferir asépticamente 1 mL y distribuir en una placa de petri estéril. (realizar por duplicado).
- A las placas de petri con el inóculo agregar 15 mL de Agar MRS.
- Distribuir homogéneamente el inóculo por la técnica del ocho.
- Incubar en jarra de Anaerobiosis a 37°C durante 72 horas.

- Proceder al recuento de las colonias de bacterias ácido lácticas y reportar los resultados como UFC/mL o UFC/g de yogur según fuese sólido o líquido.

4.10. 5 Recuento Total de Hongos y Levaduras

- Con una pipeta estéril, trasferir por duplicado, 1 mL de cada una de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} a cajas de petri estériles.
- Verter en cada placa de 15 a 20 mL del medio de cultivo Agar Papa Dextrosa, fundido y acidificado a un pH 3.5 con solución de ácido tartárico estéril 10%, asegurándose que la temperatura del medio sea aproximadamente 45°C.
- Seguidamente, mezclar el contenido de las placas con movimiento rotatorio.
- Esperar a que el medio se solidifique.
- Incubar a temperatura ambiente, de 3 a 5 días, en posición invertida.
- Al finalizar el período de incubación, se cuenta el número de colonias en cada placa, empleando un contador de colonias.

4.10. 6 Recuento de Coliformes Totales (Método BAM Modificado)

Ensayo Presuntivo

- Transferir de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , con una pipeta estéril y por triplicado, 1 mL a cada tubo de fermentación, que contienen 9 mL Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST) y una campana de Durhan.
- Incubar los tubos a 35°C durante 24 ± 2 horas para detectar la formación de gas, por el desplazamiento del medio en la campana de Durhan o por efervescencia, cuando los tubos son agitados suavemente.
- Incubar los tubos negativos durante un periodo adicional de 24 horas y examinar nuevamente para detectar la formación de gas.

Ensayo Confirmativo

Se someten al análisis confirmativo solo los tubos presuntivos positivos (tubos con formación de gas).

- Agitar cada uno de los tubos con LST que muestran formación de gas y con un asa circular transferir una porción de la suspensión a un tubo que contiene Caldo Verde Brillante Lactosa bilis al 2% (BGLB), conteniendo una campana de Durham.
- Incubar a 35°C durante 48 ± 2 horas examinándolos a las 24 horas y a las 48 horas para evidenciar la formación de gas, los cuales se emplean para calcular el Número Más Probable (NMP) de bacterias Coliformes Totales en la muestra. (ver anexo 3)

Ensayo para *Escherichia coli*

- De cada uno de los tubos positivos de BGLB extraer una porción con el asa circular y sembrar en forma de estrías sobre la superficie de las placas de Agar Eosina Azul de Metileno (EMB).
- Incubar a 35°C durante 18 a 24 horas y luego se examina para detectar las colonias sospechosas de ***Escherichia coli***, caracterizadas por un ser colonias con un centro oscuro con o sin brillo metálico.
- Transferir a placas con Agar para Recuento en Placa (PCA).
- Incubar a 35°C durante 18 a 24 horas, si no hay formación de colonias típicas se pican dos o más colonias que, se sospecha sean ***Escherichia coli*** para realizar el análisis bioquímico.

Análisis Bioquímico

Realizar las siguientes pruebas a todos los cultivos que se sospecha sean ***Escherichia coli***.

PRODUCCIÓN DE INDOL

- Inocular un tubo que contenga caldo de Triptófano.
- Incubar a 35°C durante 24 ± 2 horas.

- Detectar la presencia de *E. coli* agregando 0.5 mL de éter y 0.5 mL de reactivo de Kovacs.
- Una prueba positiva se evidencia por la aparición de un color rojo claro en la capa superior.

ANÁLISIS DE VOGES – PROSKAUER (VP)

- Inocular un tubo que contenga caldo MR – VP.
- Incubar a 35°C durante 24 ± 2 horas.
- Agregar 0.6 mL de la solución α-Naftol y 0.2 mL de la solución de Hidróxido de Potasio al 40%, agitar luego de la adición de cada reactivo.
- El análisis es positivo cuando se desarrolla un color rosado.

ANÁLISIS CON ROJO DE METILO (MR)

- Inocular un tubo con caldo MR-VP.
- Incubar a 35°C durante 24 ± 2 horas.
- Agregar 0.3 mL de la solución indicadora de rojo de metilo.
- El análisis es positivo cuando aparece un color rojo claro.

Se considera como *Escherichia coli*, todos los cultivos que presenten las siguientes características:

Cuadro N° 5. Características bioquímicas de *Escherichia coli*

Análisis	Resultado	Evidencia de resultado positivo
Indol	Positivo o negativo	Anillo violeta (positivo) Ausencia de anillo violeta (negativo)
Rojo de Metilo	Positivo	Coloración Roja
Voges Proskauer	Negativo	Coloración Rosa (positivo) Coloración Amarilla (negativo)

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 LISTA DE CHEQUEO. PREFERENCIA DE CONSUMIDORES

En los supermercados seleccionados se entrevistaron un total de 60 personas utilizando una lista de chequeo (ver anexo N° 1) con el fin de conocer las preferencias de los consumidores de yogur, obteniéndose los siguientes resultados:

Cuadro N° 6 Resultados de la lista de chequeo realizada a los consumidores de yogur en los supermercados seleccionados durante el muestreo.

¿Qué tipo de yogurt prefiere?							
Solido			Bebible (Líquido)			Indiferente	
14			46			0	
¿Qué marca de yogurt prefiere?							
Yes	Salud	Gaymont's	Dos Pinos	Yoplait	Doña Laura		
30	5	3	11	10	1		
¿Prefiere yogurt con probióticos?							
Si		No			Indiferente		
37		1			22		
¿Cuál es su sabor favorito?							
Fresa	Melocotón	Banano Fresa	Manzana	Uva	Mora	Mezcla de Frutas	otras
22	7	18	1	1	3	5	3
¿Sabe que son probióticos?							
Si				No			
50				10			
¿Considera importante el consumo de alimentos con probióticos?							
Si				No			
60				0			

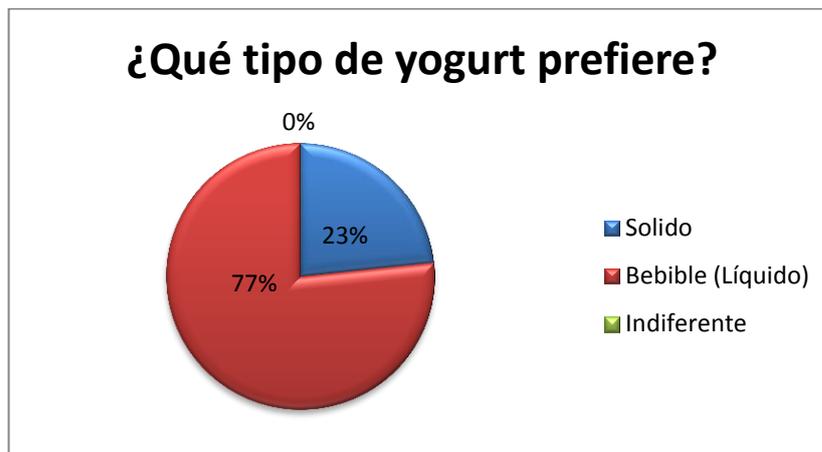


Figura N° 3 Preferencias de los consumidores en cuanto a la presentación de los yogures.

Debido a que en nuestra sociedad, la publicidad de este tipo de productos está más enfocada al consumo de yogur líquido o bebible; es el de preferencia por los consumidores.

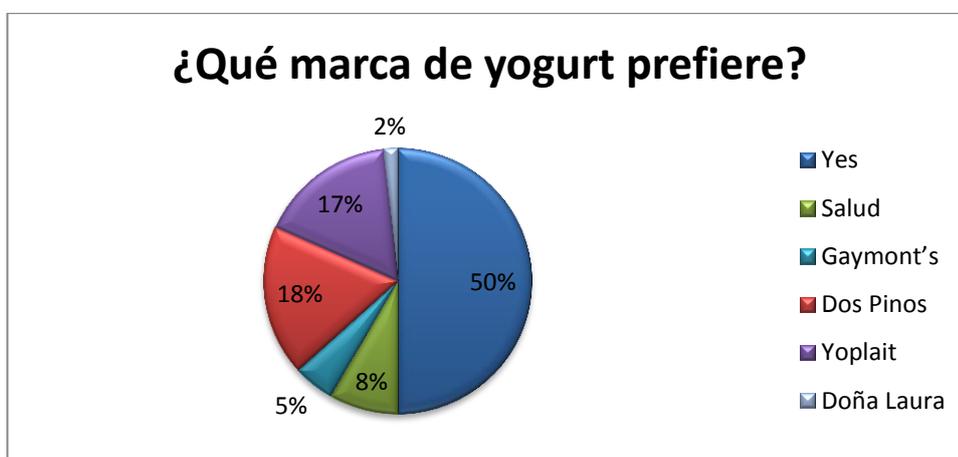


Figura N° 4 Preferencias de los consumidores de yogurt por las principales marcas existentes en nuestro país.

La preferencia de las marcas de yogurt por la población, es de acuerdo a la publicidad de estas marcas, y también a la variedad que tienen en cuanto a presentación y sabores.

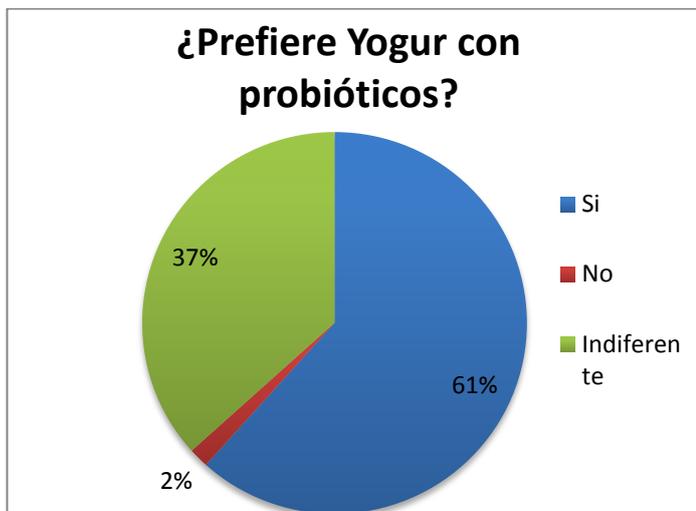


Figura N° 5 Respuesta de los consumidores de yogures ante la consulta de si prefieren yogurt con o sin probióticos.

A la mayoría de personas que consumen yogurt les importa que tenga dentro de sus ingredientes bacterias probióticas, sin embargo existe gran cantidad de personas que lo único que les interesa es el sabor o marca del alimento por lo que les es indiferente consumir un yogurt con o sin probióticos. Adicionando una pregunta a la encuesta, se les consultó a las personas que preferían yogurt con probióticos, acerca del etiquetado del yogurt, si para ellos es importante que rotule el tipo de microorganismo con que el alimento ha sido fortificado y en qué cantidad se encuentra y sus respuestas en su totalidad fueron que hacían una diferencia entre los yogures sin probióticos y yogures con probióticos en la etiqueta frontal en la cual se encuentran con letras grandes y llamativas las palabras “**con Probióticos**”, pero no nos dice que tipo de microorganismo contiene ni la cantidad en la cual se encuentra.

