

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



ANALISIS MICROBIOLOGICO DE HELADOS ELABORADOS DE FORMA
INDUSTRIAL Y COMERCIALIZADOS EN LOS SUPERMERCADOS DEL
DISTRITO DOS DEL AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

KARLA MARISELA GRANDE GONZALEZ

RUTH NATHALIA VASQUEZ MADRID

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

AGOSTO, 2014

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LIC. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

TRIBUNAL CALIFICADOR

COORDINADORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos.

COORDINADORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y COSMETICOS.

MSc. Rocío Ruano de Sandoval.

DOCENTE ASESORA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar **agradecemos a DIOS** todo poderoso por habernos dado la posibilidad de terminar nuestra carrera y darnos la capacidad, el deseo y la fortaleza de seguir adelante, a pesar de las adversidades que se nos presentaron a lo largo del camino y poder llegar a la meta.

A **Nuestros padres y hermanos**, por estar ahí en los momentos más difíciles dándonos ánimos, consejos y apoyo en a lo largo de toda nuestra formación académica y enseñarnos que todo lo que se desea con esfuerzo se puede lograr.

Al **comité de Trabajo de Graduación**: Directora General de Procesos de Graduación, Licda. Odette Rauda, Coordinadoras de área: MSc. María Evelin Sánchez de Ramos, MSc. Rocío Ruano de Sandoval, **Docente Directora**: MSc. Coralía de los Ángeles González de Díaz, por orientarnos a lo largo de la realización de este trabajo de Graduación.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y su personal, por su colaboración y amabilidad durante el desarrollo de la parte experimental de este trabajo de graduación.

A los catedráticos que a lo largo de la carrera nos guiaron, orientaron y brindaron los conocimientos necesarios para nuestra vida profesional.

A **nuestros amigos y amigas** que nos han apoyado, escuchado y entendido incondicionalmente.

Karla y Nathalia

DEDICATORIA

A **Dios** en primer lugar haberme permitido llegar al final de la carrera por darme la capacidad de superar los obstáculos y problemas que se presentaron a lo largo de esta y sobre todo la fuerza para seguir adelante a pesar de las adversidades.

A **mi madre** Dora A. González vda de Grande, por todo su apoyo y amor a lo largo de los años por estar siempre para mí y ver la manera de sobrepasar los obstáculos que se presentaron a lo largo de la carrera, por ser mi ejemplo y poder contar en todo momento con ella.

A **mi padre** Edwin Grande P. †, por el tiempo, amor y dedicación que tuvo en los años de mi carrera y en mi vida y enseñarme que todo se puede lograr con esfuerzo y dedicación, por escucharme en las horas de estudio y tomarse el interés de aprender cosas de mi carrera.

A **mi hermana** Dora E. Grande G., por apoyarme, amarme escucharme y estar siempre a mi lado, siendo mi mejor amiga y compañera.

A **mi novio** David E. Chávez A., por todo su apoyo, comprensión y amor y compartir conmigo este gran logro de mi vida.

A **mis amigas:** Lorena Cuellar, Jennifer Hernández, Laura Vidal y Nathalia Vásquez, por regalarme su valiosa amistad y pasar tiempo juntas apoyándonos a lo largo de los ciclos duros de la carrera.

Karla M. Grande G.

DEDICATORIA

A **Dios todo poderoso y a nuestro Señor Jesucristo** por estar a mi lado en cada momento de mi vida y ayudarme a superar obstáculos presentados a lo largo de mi carrera.

A **mi Madre** Mercedes de Jesús Madrid de Vásquez, mi mejor amiga, por su apoyo y amor incondicional a lo largo de toda mi vida, por sus consejos que a lo largo de la carrera me ayudaron a salir adelante.

A **mi Padre** Josué Vásquez Villanueva, por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi carrera, por su amor y por sus palabras de fortaleza y motivación ante los problemas.

A **mi Tío** Juan Antonio Madrid por su ayuda y sus consejos en los momentos más difíciles y por todo su amor brindado a lo largo de mi vida.

A **mis hermanos** Olga M. y Josué A. Vásquez por creer y confiar en mí al brindarme su apoyo durante todo el desarrollo de mi carrera.

A **mis amigas**, Lorena Cuellar, Jennifer Hernández y Laura Vidal por compartir tantos momentos agradables juntas y darme su amistad a lo largo de la carrera.

A **mi compañera de tesis y amiga** Karla M. Grande por haber compartido conmigo todas las experiencias vividas a lo largo de nuestra carrera y en el desarrollo de la tesis.

Ruth Nathalia Vásquez M.

INDICE

Pág.

Resumen

Capítulo I

1.0 Introducción

xxiv

Capítulo II

2.0 Objetivos

Capítulo III

3.0 Marco Teórico

29

3.1 Antecedentes Históricos de los fabricantes
de helados

29

3.2 Antecedentes Históricos de la industria del
helado en El Salvador

30

3.3 Definiciones según Norma Salvadoreña

31

3.4 Clasificación de Helados

33

3.5 Requisitos Físicos y químicos

33

3.6 Materias Primas y Materiales Empleados
para la Elaboración de Helados.

34

3.7 Componentes de los helados y su importancia

35

3.8 Proceso general de fabricación de helados

41

3.9 Microorganismos en los alimentos

44

3.10 Microbiología de los helados: enfermedades transmitidas por los alimentos	49
3.11 Factores microbiológicos que afectan a la leche	54
3.11.1 Agriado o Formación De Ácido	54
3.11.2 Producción De Gas.	55
3.11.3 Proteólisis.	56
3.11.4 Bacterias lácticas.	58
3.11.5 Bacterias esporuladas.	58
3.11.6 Bacterias psicrotrofas.	59
3.11.7 Bacterias de origen fecal.	59
3.11.8 Riesgos microbiológicos.	60
3.12 Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)	60
3.13 Análisis microbiológicos de Helados.	62
3.13.1 <i>Escherichia coli</i> .	63
3.13.2 <i>Salmonella spp.</i>	64
3.13.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .	65
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	69
4.1 Tipo de estudio	69
4.1.1 Experimental	69

4.1.2 Transversal	69
4.1.3 Retrospectivo	69
4.2 Investigación bibliográfica	69
4.3 Investigación de campo	70
4.3.1 Universo	71
4.3.2 Muestra	72
4.3.2.1 Determinación y selección del número de Supermercados	72
4.3.2.2 Determinación y selección de la variedad de Helados muestreados.	75
4.4 Parte experimental	79
4.4.1 Toma y transporte de muestra	79
4.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .	79
4.4.3 <i>Salmonella spp.</i>	81
4.4.4 <i>Escherichia coli</i> .	85
Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados	89
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	125

Capítulo VII

7.0 Recomendaciones

128

Bibliografía

Glosario

Anexos

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Codificación de supermercados y marcas de helados.
2. Ubicación el Distrito dos en el Departamento de San Salvador.
3. Tabla de Distribución Normal Estándar.
4. Encuesta sobre las preferencias del consumidor de helados dentro de en los supermercados del distrito dos de San Salvador.
5. Lista de Chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados dentro de los supermercados del distrito dos de San Salvador.
6. Etiqueta para la recolección de datos de las muestras en los supermercados.
7. Criterios microbiológicos para Helados a base de leche y agua.
8. Procedimiento para el Aislamiento de *Staphylococcus aureus*.
9. Procedimiento para la Determinación de *Staphylococcus aureus*.
10. Procedimiento para la Identificación por prueba de coagulasa para *Staphylococcus aureus*.
11. Procedimiento para la Identificación por prueba de catalasa para *Staphylococcus aureus*
12. Tratamiento de muestra para la Determinación de *Salmonella spp.*
13. Procedimiento para el Aislamiento de *Salmonella spp.*
14. Identificación de *Salmonella spp.* en agar Sulfito, XLD y Agar Hektoen.

15. Preparación de muestra para la determinación de *E. coli* en helados.
16. Prueba confirmativa para *E. coli*.
17. Prueba confirmativa para de Coliformes Fecales.
18. Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*
19. Interpretación de Resultados de Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*
20. Resultados de Pruebas bioquímicas a microorganismos sospechosos.
21. Tabla del número Más Probable (NMP) por mL/g de muestras, utilizando series de tres tubos con 10, 1.0, 0.1 mL respectivamente.
22. Presentación de información de las muestras de helados a base de leche y agua analizados.
23. Carta, resultados, conclusiones y recomendación de los análisis microbiológicos presentados a la Defensoría del Consumidor.

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°	N° Pág.
1. Número de Supermercados por estrato.	72
2. Resultados de las preferencias del consumidor de helados.	89
3. Resultados de Lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados dentro de los supermercados.	94
4. Porcentaje obtenido de parámetros a verificar mediante Lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados dentro de los supermercados.	96
5. Información de muestras analizadas en los diferentes supermercados.	88
6. Resultados para análisis de muestras de helados a base de leche durante las dos semanas de análisis .	100
7. Microorganismos no contemplados en el RTCA y que se encontraron en los helados a base de leche.	110
8. Resultados para análisis de muestras de helados a base de agua.	116
9. Microorganismos no contemplados en el RTCA y que se encontraron en los helados a base de agua.	120
10. Resumen de microorganismos encontrados en las muestras de helados a base de leche.	122

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	N° Pág
1. Instalación completa de planta de producción industrial de helados	42
2. <i>Escherichia coli</i> .	63
3. <i>Salmonella spp.</i>	64
4. <i>Staphylococcus aureus</i> .	65
5. Gráfico de resultados de la preferencia de helados a base de leche, base de agua de los consumidores en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.	90
6. Gráfico de resultados de la marca de helados de mayor preferencia por los consumidores de helados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.	91
7. Gráfico de resultados del sabor de helados favoritos por los consumidores de helados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.	92
8. Gráfico de resultados de la presentación de helados que adquieren los consumidores en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.	93

FIGURA N°	N° Pág
9. Gráfico de resultados de los parámetros verificados mediante lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados.	97
10. Placas de Baird Parker con <i>Staphylococcus aureus</i> .	103
11. Prueba de coagulasa, confirmativa para la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> .	104
12. Prueba de catalasa, confirmativa para la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> .	104
13. Placas de HE, BS y XLD, sin crecimiento de <i>Salmonella spp.</i>	105
14. Determinación de coliformes totales por medio de NMP.	106
15. Prueba presuntiva para <i>Escherichia coli</i> por medio de la lámpara de luz UV.	107
16. Prueba confirmativa para <i>E. coli</i> con reactivo de Kovack.	107
17. Colonias de <i>E. coli</i> en placas de Agar EMB.	108
18. Determinación de coliformes fecales.	109

FIGURA Nº	Nº Pág
19. Placas de Agar Bismuto Sulfito, Agar Henktoen y agar XLD, que presentaron crecimiento, no característico a <i>Salmonella spp.</i>	111
20. Pruebas bioquímicas para la determinación de microorganismo presente en las muestras de helados a base de leche.	112
21. <i>Enterobacter sp.</i>	113
22. Gráfico de resultados comparativos para las determinaciones realizadas a las muestras de helados a base de leche de cada Supermercado con su respectivo porcentaje.	114
23. Determinación de coliformes totales por medio de NMP.	117
24. Prueba presuntiva para <i>Escherichia coli</i> por medio de la lámpara de luz UV.	118
25. Prueba confirmativa para <i>E. coli</i> con reactivo de Kovack.	118
26. Colonias de <i>E. coli</i> en placa de Agar EMB.	119
27. Determinación de coliformes fecales.	120

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	N° Pág.
1. Requisitos físicos y químicos de los helados	34
2. Criterios microbiológicos para Helados a base de leche.	62
3. Criterios microbiológicos para Helados a base de agua.	62
4. Supermercados del distrito 2 de San Salvador	71
5. Porcentaje de cada cadena comercial de supermercados (estratos) del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador.	74
6. Número de supermercados que se muestrearon por estrato	75
7. Listado de supermercados que se muestrearon.	75
8. Helados que se encuentran a la venta en M ₁ .	76
9. Helados que se encuentran a la venta en M ₂ .	76
10. Cantidad total de muestras de helados por supermercado	78
11. Resultados comparativos para las determinaciones realizadas a las muestras de helados a base de leche de cada Supermercado con su respectivo porcentaje	114

ABREVIATURAS

APB= Agua Peptonada Buferada.

Agar XLD= Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Agar EMB= Eosina-azul de metileno.

Av.= Avenida.

BAM= Manual de análisis bacteriológico.

B. cereus = *Bacillus cereus*

BHI= Caldo Infusión Cerebro Corazón.

Blv= Bulevar.

BS= Agar Bismuto sulfito.

CENSALUD= Centro de Investigación y Desarrollo en Salud

cm²= centímetros cuadrados.

E. coli= *Escherichia coli*.

ETAs= Enfermedades transmitidas por alimentos.

Etc.= Etcétera.

FAO= Organización para la alimentación y la agricultura.

g.= gramo.

HE= Agar entérico de Hektoen.

H₂S= gas sulfuro de hidrógeno.

INVIMA= Instituto Nacional de Vigilancia de alimentos y Medicamentos.

KOH= Hidróxido de potasio

L. monocytogenes= *Listeria monocytogenes*

LMX= Caldo fluorocult LMX

mL.= mililitros.

OMS= Organización mundial de la salud.

p. ej= por ejemplo.

RM= Rojo de Metilo.

Rpm= Revoluciones por minuto.

RTCA= Reglamento Técnico Centroamericano.

S. aureus= *Staphylococcus aureus*.

S. faecalis = *Streptococos faecalis*

SIDA= Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

sp= especie

spp= especies

s.s= San Salvador

TBC= Tuberculosis.

TSA + EY= Agar Tripticasa Soya + EY.

TSA= Agar Tripticasa Soya

TSI= Agar hierro triple azúcar, glucosa, lactosa y sacarosa.

UFC/g= Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

UFC/ml= Unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra

VP.= Voges Proskauer.

μm= Micrómetro.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la calidad microbiológica de los helados elaborados de forma industrial y comercializados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, en el período de mayo a julio de 2014.

Para determinar el número de sucursales de Supermercados en donde se realizaría el muestreo, se empleó el Muestreo Aleatorio Estratificado, así como también se empleó el Muestreo Aleatorio Simple para conocer el número de muestras a analizar por cada Sucursal.

Se realizó una encuesta para conocer las preferencias de los consumidores de helados dentro de los supermercados, demostrando que las personas prefieren los helados a base de leche de la marca N₃, en los sabores de chocolate y vainilla, en presentación de vasito.

También se evaluó por medio de una lista de chequeo las condiciones higiénicas donde se comercializan los helados dentro de las sucursales seleccionadas para el muestreo, dando como resultado que no cumplen algunos de los parámetros evaluados por lo tanto los helados corren el riesgo de contaminación microbiológica en el periodo de almacenamiento.

Además se analizaron un total de 27 muestras de helados y las determinaciones realizadas a los helados a base de leche según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Grupo 1 "Leche y Productos Lácteos" fueron los siguientes: recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además de ausencia o presencia de *Salmonella spp*, dando como resultado que el 62.5% de las muestras no cumplen con el límite permitido para *Escherichia coli* de <3NMP/mL, 45.83% de las muestras no cumplen para *Staphylococcus aureus* que es de 10² UFC/g y para *Salmonella spp*. todas las muestras cumplieron debido a que presentaron ausencia.

La determinación realizada a los helados a base de agua según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Hielos” fue: recuento de *Escherichia coli*, dando como resultados que el 66.67% de las muestras analizadas no cumplen con el límite establecido de <3NMP/mL.

Cabe destacar que se encontraron otros microorganismos no especificados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 y que son de peligro para la salud del consumidor como lo son los Coliformes totales, Coliformes Fecales, los cuales causan enfermedades gastrointestinales y *Enterobacter sp.*, que puede causar infección urinaria.

En conclusión de las 27 muestras analizadas el 66.67% de las muestras no cumplen con el RTCA lo cual indica que contienen una carga microbiana fuera del límite permitido esto a causa de contaminación microbiana en el producto

Todos los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en el periodo de mayo a julio de 2014 y los resultados de estos análisis se presentaron a la Defensoría del Consumidor, recomendando que se realicen inspecciones en las industrias fabricantes de helados con el fin de conocer las condiciones bajo las cuales están siendo elaborados, así como también realizar las inspecciones respectivas en los supermercados para verificar las condiciones de almacenamiento y comercialización de estos productos.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), representan uno de los principales problemas que originan alteraciones en la salud de los consumidores, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. El Helado es considerado uno de los derivados lácteos de mayor consumo por ser fuente de proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales. ⁽³⁾

En El Salvador, el helado es uno de los alimentos más preferidos por la población debido a las altas temperaturas que se presentan, es un postre ideal para adultos y en especial para niños, por lo cual se hace necesario que este producto no contenga, microorganismo patógeno que pueda perjudicar la salud de los consumidores.

Por todo lo anterior, muchos consumidores buscan adquirir productos de alta calidad y sin riesgo para la salud, adquiriendo los helados en supermercados, donde se comercializa el helado fabricado en forma industrial, el cual debe cumplir con todas las características que menciona el RTCA 67.04.50:08 ⁽⁸⁾ para su comercialización.

Es por ello que el trabajo presentado tuvo por objetivo principal analizar microbiológicamente los helados elaborados de forma industrial que se comercializan en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, dicho análisis se realizó en el periodo comprendido de Mayo a Julio del 2014, en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

La metodología desarrollada en el trabajo fue un modelo estadístico, empleando el muestreo aleatorio estratificado para la determinación del número de Supermercados a muestrear. Del mismo modo se empleó un muestreo aleatorio

simple, para seleccionar las sucursales de Supermercados y el número de muestras que se tomaron de helados por cada sucursal.

Se realizó una encuesta para conocer las preferencias de los consumidores de helados dentro de las sucursales de los supermercados muestreados (Ver anexo N° 4). Además se verificó por medio de una lista de chequeo, las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de los helados dentro de los supermercados muestreados del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador (Ver anexo N° 5).

Posteriormente, se seleccionaron 24 muestras de helados a base de leche en 2 semanas consecutivas, las cuales son comercializadas en 3 supermercados del distrito dos del municipio de San Salvador (2 de M₁ y 1 de M₂, Ver Tabla N° 10), estas muestras se analizaron microbiológicamente determinando la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y el recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además se analizaron 3 muestras de helados a base de agua de los supermercados M₁ 8 etapa, M₁ Metrosur y M₂ realizando recuento de *Escherichia coli*.

Se realizó el análisis de 3 muestras de helados base de agua debido a que solo había 1 muestra de Helado N₆ (Ver Anexo N° 1) sabor Guayaba por cada sucursal muestreada.

Todos estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), los resultados del análisis se proporcionaron a la Defensoría del Consumidor para que ellos tomen las medidas necesarias.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar microbiológicamente los helados elaborados de forma industrial y comercializados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Verificar a través de una lista de chequeo el cumplimiento de las condiciones higiénicas donde se encuentran los helados dentro de los supermercados y las preferencias que tienen los consumidores de helados a base de leche y de agua.
- 2.2.2 Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* y recuento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en las muestras de helado a base de leche y de agua.
- 2.2.3 Comparar los resultados obtenidos en los análisis de muestras, para establecer si estas cumplen o no, con especificaciones microbiológicas establecidas por el RTCA 67.04.50:08 en lo referente a helados a base de leche grupo 1 “Leche y productos lácteos” y helados a base de agua grupo 3 “Hielos”.
- 2.2.4 Dar a conocer los resultados obtenidos a la Defensoría del Consumidor para que tomen las medidas pertinentes.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1. Antecedentes Históricos de los fabricantes de helados. ⁽²⁰⁾

La fabricación de helados no es nada reciente. Los primeros indicios de alguna forma de helado a base de agua, se remontan a la época de los griegos, romanos y judíos de palestina, todos ellos estaban familiarizados con bebidas y platos ligeros helados.

Los registros históricos señalan que Alejandro el Grande, durante el asedio a una ciudad, tenía 30 depósitos repletos de hielo y cubiertas con ramas, para que las mujeres pudieran disponer de bebidas heladas.

El primer uso de alguna sustancia para fines muy similares a los del helado, ocurre durante el reinado de Nerón Claudio César (A.D. 54-68). El regularmente ordenaba a un equipo de atletas, que trajera nieve de las montañas directamente hasta su mesa, donde era preparada con miel, jugos y pulpa. El postre del emperador es el más claro ejemplo del helado actual a base de agua y frutas.

Durante los siguientes mil años no existe dato alguno acerca del helado. Para fines del siglo XIII, Marco Polo llevó a Italia en uno de sus famosos viajes a la civilizaciones orientales, recetas de refrescos congelados a base de leche cuyo éxito fue grande en la época, así se obtienen los primeros datos de algo que podría parecerse al sorbete moderno. El helado a base de leche termina de adquirir sus principales características en Italia durante el siglo XVI.

El helado llegó a Inglaterra en el siglo XVII, pues regularmente se le servía “Ice Cream” al Rey Carlos I. Las recetas y fórmulas se mantuvieron en absoluto secreto por los chefs de la corte real de Inglaterra, Francia e Italia y hasta en el año 1670 que el Café Procope, en París, por primera vez puso cierto tipo de helado a la disposición del público. Durante el resto del siglo, empezó a

aparecer en otras regiones de Europa. Los colonizadores ingleses lo introdujeron en América alrededor del siglo XVII, pero al igual que, como generalmente sucedía en el viejo mundo, era una rareza y delicadeza sólo para ser disfrutado por los ricos, ya que el hielo resultaba demasiado difícil de obtener.

A principios del siglo XIX, dos inventos (la cosechadora de hielo y la batidora manual para fabricar helados), cambiaron la situación mencionada. Con ello, la industria del helado empezó a expandirse por los Estados Unidos. Pero no hasta en el presente siglo que dicha industria comenzó a crecer en forma dramática y posteriormente fenomenal. El resultado fue que para 1920, la planta de helados era muy similar a la actual. En la actualidad existen alrededor de 100 sabores diferentes, para cuya producción se puede utilizar las técnicas más sofisticadas y perfectas, de lo que constituye la floreciente industria del helado en casi todos los rincones del mundo.

3.2. Antecedentes Históricos de la industria del helado en El Salvador ⁽²⁰⁾

La producción de bienes derivados de la leche, viene desde la época de la colonia cuyas formas eran artesanales y a nivel de subsistencia familiar, utilizando únicamente la leche que ellos mismos obtenían de sus pocas vacas que poseían. Las capacidades de producción eran mínimas en el sentido que no cortaban con una capacidad suficiente ni con la tecnología adecuada para elaborar sus productos, es decir, que producían en forma rudimentaria, ello dio lugar a que estas microempresas se vieran en la necesidad de vender la leche a las empresas que iban teniendo una mayor capacidad para producir y comercializar.

Así es, como en la década de los 30 surge en el departamento de Santa Ana, una planta privada que a nivel de industria comienza a producir leche pasteurizada a granel, queso y crema, posteriormente en el departamento de San Salvador otras cuatro plantas pasteurizadoras con equipos modernos y así sucesivamente, fueron apareciendo en los departamentos de San Miguel, La Paz, Sonsonate y en otros lugares del país, otras plantas industriales para producir varias clases de quesos, crema e inclusive paletas y sorbetes, a tal grado que para 1978 se tenían registrados un número de 28 empresas, distribuidas entre la pequeña, mediana y gran empresa.

3.3. Definiciones según Norma Salvadoreña. ⁽⁹⁾

Helados: Son los productos obtenidos a partir de la mezcla pasteurizada, homogeneizada, batida y refrigerada por medios manuales o mecánicos que tenga en su composición grasa butírica en forma de crema, mantequilla o en polvo, o grasa vegetal, proteína láctea en forma de sólidos de leche, edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa en forma líquida o sólida, estabilizantes y emulsificantes alimenticios, saborizantes y colorantes naturales y artificiales, agua potable. Estos deben mantenerse en estado de congelación. Cuando su presentación sea empalillada su denominación es: "paleta de...".

- **Helado de leche:** es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada. Homogeneizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales que tenga en su composición los ingredientes según se establecen en la definición pero sin contener grasa vegetal y que contenga en su composición grasa butírica en un porcentaje igual o mayor al 8%.
- **Helado de grasa vegetal:** es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogeneizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o

manuales que tenga en su composición los ingredientes según se establece en la definición, conteniendo grasa vegetal en un porcentaje igual o inferior al 7%.

- **Helado de crema vegetal:** es el producto obtenido a partir de la mezcla pasteurizada, homogeneizada, batida y refrigerada por medios mecánicos o manuales que tenga en su composición los ingredientes según se establecen en la definición, conteniendo grasa vegetal en un porcentaje igual o mayor al 8%.

- **Helados de agua:** es el producto obtenido por el batido y congelamiento manual o mecánico de mezclas pasteurizadas que tengan en su composición agua potable, sustancias edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa, fructosa en forma líquida o sólida, y edulcorantes artificiales, acidulantes, estabilizantes, colorantes y saborizantes naturales y/o artificiales estos deben ser los permitidos por el Codex Alimentarius. Cuando su presentación sea empalillada su denominación es “Paleta de...”.

- **Nieves:** es el producto obtenido por el batido y congelamiento manual o mecánico de mezclas pasteurizadas que tengan en su composición agua potable, sustancias edulcorantes tales como azúcar, glucosa, dextrosa, fructosa en forma líquida o sólida, y edulcorantes artificiales, acidulantes, estabilizantes, colorantes naturales y/o artificiales según lo establecido por el Codex Alimentarius, además debe contener pulpa de frutas naturales. Cuando su presentación sea empalillada su denominación es: “Paleta con Fruta...”

3.4 CLASIFICACIÓN DE HELADOS. ⁽⁹⁾

Los helados se clasifican de acuerdo a su composición y al origen de sus ingredientes en los siguientes tipos:

- Helados de leche
- Helados de crema
- Helados de grasa vegetal
- Helados de crema vegetal
- Helados de agua
- Nieve.

3.5 Requisitos Físicos y químicos. ⁽⁹⁾

Los helados deben cumplir con los requisitos físicos y químicos especificados en la Tabla N° 1.

Características Sensoriales.

- **Textura:** los helados deben tener una textura suave característica uniformemente libre de hielo, en el caso de los helados de agua y las nieves en los cuales la presencia de hielo no constituirá defecto si los mismos no son mayores de 5 mm.
- **Color:** los helados deben tener el color propio del tipo y sabor que corresponda.

- **Olor y Sabor:** los helados deben tener olor y sabor agradables y característicos, sin la presencia de olores o sabores extraños o anormales.
- **Apariencia:** los helados deben tener una apariencia atractiva y uniforme, exceptuando los helados preparados con fruta, nueces, con trozos de chocolate, u otros similares, en los cuales los trozos de dichos ingredientes deben estar uniformemente distribuidos en la masa del helado. Los helados que se designen como “de .. (Nombre específico de frutas).” deben tener las frutas o productos de frutas en cantidad suficiente para caracterizar el producto.

Tabla N° 1: Requisitos físicos y químicos de los helados. ⁽⁷⁾

Características	Tipos de helado					
	Helado de leche	Helado de crema	Helado con grasa vegetal	Helado de crema vegetal	Helado de agua	Nieve
Sólidos totales, en porcentaje en masa, mínimo	30	35	30	35	15	20
Grasa de leche, en porcentaje en masa	Menor o Igual a 7%	Mayor o Igual a 8%	0	0	0	0
Grasa no láctea, en porcentaje en masa	0	0	Menor o Igual a 7%	Mayor o Igual a 8%	0	0
Proteínas en porcentaje en masa, mínimo	1.5	2	1.5	2	0	0
Masa por volumen, en g/L, mínimo	475	475	475	475	710	710

3.6 MATERIAS PRIMAS Y MATERIALES EMPLEADOS PARA LA ELABORACION DE HELADOS. ⁽¹²⁾

Los ingredientes que se emplean en la elaboración de helados y de mezclas para helados deben ser limpios, sanos y libres de contaminación; además deben cumplir con las normas salvadoreñas correspondientes y en su defecto

con las normas del Codex Alimentarius de la FAO/ OMS. Los principales ingredientes son los que se indican a continuación:

Leche, constituyentes lácteos y productos lácteos, pasteurizados, concentrados, deshidratados, fermentados, reconstituidos o combinados.

- Aceites comestibles y grasas comestibles no lácteas autorizadas.
- Proteínas comestibles no lácteas.
- Edulcorantes: sacarosa, jarabe de maíz o glucosa, azúcar invertida, dextrosa, fructosa, lactosa o mezcla de ellos, y edulcorantes artificiales.
- Agua potable.
- Huevos y productos derivados de los mismos, libre de sabores y olores extraños.
- Frutas y productos derivados de las mismas.
- Otros productos alimenticios, tales como: café, cacao, miel de abejas, jengibre, almendras, nueces, licores.
- Aditivos alimentarios.

3.7 COMPONENTES DE LOS HELADOS Y SU IMPORTANCIA. ⁽¹²⁾

Las materias primas utilizadas en la fabricación de helados imparten en ellos características especiales, por esa razón son de mucha importancia en el proceso de producción de los helados, ya que a cada material le corresponde una función determinada.

- Leche y productos lácteos.

La leche y los productos lácteos constituyen un grupo principal entre los componentes de los helados. La grasa de la leche es el más importante vehículo de aroma de los helados mantecados, por lo que influyen decisivamente en el sabor, asimismo participa en la constitución de la textura y

en el helado batido forma un entramado estabilizador, facilitando el batido con el aire, da mayor viscosidad a la mezcla, una consistencia más suave y cremosa y la resistencia a la fusión es superior.

La **crema** tiene tradicional importancia en la elaboración del helado mantecado, pero conserva su interés en pastelería, mayormente para productos con altas especificaciones de calidad.

La **leche magra**, sobre todo en forma concentrada, es la materia prima más importante para aportar extracto seco lácteo desengrasado a los helados. En la Industria se emplea preferentemente leche magra concentrada, con una tasa de extracto seco del 25-30%. Reducida a polvo, constituye un artículo valioso carente de cualquier efecto de sabor.

La **mantequilla** es una importante fuente de grasa láctea para helados. Tiene la ventaja de tener un precio relativamente atractivo, además que aguanta muy bien el almacenamiento, depositándose sometida a congelación profunda. Sólo sirve la mantequilla de sabor impecable; los defectos de aroma son muy perceptibles sensorialmente en el producto terminado.

- **Azúcares y productos azucarados.**

Las materias primas descritas en este grupo se cuentan entre los componentes principales de los helados. Determinan el sabor “dulce”, influyen en el punto de congelación y por consiguiente en el comportamiento de los helados en lo que respecta a la fusión; de acuerdo a su clase ejercen su influencia sobre la consistencia y el batido.

La **sacarosa** es el componente más importante en la fabricación de helados. En la industria generalmente se utiliza el azúcar blanco como artículo ensacado. La sacarosa está contenida en aditivos encargados de prestar sabor a los helados, en el glaseado, con grasa de cacao, chocolate y granulados de azúcar.

Esta materia prima se utiliza en El Salvador, sin embargo en otros países suelen utilizarse también las siguientes: miel, jarabe de glucosa, d-dextrosa (glucosa azúcar de uva), azúcares-alcohol (sorbitol).

- **Frutas y derivados.**

Las frutas y sus productos prestan a los helados aroma y color; por añadidura, los ácidos de estos artículos desarrollan acción refrescante. Por lo tanto sirven mejor las frutas de aroma intenso, claramente perceptible inclusive a bajas temperaturas.

La fruta “clásica” de los helados es la **fresa**; como materia prima se pueden utilizar fresas objeto de congelación profunda, pues solo se dispone de ellas durante una época determinada del año.

Los **pistachos** proporcionan helados de un intenso color verde. Se fragmentan en pedazos o se reducen a pasta ofreciendo al consumidor un marcado sabor a almendras.

De las **frutas tropicales** se utilizan en particular los cítricos como la naranja, el limón, piña, mango en las llamadas nieves (helados de agua).

- **Otros aditivos sápidos:**

Pueden distinguirse entre estos aditivos al cacao en polvo contenido en el helado de chocolate, pasta de revestimiento de los helados mantecados, laminillas de grasa de glaseados, mermeladas y jaleas y otros conocidos en la actualidad como “topping”.

Cabe también mencionar el alcohol y bebidas alcohólicas que dan un sabor y olor peculiar al helado, pero pueden influir grandemente en el punto de congelación, desnaturalización de proteínas, desestabilización de la emulsión, capacidad de batido y textura como es el caso del etanol que sólo puede estar contenido en pequeñas cantidades en helado mantecado. Para conseguir eficazmente un determinado sabor se recomienda las bebidas intensamente aromatizadas, como el ron, Grand marnier o Contreau.

- **Grasas y proteínas vegetales.**

Son óptimas las grasas con punto de fusión comprendido entre 28 y 35°C. Se utilizan grasa de coco, de palma y mezclas de grasa de coco y cacahuete. Las proteínas vegetales se han utilizado a nivel experimental, una de ellas es la proteína de soya, cuyo sabor es ligeramente amargo y herbáceo.