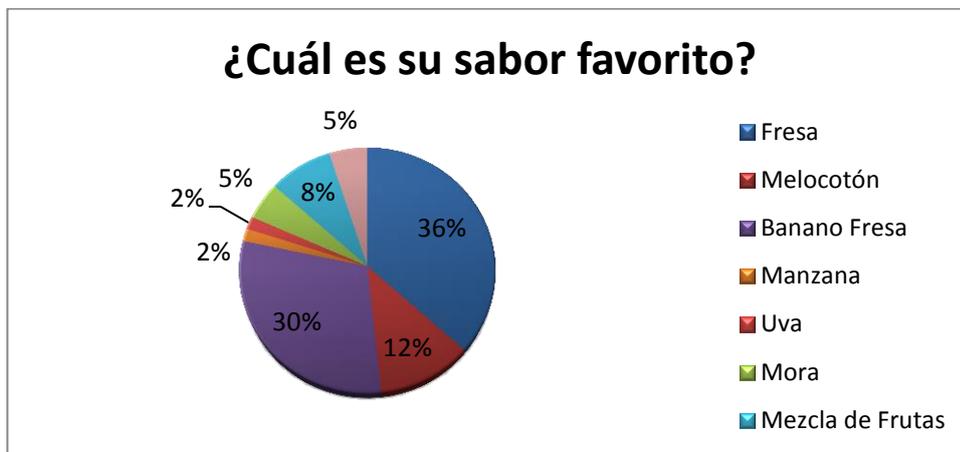


Figura N° 6 Preferencia de los consumidores en cuanto al sabor de los yogures.

Se evidencia que de acuerdo a la variedad de sabores ofrecidos por la marca de preferencia del consumidor dependerá la elección de su sabor favorito. Es decir si prefiere una determinada marca su sabor de elección será alguno que dicha marca ofrezca.

En base a la preferencia de los consumidores, se eligieron los sabores de yogur analizados, con el objetivo de tomar en cuenta los sabores de yogur de mayor consumo.



Figura N° 7 Conocimiento de los consumidores acerca de los probióticos.

Es importante que los consumidores de yogur conozcan los beneficios que les traen las bacterias probióticas en su dieta, al preguntar nos dimos cuenta que la mayoría de personas dicen saber qué son los probióticos; sin embargo no conocen ningún tipo de bacteria que ejerza esa función, sino que conocen los beneficios que estos aportan a la salud, porque no tienen claro que son microorganismos beneficiosos los que son agregados al alimento, mucho menos conocen la cantidad en la cual los microorganismos ejercen una función probiótica en el organismo.

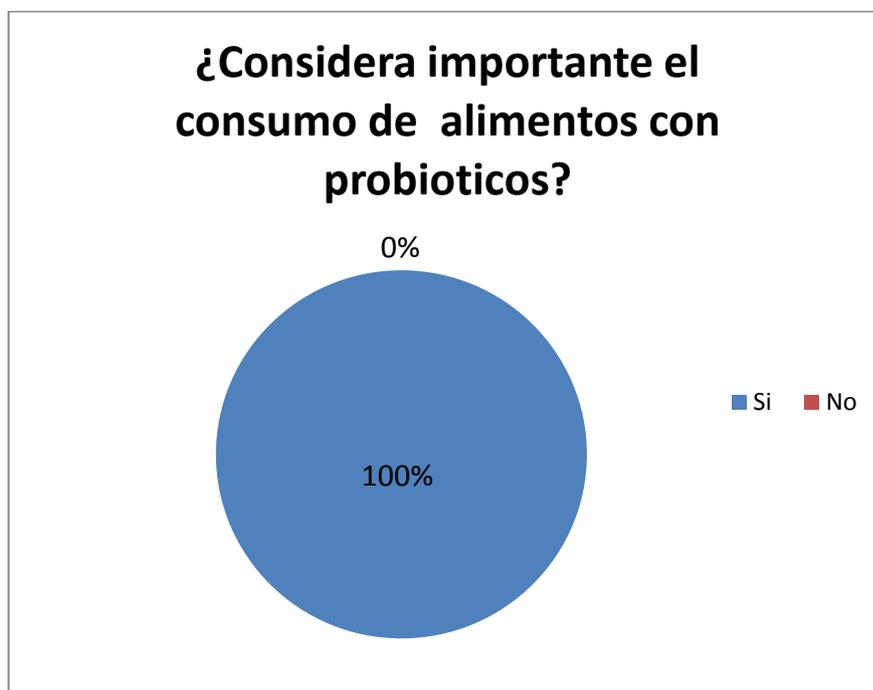


Figura N° 8 Gráfico de la opinión de los consumidores sobre de la importancia del consumo de probióticos.

Para los encuestados es importante consumir un alimento que dentro de su composición presente aditivos probióticos, al preguntar porque cree importante consumir este tipo de productos sus respuestas estuvieron relacionadas con el hecho de consumir algo nutritivo.

5.2 VERIFICACIÓN DEL ETIQUETADO

En las muestras analizadas de los supermercados seleccionados, para las 26 muestras de yogur de 6 marcas diferentes de yogures que en su etiqueta rotulan probióticos y sus posteriores análisis microbiológicos se obtuvieron los resultados siguientes.

Con base a una lista de chequeo se investigó el cumplimiento del etiquetado las diferentes marcas de yogur con el **Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10 Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados)**. (Ver anexo N° 3).

Se observó que todos los yogures comercializados en los supermercados investigados cumplen con todos los parámetros establecidos en el RTCA, sin embargo debemos mencionar que el reglamento carece de exigencias que involucran el rotulado de probióticos, y esto es relevante debido a que en la actualidad todas las marcas comerciales de yogur distribuidas, al menos en El Salvador, han sido fortalecidas o enriquecidas con microorganismos probióticos por lo que se vuelve necesario conocer el tipo de microorganismos y la cantidad a la cual es adicionada al alimento, esto para evitar la comercialización de yogur con publicidad engañosa hacia los consumidores, durante la revisión de las etiquetas se observó que solamente algunos yogures declaran en su etiqueta el tipo de microorganismo y la cantidad (ver cuadro N° 3).

Cuadro N° 7 Datos recolectados de las etiquetas de yogures analizados.

Código Asignado	Marcas de yogur	Etiqueta
		Primer Muestreo
001	Yes (Líquido 200 mL)	Lote: 80291819:01 Vence:17/06/2013 Sabor: Fresa
002	Yes Light 0% (Líquido 200 mL)	Lote: 23912614:09 Vence:25/06/2013 Sabor: Fresa
003	Salud (Líquido 200 mL)	Lote: 232130502214 Vence:10/06/2013 Sabor: Melocotón
004	Gaymont's (vaso postre 125g)	Lote: ACBBOH 10:51 Vence: 10/06/2013 Sabor: Fresa
005	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL)	Lote: 18:13 23:45 AM T6102 Vence: 10/06/2013 Sabor: Fresa
006	Salud plus (Líquido 200 mL)	Lote: 278295785014 Vence: 15/06/2013 Sabor: Frutos del bosque
007	Yoplait Light (Líquido 235 mL)	Lote: 232 L3 G 18:15 Vence: 18/06/2013 Sabor: Albaricoque
008	Yoplait (Líquido 235mL)	Lote: 222 T3 H 14:45 Vence: 10/06/2013 Sabor: Frutas tropicales
009	Yes Safari (Líquido 105 mL)	Lote: 70492615:33 Vence: 25/06/2013 Sabor: Fresa
010	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL)	Lote: 045 D3 A 12:45 Vence: 08/06/2013 Sabor: Fresa
011	Dos Pinos In- line (Líquido 200 mL)	Lote: 13:13 19:08AM I6920 Vence: 10/06/2013 Sabor: Fresa
012	Salud (vaso postre 125g)	Lote: 209385093814 Vence: 15/06/2013 Sabor: Banano-Fresa
013	Mi Yogurt (Doña Laura Líquido 200 mL)	Lote:my2005 Vence: 19/06/2013 Sabor: Manzana

Cuadro N° 7 Continuación.

Código Asignado	Marcas de yogur	Etiqueta
		Segundo Muestreo
014	Yoplait (Líquido 235mL)	Lote: 312 T3 H 19:04 Vence: 26/07/2013 Sabor: Fresa
015	Salud plus (Líquido 200 mL)	Lote: 289283074914 Vence: 14/07/2013 Sabor: Cranberry
016	Yes (Líquido 200 mL)	Lote: 83732510:20 Vence:25/07/2013 Sabor: Banano-Fresa
017	Gaymont's (vaso postre 125g)	Lote: JOKKOH 06:15 Vence: 11/07/2013 Sabor: Mora
018	Salud (Líquido 200 mL)	Lote: 232144701414 Vence: 06/07/2013 Sabor: Kiwi-Fresa
019	Yes Light 0% (Líquido 200 mL)	Lote: 64802719:00 Vence:26/07/2013 Sabor: Banano-Fresa
020	Dos Pinos In- line (Líquido 200 mL)	Lote: 20:09 12:25 AM J7899 Vence: 20/07/2013 Sabor: Fresa
021	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL)	Lote: 063 D3 A 15:50 Vence: 14/07/2013 Sabor: Ciruela
022	Salud (vaso postre 125g)	Lote: 218793981314 Vence: 14/07/2013 Sabor: Fresa
023	Yes Safari (Líquido 105 mL)	Lote: 70211615:07 Vence: 14/07/2013 Sabor: Dulce de Leche
024	Yoplait Light (Líquido 235 mL)	Lote: 240 L3 K 21:25 Vence: 26/07/2013 Sabor: Fresa
025	Mi Yogurt (Doña Laura Líquido 200 mL)	Lote: my1606 Vence: 16/07/2013 Sabor: Melocotón
026	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL)	Lote: 19:13 20:08 AM U69809 Vence: 16/07/2013 Sabor: Ciruela

5. 3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO RECuento MOHOS Y LEVADURAS.

Tabla N° 5 Resultados del recuento de mohos y levaduras.

Cód	Yogur	UFC/mL			
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	PROM
001	Yes (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0	0
002	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0	0
003	Salud (Líquido 200 mL) Melocotón	0	0	0	0
004	Gaymont's (vaso postre 125g) Fresa	0	0	0	0
005	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0	0
006	Salud plus (Líquido 200 mL) Frutos del Bosque	0	0	0	0
007	Yoplait Light (Líquido 230 mL) Albaricoque	80	100	0	60
008	Yoplait (Líquido 235mL) Frutas Tropicales	580	500	0	360
009	Yes Safari (Líquido 105 mL) Fresa	80	0	0	27
010	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Fresa	0	0	0	0
011	Dos Pinos In- line (Líquido 200 mL) Fresa	1200	800	800	933
012	Salud (vaso postre 125g) Banano-Fresa	0	0	0	0
013	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Manzana	30	0	0	10
014	Yoplait (Líquido 235 mL) Fresa	120	150	0	90
015	Salud Plus (Líquido 200 mL) Cranberry	0	0	0	0
016	Yes (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	140	200	0	113
017	Gaymont's (vaso postre 125g) Mora	0	0	0	0
018	Salud (Líquido 200 mL) Kiwi-Fresa	0	0	0	0

Tabla N° 5 Continuación.