- **Agua y aire.**

El helado debe su naturaleza al agua congelada. Por ello, ésta es el componente más peculiar. El agua es responsable del carácter refrescante del producto, es el medio disolvente de los ingredientes hidrosolubles (azúcares, proteínas, sales, ácidos, sustancias aromáticas) y determinan la consistencia del helado de acuerdo con cuál sea la porción congelada.

El agua se encuentra en el helado repartida en forma de cristales que además contiene agua líquida. El número y las dimensiones de los cristales de hielo determinan esencialmente la consistencia del helado.

El helado adquiere la consistencia cremosa-pastosa gracias al aire que contiene batido en su masa. El aire incrementa la viscosidad de la muestra. En la fusión y congelación de los helados demora la transmisión del calor. El aumento de volumen del helado debido a la inclusión del aire en el mismo mediante batido,

referido al volumen de la mezcla que ha de constituir el helado, recibe el nombre de crecida.

La subida óptima de un producto depende de la composición de la mezcla principalmente de la tasa de grasa, así como de la clase y cantidad de estabilizador y emulsionante utilizados.

Es factor limitante una adecuada estabilidad del producto durante el almacenamiento. En ese tiempo el helado no puede retraerse (encogerse). El aire debe estar finamente distribuido de manera que las burbujas no pueden advertirse a simple vista. Por ello, su diámetro debe ser inferior a 200 μm . Para el batido se utiliza aire ambiental filtrado o bien aire filtrado a presión. Hay patentes basadas en utilizar nitrógeno por dióxido de carbono en lugar de aire, pero hasta el presente no han alcanzado importancia práctica estos gases.

- **Emulsionantes y estabilizadores.**

Los emulsionantes son compuestos químicos con una parte de su molécula hidrófoba y otra hidrófila, que son capaces de repartirse en la superficie de la separación de dos fases y disminuyen la tensión superficial. En la mezcla destinada a la fabricación del helado forman los emulsionantes un complejo con la grasa y la proteína, estabilizando así la emulsión. Al enfriar y batir el helado en el congelador, se desestabiliza una parte de la grasa emulsionada y los glóbulos grasos se aglomeran para formar racimos. Este proceso resulta controlado por la clase y cantidad de emulsionante. Los emulsionantes influyen de esta manera sobre el entramado graso constituido y como consecuencia de ello, sobre la consistencia del helado. Como resultado de disminuir la tensión superficial, el aire puede distribuirse uniformemente en el helado, con lo que el batido se ve favorecido.

Tienen importancia práctica para los helados los mono- y diglicéridos de ácidos grasos comestibles y los polisorbatos, siendo los más utilizados para los helados los primeros. Se admiten también para helados los mono- y diglicéridos de ácidos comestibles con ácido cítrico, que mejoran la capacidad de batido de la mezcla para helados.

Se prefieren los ésteres de los ácidos grasos con sacarosa para mejorar el batido de los sorbetes, pero pueden conferir a los helados de frutas un desagradable regusto amargo. A escala internacional además de los monoglicéridos corresponde importancia a los polisorbatos, que son emulsionantes de aceite en agua, desestabilizan la grasa en el congelador en la fabricación del helado más intensamente que los monoglicéridos y el producto adquiere consistencia más cremosa. Los estabilizadores se utilizan con el mismo fin que los aglutinantes, espesantes e hidrocoloides, que son compuestos macromoleculares que se inhiben intensamente en agua y forman soluciones coloidales. Con la excepción de la gelatina y el caseinato sódico, se trata de polisacáridos de origen vegetal. Los estabilizadores aumentan la viscosidad de la mezcla del helado, de esta manera se retrasa la separación de la emulsión en una fase rica en grasa y otra parte pobre en ésta y favorecen así la estabilidad de la emulsión. Demoran el crecimiento de los cristales de hielo y lactosa, mejorando con ello la estabilidad de los helados en el almacenado. En agua forman espuma con aire, acentúa con ello la capacidad de batido de la mezcla y rebajan la tendencia a la fusión del helado, algunos estabilizadores dependen de su acción del pH, otros reaccionan con la proteína.

- **Sustancias colorantes, aromatizantes y acidificantes.**

En primer lugar deben mencionarse algunos alimentos coloreados con los que se tiñen los helados y materias primas de éstos: β - caroteno, para los tonos color amarillo y naranja.

Los aromatizantes naturales más importantes para helados son los aceites etéreos de los frutos cítricos. Para reforzar el aroma de los helados de fruta se utilizan esencias naturales de frambuesa, cereza, manzana o avellana. El costoso extracto de vainilla suele sustituirse por vainillina o esencias artificiales de vainilla. La vainilla es el más importante aromatizante idéntico a lo natural para las variedades de helados portadoras de leche.

3.8 PROCESO GENERAL DE FABRICACIÓN DE HELADOS. ⁽⁷⁾

La elaboración artesanal e industrial de los diversos tipos de helados incluye las siguientes etapas:

- Recepción y almacenamiento de los ingredientes y aditivos que componen los helados.
- Mezcla de los ingredientes, acompañados de homogenización, pasterización y maduración de dicha mezcla.
- Batido con aire y congelación (mantecación).
- Envasado de los helados en tarrinas, conos, paquetes familiares, polos, etc.
- Endurecimiento de los helados y conservación por frío.

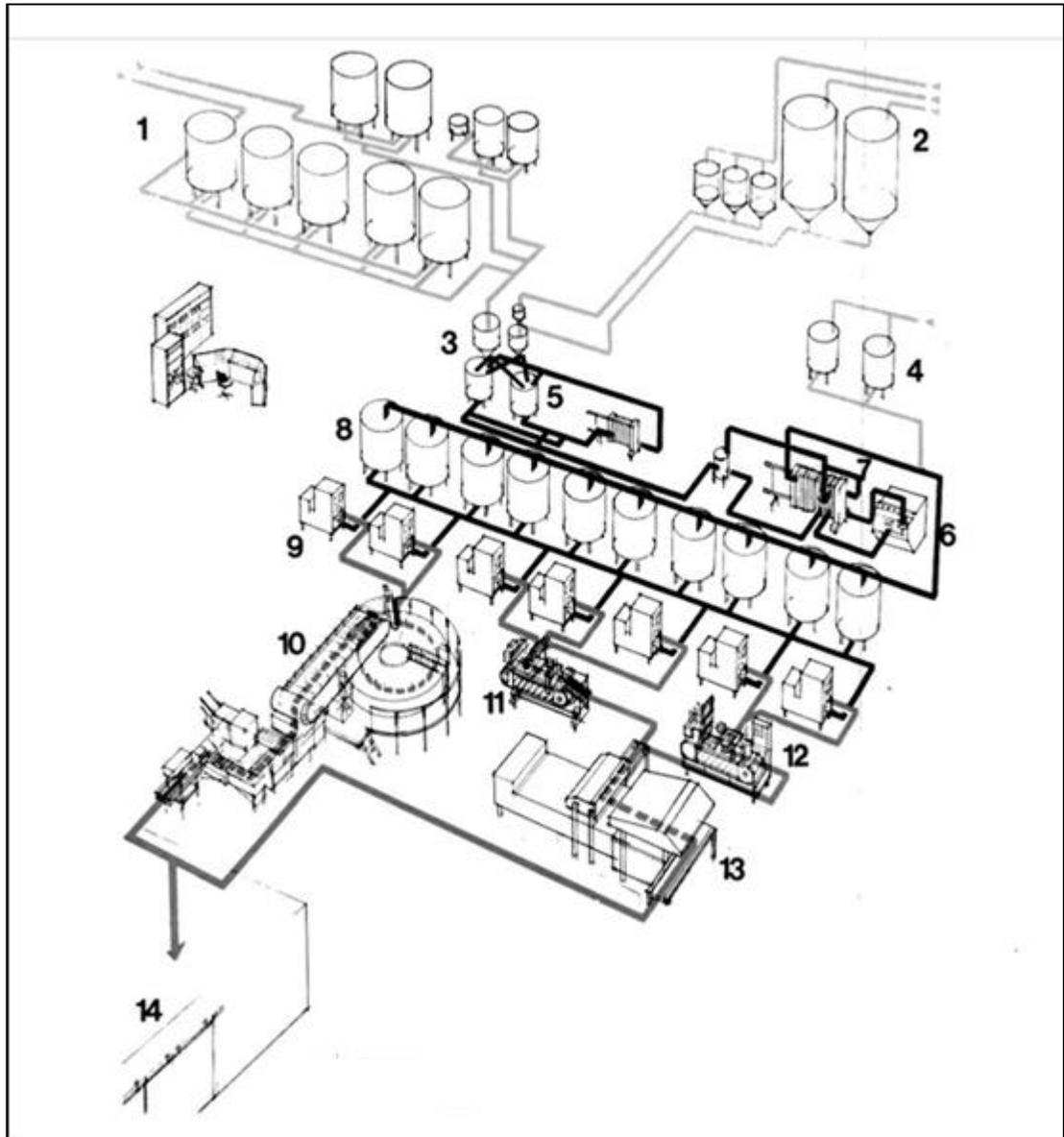
Proceso Industrial de elaboración de helados. (7)

Figura N° 1: Instalación completa de planta de producción industrial de helados. (7)

La instalación que aparece en la figura N^o. 1 de tipo industrial presenta diversas características:

- La dosificación, pesaje, pasteurización, homogeneización, congelación, etc., son operaciones que se realizan de forma continua.
- Es posible proceder a la limpieza química de muchos de sus elementos (depósitos, pasteurizador, homogeneizador, tuberías, etc.) sin necesidad de desmontarlos, haciendo pasar en continuo las correspondientes soluciones de limpieza.
- Puede ser automatizada para su funcionamiento con muy pocos empleados y sin errores de manejo.

Existen otras muchas variantes posibles a la instalación del tipo industrial propuesta, dependiendo de la producción deseada diaria, tipos de helados a fabricar, etc.

1. Depósitos de almacenamiento de los ingredientes líquidos (leche, zumos, grasas y otros). Los depósitos deben ser fabricados en acero inoxidable e ir provistos en los casos que sean necesarios, de camisa para su calentamiento o enfriamiento.
2. Silos de almacenamiento para los ingredientes sólidos (leche en polvo, suero en polvo, huevo en polvo, y otros).
3. Pesado de los ingredientes.
4. Depósitos de almacenamiento de aromas. Se tienen en depósitos de acero inoxidable para su edición a la mezcla una vez pasteurizada ésta.
5. Depósitos de acero inoxidable para la mezcla de los ingredientes líquidos y sólidos ya pesados.

6. Homogenización de la mezcla en una aparato de alta presión.
7. Pasterizador de placas con varias secciones, con placas de acero inoxidable.
8. Depósitos de acero inoxidable para almacenamiento y maduración de la mezcla.
9. Mantecadores continuos de la mezcla madurada.
10. Línea para la producción de polos.
11. Línea para la producción de envases familiares y helados a granel.
12. Línea para la producción de helados envasados en conos, barquillos y tarrinas.
13. Tunel de endurecimiento de los helados ya envasados procedentes de las líneas 11 y 12.
14. Almacenamiento frigorífico.

3.9 MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS. ⁽¹⁸⁾

Según la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como “El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas”.

Desde el punto de vista sanitario, los alimentos pueden ser vehículos de infecciones (ingestión de microorganismos patógenos) o de intoxicaciones (ingestión de toxinas producidas por microorganismos) graves. En este sentido

se han desarrollado las técnicas de control microbiológico de alimentos. Muchas de las causas de la contaminación del alimento se debe a medidas higiénicas inadecuadas en la producción, preparación y conservación; lo que facilita la presencia y el desarrollo de microorganismos que producto de su actividad y haciendo uso de las sustancias nutritivas presentes en éste, lo transforman volviéndolo inaceptable para la salud humana.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), representan uno de los principales problemas que originan alteraciones en la salud de los consumidores, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. El helado elaborado con leche es considerado uno de los derivados lácteos de mayor consumo, por ser proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales, pero, al mismo tiempo, puede actuar como vehículo de microorganismos, incluyendo agentes patógenos, cuando se expone a condiciones higiénicas inadecuadas tanto la materia prima como durante su elaboración.

En los helados los riesgos de contaminación microbiológica siempre están presentes, por depender esta de la carga microbiana de los ingredientes y de las condiciones operativas en las diferentes fases de su elaboración. A pesar de que los microorganismos no son capaces de crecer en el helado que es almacenado en adecuadas condiciones de congelación, pueden sobrevivir durante mucho tiempo en el producto. Los riesgos microbiológicos aumentan considerablemente en los helados, si se toma en cuenta que en nuestro medio muchas personas, sin tener los mínimos conocimientos de higiene y manipulación de alimentos, se aventura a realizar esta actividad, como una manera de percibir ingresos para el sostén de la familia.

Según investigadores, con pocas excepciones, la mayoría de los brotes por helados han ocurrido con aquellos preparados en el hogar. La ausencia de control higiénico en la materia prima y en cada una de las fases de elaboración, puede conducir a contaminantes microbianos elevados y a potenciales problemas de salud pública.

La cumbre Mundial sobre Alimentación sostiene que existe Seguridad Alimentaria cuando “todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico, a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades nutricionales y sus preferencias alimentarias, a fin de llevar una vida activa y sana”. Así nace el Codex Alimentarius, en 1962 cuando la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), reconocieron la necesidad de normas internacionales que sirvieran de orientación a la industria alimentaria, en expansión en todo el mundo y protegieran la Salud de los Consumidores, adoptando estándares para la producción y comercio de alimentos, a escala mundial, regional, nacional y local, con la finalidad de protegerlos de los alimentos nocivos y de prácticas fraudulentas, reconociendo que un alimento no es nutritivo, si no es inocuo.

La contaminación de los alimentos consiste en la presencia de sustancias de origen biológico o químico y riesgoso o toxico para la salud del consumidor:

La contaminación biológica alimentaria. Es el fenómeno que se presenta por la invasión de microorganismos patógenos (patos= enfermedad; geno= que da origen) durante la elaboración, la manipulación, el transporte y la distribución al público de los alimentos, u originada por el mismo consumidor. Las principales causas son las siguientes:

- **Portadores de enfermedades** que manipulan alimentos y los contaminan. Los casos más comunes son los enfermos de Tuberculosis (TBC), de cólera, de tifoidea, y de enfermedades gastrointestinales, entre otros.
- **La contaminación de alimentos durante la manipulación, transporte y distribución al público** por falta de las previsiones sanitarias requeridas. La manipulación de alimentos se realice en lugares sucios (suelo, polvo, etc.); el contacto de los mismos con los animales, el transporte en formas no higiénicas (sin refrigeración, sin cobertura, etc.); y el deterioro por almacenamiento prolongado sin las medidas necesarias (refrigeración).

La contaminación química alimentaria. Se debe a la presencia de elementos o sustancias químicas provenientes de desechos de actividades humanas, de la adición deliberada de sustancias a los alimentos, sustancias tóxicas de origen natural, que convierten a un alimento en peligroso para la salud. Este tipo de contaminación puede ser causada por:

- **La presencia de metales pesados**, por lo general tóxicos, en bajas concentraciones. Los principales son plomo, arsénico, mercurio, cadmio, cobalto, estaño, manganeso.
- **Pesticidas** (plaguicidas, biocidas, agrotóxicos), que son diversas sustancias químicas usadas para el control de plagas (ratas, insectos, hongos, etc.) como carbamatos, insecticidas organoclorados, insecticidas organofosforados, fungicidas.

Aditivos: para preservar y colorear los alimentos hoy usados intensamente en la industria de alimentos.

Sustancias tóxicas naturales como micotoxinas, biotoxinas y alérgenos.

De acuerdo con la OMS, la contaminación cruzada es “Contaminación de una materia prima, producto intermedio o producto terminado con otra materia prima, producto intermedio o producto terminado con otra materia prima o producto durante la producción”.

La contaminación cruzada es una indicación segura de malas prácticas, lo que demuestra que hay un control insuficiente sobre:

- Diseño de las instalaciones físicas y los sistemas de calidad.
- Sistemas de manejo de aire y de extracción de polvos.
- Operación y mantenimiento de los sistemas de manejo de aire y de extracción de polvos.
- Procedimientos para la limpieza de los equipos y para la restricción de los movimientos de personal.
- Procedimientos para la limpieza de las instalaciones físicas.

La contaminación puede ser traída por los operarios (objetos que caen hacia el producto, partículas de piel, caspa, fibras de los uniformes).

El sistema de evaluación por análisis de los peligros en puntos críticos de control responde a una metodología sistemática de identificación, evaluación y control de peligro y enfoca de manera racional el control de los peligros microbiológicos de los alimentos. Al centrar la atención en los factores que afectan directamente a la inocuidad microbiológica de un alimento, suprime el despilfarro de recursos en consideraciones extrañas, garantizando al mismo tiempo el logro y el mantenimiento de los niveles deseados de inocuidad y calidad.