Cód	Yogur	UFC/mL			
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	PROM
019	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	0	0	0	0
020	Dos Pinos In-line (Líquido 200 mL) Fresa	10	0	0	3
021	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Ciruela	0	0	0	0
022	Salud (vaso postre 125g) Fresa	0	0	0	0
023	Yes Safari (Líquido 105 mL) Dulce de leche	Inc	Inc	2.4 x 10 ⁵	2.4 x 10 ⁵
024	Yoplait Light (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0	0
025	Mi Yogurt Doña Laura (Líq 200 mL) Melocotón	0	0	0	0
026	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Ciruela	0	0	0	0
Parámetro Recuento de mohos y levaduras		Límite Máximo Permitido 100 UFC/g ó mL			

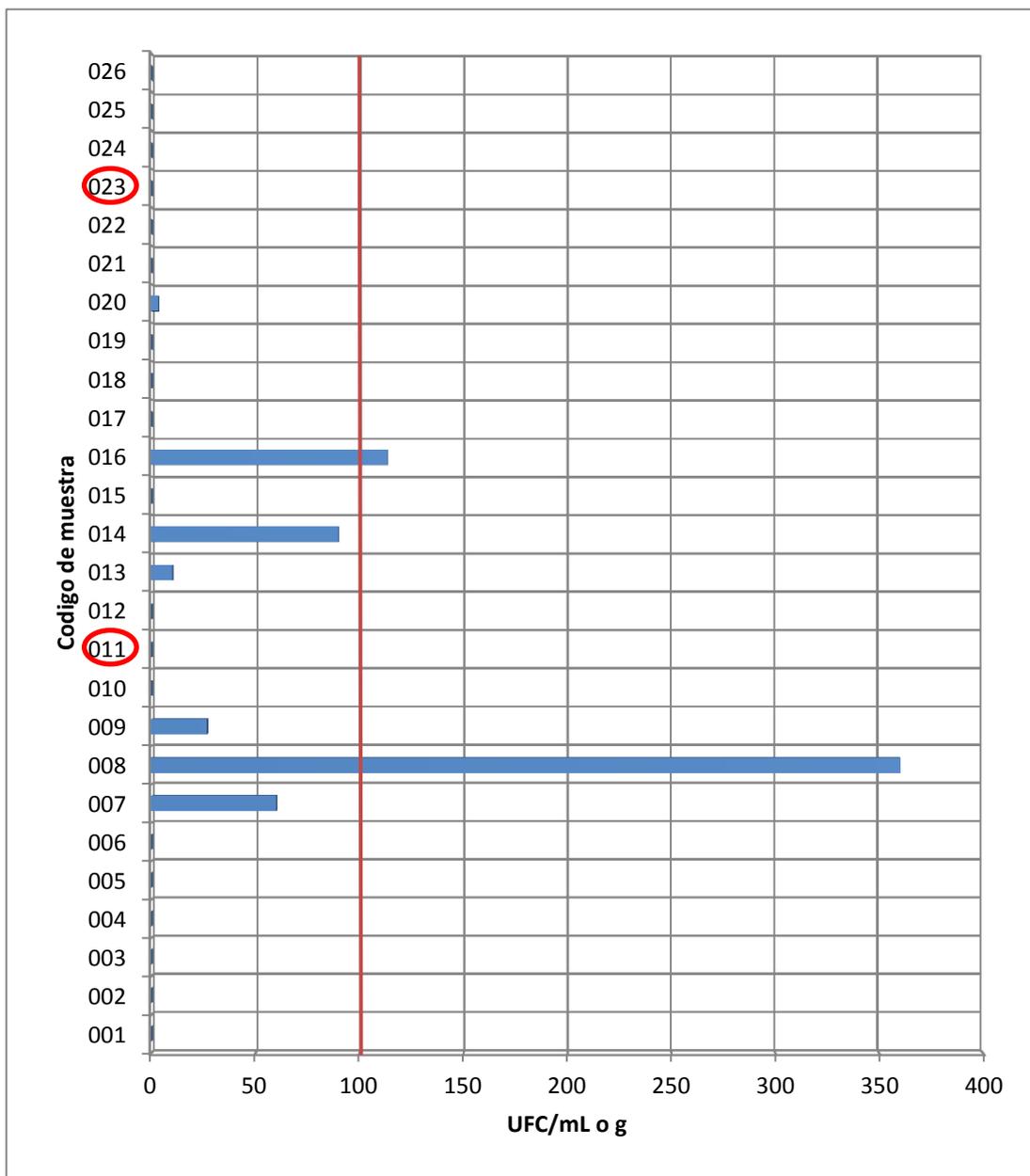


Figura N° 9 Resultados del recuento de mohos y levaduras de los diferentes yogures seleccionados. (La línea roja representa el límite máximo permitido por el RTCA 67.04.50:08). Resultados se presentan en tabla número 1.

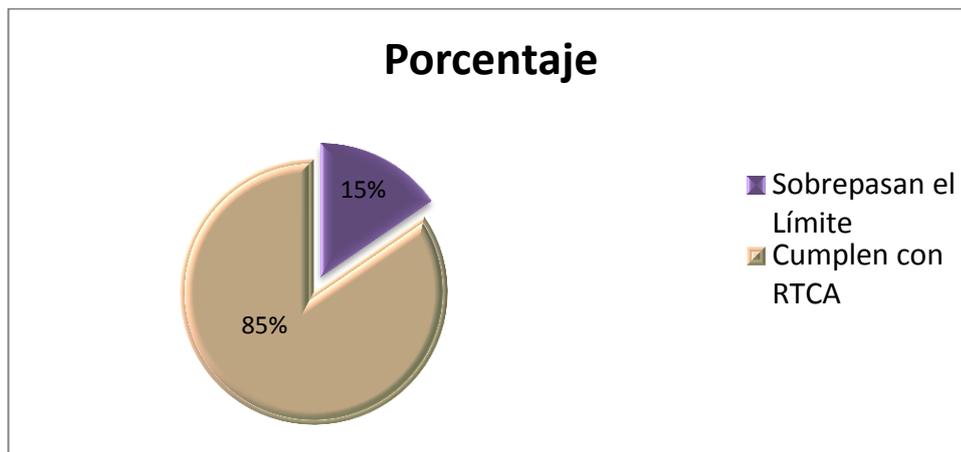


Figura N° 10 Resultados en porcentaje de los yogures que cumplen con el Recuento de Mohos y Levaduras especificado en el RTCA y los que sobrepasan el límite establecido.

La muestra número 011 se encontraba mal tapada (malas prácticas de envasado) a lo que se debe el conteo alto de mohos y levaduras, por lo cual su resultado no ha sido tomado en cuenta. Sin embargo algunas de las muestras sobrepasan el límite máximo permitido por el RTCA 67.04.50:08; el cual especifica que el conteo máximo de este tipo de microorganismo debe ser de 100 UFC/mL. La muestra 008 y 016 no cumplen con lo establecido en el RTCA; este resultado puede deberse a la contaminación de los equipos sanitizados inadecuadamente que fueron utilizados para la fabricación y/o envasado de este alimento, las condiciones a las cuales es sometido el alimento durante su distribución, El yogur es uno de los alimentos mayormente alterados por la contaminación con levaduras debido a la adición de frutas y saborizantes derivados de frutos.

Se debe mencionar que aunque el análisis se indica recuento total de mohos y levaduras en su mayoría la contaminación encontrada fue de levaduras, por lo que se hace más énfasis a los daños que pueden ocasionar las levaduras al alimento y a la salud.

Para realizar un mejor análisis nos planteamos las siguientes preguntas: ()

¿En qué parte de la fabricación de los yogures puede ocurrir una contaminación por mohos o levaduras?

En tarros de plástico termo formados, si se colocan manualmente en la máquina envasadora.

¿Qué medidas pueden adoptarse contra una contaminación de hongos?

- Utilizar envases llenados adecuadamente.
- Hacer el llenado en caliente.
- Hacer el envasado bajo CO₂.
- Utilizar una cámara de flujo laminar por encima de la estación de llenado.
- Almacenar el material de envase fuera el área de llenado.
- Controlar la presencia de hongos en los aditivos.
- Fumigar el aire de la sala de producción.
- Evitar las corrientes de aire.

5. 4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO: RECuento DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.

Tabla N° 6 Resultados del análisis microbiológico de Bacteria Ácido Lácticas de las diferentes marcas de yogur.

Cód	Yogur	UFC/mL			
		10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	PROM
001	Yes (Líquido 200 mL) Fresa	NQ	NQ	1.9x10 ⁸	2.0x10 ⁸
002	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Fresa	NQ	1.7x10 ⁷	4.6x10 ⁷	3.0x10 ⁷
003	Salud (Líquido 200 mL) Melocotón	NQ	2.7x10 ⁷	6.6x10 ⁷	5.0x10 ⁷
004	Gaymont's (vaso postre 125g) Fresa	NQ	2.9x10 ⁷	4.1x10 ⁷	4.0x10 ⁷
005	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Fresa	NQ	NQ	1.7x10 ⁸	2.0x10 ⁸
006	Salud plus (Líquido 200 mL) Frutos del Bosque	NQ	1.9x10 ⁷	3.1x10 ⁷	3.0x10 ⁷
007	Yoplait Light (Líquido 230 mL) Albaricoque	NQ	NQ	1.7x10 ⁸	2.0x10 ⁸
008	Yoplait (Líquido 235mL) Frutas Tropicales	NQ	NQ	5.3x10 ⁷	5.0x10 ⁷
009	Yes Safari (Líquido 105 mL) Fresa	NQ	NQ	1.6x10 ⁸	2.0x10 ⁸
010	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Fresa	4.0x10 ⁵	6.5x10 ⁵	2.5x10 ⁶	1.0x10 ⁶
011	Dos Pinos In- line (Liq 200 mL) Fresa	NQ	2.7x10 ⁷	9.0x10 ⁷	6.0x10 ⁷
012	Salud (vaso postre 125g) Banano-Fresa	NQ	4.8x10 ⁷	1.5x10 ⁸	1.0x10 ⁸
013	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Manzana	NQ	8.3x10 ⁶	5.5x10 ⁶	7.0x10 ⁶
014	Yoplait (Líquido 235 mL) Fresa	NQ	NQ	1.1x10 ⁸	1.0x10 ⁸
015	Salud Plus (Líquido 200 mL) Cranberry	NQ	NQ	2.9x10 ⁷	3.0x10 ⁷
016	Yes (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	NQ	NQ	2.5x10 ⁸	3.0x10 ⁸
017	Gaymont's (vaso postre 125g) Mora	4.0x10 ⁶	3.9x10 ⁶	5.5x10 ⁶	4.0x10 ⁶
018	Salud (Líquido 200 mL) Kiwi-Fresa	NQ	NQ	3.8x10 ⁷	4.0x10 ⁶

Tabla N° 6 Continuación.

Cód	Yogur	UFC/mL			
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	PROM
019	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	NQ	NQ	3.2×10^8	3.0×10^7
020	Dos Pinos In-line (Líquido 200 mL) Fresa	NQ	NQ	2.1×10^8	2.0×10^7
021	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Ciruela	2.5×10^4	0	0	3.0×10^4
022	Salud (vaso postre 125g) Fresa	NQ	NQ	8.9×10^7	9.0×10^6
023	Yes Safari (Líquido 105 mL) Dulce de leche	NQ	6.3×10^6	3.4×10^7	2.0×10^7
024	Yoplait Light (Líquido 200 mL) Fresa	NQ	1.1×10^7	2.8×10^7	2.0×10^7
025	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Melocotón	NQ	NQ	5.1×10^8	5.0×10^8
026	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Ciruela	NQ	NQ	1.7×10^8	2.0×10^8
Parámetro Bacterias ácido lácticas		Límite Mínimo Permitido 10^7 UFC/ g ó mL			
NQ: No Cuantificable					

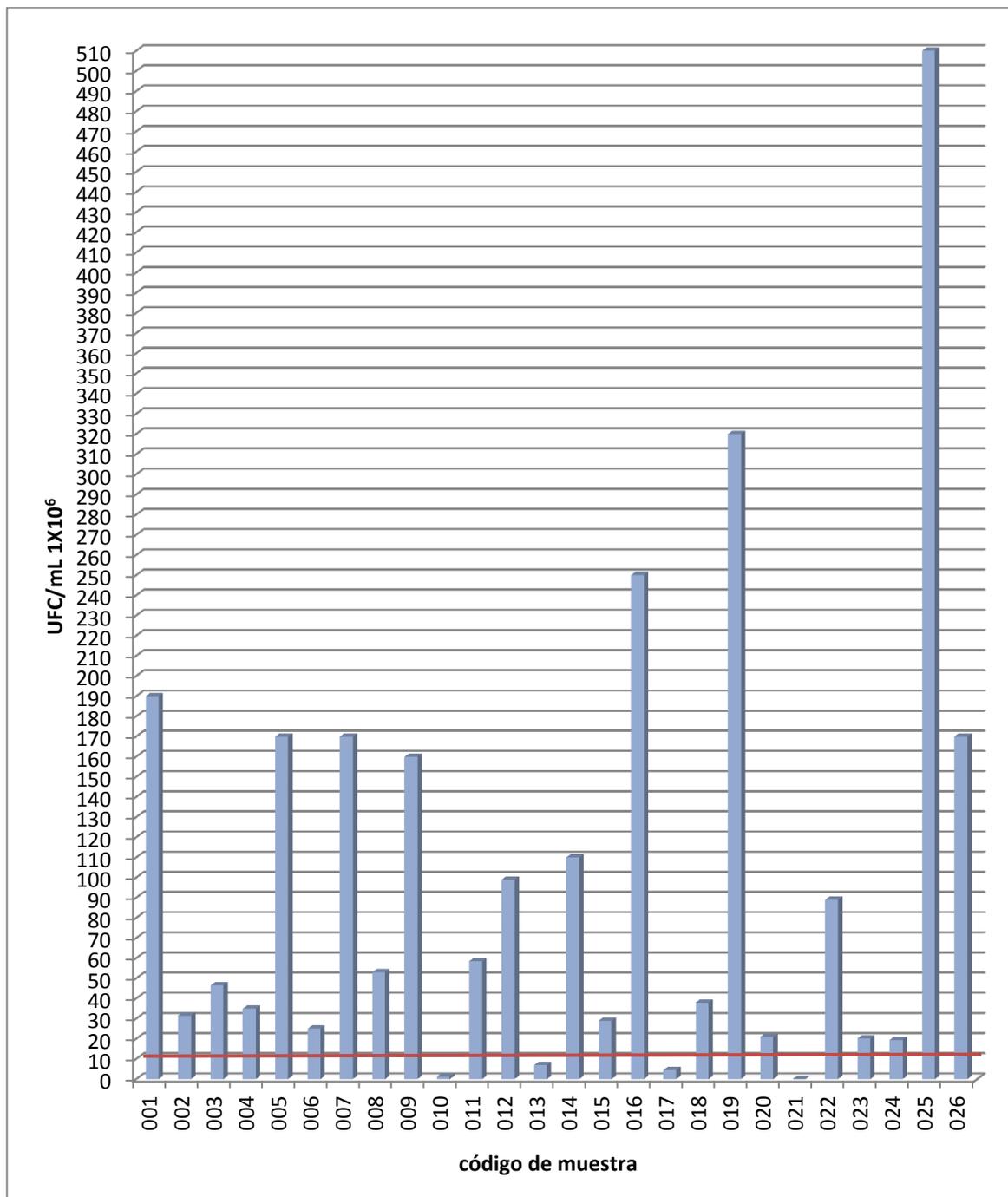


Figura N° 11 Recuento de bacterias ácido lácticas de los diferentes yogures analizados.

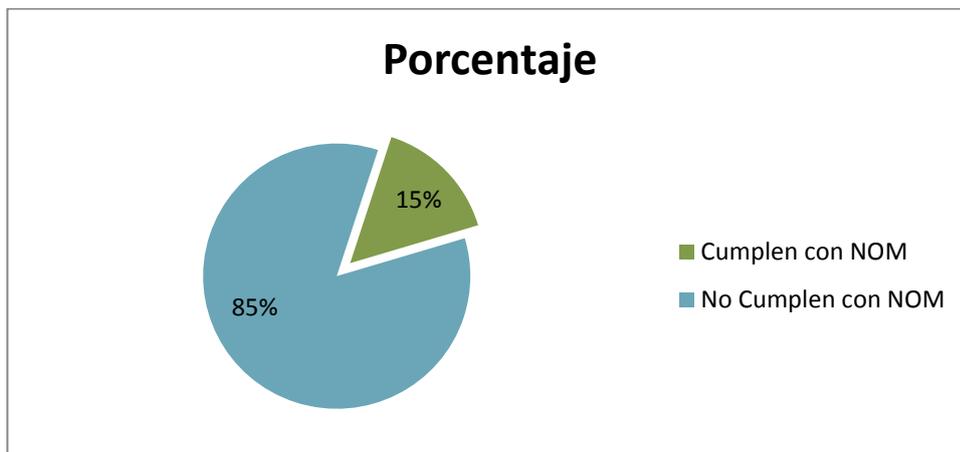


Figura N° 12 Resultados en porcentaje de los yogures que cumplen con el recuento de bacterias ácido lácticas.

Según los resultados presentados en la Figura N° 11 podemos observar que el 85% de marcas de yogures comercializados en nuestro país en cuya etiqueta rotulan probióticos cumplen con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana en cuanto a la adición de bacterias probióticas, sin embargo el 15% que no contienen la cantidad necesaria regulada por la Norma Oficial Mexicana.

Por lo cual se vuelve importante que en nuestro país exista una normativa que controle la adición de estas bacterias a alimentos que en su etiqueta rotulen probióticos.

La normativa mexicana NOM-181-SCFI-2010 establece que el mínimo que debe ser agregado a los alimentos para que sea considerado un alimento con probióticos es de 10^7 UFC/mL o g, dependiendo de la presentación del yogur sólido o líquido.

5. 5 COLIFORMES FECALES

Tabla N° 7 Resultados detección de coliformes fecales y *Escherichia coli*.

Cód	Yogur	Tubos con turbidez		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
001	Yes (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
002	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
003	Salud (Líquido 200 mL) Melocotón	0	0	0
004	Gaymont's (vaso postre 125g) Fresa	0	0	0
005	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
006	Salud plus (Líquido 200 mL) Frutos del Bosque	0	0	0
007	Yoplait Light (Líquido 235 mL) Albaricoque	0	0	0
008	Yoplait (Líquido 235mL) Frutas Tropicales	0	0	0
009	Yes Safari (Líquido 105 mL) Fresa	0	0	0
010	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Fresa	0	0	0
011	Dos Pinos In- line (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
012	Salud (vaso postre 125g) Banano-Fresa	0	0	0
013	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Manzana	0	0	0
014	Yoplait (Líquido 235 mL) Fresa	0	0	0
015	Salud Plus (Líquido 200 mL) Cranberry	0	0	0
016	Yes (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	0	0	0
017	Gaymont's (vaso postre 125g) Mora	0	0	0
018	Salud (Líquido 200 mL) Kiwi-Fresa	0	0	0
019	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	0	0	0
020	Dos Pinos In-line (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
021	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Ciruela	0	0	0
022	Salud (vaso postre 125g) Fresa	0	0	0
023	Yes Safari (Líquido 105 mL) Dulce de leche	0	0	0
024	Yoplait Light (Líquido 200 mL) Fresa	0	0	0
025	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Melocotón	0	0	0
026	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Ciruela	0	0	0

Ningún tubo presentó turbidez o gas en la campana de Durham en Caldo Lauril Sulfato Triptosa (LST), por lo que no se realizó el ensayo confirmativo porque no existe ningún crecimiento de bacterias coliformes en ningún yogur.

5.6 MEDICIÓN DE pH.

Según la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba el pH de las leches fermentadas debe ser inferior a 4.5.

Tabla N° 8 Resultados de la medición de pH de los diferentes yogures.

Cód	Yogur	pH
001	Yes (Líquido 200 mL) Fresa	3.66
002	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Fresa	4.06
003	Salud (Líquido 200 mL) Melocotón	4.18
004	Gaymont's (vaso postre 125g) Fresa	4.42
005	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Fresa	4.00
006	Salud plus (Líquido 200 mL) Frutos del Bosque	3.92
007	Yoplait Light (Líquido 235 mL) Albaricoque	4.24
008	Yoplait (Líquido 235mL) Frutas Tropicales	4.07
009	Yes Safari (Líquido 105 mL) Fresa	4.01
010	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Fresa	3.97
011	Dos Pinos In- line (Líquido 200 mL) Fresa	4.10
012	Salud (vaso postre 125g) Banano-Fresa	4.06
013	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Manzana	4.28
014	Yoplait (Líquido 235 mL) Fresa	4.20
015	Salud Plus (Líquido 200 mL) Cranberry	4.08
016	Yes (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	3.81
017	Gaymont's (vaso postre 125g) Mora	4.40
018	Salud (Líquido 200 mL) Kiwi-Fresa	4.08
019	Yes Light 0% (Líquido 200 mL) Banano-Fresa	3.86
020	Dos Pinos In-line (Líquido 200 mL) Fresa	4.04
021	Yoplait Pro-digestión (Líquido 242 mL) Ciruela	3.95
022	Salud (vaso postre 125g) Fresa	4.00
023	Yes Safari (Líquido 105 mL) Dulce de leche	4.20
024	Yoplait Light (Líquido 200 mL) Fresa	4.13
025	Mi Yogurt Doña Laura (Líquido 200 mL) Melocotón	4.20
026	Dos Pinos Biobalance (Líquido 200 mL) Ciruela	3.99