Se entiende por peligro, la contaminación inaceptable, la proliferación o la supervivencia en los alimentos de microorganismos que puedan afectar la inocuidad de los alimentos o deteriorarlos y/o la producción o persistencia inaceptable en los alimentos de ciertos productos del metabolismo microbiano tales como toxinas y enzimas. ⁽¹⁵⁾

3.10 MICROBIOLOGIA DE LOS HELADOS: ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS ⁽²⁰⁾

Las enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos se originan de diversas maneras, según el microorganismo patógeno del cual se trate:

- **Infeción:** El alimento actúa de vehículo para introducir al microorganismo dentro del cuerpo humano. Una vez allí, los gérmenes comienzan a multiplicarse. El organismo humano, entonces, responde ante la presencia del germen o ante los metabolitos que se produce. La dosis mínima de microorganismos necesarios para provocar dicha infección es muy baja.
- **Intoxicación:** los gérmenes patógenos se multiplican en el alimento y en él forman toxinas. Las toxinas son sustancias nocivas que provocan daños aun en pequeñas concentraciones. La enfermedad se produce cuando se consume el alimento sin necesidad de la multiplicación de microorganismos dentro del hombre. ⁽¹⁰⁾

La organización mundial de la salud (OMS, 1991) considera a la diarrea por intoxicación de origen alimentario como la enfermedad más común y más ampliamente diseminada en poblaciones humanas en el mundo; para 1999 se estimaron 1.500 millones de casos al año y 3 millones de muertes de niños. La causa principal de los casos de enfermedad relacionada con el consumo de helados contaminados con microorganismos o sus toxinas son: principalmente *Salmonella*, causante de infecciones; *Staphylococcus aureus*, formadores de

toxinas y esporádicamente *Shigellas* y cepas enteropatógenas de *Escherichia coli*.

Cuando se aplican criterios microbiológicos para garantizar la seguridad de los alimentos, el objetivo es reducir o eliminar un potencial de riesgo de toxiinfección alimentaria. Cada grupo de alimento debe ser testado cuidadosamente por medio de un análisis de riesgo para determinar los peligros potenciales y su efecto sobre los consumidores.

Cuando un alimento se ve implicado repetidas veces en brotes de toxiinfecciones alimentarias, la aplicación de criterios microbiológicos debe ser muy útil. Al desarrollar procedimientos seguros y eficaces de pasteurización establecer criterios microbiológicos sobre el producto. ⁽¹³⁾

Las técnicas de fabricación industrial de los helados han ido perfeccionándose en los últimos años. La maquinaria disponible facilita la producción industrial y doméstica, al tiempo que han mejorado sustancialmente las normas de higiene, a fin de proteger la salud de los consumidores y evitar alteraciones no deseadas.

Los riesgos propios de la fabricación de helados están relacionados con los diversos ingredientes utilizados en su elaboración. Estas materias primas, principalmente aquellas ricas en proteínas, como los huevos y leche, ofrecen a los microorganismos, en especial a la mayoría de bacterias patógenas, la oportunidad para que se multipliquen rápidamente.

Los riesgos higiénicos a lo largo del proceso de elaboración del helado pueden clasificarse en primarios y secundarios. Los primeros están relacionados con la carga microbiana aportada por las materias primas. Los segundos, son aquellos originados por las condiciones operativas en los diversos estadios de su elaboración.

Además de lo anterior es necesario tener en cuenta que un medio ambiente descuidado también puede influir negativamente sobre la calidad higiénica de los helados. Los microorganismos se encuentran en el aire y en el suelo en grandes cantidades, mientras que en el agua fresca y la marina se encuentran en menor proporción.

En el proceso de elaboración de los helados, a medida que la temperatura desciende en el proceso de congelación, la actividad microbiana disminuye. La formación de cristales de hielo de agua pura provoca una disminución del agua disponible. Además de la disminución de la actividad microbiana también se produce la muerte de una parte de los microorganismos (a una mayor velocidad de congelación menores son los daños en las bacterias, a una congelación lenta mayores son los daños en las bacterias).

En los helados, los coloides, sales de la leche (principalmente fosfatos), lactosa y caseína, protegen a los microorganismos de los daños de la congelación. Debe tenerse en cuenta que las toxinas microbianas y su toxicidad no se ven alteradas por la congelación, al igual que las esporas bacterianas. Luego del almacenamiento prolongado a temperaturas bajas (menores a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) se encuentran que sobrevive un porcentaje considerable de microorganismos, inclusive los patógenos.

La causa principal de los casos de enfermedad relacionada con el consumo de helados contaminados con microorganismos o sus toxinas son principalmente *Salmonella*, con distintas variantes responsables de infecciones; *Staphylococcus aureus*, formadoras de toxinas, y de forma esporádica *Shigella* y cepas enteropatógenas de *Escherichia coli*. Datos recientes de las autoridades sanitarias de Estados Unidos informan, asimismo, de la retirada del mercado de casi 1.000 litros de helado de chocolate por contener una elevada contaminación de *Listeria monocytogenes*.

Las bacterias antes mencionadas son las causantes de graves enfermedades entre la población, en el caso de la *Salmonella spp* esta puede llegar a ocasionar Salmonelosis la cual puede llevar al paciente a estado de gravedad. La *Escherichia coli* puede llegar a ocasionar severas afecciones en el aparato gastrointestinal. El *Staphylococcus aureus* puede ocasionar severas intoxicaciones por la liberación de toxinas por mal almacenamiento de los alimentos. Por todas estas enfermedades que pueden desencadenar a la muerte se hace necesario el análisis adecuado de los helados fabricados industrialmente debido a que muchas de las personas por el hecho de ser elaborados industrialmente ponen su plena confianza en este tipo de alimento no les ocasionara ningún tipo de enfermedad o algún daño.

Pese a que la tecnología permite detectar con relativa facilidad los microorganismos citados, es importante destacar que los alimentos contaminados por gérmenes patógenos no suelen presentar manifestaciones perceptibles, por lo que resulta necesario realizar los controles correspondientes a fin de asegurar la calidad microbiológica del producto. Cuando la alteración microbiológica es notable, suele manifestarse por su aspecto u olor.

Algunas de las principales fuentes o causas de contaminación microbiana en los helados son las personas vehiculizadoras de gérmenes (enfermas o portadoras), la insuficiente refrigeración, la ausencia o deficiencia de calentamiento de la mezcla, prolongados tiempos de reposo de la mezcla (enfriamiento no inmediato), y las materias primas contaminadas.

Para obtener productos de excelentes condiciones higiénicas deben seguirse una serie de normas de higiene que comprometen a la totalidad de la empresa, desde el establecimiento hasta el personal.

Los restos de helado son un excelente medio para el desarrollo de microorganismos, sobre todo si se dan las condiciones óptimas de temperatura para el desarrollo de los mismos. Por ello es importante evitar, a lo largo del proceso, la acumulación de éstos en las maquinarias e instalaciones, sobre todo en el área de trabajo a mayor temperatura. Para impedir la formación de nidos de gérmenes en los restos de producto acumulados es necesario realizar desinfecciones regulares en las instalaciones que entran en contacto directo con el producto durante su fabricación.

Un problema común de importancia lo constituyen los trapos de limpieza utilizados para limpiar los lugares de trabajo, máquinas o utensilios. Si estos paños no se desinfectan luego de cada utilización, lo único que se logra es distribuir gérmenes uniformemente. En estos paños se han encontrado cerca de 200 millones de microbios por cm^2 . Si los trapos sólo se lavan con agua caliente y se retuercen enérgicamente no se logra una disminución considerable en el número de microorganismos.

Otro punto a considerar es el de las cucharas servidoras de helado. Lo óptimo sería tener una cuchara para cada tipo para evitar mantenerla en agua, puesto que, si esa agua no se renueva continuamente, se pueden alcanzar recuentos de microorganismos del orden de 10^7 por mililitro.

Los niveles de contaminación en la boquilla de máquinas expendedoras merecen, también, una mención especial. En los que se denominan *helados soft*, las máquinas suelen estar en el exterior cuando no en lugares cálidos, sujetas a manipulación por parte de los consumidores quienes pueden tocar la boquilla por donde sale el helado, quedando ésta desprotegida de las bajas temperaturas. Especial atención deben recibir estas máquinas expendedoras ya que el producto permanece en su forma original (liquida) en los depósitos a temperaturas de refrigeración y por tiempos muy variables (en función del consumo). Igualmente debe de observarse una frecuente limpieza y

desinfección de estos equipos, ya que el proceso de obtención de este tipo de helados comporta una importante impregnación del producto con la posible formación de biofilm. En estas boquillas, el número de bacterias pueden superar los 10^6 UFC/gramo, creciendo con especial facilidad enterobacterias, entre ellas *Salmonella*.

3.11 FACTORES MICROBIOLÓGICOS QUE AFECTAN A LA LECHE ⁽²⁴⁾

La leche es un excelente medio de cultivo para numerosos microorganismos por su elevado contenido en agua, su pH casi neutro y su riqueza en alimentos microbianos. Posee una gran cantidad de alimentos energéticos en forma de azúcares (lactosa), grasa y citrato, y compuestos nitrogenados. Los alimentos nitrogenados se hallan en numerosas formas: proteínas, aminoácidos, amoníaco, urea, etc.

Por poseer azúcares fermentables, en condiciones ordinarias lo que más frecuentemente ocurre es una fermentación ácida a cargo de las bacterias; si no existen gérmenes formadores de ácido o si las condiciones son desfavorables para su actividad, pueden sufrir otros tipos de alteración.

Las principales alteraciones son las siguientes:

3.11.1 Agriado o Formación De Ácido: Cuando la leche se agria suele considerarse alterada. La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada de consistencia gelatinosa o más débil, que libera un suero claro. La fermentación ácido láctica tiene lugar en general cuando se abandona la leche cruda durante algún tiempo a temperatura ambiente. Los gérmenes lácticos causantes de esta fermentación pueden ser homofermentativos que producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias, o heterofermentativos, que producen además de ácido láctico, cantidades apreciables de productos volátiles. El agriado de la leche cruda a

temperaturas entre 10 y 37 °C es generalmente causado por el *Streptococcus lactis*, ayudado quizá por *coliformes*, *Micrococos*, *Lactobacilos* y *Enterococos*.⁽²¹⁾

Las bacterias termófilas crecen a temperaturas superiores a éstas, y se destacan: *Bacillus calidolactis*, y *Lactobacillus thermophilus*. A temperaturas próximas a 0 °C, apenas si hay producción de ácido, pero la leche puede sufrir procesos proteolíticos (escisión de las cadenas proteicas).

Los gérmenes lácticos no son los únicos capaces de provocar la fermentación ácida de la leche; pueden producirla muchos otros, especialmente si las condiciones no son favorables a las bacterias ácido lácticas.

Entre los gérmenes capaces de acidificar la leche, fundamentalmente por producir ácido láctico, se encuentran diversas especies de los géneros *Micrococcus*, *Microbacterium* y *Bacillus*, pero en general ordinariamente son incapaces de competir con los gérmenes lácticos. Diversas especies del género *Clostridium* producen ácido butírico en condiciones que impiden o inhiben la formación normal de ácido láctico. La leche, sometida a un tratamiento térmico capaz de destruir todas las formas bacterianas pero no los esporos de *Clostridium*, puede sufrir la fermentación acidobutírica con formación de hidrógeno y dióxido de carbono.

3.11.2 Producción De Gas: La producción de gas por las bacterias va siempre acompañada de la formación de ácido. Las especies formadoras de gases más importantes son las del género *Clostridium*, las *bacterias coliformes*, los *aerobacilos* (especies del género *bacillus* formadoras de gas) que liberan tanto hidrógeno como dióxido de carbono y las *levaduras* y *gérmenes propiónicos* y *lácticos heterofermentativos* que producen sólo dióxido de carbono.

La probabilidad de que se produzca gas o no y el tipo de microorganismos que lo originan depende del tratamiento a que previamente se haya sometido la leche y de la temperatura a la que se mantenga. En la leche cruda, a temperaturas comprendidas entre la de la sangre y la del hielo, los gérmenes productores de gas con más probabilidad de multiplicarse son los *coliformes* porque pueden competir bien con otros formadores de ácido. El agriado de la leche o la crema por las bacterias favorece el subsiguiente desarrollo de las *levaduras* que se multiplican y actúan mejor en un medio ácido.

A la temperatura que se mantienen la leche y la crema en la nevera es difícil que se desarrollen los *Clostridium* y *Bacillus* formadores de gas, que no son capaces de competir ventajosamente con los *acidiformes* a temperaturas elevadas, pero pueden actuar si éstos no existen o si su actividad no es muy grande.

3.11.3 Proteólisis: La hidrólisis de las proteínas lácticas por acción microbiana se acompaña en general de la producción de un sabor amargo producido por algunos polipéptidos.

Las alteraciones producidas por los microorganismos proteolíticos son:

- Proteólisis ácida en la que tienen lugar simultáneamente la proteólisis y la producción de ácido,
- Proteólisis con acidez mínima e incluso con alcalinidad,
- leche “cortada” producida por enzimas bacterianas del tipo de la renina en una etapa inicial de la proteólisis, y
- Proteólisis lenta por endoenzimas liberadas por bacterias después de su autólisis.

La proteólisis ácida puede estar producida por diversas especies del género *Micrococcus*, algunos de los cuales se hallan en la ubre de la vaca.

Uno de los *estreptococos* intestinales, el *S. faecalis* es un organismo ácido láctico muy proteolítico. Como los demás *Enterococos* es termodúrico y capaz por tanto de producir proteólisis en la leche pasteurizada. Los esporos de las cepas proteolíticas de algunas especies de *Bacillus* fermentadores de la lactosa, como el *B. cereus*, sobreviven a la pasteurización, e incluso a tratamientos térmicos más drásticos, produciendo luego proteólisis ácida.

Entre las especies de los géneros *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *serratia* hay gérmenes muy proteolíticos. Obsérvese que estas especies desarrollan a temperaturas bajas por lo que son capaces de producir proteólisis y amargor aún en leche refrigerada.

La proteólisis lenta carece de importancia en la leche en circunstancias normales, pero la posee cuando las bacterias disponen de una cantidad considerable de tiempo.

Los grupos microbianos más importantes en lactología pueden dividirse, desde un punto de vista funcional, en:

- Bacterias lácticas.
- Bacterias esporuladas.
- Bacterias psicocrotrofas, bacterias de origen fecal y microorganismos patógenos.
- Grupo misceláneo.

3.11.4 Bacterias lácticas

La importancia de las bacterias lácticas ha de contemplarse desde dos puntos de vista totalmente opuestos, ya que pueden comportarse como microorganismos alterantes o beneficiosos. La acción negativa se debe a que metabolizan la lactosa, produciendo ácido láctico que al acumularse en la leche la altera. Normalmente la leche cruda es el producto más afectado. En la leche cruda es necesario, pues, detener la multiplicación de las bacterias lácticas, lo que se consigue eficazmente mediante la refrigeración, ya que son bacterias mesófilas o termófilas y dejan de multiplicarse activamente por debajo de los 8-10°C.

Los efectos beneficiosos de las bacterias lácticas radican principalmente en tres acciones:

- Atacan la lactosa produciendo ácido láctico.
- Participan en las degradaciones proteicas que acontecen durante los procesos madurativos.
- Compuestos que dan sabor y olor.

3.11.5 Bacterias esporuladas

Entre la microbiota de la leche pueden existir formas esporuladas, principalmente del género *Bacillus* y *Clostridium*. Las esporas son destruidas sometiendo la leche a un tratamiento térmico superior al 100°C.

En relación con los quesos duros y semiduros, las esporas que adquieren mayor importancia son las de ciertas especies del género *Clostridium*. La pasterización de la leche no destruye las formas esporuladas, por lo que, si

están presentes en ella, van a pasar al queso. En ciertas condiciones pueden germinar y multiplicarse generando gas como uno de los productos de su metabolismo. Este gas produce un hinchamiento que es perjudicial para el queso. Este efecto es particularmente importante en quesos duros y semiduros.

3.11.6 Bacterias psicotróficas

Las bacterias psicotróficas han adquirido una gran importancia. Los actuales métodos de recogida de la leche en las granjas en tanques refrigerantes ($<5^{\circ}\text{C}$), su transporte a las centrales lecheras en cisternas isotermales, y su mantenimiento en las centrales, bajo refrigeración también durante horas, ha hecho posible aumentar la vida útil de la leche cruda en unos días antes del tratamiento térmico. No obstante, la aplicación de frío ha acarreado otros tipos de problemas graves derivados de la oportunidad que se les presenta a las bacterias psicotróficas para multiplicarse, pudiendo alcanzar unos niveles tales que llegan a producir, por ellas mismas y, sobre todo por sus enzimas extracelulares, efectos no deseables.

3.11.7 Bacterias de origen fecal

La presencia de tasas elevadas de bacterias fecales en la leche cruda constituye un índice de obtención y manipulación de la leche en condiciones higiénicas deficientes.

Los efectos que producen son:

- Alteran la leche acidificándola.
- Dan a la leche mal aspecto y sabor.
- La leche se convierte en vehículo de especies patógenas como salmonella.

3.11.8 Riesgos microbiológicos ⁽¹⁹⁾

La leche, por su composición, posee un elevado valor biológico, con una concentración de entorno al 4% de lactosa, hidrato de carbono que puede ser empleado por una gran variedad de microorganismos sacarolíticos, un 3% de proteína fácilmente metabolizable por gérmenes proteolíticos y un 3% de grasa digerible por microorganismos lipolíticos. En consecuencia, podrán crecer en ella una enorme cantidad de microorganismos que podrán ser de riesgo o no dependiendo de su capacidad, no solo para multiplicarse en la leche, como para competir con el resto de los microorganismos presentes.

Hay que resaltar que las vías de contaminación son enormemente variadas pudiendo ser desde el propio animal (piel y materia fecal), hasta los ganaderos, transportistas, materiales y superficies, agua, suelo o aire, entre otras. Además, las oscilaciones de temperatura, con rotura de la cadena del frío, implican unas condiciones ideales para permitir la proliferación de microorganismos. Esto supone que de una contaminación de la leche inicial (en el momento del ordeño) muy baja (incluso estéril en el interior de la ubre) pueden ser detectados niveles de contaminación superiores a 1.000.000 de bacterias por mililitro en menos de 24 horas.

3.12 REGLAMENTO TECNICO CENTROAMERICANO (RTCA) ⁽⁸⁾

Cada país en el mundo se rige bajo normas para el control de la producción de alimentos. En nuestro país, quien establece los parámetros y normas a atacar es el RTCA el cual para nuestra investigación se utilizará el RTCA 67.04.50:08 aprobado el 19 de mayo de 2009 en la ciudad de Nicaragua, el cual lleva como título "Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de Alimentos".

En este reglamento nos muestra el tipo de riesgo que pueden presentar los alimentos para registro y vigilancia sanitaria. Esta se basa en la probabilidad de causar daño a la salud. Por lo tanto se clasifican de la siguiente manera:

- **Alimentos riesgo tipo A:** Comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud.
- **Alimento Riesgo tipo B:** comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una mediana probabilidad de causar daño a la salud.
- **Alimento Riesgo tipo C:** Comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una baja probabilidad de causar daño a la salud.

En dicho reglamento también se encuentran agrupados los tipos de alimentos de acuerdo a su origen y tecnología aplicada en su elaboración, los cuales son agrupados en 17 grupos. En nuestro caso nos interesa los grupos no. 1 los cuales comprenden Leche y productos lácteos en el cual se encuentra el subgrupo de alimento helados a base de leche. De ahí también nos interesa el grupo número 3, Hielos, donde se encuentra clasificado el subgrupo de Helados a base de agua. En base a todo esto, el RTCA nos dice que criterios microbiológicos deben cumplir los helados que analizaremos en nuestra investigación.

:

Tabla N° 2: Criterios microbiológicos para Helados a base de leche. ⁽⁸⁾

1.11 Subgrupo del alimento: Helados a base de leche			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	A	< 3 NMP/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ² UFC/g
<i>Salmonella ssp/25g</i>	10		Ausencia
<i>Listeria monocytogenes /25g</i>	10		Ausencia

Tabla N° 3: Criterios microbiológicos para Helados a base de agua. ⁽⁸⁾

3.2 Subgrupo del alimento: Helados de agua			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	A	< 3 NMP/mL

3.13 Análisis microbiológicos de Helados. ⁽⁵⁾

Debido a que el helado es un producto de gran demanda en su consumo tanto por personas adultas como especialmente por niños, el RTCA exige que a este producto se le hagan pruebas para determinar que esté libre de microorganismos tales como: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus*

aureus y *Listeria monocytogenes* para Helados elaborados a base de leche. Y *Escherichia coli* para helados elaborados a base de agua.

3.13.1 *Escherichia coli*₍₁₁₎.

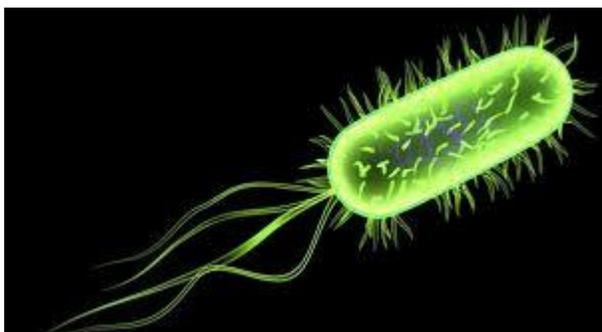


Figura N° 2: *Escherichia coli*.

Son bacilos Gram negativos, son móviles ya que poseen flagelos peritricos, miden 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo, son catalasa positiva y oxidasa negativa, reducen nitratos a nitritos.

Escherichia coli es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Por su especificidad está considerado como un buen índice de contaminación fecal. Tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente.

Se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación. Su escasa resistencia hace que no sea un buen indicador de flora patógena; así, por ejemplo, es mucho menos resistente que la *Salmonella* a las condiciones ambientales y a la acción del frío.

Pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es un germen de forma bacilar, casi siempre móvil, gramnegativo. La mayoría de las bacterias pertenecientes a la especie *E. coli*, forman parte de la microflora normal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, encontrándose, habitualmente, en sus heces. Su detección en los alimentos sirve como índice de contaminación fecal de los mismos.

3.13.2 *Salmonella spp*⁽¹¹⁾.

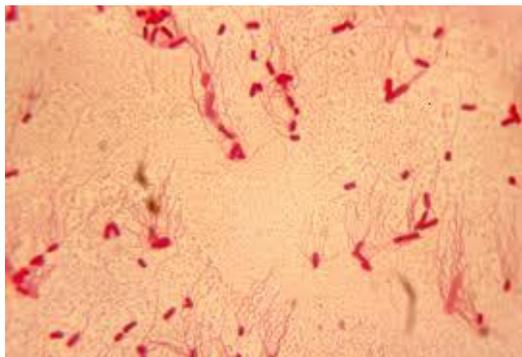


Figura N°3: *Salmonella spp.*

Es un bacilo gran negativo. Existen más de 2000 serotipos. Es la primera causa de diarrea bacteriana febril en el mundo. En nuestro país es la primera causa de toxiinfección alimentaria.

Esta ampliamente distribuida, encontrándose en el tubo digestivo de numerosos animales, incluidos los seres humanos. El estado de portador crónico es infrecuente y cuando se produce, las bacterias se acantonan en la vesícula biliar. El contagio se produce por la ingestión de alimentos contaminados. Los alimentos que se implican con mayor frecuencia son las aves, los huevos y la leche cruda. Suele presentarse en forma de brotes epidémicos en verano,

afectando fundamentalmente a los niños. En adultos se producen con más frecuencia casos asintomáticos.

Producen infección entérica por el mecanismo II. Invaden la mucosa intestinal y penetran hasta la lámina propia donde desencadenan una respuesta inflamatoria de polimorfonucleares. Se necesita la ingestión de un inóculo elevado para que se produzca la infección.

El periodo de incubación es de 8 – 48 horas tras la ingesta del alimento contaminado. El cuadro se caracteriza por fiebre, vómitos, dolor abdominal y diarrea verdosa que a veces puede presentar moco y sangre. Se resuelve en 4 – 5 días pero el enfermo puede seguir excretando *Salmonella spp* durante unos 2 meses. A veces, después de una gastroenteritis por *Salmonella spp*, se produce una diseminación hematógica del microorganismo que cursa con un cuadro febril similar a la fiebre tifoidea. Posteriormente pueden presentarse infecciones localizadas secundarias: abscesos localizados, artritis en pacientes afectados de drepanocitosis, colecistitis, aneurismas micóticos y sepsis en SIDA.

3.13.3 *Staphylococcus aureus*⁽¹¹⁾.

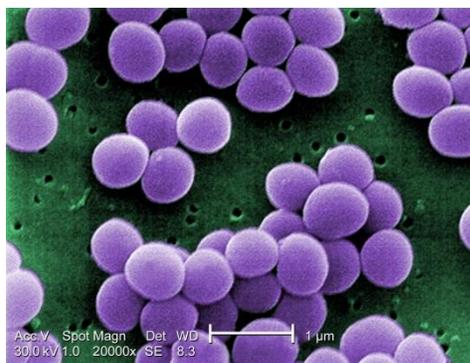


Figura N° 4: *Staphylococcus aureus*.

Son bacterias Coco gram (+) de 0.8 a 1.2 μ m de diámetro, se le encuentra aislado o en parejas, y se divide formando racimos irregulares, de más de un plano. Las colonias tienen un aspecto liso, poco convexo, brillante, butiráceo y con un borde entero, no esporula, ni es móvil, produce catalasa y otras enzimas, algunas relacionadas con la patogenicidad, las cuales tienen utilidad para su identificación o sugieren potencial enterotoxigenico: Lipasa, fibrinolinas, hemolisinas, gelatinasa, coagulasa, fosfatasa, lecitinasa, termonucleasa, leucocidina, colagenasa, estafiloquinasa y hialuronidasa. La síntesis de estas enzimas no es extensiva para todas las cepas de *Staphylococcus aureus*; fermenta con lentitud muchos carbohidratos produciendo ácido láctico pero no gas.

Se aíslan con frecuencia de la piel y algunas mucosas del hombre y animales.

La mucosa nasal es la localidad que más comúnmente lo alberga. Su colonización se inicia tempranamente: 6.6, 50, 62 y 82%. También se alojan en la nasofaringe y con menor frecuencia aunque variable en la faringe: 4-60%.

El *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad para sobrevivir a la desecación le permite contaminar los materiales expuestos al medio ambiente. Los gérmenes contaminan el ambiente, el cual a su vez se convierte en una fuente de contaminación a los alimentos, equipo y otros materiales en los establecimientos que manejan alimentos.

Es una bacteria que produce una toxina que causa vómitos al poco tiempo de ser ingerida.

La infección se produce por la ingestión de alimentos contaminados por una enterotoxina producida por algunas cepas de este microorganismo.

El reservorio es el portador humano. Los alimentos implicados son los derivados lácteos y los artículos de bollería. Que son dejados a temperatura ambiente. La toxina, que es termoresistente, estimula el centro del vómito.

Como la toxina se ingiere preformada, el periodo de incubación es corto (2-8 horas). El cuadro es de inicio agudo con dolor abdominal, diarrea leve y sobre todo vómitos intensos. No suele haber fiebre. Se autolimita en 24 horas.

La profilaxis se basa en:

1. Evitar que los alimentos se contaminen mediante medidas higiénicas.
2. Impedir la producción de la toxina, manteniendo la cadena del frío.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de Estudio.

En el presente trabajo, el tipo de estudio realizado fue: experimental, transversal, y retrospectivo.

4.1.1 Experimental: Con la ayuda de la información bibliográfica encontrada, se llevaron a cabo las actividades necesarias para el análisis de las muestras recolectadas, las cuales se analizaron en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

4.1.2 Transversal: Esta investigación se llevó a cabo en un tiempo determinado para conocer los resultados del análisis de las muestras en el distrito 2 del municipio de San Salvador en el periodo de mayo a julio de 2014.

4.1.3 Retrospectivo: Se revisó la información contenida en trabajos tanto nacionales como internacionales que son similares a la investigación desarrollada. Esto sirvió de base para comprender y realizar la investigación.

4.2 Investigación Bibliográfica

Se llevó a cabo la búsqueda y revisión de información en los siguientes lugares:

- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia “Dr. Benjamín Orozco”.
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Universidad Alberto Masferrer (USAM)
- Universidad Centro Americana José Simeón Cañas (UCA).
- Internet: Se revisaran diferentes sitios Web, que brinden información relacionada al tema de investigación.

4.3 Investigación de Campo:

Se realizó una encuesta para conocer las preferencias de los consumidores de helados dentro de las sucursales de los supermercados muestreados (Ver anexo N° 4). Además se verificó por medio de una lista de chequeo las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de los helados dentro de los supermercados muestreados del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador (Ver anexo N° 5).

Luego de lo anteriormente mencionado, se seleccionaron 24 muestras de helados a base de leche en 2 semanas consecutivas, las cuales son comercializadas en 3 supermercados del distrito dos del municipio de San Salvador (2 de M₁ y 1 de M₂, Ver Tabla N° 10), estas muestras se analizaron microbiológicamente determinando la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y el recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además se analizaron 3 muestras de helados a base de agua de los supermercados M₁ 8 etapa, M₁ Metrosur y M₂ realizando recuento de *Escherichia coli*.

Se realizó el análisis de 3 muestras de helados base de agua debido a que solo había 1 muestra de Helado N₆ (Ver Anexo N° 1) sabor Guayaba por cada sucursal muestreada.

Todos estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), los resultados del análisis se proporcionaron a la Defensoría del Consumidor para que ellos tomen las medidas necesarias (verificación de condiciones higiénicas tanto de fabricantes como de establecimientos distribuidores, etc.).

4.3.1 Universo:

El universo está constituido por todos los helados que se comercializan en los 8 Supermercados que se encuentran en el distrito dos del municipio de San Salvador: M₁ y M₂ (Ver anexo N°1 y 2), tal como se muestra en la Tabla N°4:

Tabla N° 4: Supermercados del distrito 2 de San Salvador

Supermercado	Ubicación
M ₁	Metrocentro 6 etapa. Local Ancla, Remodelación de la 6ta. Metrocentro SS.
	Metrocentro 8 etapa. Avenida Los Andes, Local N. 281, San Salvador.
	Metrosur. Condominio Metrosur #413 planta baja ss.
	Miralvalle Constitución. Bulevar Constitución y condominio Balam Acab.
	Miralvalle Motocross. Blv. Constitución y calle motocross.
	San Luis. Calle San Antonio Abad y Av. Izalco.
M ₂	Ubicada sobre Bulevar de los Héroes.
	Urbanización General Escalón.
Total	8

4.3.2 Muestra

Las muestras de los análisis que se realizaron corresponden a los helados a base de leche y base agua, que se comercializan en los diferentes Supermercados del distrito dos de San Salvador.

En la investigación se empleó el muestreo aleatorio estratificado para la determinación del número de supermercados. De la misma forma se realizó un muestreo aleatorio simple, para seleccionar las sucursales de los supermercados de los cuales se obtuvo las muestras de helado y el número de dichas muestras por cada supermercado. ⁽¹⁴⁾

4.3.2.1 Determinación y selección del número de supermercados.

El muestreo estratificado ⁽¹⁶⁾ se realizó clasificando los 8 supermercados (universo) del distrito dos de San Salvador por sus cadenas comerciales, es decir en los estratos siguientes:

Cuadro N° 1: Número de Supermercados por estrato.

Nº de estrato	Nombre de la cadena comercial	Número de Supermercado
1	M ₁	6
2	M ₂	2
Total		8

Para la selección de los supermercados a muestrear por estrato, se utilizó el muestro aleatorio simple, en donde se eligió al azar en cuáles de ellos se realizó el muestreo.

Fórmula para determinar el tamaño muestral por el método del muestreo estratificado ⁽¹⁶⁾

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

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:

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

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

Lo cual significa que 3 es el tamaño de la muestra tomada.

Nota: Z = 1.96; para un intervalo de confianza de 97.5% se busca en la tabla de distribución normal el valor de 0.9750, 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 fueron muestreados son 3. (Ver Tabla N° 5).

El porcentaje representativo de cada estrato se representa así:

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

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 en M₁ representa un 75% del muestreo.

Tabla N° 5 Porcentaje de cada cadena comercial de supermercados (estratos) del distrito dos de la Zona Metropolitana de San Salvador.

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1	$(6/8) \times 100$	75
2	$(2/8) \times 100$	25
Total		100

La unidad que se muestreó en cada estrato se obtiene de la siguiente formula:

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

Dónde:

ni: Número de supermercados que se muestrearon 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:

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

$$ni = 2$$

Es decir que se muestrearon 2 supermercados de la cadena comercial en M_1

Tabla N° 6. Número de supermercados que se muestrearon por estrato

Estrato	Cálculo	Porcentaje (%)
1	$3 \times (6/8)$	2
2	$3 \times (2/8)$	1
	Total	3

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° 7.Listado de supermercados que se muestrearon.