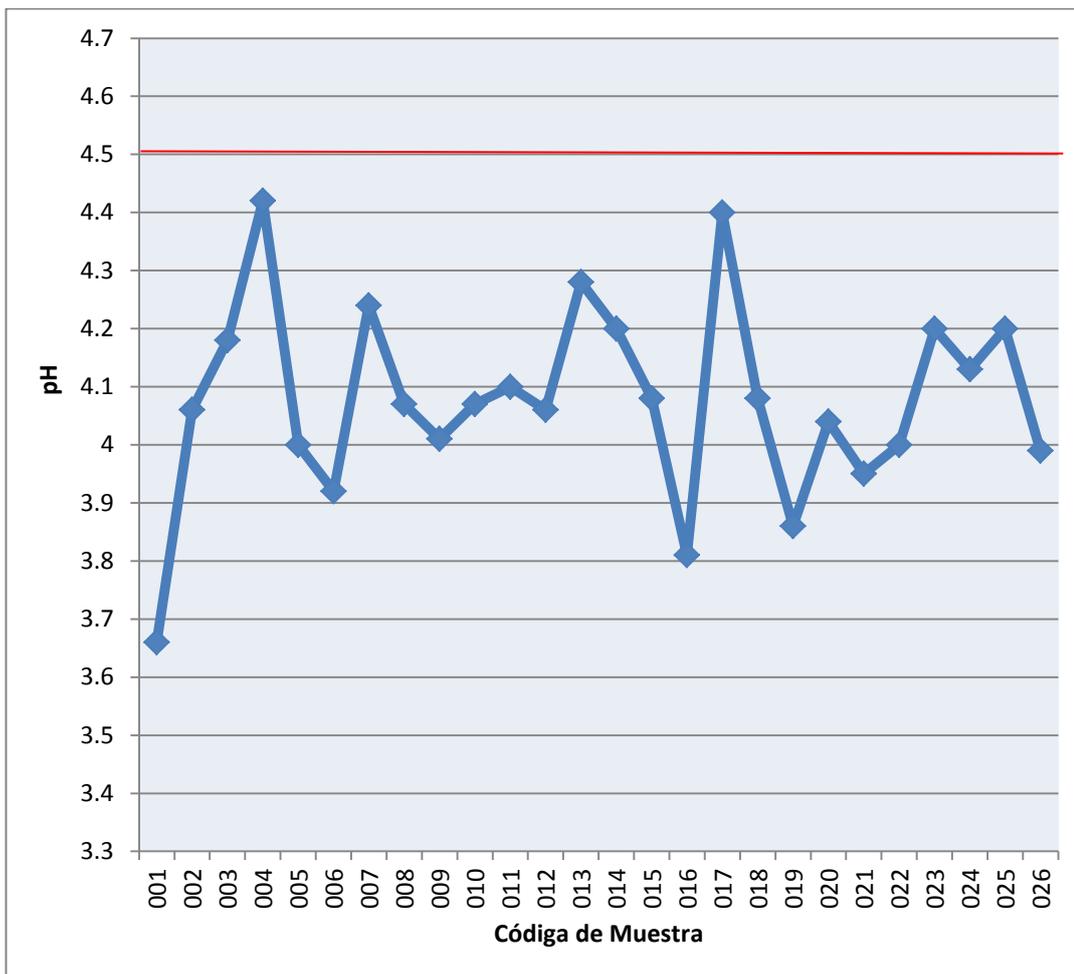


Figura N° 13 Medición de pH de los yogures seleccionados. (La línea roja representa el límite máximo).

Según los fabricantes de este alimento un pH adecuado para un yogur debe ser menor o igual a 4.5; sin embargo un pH demasiado ácido podría no gustar a los consumidores o dañar las propiedades del yogur como su viscosidad, en este aspecto el pH de los yogures de las diferentes marcas comercializados en nuestro país se encuentran dentro de un rango bastante aceptable, aunque es importante mencionar que el yogur marca yes (líquido 200mL), es el que posee un pH más bajo por lo que de esta manera se

podría explicar la razón por la cual este yogur es poco viscoso y espeso, a comparación con otras presentaciones de esta misma marca.

El pH del yogur también varía dependiendo de la fruta o saborizantes que se les agrega.

5.7 ALMACENAMIENTO DEL PRODUCTO EN EL SUPERMERCADO

Tabla N° 9 Inspección del almacenamiento de los yogures, en las salas de venta de los supermercados muestreados.

Item \ Supermercado	Súper Selectos (Metrocentro)	Súper Selectos (Miralvalle 2)	Despensa de Don Juan (Los Héroes)
1. ¿Se encuentran los freezers limpios?	SI	SI	SI
2. ¿Presentan los freezers corrosión?	NO	NO	NO
4. ¿Están los recipientes perfectamente cerrados?	SI	SI	SI
5. ¿Están los productos con fecha de vencimiento apta para el consumo humano?	SI	SI	SI
6. ¿Cumple con la temperatura de almacenamiento (2°C - 3°C)?	SI	SI	SI

Durante el muestreo se realizó una lista de chequeo con la que se pretendía conocer las condiciones a las cuales es sometido el alimento durante se encuentra en estantería, se observó que los tres supermercados muestreados cumplen con la limpieza y condiciones de temperatura a la cual debe ser almacenado el producto (2-8°C).

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. En las encuestas realizadas a los consumidores evidencio que la mayoría de personas se encuentran informadas acerca de que los yogures contienen probióticos; aunque no así la cantidad que se debe consumir.
2. El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10 para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados, describe aspectos que debe cumplir un producto para ser comercializado en el mercado Centroamericano, y aunque esta norma no especifica un límite mínimo de bacterias probióticas; en los demás aspectos que la norma regula los yogures comercializados en El Salvador cumplen en su totalidad.
3. El 85% de las muestras analizadas cumplen con la especificación del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, que establece un límite de Mohos y levaduras que un alimento debe contener y es menor o igual 100 UFC/g.
4. Queda evidenciada la importancia de que un producto cumpla con las condiciones de envasado, empacado, para su distribución y comercialización para poder evitar la contaminación del producto hasta que llega a las manos del consumidor.
5. En el país y en la región no existe ninguna norma que establezca un límite mínimo permitido para la adición de bacterias ácido lácticas en los alimentos, aun así los resultados obtenidos se compararon con la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, dando como resultado que el 85% de yogures que se comercializan en el país cumplen con esta Norma; y el 15% de los yogures analizados presentan etiquetado

engañoso, debido a que en su composición no se encontró ninguna bacteria probiótica.

6. El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos en el cuadro de vigilancia microbiológica, exige ausencia de ***Escherichia coli***. el 100% de las muestras cumplen con < 3NMP/g
7. Por medio de la guía de observación (página 80) podemos concluir que el 100% de las muestras cumplen con los requerimientos de almacenamiento de los yogures en los supermercados a temperatura de (2 – 8 °C), según indicaban los termostatos ubicados en las cámaras refrigerantes de dichos establecimientos.
8. En cuanto a pH todos los yogures cumplen lo cual es importante para la comercialización de este producto debido a que el sabor y consistencia del producto se ve afectado por el nivel de acidez.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que exista una campaña de información ya sea por parte de las entidades de salud o los fabricantes de yogur acerca de los beneficios que trae el consumo de alimentos con bacterias ácido lácticas y las cantidades que deben consumirse para lograr tal beneficio.
2. Que el Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnico (OSARTEC) incluya a los alimentos con probióticos en el reglamento correspondiente para regular los límites permitidos de probióticos a estos alimentos; esto con el fin de que los fabricantes de dichos alimentos agreguen las bacterias beneficiosas en cantidad adecuada.
3. Que los consumidores de yogur sean críticos al comprar el yogur, leyendo la información nutricional contenida en la etiqueta; así como las condiciones de anaquel, fecha de vencimiento, y estado del envase del producto, esto con el fin de tener la certeza de que se consume un alimento con buena calidad microbiológica.
4. Que en futuros trabajos de graduación se realice un análisis con mayor número de muestras con el fin de monitorear la calidad microbiológica de los yogures en el país.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, M. R. y Moss M. O. (1998). *Microbiología de los alimentos*, (Eds). Zaragoza España: ACRIBIA
2. Aranceta Bartrina J. y Serra Majem L. *Leche, Lácteos y Salud*.(2005) España Ed. Médica Panamericana, pag.134.
3. Bonilla, G. (1996) *Estadística I. Elementos de estadística descriptiva y probabilidad*. (4ª edición). San Salvador, El Salvador: UCA editores. Pág. 240- 241
4. Casp, V. A. y Requena, J. A. (1999). *Procesos de Conservación de Alimentos, Colección de Tecnología de Alimentos*. (Eds). Madrid España: Mundi-Prensa,
5. Charles, A. (1998). *Ciencia de la Leche, Principios de la Técnica Lechera*. (Eds). México: Continental.
6. Fernández, E. E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. Querétaro, México: Universidad Autónoma de Querétaro.
7. Fuller R. (1997), *Probiotics 2. Applications and practical aspects*, IX edition, United Kingdom: Chapman & Hall, paginas: 1-3
8. IICA PRODAR FAO (2006). *Ficha Técnicas productos frescos y procesados INPHO Productos Lácteos. Yogurt.*, Acceso [02 de marzo de 2013]. Disponible en: http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pprocesados/LACT6.HTM.
9. Jay, J. M. (1992). *Microbiología moderna de los alimentos*. (Eds). Zaragoza España: ACRIBIA.
10. Leveau, J. y Bouix, M. (2000). *Microbiología Industrial, Los microorganismos de interés industrial*. (Eds). Zaragoza, España: ACRIBIA.
11. Liong M. (2001). *Probiotics. Biology, genetics and Health Aspects*, (1st edition, vol 21), Malaysia: Springer. Pág. 03-139-140

12. Michael Wehr H. (2004) *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (17th Edition). Washington DC. USA: American Public Health Association. P. 107-111, 132-134
13. Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. México 2010.
14. Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.10:06 productos lácteos yogur. Especificaciones.
15. Norma Técnica Andina PNA 16 007:2007 Leches Fermentadas. Requisitos.
16. OMS (2011). CODEX ALIMENTARIUS “Leche y Productos Lácteos” (Segunda Edición) Roma, Italia. CODEX STAN 243-2003 Norma del Codex para Leches Fermentadas.
17. Ouwehand, A. C. (1993). *Antimicrobial components from lactic acid bacteria*. En: *Lactic Acid Bacteria*, Salminen, S. y Von Wright A. (Eds). Nueva York, USA: Marcel Dekker.
18. Parra Huertas R. *Bacterias Ácido Lácticas: Papel Funcional en los Alimentos* Volumen 8 Numero 1., Colombia: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Enero- Junio 2010
19. Ramírez Cuenca, M. (2005) *Actividad Inhibitoria de Cepas de Bacterias Ácido Lácticas frente a Bacterias Patógenas Y Deterioradoras de Alimentos*. Pachuca de Soto, Hidalgo México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería Centro de Investigaciones Químicas.
20. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02:10 Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados (Preenvasados).
21. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos. ANEXO DE RESOLUCIÓN No. 243-2009.
22. Rivas C., Rueda Z., Rojas J., Cardenas B., Corcuera G. (2007) “*Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias de bacterias*”

ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador”, Mérida, Venezuela: Universidad de los Andes.