Número	Cadena comercial	Sucursal
1	M_1	Metrocentro 8ª Etapa
2	M_1	Metrosur
3	M_2	Bulevar de los Héroes

4.3.2.2 Determinación y selección de la variedad de helados muestreados.

En base a la investigación previa en todos los supermercados antes presentados se observó una gran variedad de helados a base leche y solo 1 sabor de helado a de base agua. La variedad de Helados que se encontraron en cada supermercado se detalla a continuación (Ver anexo N°1):

Tabla N°8: Helados que se encuentran a la venta en M₁.

Marca	Nombre	Sabores
N ₁	Helado Cremoso	Helado cremoso sabor a Vainilla con cubierta de chocolate
N ₂	N ₂ STRAWBERRY	Helado cremoso de vainilla con salsa de fresa
N ₁	Helado de grasa vegetal	Vainilla-fresa, Vainilla-chocolate y fresa
N ₂	Helado de leche	Diversidad de Sabor
N ₃	N ₃	Chocolate, Higo, Leche condensada con Higo, Fresa y Napolitano
N ₄	N ₄	Vainilla, ron con pasas, chocolate, chocolate lights, pistacho, frutas y Fantasia
N ₅	Helado Deleite	Crema Irlandesa, ChocoBon, Caramel Fudge
N ₅	Helado Veteado	Vainilla Chocolate Vainilla
N ₅	Sundai	Chocolate, caramelo y melocoton
N ₆	N ₆	Guayaba
N ₇	Helado Cremoso	Vainilla, Chocolate, Fresa y Ron con Pasas

Tabla N°9: Helados que se encuentran a la venta en M₂.

Marca	Nombre	Sabores
N ₅	INLINE	Strawberry, Fresa y Vainilla
N ₆	Helado Premium Plus	Chocolate
N ₆	N ₆	Guayaba
N ₆	Ice Cream Light	Chocolate Light
N ₆	Helado Premiun	Ron con Pasas
N ₃	Helado	Vainilla, Napolitano, Fresa y Chocolate.
N ₄	Helado	Crema con Cholate, Crema con Galleta, Vainilla Light, Fresa
N ₄	Helado	Cocoa Light

Cabe mencionar que los helados que se encuentran a la venta tanto en M_1 como en la M_2 vienen en presentaciones de medio galones, Litros, Medio litro, pintas y vasitos, por lo tanto esto se tomó en cuenta a la hora de realizar los análisis debido al contenido que traen estas presentaciones. Es por ello que solo se seleccionaron las presentaciones Litros, Medio litro, pintas y vasitos para realizar los análisis microbiológicos.

Para conocer la cantidad de muestras de helados que se tomaron en cada supermercado se aplicó la siguiente fórmula ⁽¹⁷⁾.

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

Dónde:

n = Muestra

Z = Intervalo de confianza del 97.5%

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:

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

$n = 4$ Muestras de helados por supermercado.

Por lo tanto tenemos para el estrato 1 (M_1)

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

$n_T = 4 \times 2$

$n_T = 8$ muestras de helados para el estrato 1 (M_1)

Tabla N° 10. Cantidad total de muestras de helados por supermercado

Estrato	Supermercados	Muestras de helados
1	M ₁ Metrocentro 8 ^a Etapa M ₁ Metrosur	4 x 2 = 8
2	M ₂ Los Héroes	4 x 1 = 4
Total		12 muestras

El Análisis microbiológico se realizó de la siguiente manera:

Se seleccionaron 24 muestras de helados a base de leche en 2 semanas consecutivas, las cuales son comercializadas en 3 supermercados del distrito dos del municipio de San Salvador (2 de M₁ y 1 de M₂, Ver Tabla N° 10) estas muestras se analizaron microbiológicamente determinando la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y el recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además se analizaron 3 muestras de helados a base de agua de los supermercados M₁ 8 etapa, M₁ Metrosur y M₂ realizando recuento de *Escherichia coli*.

Se realizó el análisis de 3 muestras de helados base de agua debido a que solo había 1 muestra de Helado N° 6 (Ver Anexo N° 1) sabor Guayaba por cada sucursal que se muestreo.

Todos estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), los resultados del análisis se proporcionaron a la Defensoría del Consumidor para que ellos tomen las medidas necesarias (verificación de condiciones higiénicas tanto de fabricantes como de establecimientos distribuidores, etc.).

También se paso una encuesta para conocer las preferencias de los consumidores de helados dentro de las sucursales de los supermercados muestreados (Ver anexo N° 4). Además se verifico por medio de una lista de

chequeos las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de los helados dentro de los supermercados muestreados del distrito 2 del área metropolitana de San Salvador (Ver anexo N° 5).

4.4 Parte Experimental.

4.4.1 Toma y transporte de la muestra

1. 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 encontró la muestra en el lugar de comercialización; es decir la cámara de refrigeración del supermercado donde se tomó la muestra (Ver ANEXO N° 6)
2. Las muestras fueron recolectadas en los diferentes supermercados, las cuales se trasladaron en su envase original y se transportaron en una hielera con hielo, esto para mantener la temperatura optima de los helados y sus características organolépticas.

4.4.2 *Staphylococcus aureus*⁽¹¹⁾

Procedimiento:

A. Preparación de diluciones.

1. Pesar 25 g de la muestra de helados a analizar en una bolsa para Stomacher.
2. Añadir 225 mL de solución Agua Peptonada Buferada (APB).
3. Homogenizar en Stomacher por 2 minutos a 260 rpm.

Esta es la dilución 10^{-1} .

B. Aislamiento y conteo del número de colonias de *Staphylococcus aureus*.

1. Transferir de la dilución efectuada, 1 mL a 3 placas con medio Baird Parker, distribuyendo el mL de la forma siguiente 0.4 mL, 0.3 mL y 0.3 mL.
2. Con la espátula de Drigalsky, extender el inoculo sobre la superficie del medio.
3. Dejar en reposo 10 minutos para que penetre el inoculo en el agar, en caso de no hacerlo, colocar durante 1 hora las placas; dentro de la incubadora.
4. Luego invertir las placas, e incubar 45 a 48 horas a 35 °C.
5. Transcurrido el tiempo, examinar las placas, observando sus colonias, principalmente, aquellas que tengan 20 a 200 colonias. Las colonias típicas son circulares, lisas, convexas, húmedas, 2 a 3 mm de diámetro grises a negro azabache, con una margen coloreado, rodeado por una zona opaca y frecuentemente con una zona externa clara; las colonias tienen consistencia cremosa a gomosa cuando se toca con la aguja de inoculación.
6. Contar y reportar el dato de las colonias. Si se observan varios tipos de colonias típicas de *S. aureus* sobre las placas seleccionadas, contar el número de colonias de cada tipo y reportar el conteo por separado.

C. Identificación:

Prueba de coagulasa:

1. Tomar con un asa bacteriológica, una colonia típica de cada placa, inocular en tubos por separado de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).
2. Incubar a 35 °C por 18 – 24 horas
3. Inocular 0.5 mL de caldo BHI en un tubo que contenga plasma.
4. Incubar los tubos a 37 °C por 24 horas.

Prueba positiva: Sólo coágulo firme y completo que se mantiene en su lugar cuando el tubo está inclinado o invertido se considera positiva para *S. aureus*.

Prueba de catalasa:

1. Tomar con un asa bacteriológica, una colonia típica de cada placa e inocular en tubos que contengan TSA inclinado, incubar a 35 °C por 24 -48 horas.
2. En un porta objetos hacer una suspensión con una gota de peróxido de hidrógeno al 30% y colonias del TSA.

Prueba positiva: Formación de burbujas.

4.4.3 *Salmonella spp.* ⁽¹¹⁾

A. Preparación de alimentos para el aislamiento de *Salmonella spp.*

1. Pesar 25 g de la unidad a analizar en una bolsa para Stomacher.
2. Añadir 225 mL de Caldo lactosado.

3. Homogenizar en Stomacher por 2 minutos a 260 rpm.
4. Transferir la muestra a un recipiente estéril de boca ancha u otro recipiente apropiado.
5. Incubar 24 ± 2 horas a 35°C .

B. Aislamiento:

1. Transferir 0.1 mL de la mezcla a 10 mL de medio Rappaport-vasiliadis y 1 mL de mezcla a 10 mL de caldo tetrionato.
2. Incubar en medio Rappaport-vasiliadis 24 ± 2 horas a $42 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ (en baño de agua con controlador termostático). Incubar el caldo tetrionato 24 ± 2 horas
3. Mezclar y estriar con asa bacteriológica de 3 mm. (10 mL) de Caldo Tetrionato, en Agar bismuto sulfito (BS), Agar Xilosa Lisina Desoxycolato (XLD) y Agar Entérico de Hektoen (HE)
4. Hacer lo mismo con el medio Rappaport-vasiliadis
5. Incubar las placas por 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$

C. Identificación.

Examinar las placas buscando colonias sospechosas de *Salmonella*

XLD: Colonias rojas con o sin centro negro.

Bismuto Sulfito: Colonias transparentes con halo gris con centro negro y brillo metálico.

Hektoen: Colonias azul verdosas con o sin centro negro.

D. Pruebas Bioquímicas:

1. Tomar con ayuda de una asa bacteriológica las colonias sospechosas características de *Salmonella spp*, a placas de Petri con agar Tripticasa Soya (TSA) e incubarlas por 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.2^\circ\text{C}$.
2. Con las colonias que crezcan en TSA, realizar el siguiente procedimiento:

2.1. Agar TSI

-Con un asa en punta inocular por picadura el agar TSI hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.

- Incubar los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 horas.

- Posteriormente leer los resultados.

Resultados: Rojo en pico de flauta: alcalino; degradación aeróbica de glucosa.
Amarillo en capa profunda: ácido; degradación anaeróbica de la glucosa.

Amarillo en pico: ácido

Amarillo en capa profunda: ácido.

Rojo en pico de flauta: alcalino; sin cambio de color en capa profunda: alcalina.

Producción de H_2S : precipitado negro.

Producción de gases: producción de burbujas, descomposición del medio, ligera muesca del medio sobre el costado del tubo o desplazamiento del medio del fondo, dejando un espacio libre.

2.2. Agar Citrato

-Con un asa en punta inocular por picadura el agar Citrato hasta el fondo del tubo y por estría simple en la superficie.

- Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.

- Leer los resultados.

Un cambio en la coloración del medio que va del verde a azul indica prueba positiva de presencia de *Salmonella spp.*

2.3. Agar Movilidad

- Con un asa en punta inocular por picadura el agar Movilidad hasta el fondo del tubo.

- Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.

- Leer los resultados.

La migración de los microorganismos en la línea de siembra del medio provocando turbidez y formación o no de H₂S indica prueba positiva de presencia de *Salmonella spp.*

2.4. Caldo Indol.

- Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene Caldo Indol y tapar.

- Incubar los tubos a $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 - 48 horas.

- Después de la incubación agregar a los tubos 5 gotas de éter etílico y 5 gotas de reactivo de Erlich

La formación de un anillo violeta en la superficie del medio indica prueba positiva de presencia de *Salmonella spp.*

2.5 Caldo Rojo de Metilo.

Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene Caldo Rojo de Metilo y tapar.

- Incubar los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
- Después de la incubación agregar a los tubos 5 gotas de reactivo Rojo de Metilo (0.1%).

La formación de una coloración roja difusa en el medio indica prueba positiva de presencia de *Salmonella spp.*

2.6 Voges Proskauer.

- Tomar una o dos colonias con asa bacteriológica estéril y formar una suspensión en un tubo con rosca que contiene caldo VogesProskauer y tapar.
- Incubar los tubos a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 horas.
- Después de la incubación agregar a los tubos 1mL de KOH más 1mL de Alfa-naftol (5%).

La formación de una coloración en el medio que va de rosado a rojo indica prueba positiva de presencia de *Salmonella spp.*

4.4.4 *Escherichia coli.* ⁽¹¹⁾

Procedimiento:

A. Preparación de diluciones:

1. Pesar 25 gramos de muestra y transferir a un frasco de dilución conteniendo 225 mL de solución de Agua Peptonada Buferada (pH 7.2), agitar por 5 minutos. (Dilución 10^{-1})
2. Homogenizar en Stomacher por 2 minutos a 260 rpm.

Esta es la dilución 10^{-1} .

3. Pipetear 10 mL de la dilución anterior y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de Solución Agua Peptonada Buferada (APB); agitar (Dilución 10^{-2}).
4. Pipetear 10 mL de la dilución anterior y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de Solución Agua Peptonada Buferada (APB); agitar (Dilución 10^{-3}).

B. Determinación y cuantificación de colonias de *E. coli* por método de tubos múltiples.

1. Pipetear 1 mL de la dilución 10^{-1} e inocular en una serie de 3 tubos de Caldo LMX, previamente rotulados.
2. Pipetear 1 mL de la dilución 10^{-2} e inocular en una serie de 3 tubos de Caldo LMX, previamente rotulados.
3. Pipetear 1 mL de la dilución 10^{-3} e inocular en una serie de 3 tubos de Caldo LMX, previamente rotulados.
4. Incubar los tubos por 2 a 48 horas a 35 °C. Los tubos positivos (viraje de color), se pasan a Caldo EC mediante asa estéril
5. Incubar a 44.5 °C por 24 – 48 horas
6. Tomar una asada y estriar sobre medio EMB.
7. Incubar a 37 °C por 24 horas y observar la placa.

C. Interpretación:

Observar los tubos con Caldo LMX con luz UV, la presencia de fluorescencia es prueba positiva para *Escherichia coli*, y al añadir Indol la coloración roja es prueba positiva. Además se verifico por medio de tablas el NMP (número más probable)(Ver ANEXO N° 21).

Inocular en el medio EMB, si hay presencia de colonias verdes con brillo metálico en la superficie, la prueba es positiva para *Escherichia coli*.

Nota: Todas las determinaciones se hicieron por duplicado y se llevó una placa control de cada medio que se utilizó.

D. Prueba para coliformes fecales.

De los tubos de caldo LMX que den positivo para coliformes totales y presentaron fluorescencia, se procede de la siguiente manera:

- Tomar una asada y sembrar en tubos con caldo EC que contienen campana de Durham en su interior.
- Se rotulan los tubos y se incuban a 44.5 °C en baño maría por 24 a 48 horas. La presencia de turbidez y gas dentro de la campana de Durham indica prueba positiva para coliformes fecales.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Se presentan los resultados obtenidos de la encuesta realizada para conocer las preferencias de los consumidores de helados en los supermercados donde se realizó el muestreo, luego los resultados de la lista de chequeos en la cual se verificaron las condiciones higiénicas en los supermercados en que se comercializan los helados y por último se presentan los resultados de los análisis microbiológicos obtenidos de las muestras de helados a base de leche y helados a base de agua.

A continuación se presentan los resultados de la encuesta (Anexo N°4) realizada a 16 personas para determinar las preferencias del consumidor de helados en las 3 sucursales de Supermercados del distrito 2 de San Salvador muestreados:

Cuadro N° 2: Resultados de las preferencias del consumidor de helados.

Preguntas	Respuestas
Que prefiere más Helados a base de leche o Helados a base de agua	68.75 % Base de leche, 12.50% Base de agua y 18.75% La dos opciones.
¿Cuál es la marca de helados que más prefiere?	43.75% Sarita, 25.00% POPS, 12.5% Dos Pinos, 12.5% La Nevería y 6.25% Marco Polo.
¿Cuál es su sabor de helados favoritos?	25.00% Chocolate, 25.00% Vainilla, 12.50% Ron con Pasas, 12.50% Fresa, 12.50% Vainilla con chocolate, 6.25% Caramelo y 6.25% Galleta.
¿Cuál es la presentación que usted adquiere en supermercados: Galones, medios galones, pintas o vasitos?	37.50% Vasito, 31.25%Galones, 25.00% Medios galones y 6.25% Litro.

Discusión de resultados a preguntas de lista de preferencias de los consumidores de helados.

Pregunta N°1 ¿Qué prefiere más, helados a base de leche o helados a base de agua?