23. Rodríguez Gómez, J. (2006). “*Microorganismos y salud. Bacterias lácticas y bifidobacterias probióticas*” (Eds) Madrid, España: Editorial Complutense.
24. Sánchez, O. I. (2003). *Uso del permeado de suero suplementando en la producción de bacteriocinas y su aplicación en la bioconservación*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Querétaro. México.
25. Soomro, A.H., Masud T., y Anwaar K. (2002). *Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health*. Pakistan: Pakistan Journal of Nutrition (1): 20-24.
26. Valderrama J. (2001), *Información Tecnológica, Centro de Información Tecnológica*, vol. 12 No. 6, (año 12, edición 71), La Serena, Chile: Valderrama y Faúndez. páginas 36-37.
27. Vallejo, F. Toro, M.A. (2002) *Microbiological analysis in yogourt with probiotics*. Valparaíso, Chile: Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina, Cátedra de Micología.
28. <http://www.superselectos.com/wfSucursales.aspx?menu=5>. Consultado el 1 de Abril de 2013. Super Selectos Sucursales 2013.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Lista de chequeo de preferencias del yogur.



Universidad de El Salvador

Facultad de Química y Farmacia



CheckList – Lista de Chequeo

Lugar: _____

Fecha: _____

1. ¿Qué tipo de yogurt prefiere?

Solido__ Bebible__ Indiferente__

2. ¿Qué marca de yogurt prefiere?

Yes	Salud	Yoplait	Gaymont's	Doña Laura	Dos Pinos
-----	-------	---------	-----------	------------	-----------

¿Por qué prefiere esa marca?

3. ¿Prefiere yogurt con probióticos?

Sí__ No__ Indiferente__

4. ¿Cuál es su sabor favorito? (marque con una X)

Fresa	Melocotón	Banano Fresa	Manzana	Uva	Mora	Mezcla de Frutas	Otras
-------	-----------	-----------------	---------	-----	------	---------------------	-------

5. ¿Sabe que son probióticos?

Sí__ No__ Explique.

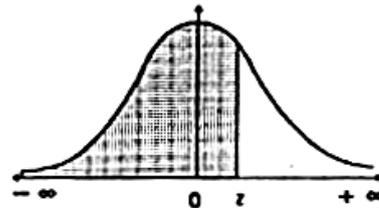
6. ¿Considera que es importante que se consuman alimentos con probióticos en una dieta balanceada?

Sí__ No__

ANEXO N° 2

Tabla N° 10 tabla de distribución normal

FUNCIÓN DE DISTRIBUCIÓN NORMAL $N(0;1)$



z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.5000	0.5040	0.5080	0.5120	0.5160	0.5199	0.5239	0.5279	0.5319	0.5359
0.1	0.5398	0.5438	0.5478	0.5517	0.5557	0.5596	0.5636	0.5675	0.5714	0.5753
0.2	0.5793	0.5832	0.5871	0.5910	0.5948	0.5987	0.6026	0.6064	0.6103	0.6141
0.3	0.6179	0.6217	0.6255	0.6293	0.6331	0.6368	0.6406	0.6443	0.6480	0.6517
0.4	0.6554	0.6591	0.6628	0.6664	0.6700	0.6736	0.6772	0.6808	0.6844	0.6879
0.5	0.6915	0.6950	0.6985	0.7019	0.7054	0.7088	0.7123	0.7157	0.7190	0.7224
0.6	0.7257	0.7291	0.7324	0.7357	0.7389	0.7422	0.7454	0.7486	0.7517	0.7549
0.7	0.7580	0.7611	0.7642	0.7673	0.7704	0.7734	0.7764	0.7794	0.7823	0.7852
0.8	0.7881	0.7910	0.7939	0.7967	0.7995	0.8023	0.8051	0.8078	0.8106	0.8133
0.9	0.8159	0.8186	0.8212	0.8238	0.8264	0.8289	0.8315	0.8340	0.8365	0.8389
1.0	0.8413	0.8438	0.8461	0.8485	0.8508	0.8531	0.8554	0.8577	0.8599	0.8621
1.1	0.8643	0.8665	0.8686	0.8708	0.8729	0.8749	0.8770	0.8790	0.8810	0.8830
1.2	0.8849	0.8869	0.8888	0.8907	0.8925	0.8944	0.8962	0.8980	0.8997	0.9015
1.3	0.9032	0.9049	0.9066	0.9082	0.9099	0.9115	0.9131	0.9147	0.9162	0.9177
1.4	0.9192	0.9207	0.9222	0.9236	0.9251	0.9265	0.9279	0.9292	0.9306	0.9319
1.5	0.9332	0.9345	0.9357	0.9370	0.9382	0.9394	0.9406	0.9418	0.9429	0.9441
1.6	0.9452	0.9463	0.9474	0.9484	0.9495	0.9505	0.9515	0.9525	0.9535	0.9545
1.7	0.9554	0.9564	0.9573	0.9582	0.9591	0.9599	0.9608	0.9616	0.9625	0.9633
1.8	0.9641	0.9649	0.9656	0.9664	0.9671	0.9678	0.9686	0.9693	0.9699	0.9706
1.9	0.9713	0.9719	0.9726	0.9732	0.9738	0.9744	0.9750	0.9756	0.9761	0.9767
2.0	0.9772	0.9778	0.9783	0.9788	0.9793	0.9798	0.9803	0.9808	0.9812	0.9817
2.1	0.9821	0.9826	0.9830	0.9834	0.9838	0.9842	0.9846	0.9850	0.9854	0.9857
2.2	0.9861	0.9864	0.9868	0.9871	0.9875	0.9878	0.9881	0.9884	0.9887	0.9890
2.3	0.9893	0.9896	0.9898	0.9901	0.9904	0.9906	0.9909	0.9911	0.9913	0.9916
2.4	0.9918	0.9920	0.9922	0.9925	0.9927	0.9929	0.9931	0.9932	0.9934	0.9936
2.5	0.9938	0.9940	0.9941	0.9943	0.9945	0.9946	0.9948	0.9949	0.9951	0.9952
2.6	0.9953	0.9955	0.9956	0.9957	0.9959	0.9960	0.9961	0.9962	0.9963	0.9964
2.7	0.9965	0.9966	0.9967	0.9968	0.9969	0.9970	0.9971	0.9972	0.9973	0.9974
2.8	0.9974	0.9975	0.9976	0.9977	0.9977	0.9978	0.9979	0.9979	0.9980	0.9981
2.9	0.9981	0.9982	0.9982	0.9983	0.9984	0.9984	0.9985	0.9985	0.9986	0.9986
3.0	0.99865	0.99869	0.99874	0.99878	0.99882	0.99886	0.99889	0.99893	0.99897	0.99900
3.1	0.99903	0.99906	0.99909	0.99913	0.99916	0.99918	0.99921	0.99924	0.99926	0.99929
3.2	0.99931	0.99934	0.99936	0.99938	0.99940	0.99942	0.99944	0.99946	0.99948	0.99950
3.3	0.99952	0.99953	0.99955	0.99957	0.99958	0.99959	0.99961	0.99962	0.99964	0.99965
3.4	0.99966	0.99968	0.99969	0.99970	0.99971	0.99972	0.99973	0.99974	0.99975	0.99976
3.5	0.99977	0.99978	0.99978	0.99979	0.99980	0.99981	0.99982	0.99982	0.99983	0.99983
3.6	0.99984	0.99985	0.99985	0.99986	0.99986	0.99987	0.99987	0.99988	0.99988	0.99989
3.7	0.99989	0.99990	0.99990	0.99990	0.99991	0.99991	0.99991	0.99992	0.99992	0.99992
3.8	0.99993	0.99993	0.99993	0.99994	0.99994	0.99994	0.99994	0.99995	0.99995	0.99995
3.9	0.99995	0.99995	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99996	0.99997	0.99997
4.0	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99997	0.99998	0.99998	0.99998	0.99998

ANEXO N° 3

Cuadro N° 8 Lista de Chequeo del Etiquetado de los Yogures.

Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.02.10. Etiquetado General de los Alimentos Previamente Envasados. (Preenvasados).

Número de muestra:		
PARÁMETRO	Cumple	NO cumple
Nombre del alimento		
Lista de ingredientes		
Contenido neto y peso escurrido		
Número de Registro		
Nombre y Dirección del fabricante		
País de Origen		
Identificación del Lote		
Marcado de la fecha de Vencimiento e Instrucciones para la conservación		
Otros (Especificar)		

ANEXO N° 4

Tabla N° 11 Tabla número más probable para 3 tubos.

No. de tubos con reacciones positivas			NMP/ g ó mL
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	9
2	0	0	14
2	0	1	15
2	1	0	20
2	1	1	21
2	2	0	28
2	2	1	23
3	0	0	39
3	0	1	64
3	0	2	43
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	> 2400

ANEXO N° 5
ESQUEMAS DE TRABAJO DE
EXPERIMENTAL LABORATORIO

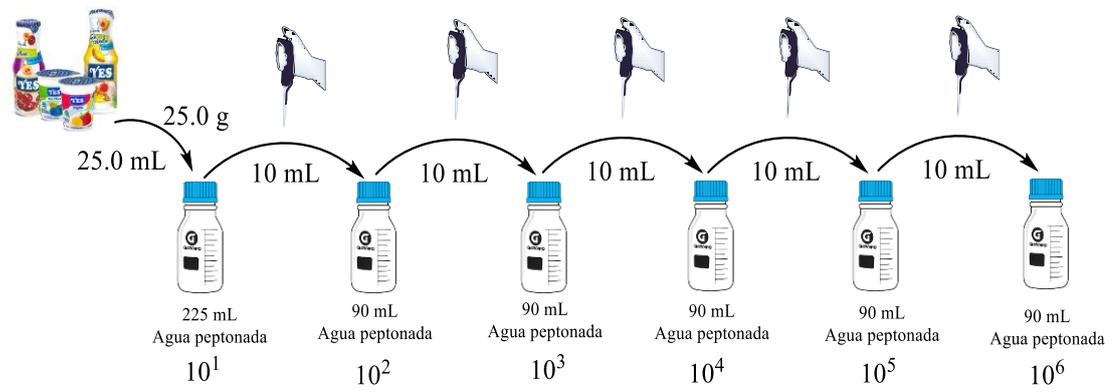


Figura. N^o. 14 Procedimiento para Preparación de Diluciones

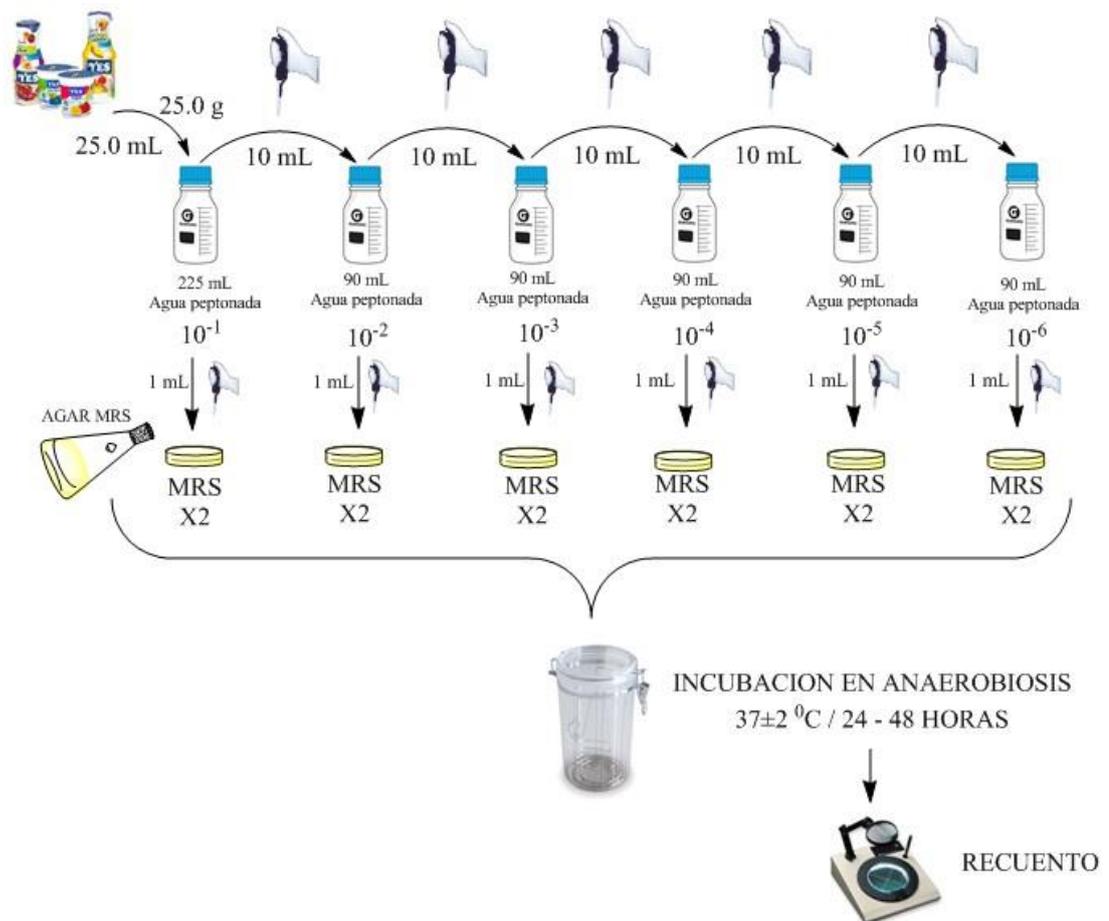


Figura N^o. 15 Procedimiento para Recuento de Bacterias Ácido Lácticas

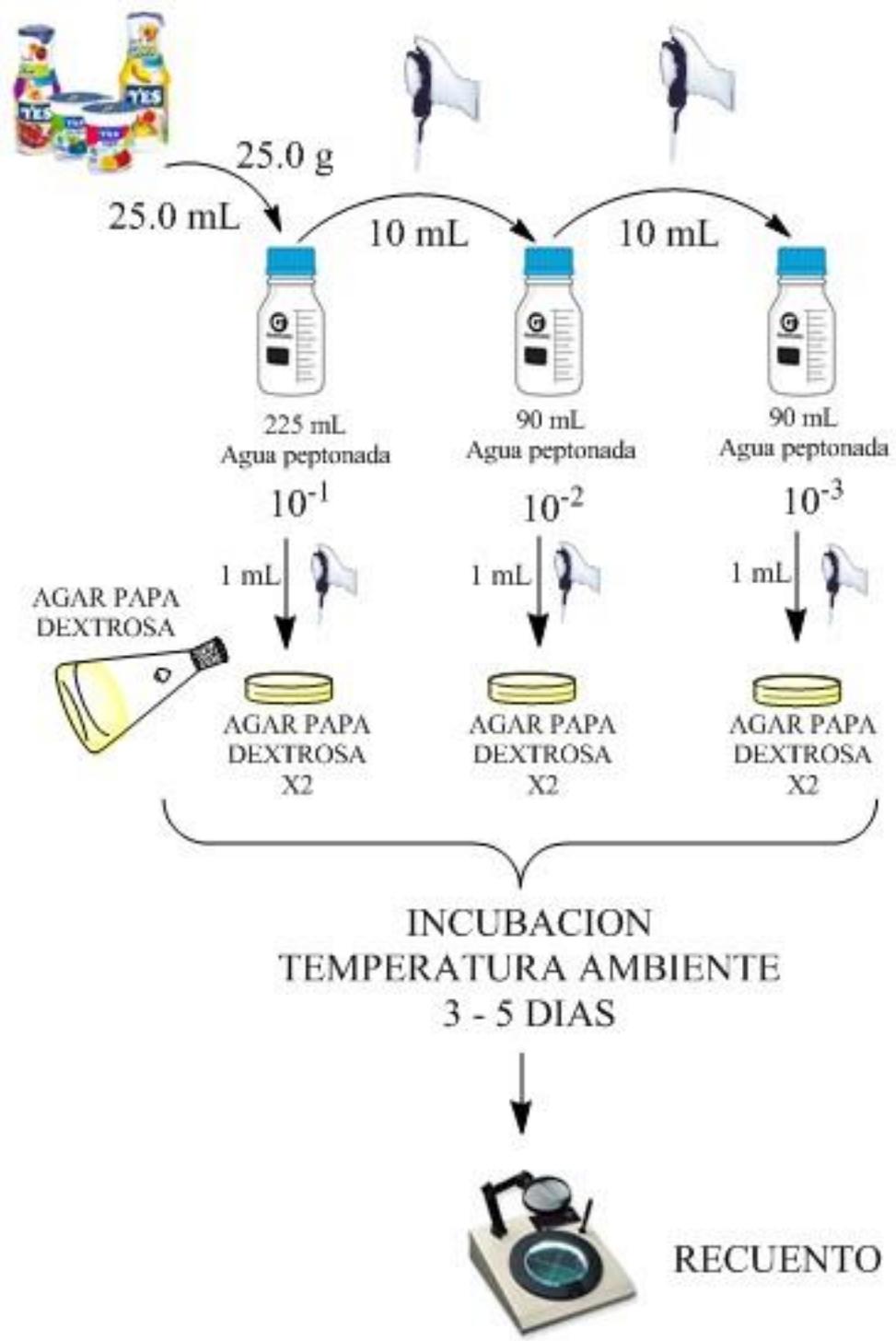


Figura N° 16 Procedimiento para Recuento de Hongos y Levaduras

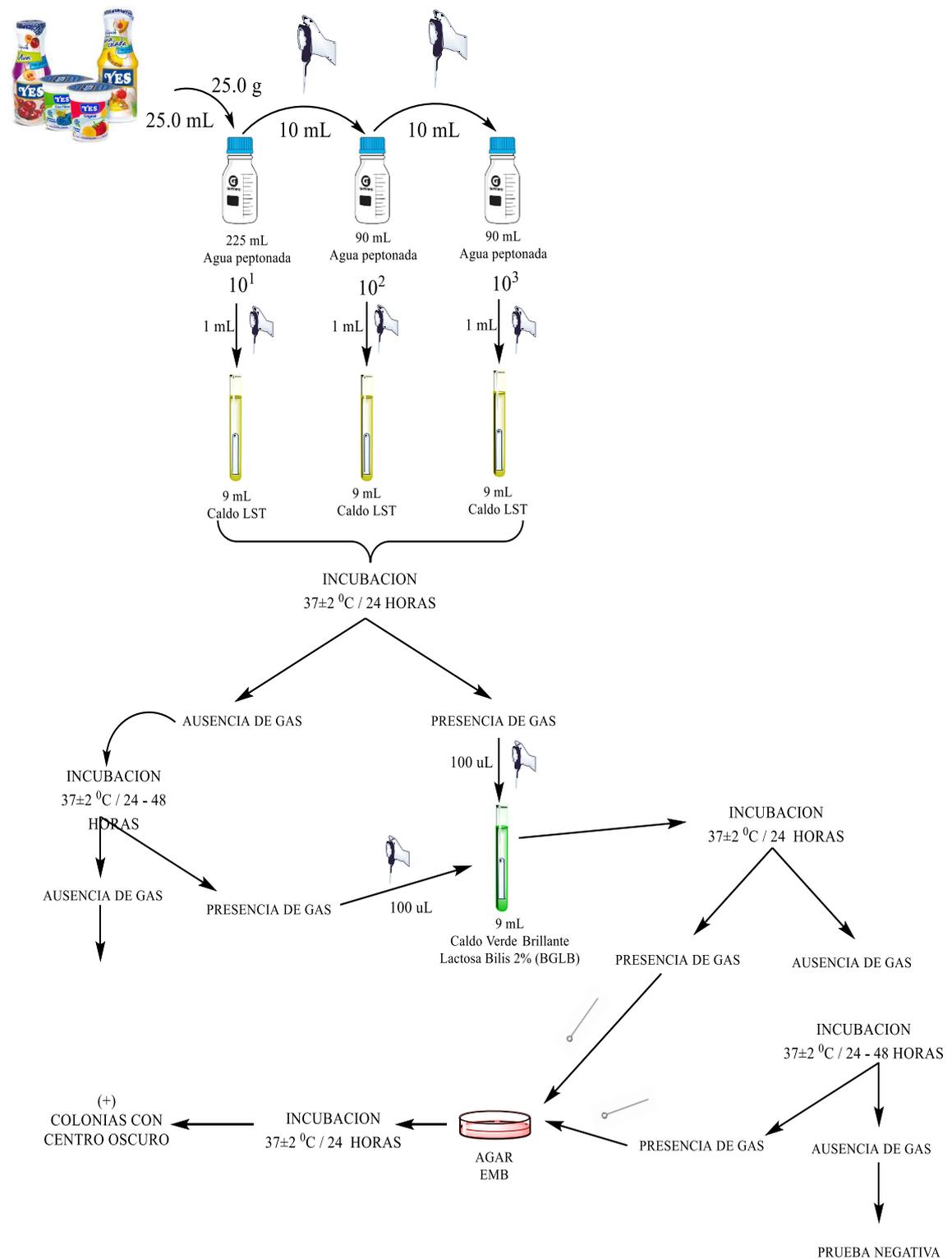


Figura N° 17 Procedimiento para Determinación de *Escherichia coli*

ANEXO N° 6

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08

Alimentos, criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. (23)

Tabla N° 11 Parámetros microbiológicos

1.10 Subgrupo del alimento: yogurt			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo Permitido
<i>Escherichia coli</i>	4	A	<3 NMP/g ó mL
Recuento de mohos y levaduras			100 UFC/g ó mL

Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. (15)

Tabla N° 12 Parámetros de bacterias ácido lácticas

Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Mínimo Permitido
Bacterias ácido lácticas	4	A	10 ⁷ UFC/ g ó mL