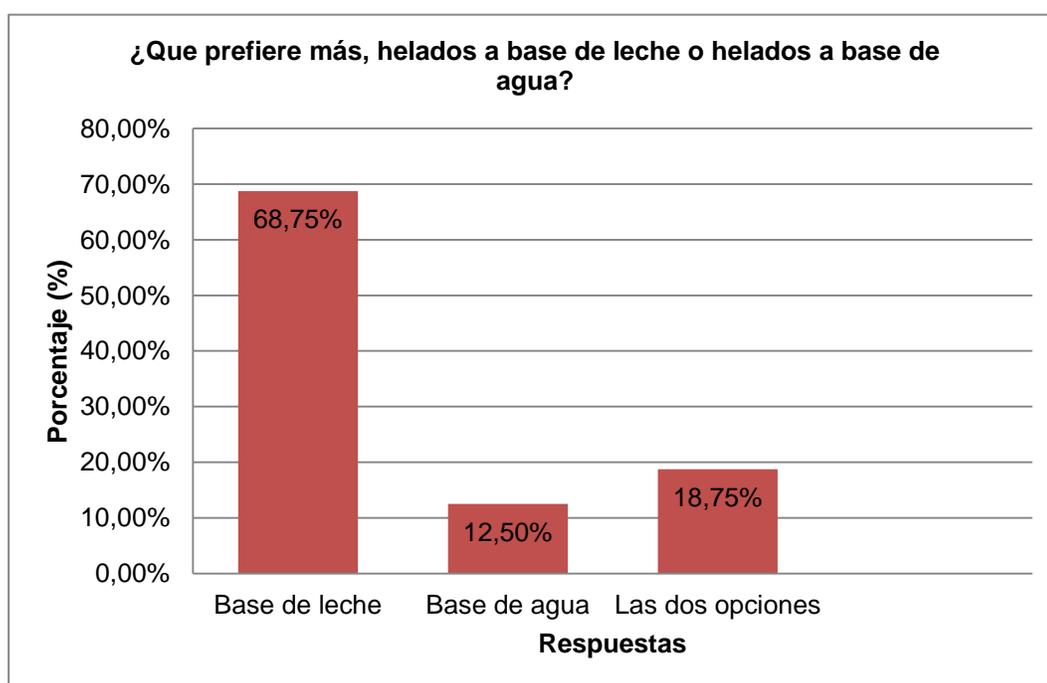


Figura N° 5 Gráfico de resultados de la preferencia de helados a base de leche, base de agua de los consumidores en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

En la figura N° 5 se evidencia que los helados más preferidos por las personas encuestadas con un 68.75% son los helados a base de leche, mientras que los helados a base de agua presentan menor porcentaje de preferencia con un 12.50%.

Pregunta N°2 ¿Cuál es la marca de helados que más prefiere?

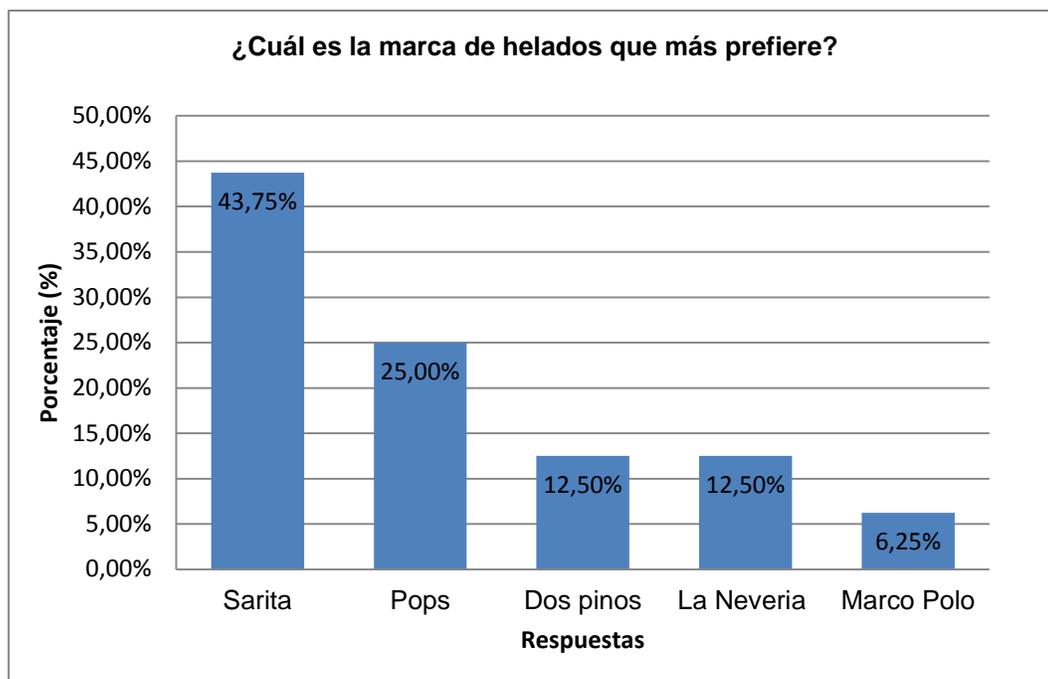


Figura N°6 Gráfico de resultados de la marca de helados de mayor preferencia por los consumidores de helados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

En la figura N° 6 se puede observar que la marca de helados más preferidas por los consumidores de helados dentro de los supermercados es Sarita con un 43.75%, seguido de Pops con un 25.0%, Dos pinos 12.50%, La Neveria con un 12.50% y como la de menor preferencia fue Marco Polo con un 6.25%.

Pregunta N°3 ¿Cuál es su sabor de helados favorito?

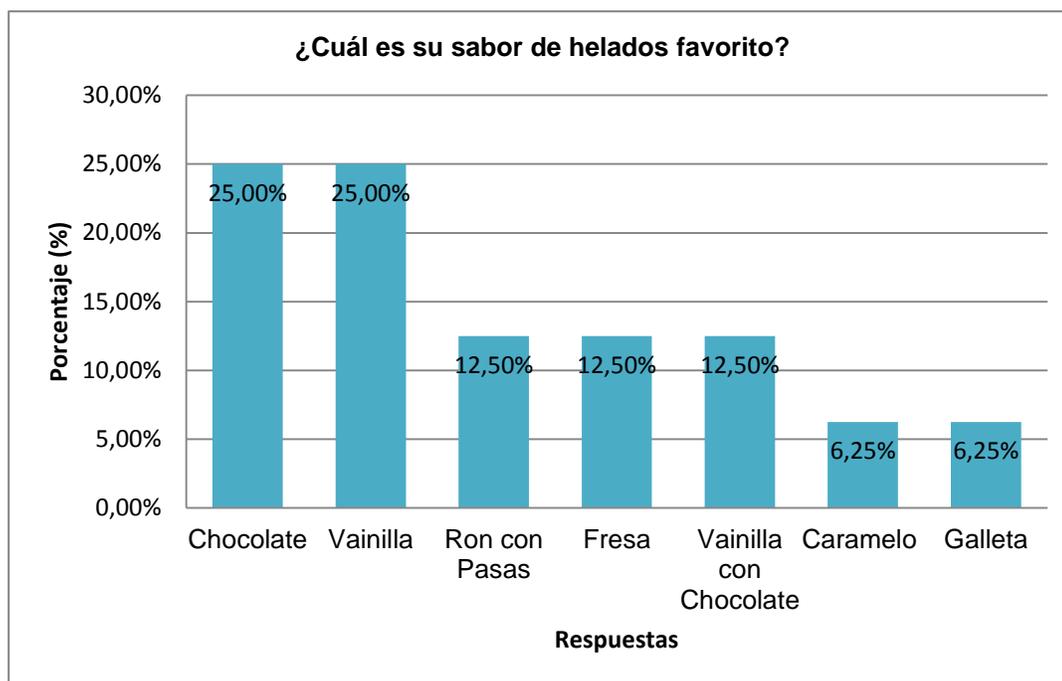


Figura N°7 Gráfico de resultados del sabor de helados favoritos por los consumidores de helados en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

En la figura N° 7 se puede observar que hay dos sabores de mayor preferencia por los consumidores de helados, Chocolate y Vainilla con un 25% cada uno, seguido de los sabores de Ron con Pasas, Fresa y Vainilla con chocolate con un 12.50% respectivamente. Los sabores Caramelo y Galleta son los de menor preferencia con un 6.25% cada uno.

Pregunta N°4 ¿Cuál es la presentación que usted adquiere en supermercados: Galones, medios galones, pintas o vasitos?

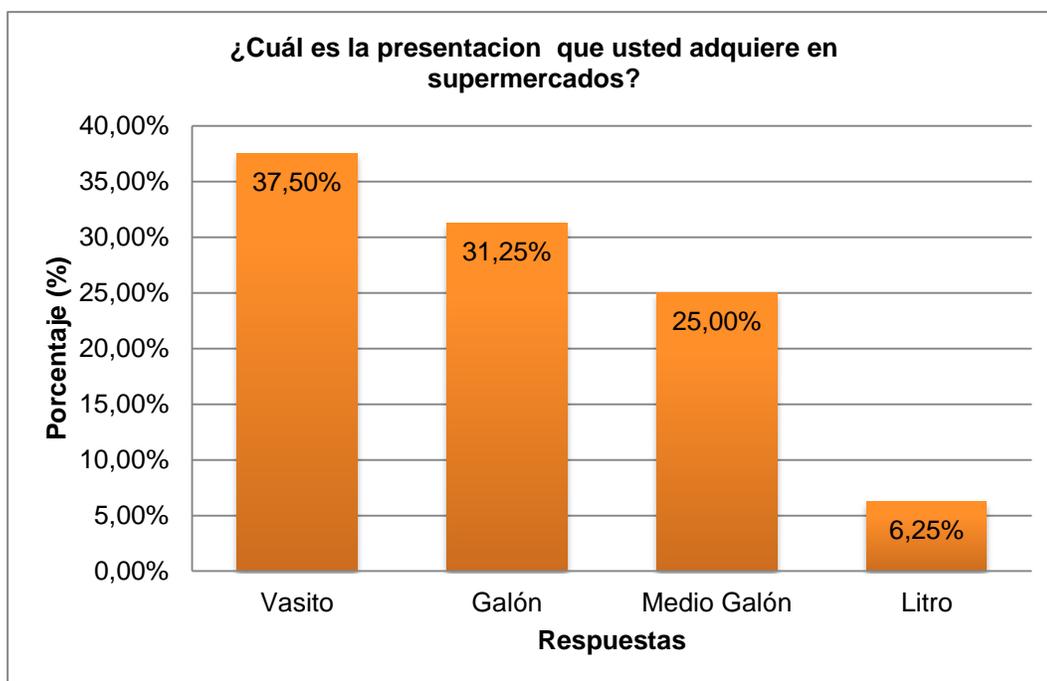


Figura N°8 Gráfico de resultados de la presentación de helados que adquieren los consumidores en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador.

En la figura N° 8 se observa que la presentación de helados más preferida por los consumidores encuestados es Vasito con un 37.50% seguido del galón con un 31.25%. Mientras que el Medio Galón tuvo un 25.0% y el Litro con un 6.25%.

La Lista de chequeo que se pasó para verificar las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados en los tres supermercados seleccionados por medio de un muestreo aleatorio simple del distrito dos de San Salvador dieron como resultado los datos que a continuación se presentan:

Cuadro Nº 3: Resultados de Lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados dentro de los supermercados.

Supermercados	M ₁ Metrosur		M ₁ 8ª Etapa		M ₂ Los Héroes	
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª
Parámetro a Verificar						
La temperatura de la cámara de producto congelado es < -20 °C	No -14°C	No -13°C	Si -22°C	Si -21°C	No -14°C	No -13°C
El frigorífico cuenta con su respectivo medidor de temperatura y humedad.	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Se observa deterioro de puertas y empaques	Si	Si	No	No	No	No
Se encuentra otro producto almacenado junto a los helados. Si la respuesta es sí, ¿Cuál es ese producto?	Si Patties y Pan árabe	Si Patties	Si Patties	Si Patties	Si Cajas HotCakes Preparados	Si Cajas HotCakes Preparados
Hay derrame de agua sobre el piso	Si	No	No	No	No	No
Se observa la presencia de Escarcha en el interior del frigorífico.	Si	Si	Si	Si	Si	Si

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de la lista de chequeo dentro de los supermercados, fueron mediante la observación de los congeladores de la sección de congelados de la sucursal respectiva.

En la cuadro No. 3 se puede observar que hay sucursales que no cumplen con las condiciones especificadas en la lista de chequeo para la comercialización de helados dentro de los supermercados. En el supermercado M₁ Metrosur tanto

en el primera semana como en la segunda semana la temperatura observada (-14 °C a -13 °C) en la cámara de producto congelado no era la más óptima para la buena conservación del helado que se comercializa en esta sucursal, prueba de ello fue la presencia de agua en las afueras de frigorífico (en el piso) en la primera semana de muestreo mientras que en la segunda semana no se encontró derrame de agua pero se corroboró que había escape de aire helado al exterior en ambas semanas por el deterioro de las puertas y empaques, además de presencia de escarcha en su interior en ambas semanas. Los helados dentro de esta sucursal se encontraron junto a otros productos como lo son patties y Pan árabe. El único parámetro que cumplió fue que el frigorífico contaba con su medidor de temperatura y humedad.

En cuanto al Supermercado M₂ 8 etapa, en las dos semanas la temperatura de la cámara de producto terminado fue la óptima < -20 °C y contaba con su respectivo medidor de temperatura y humedad, además no se observaron deterioro de puertas ni empaques ni salida de aire helado hacia el exterior; tampoco se observó derrame de agua sobre el piso. Lo único observado dentro del congelador fue la presencia de escarcha en la parte superior y que los helados estaban ubicados junto a otros productos que eran Patties.

Mientras que para la sucursal M₂ Los Héroeos tanto en el primera semana como en la segunda semana la temperatura observada (-14 °C a -13 °C) no era la más óptima para la buena conservación del helado que se comercializa. Esta sucursal contaba con Medidor de temperatura y humedad dentro del congelador, no se observó deterioro de puertas ni empaques ni salida de aire helado hacia el exterior, tampoco se observó derrame de agua sobre el piso en ambas semanas. Lo único observado dentro del congelador fue la presencia de escarcha en la parte superior y los helados estaban ubicados junto a otros productos que eran Hotcakes Preparados.

Cuadro N° 4: Porcentaje obtenido de parámetros a verificar mediante Lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados dentro de los supermercados.

Parámetro a Verificar	%Si	%No
La temperatura de la cámara de producto congelado es < -20 °C	33.33%	66.67%
El frigorífico cuenta con su respectivo medidor de temperatura y humedad.	100.00%	0.00%
Se observa deterioro de puertas y empaques	33.33%	66.67%
Se encuentra otro producto almacenado junto a los helados. Si la respuesta es sí, ¿Cuál es ese producto?	100.00%	0.00%
Hay derrame de agua sobre el piso	16.67%	83.33%
Se observa la presencia de Escarcha en el interior del frigorífico.	100.00%	0.00%

En el cuadro N° 4 se puede observar los porcentajes obtenidos para cada uno de los parámetros verificados a través de la lista de chequeo (Ver Anexo N° 5) en cada supermercado de donde se adquirieron las muestras a analizar.

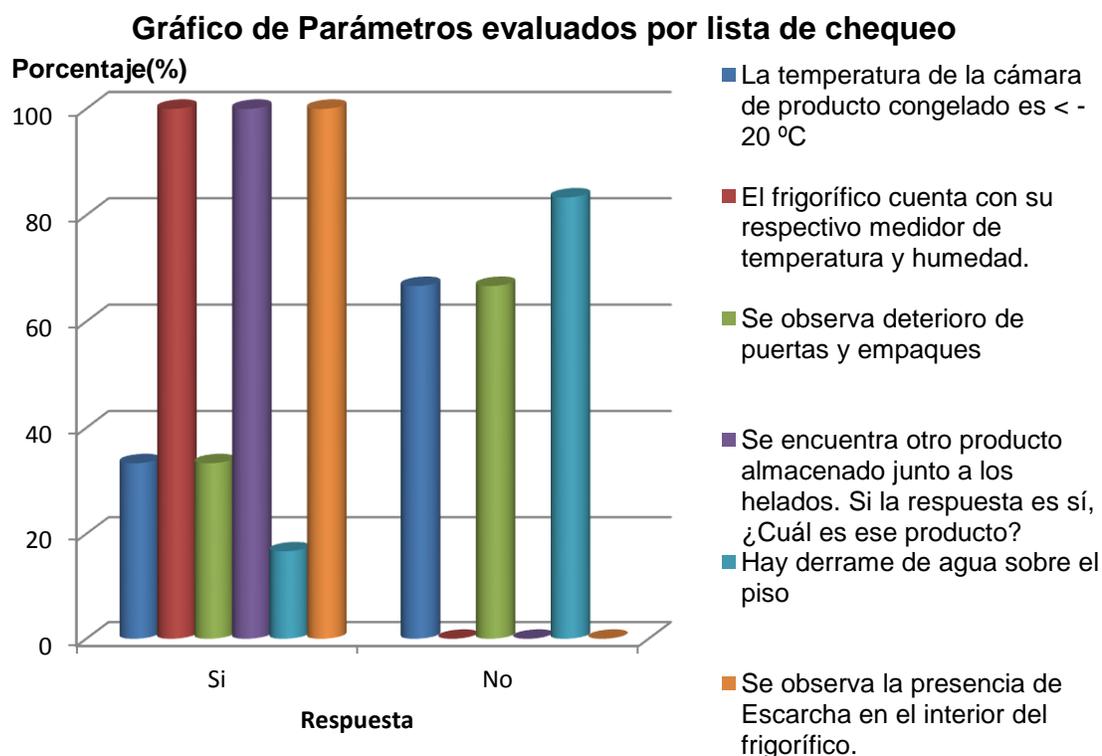


Figura N°9 Gráfico de resultados de los parámetros verificados mediante lista de chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados.