ANEXO N° 7



Figura N° 18. Mapa Distrito Dos de San Salvador

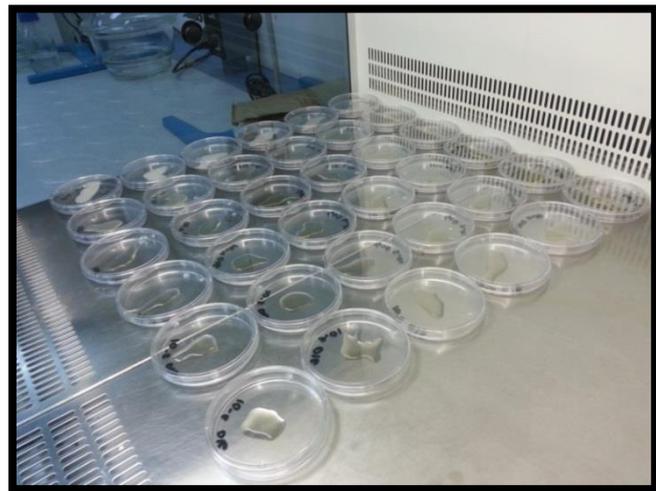
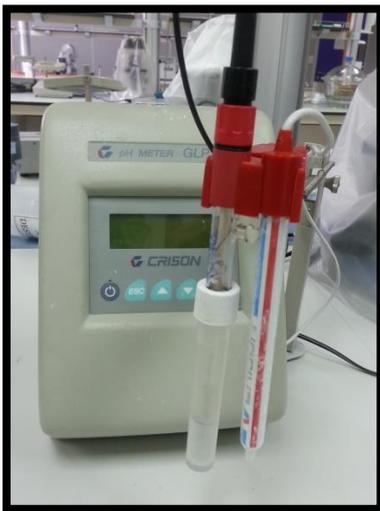
ANEXO N° 8
FOTOGRAFIAS



a)

b)

c)



d)

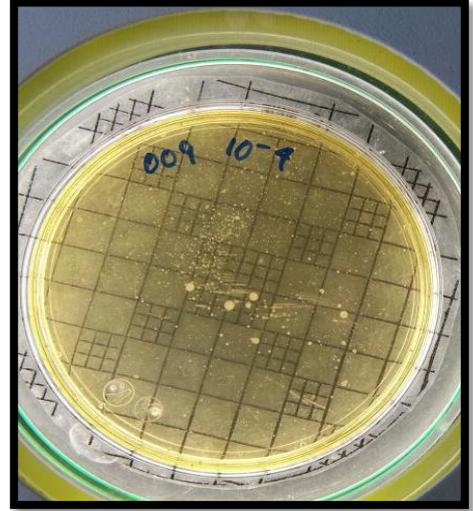
e)

- a) Muestra recolectada mal cerrada por fabricante.
- b) Recolección, documentación y verificación según RTCA 67.01.02:10 de datos rotulados por muestra.
- c) Preparación de diluyentes y medios de cultivo.
- d) Toma de pH de muestras.
- e) Inoculo de muestras en placas de petri para recuento de bacterias ácido lácticas.

Figura N° 19 Fotografías representando el trabajo en el laboratorio



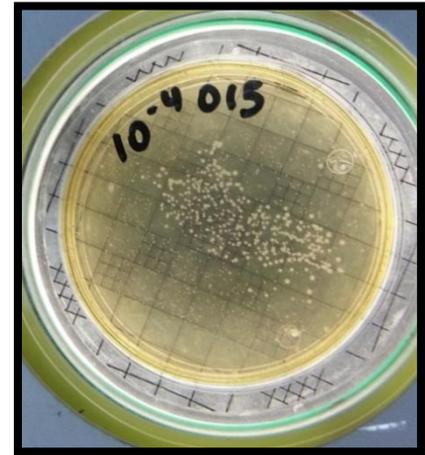
a)



b)



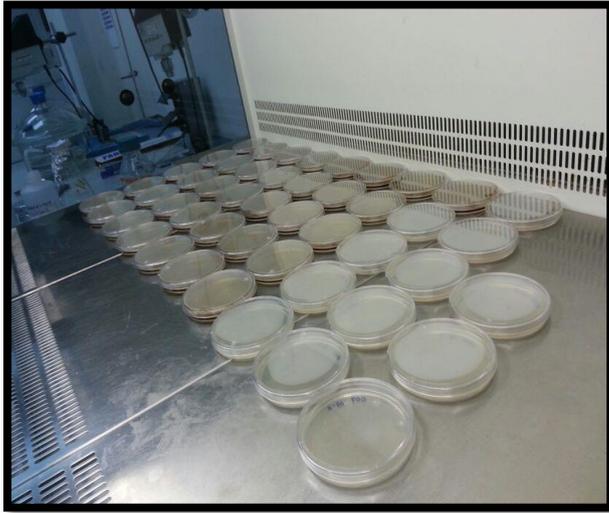
c)



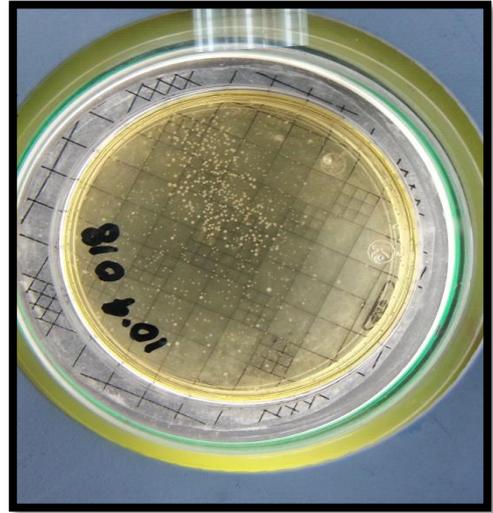
d)

- a) Procesamiento de muestras para recuento de bacterias ácido lácticas y análisis microbiológico.
- b) Recuento y documentación de resultados de bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras. Toma de pH de muestras.
- c) Resultados de recuento de bacterias ácido lácticas en dilución 10^{-4} de la muestras código 009
- d) Resultados de recuento de bacterias ácido lácticas en dilución 10^{-4} de la muestras código 015.

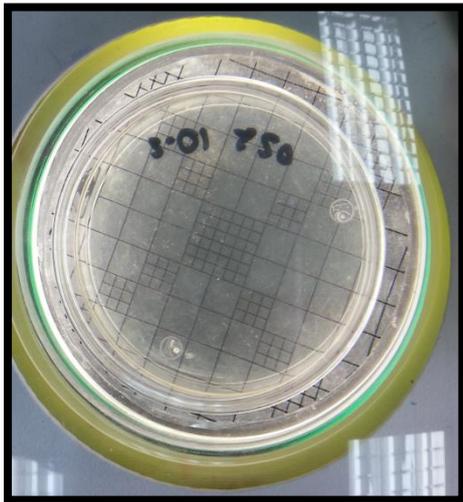
Figura N° 20 Fotografías representando el conteo de los diferentes análisis



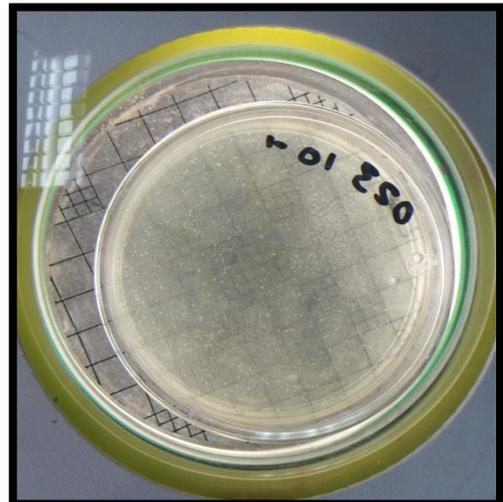
a)



b)



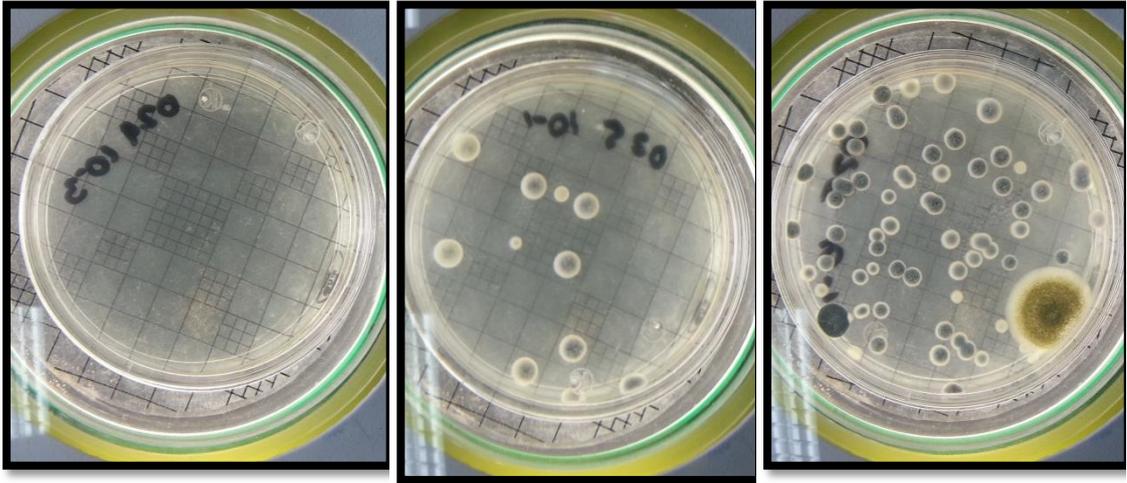
c)



d)

- a) Vertido de PDA para recuento de mohos y levaduras y en agar MRS para recuento de bacterias ácido lácticas.
- b) Resultados de recuento de bacterias ácido lácticas en dilución 10^{-4} de la muestras código 018.
- c) Resultados de recuento de mohos y levaduras en dilución 10^{-2} de la muestras código 025.
- d) Resultados de recuento de mohos y levaduras en dilución 10^{-1} de la muestras código 023.

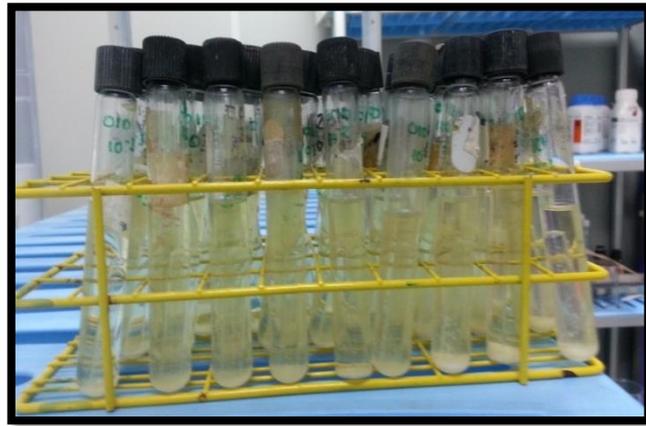
Figura N° 21 Rotulación de placas de petri



a)

b)

c)



d)

e)

- a) Resultados de recuento de mohos y levaduras en dilución 10^{-3} de la muestras código 024.
- b) Resultados de recuento de mohos y levaduras en dilución 10^{-1} de la muestras código 025.
- c) Resultados de recuento de mohos y levaduras en dilución 10^{-1} de la muestras código 025.
- d) Contaminación secundaria en PDA.
- e) Resultados de coliformes totales en LST.

Figura N° 22 Diferentes contaminaciones