En la figura N° 9 se puede observar que el primer parámetro evaluado si la temperatura de la cámara de producto congelado es $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ el 33.33% cumple este parámetro (1 sucursal, M₁ 8 etapa) y el 66.66 % no cumplen este parámetro (2 sucursales; M₁ Metrosur y M₂ Héroes). Mientras que en el segundo parámetro evaluado si el frigorífico cuenta con su respectivo medidor de temperatura y humedad el 100% de las sucursales evaluadas (M₁ Metrosur, M₁ 8 etapa y M₂ Héroes) cumplen. El tercer parámetro evaluado si se observa o no el deterioro de puertas y empaques el 33.33% si se observó el deterioro en 1 sucursal (M₁ Metrosur), mientras que el 66.66 % no se observó deterioro de puertas y empaques (2 sucursales M₁ 8 etapa y M₂ Los Héroes). En el cuarto

parámetro evaluado el 100% de las sucursales (M₁ Metrosur, M₁ 8 etapa y M₂ Héroes) los helados se encontraban almacenados junto a otros productos, mientras que en el 5 parámetro evaluado que si se encontraba derrame de agua sobre el piso el 16. 67 % no cumplió, es decir solo se encontró que la sucursal de M₁ Metrosur en la primera semana había derrame, mientras que 83.33% de las sucursales (M₁ Metrosur segunda semana, M₁ 8 etapa y M₂ Héroes) no se observó derrame de agua. Y en el 6 parámetro evaluado el 100% de las sucursales (M₁ Metrosur, M₁ 8 etapa y M₂ Héroes) se observó escharcha en el interior del frigorífico.

El muestreo realizado en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, para la obtención de 24 muestras de helados a base de leche de 3 sucursales diferentes y su posterior análisis microbiológico en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), dieron como resultado los datos que a continuación se presentan.

Cuadro N° 5: Información de muestras analizadas en los diferentes supermercados.

Supermercado	Código	Marca	Sabor	Observaciones
M ₁ MetroSur	SSS05	N ₅	Vainilla Chocolate	Envase cubierto de escarcha.
	SSS06	N ₂	Besito	Envase cubierto de escarcha.
	SSS07	N ₁	Vainilla-Fresa	Envase cubierto de escarcha.
	SSS08	N ₆	ChocoChips	Envase cubierto de escarcha, le falta producto y presenta escarcha encima del helado.
	SSS17	N ₇	Vainilla	Envase algo sucio.
	SSS18	N ₂	Ron con Pasas	Envase en buenas condiciones
	SSS19	N ₁	Zebra	Envase cubierto de escarcha.
	SSS20	N ₆	Chocolate	Envase cubierto de escarcha.
	SSS26	N ₆	Guayaba	Envase cubierto de escarcha.

Cuadro N° 5: Continuación...Información de muestras Analizadas en los diferentes Supermercados.

Supermercado	Código	Marca	Sabor	Observaciones
M ₁ Metrocentro 8ªEtapa	SSE09	N ₄	Napolitano	Envase cubierto de escarcha.
	SSE10	N ₂	Vanimora	El helado contiene mermelada de mora.
	SSE11	N ₁	Chocolate-Vainilla	El helado contiene pedazos de chocolate.
	SSE12	N ₃	Ron con Pasa	Envase sucio.
	SSE21	N ₁	Vainilla-Fresa	Envase cubierto de escarcha y quebrado de la tapa.
	SSE22	N ₃	Fresa	Tapa de envase levantada y sucia. El helado contiene pedazos de fresa.
	SSE23	N ₄	Crema con Galleta	Envase cubierto de escarcha.
	SSE24	N ₇	Fresa	Envase cubierto de escarcha.
	SSE27	N ₆	Guayaba	Envase cubierto de escarcha.
M ₂ Héroes	DD01	N ₂	Zebra	La tapa del envase estaba sucia.
	DD02	N ₄	Vainilla	La tapa del envase estaba sucia.
	DD03	N ₆	Galleta	Envase cubierto de escarcha, el producto contiene pedazos de galleta.
	DD04	N ₃	Chocolate	Tapa del envase medio abierta.
	DD13	N ₃	Ron con Pasas	Envase en buenas condiciones
	DD14	N ₅	Veteado Vainilla Caramelo	Envase cubierto de escarcha.
	DD15	N ₂	Vanimora	El helado contiene mermelada de mora.
	DD16	N ₄	Chocolate	Envase cubierto de escarcha.
	DD25	N ₆	Guayaba	Envase cubierto de escarcha.

El cuadro N° 5 muestra la información de las 27 muestras de helados codificadas (Ver Anexo N° 1 y 22) analizadas en los supermercados seleccionados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador y sus observaciones respectivas al momento de adquirirlos en los supermercados.

En dichas muestras se realizaron diferentes tipos de observaciones tanto del envase como del producto contenido dentro de este, dando como resultado que la mayoría de envases se encontraban con escarcha (hielo) en su parte exterior

así como cierta suciedad en la tapadera de estos, en algunos casos como la muestra SSS08 que al momento de abrir se observó que le hacía falta producto y que a consecuencia de la abertura en el interior se había filtrado escarcha que cubría toda la superficie del helado, la muestra SSE21 presentaba un envase quebrado de la tapa por lo que esto podría ser una fuente de contaminación del exterior hacia el interior ocasionando un deterioro del producto y por consiguiente disminuir la calidad microbiológica de este, en el caso de la muestra DD04 la tapa del envase estaba medio abierta lo que indica que el consumidor antes de comprar el producto lo pudo haber abierto para observarlo y esto causa que este pueda ser contaminado ya sea por el consumidor que lo abrió o por el ambiente en que este fue abierto, dando estas dos causas de contaminación, además dentro de las muestras hubieron algunas que contenían pedazos de frutas o de otra materia prima agregada que puede contribuir a la presencia de carga microbiana patógena dentro de las muestras, si estas no son tratadas de la forma adecuada para eliminar cualquier microorganismo que venga implícito en estos.

Cuadro N° 6: Resultados para análisis de muestras de helados a base de leche durante las dos semanas de análisis.

Código de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite permitido por el RTCA			
	<3 NMP/mL	10 ² UFC/g	Ausencia	
DD01	23	<10	Ausencia	No Conforme
DD02	<3	<10	Ausencia	Conforme
DD03	23	40	Ausencia	No conforme
DD04	305	<10	Ausencia	No conforme
SSS05	<3	<10	Ausencia	Conforme
SSS06	290	55	Ausencia	No conforme
SSS07	135	<10	Ausencia	No conforme

Cuadro N° 6: Continuación...Resultados para análisis de muestras de helados a base de leche durante las dos semanas de análisis.

Código de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite permitido por el RTCA			
	<3 NMP/mL	10 ² UFC/g	Ausencia	
SSS08	12	<10	Ausencia	No conforme
SSE09	<3	<10	Ausencia	Conforme
SSE10	25	<10	Ausencia	No Conforme
SSE11	780	>65,000	Ausencia	No Conforme
SSE12	125	>65,000	Ausencia	No Conforme
DD13	4	>65,000	Ausencia	No Conforme
DD14	<3	<10	Ausencia	Conforme
DD15	<3	<10	Ausencia	Conforme
DD16	<3	<10	Ausencia	Conforme
SSS17	16	170	Ausencia	No Conforme
SSS18	10	>65,000	Ausencia	No Conforme
SSS19	34	>65,000	Ausencia	No Conforme
SSS20	<3	<10	Ausencia	Conforme
SSE21	<3	>65,000	Ausencia	No conforme
SSE22	135	>65,000	Ausencia	No Conforme
SSE23	4	21,667	Ausencia	No Conforme
SSE24	<3	<10	Ausencia	Conforme

El cuadro N° 6 muestra los resultados obtenidos en las determinaciones realizadas en las muestras de helados seleccionadas de cada sucursal.

Para la determinación para *Escherichia coli* por medio de caldo LMX por la técnica del Numero Más Probable y confirmando con agar EMB, de las 24 muestras de helados a base de leche analizadas solamente 9 muestras (37.5%) cumplen el límite establecido de <3 NMP/mL por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y Productos

Lácteos”, mientras que las 15 muestras (62.5%) restantes no cumplen el límite máximo permitido por el RTCA 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y Productos Lácteos” (Ver ANEXO N° 7).

En cuanto a la determinación de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker; se observó una cantidad mínima de colonias características de *Staphylococcus aureus*, las cuales se reportan multiplicando el número de colonias obtenidas en cada placa por el factor de dilución que le corresponde. De las 24 muestras de helados a base de leche analizadas 11 muestras (45.83%) no cumplen el límite máximo establecido de 10^2 UFC/g por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y Productos Lácteos”. Mientras que las 13 muestras (56.17%) de helados restantes cumplen el límite máximo permitido por el RTCA 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y Productos Lácteos”. Cabe mencionar que dentro de los análisis hubo placas cuyo crecimiento de *Staphylococcus aureus* colonias demasiado numerosas para contar por lo que se reporta $>6,500$ UFC/g multiplicando por el factor de dilución de las placas que es de 10 dando como resultado $>65,000$ UFC/g y en otros casos no se observó crecimiento de colonias por lo que se reporta menor de la dilución más baja que en este caso es <10 UFC/g como se presenta en las muestras contempladas en el cuadro N°6.

En la determinación de *Salmonella spp.* en Agar Bismuto Sulfito, Agar Henktoen y Agar XLD, en ninguna de las muestras se observaron crecimiento de colonias características de *Salmonella spp.*, en las 24 muestras de helados (100% de las muestras) a base de leche analizados estos dieron como resultado, la ausencia de este patógeno, por lo tanto cumplen con la especificación establecida por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y productos Lácteos”.

En resumen de las 24 muestras de helados a base de leche analizados solamente 8 muestras (33.33%) son conformes, debido a que cumplen con las

especificaciones establecidas por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y productos Lácteos”.

- DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*.



Figura N°10. Placas de Baird Parker con colonias características de *Staphylococcus aureus*.

En la figura N°10, se observan las colonias negras características del *Staphylococcus aureus* en Agar Baird Parker después de 48 horas de incubación, ya que a las 24 horas no se presentaba crecimiento de colonias.



Figura N°11. Prueba de coagulasa, confirmativa para la presencia de *Staphylococcus aureus*.

En la figura N° 11, se evidencia la prueba coagulasa, que es confirmativa de la contaminación con *Staphylococcus aureus* en las muestras de helado a base de

leche analizadas, ya que se observa formación de un coagulo en plasma que permaneció firme en el fondo del tubo al invertirlo.



Figura N°12. Prueba de catalasa, confirmativa para la presencia de *Staphylococcus aureus*.

En la figura N° 12, se evidencia la prueba confirmativa de la catalasa en donde se observó efervescencia de colonias tomadas de agar TSA, haciendo una suspensión con Peróxido al 30%, lo que confirma que las muestras de helados a base de leche se encuentran contaminadas con *Staphylococcus aureus*, esto debido que para la fabricación de helados se encuentran a cargo personas que podrían ser una fuente de contaminación o debido a una mala pausterización de la leche.

Esto nos indica que las personas que participan en cualquier etapa de la elaboración de los helados a base de leche no cumplen con las buenas prácticas de manufactura, lo que indica que ellos son los que aportan una carga microbiana patógena al alimento. Además que los helados tienen como

ingrediente principal leche que puede ser un vehículo de *Staphylococcus aureus*,

DETERMINACION DE *Salmonella spp.*



Figura N° 13. Placas de HE, BS y XLD, sin crecimiento de *Salmonella spp.*

En la figura N° 13 se observa que no hay crecimiento de *Salmonella spp.* lo que indica que en las muestras de helados a base de leche presentan ausencia de esta bacteria patógena.

- DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES



Figura N° 14. Determinación de coliformes totales por medio de NMP.

En la figura N° 14 se observa la prueba de coliformes totales realizada a los helados a base de leche la cual fue positiva para ciertas muestras y de las cuales se tomó un inóculo para luego pasar a Agar EMB, para determinar la presencia de *E. coli*.

Esto indica que el producto fue contaminado ya sea por agua que contenía materia fecal o por los manipuladores al momento de su elaboración en las diferentes etapas que conlleva este.

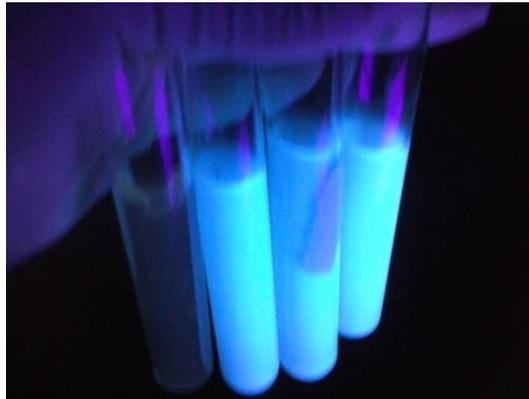


Figura N° 15. Prueba presuntiva para *Escherichia coli* por medio de la lámpara de luz UV.

En la figura N°15 se observa la prueba presuntiva para *E. coli* la cual consiste en aplicar luz UV mediante una lámpara, y si en los tubos se produce una fluorescencia indica posible presencia de *E. coli*.

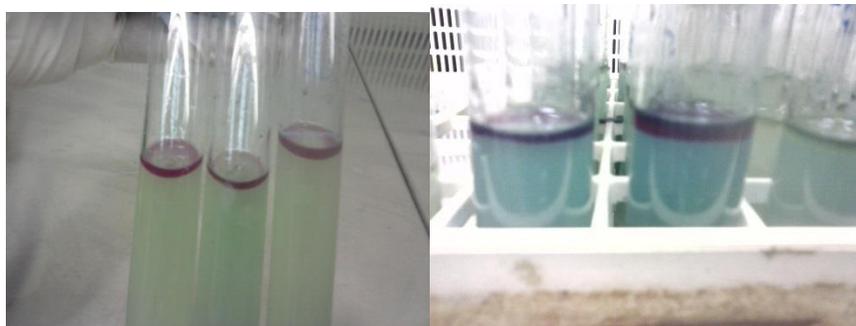


Figura N° 16. Prueba confirmativa para *E. coli* con reactivo de Kovack.

En la figura N° 16 se observó la formación de un anillo violeta al aplicar el reactivo de Kovack, indicando reacción positiva para la presencia de *E. coli* en las muestras de helados que dieron positivo para coliformes fecales. Para

verificar este resultado se tomó una asada de los tubos con caldo LMX que dieron resultado positivo y se inoculo en agar EMB.

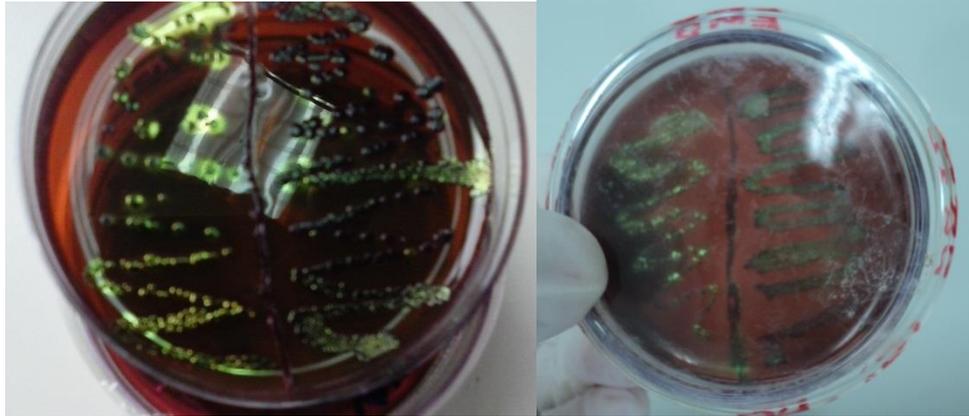


Figura N°17. Colonias de *E. coli* en placas de Agar EMB.

En la figura N°17 se observan colonias verde con brillo metálico características de *E. coli* en agar EMB, lo que indica que la mayoría de helados a base de leche muestreados tienen presente este microorganismo patógeno, el cual es causante de muchas enfermedades gastrointestinales, principalmente en niños y en adultos vulnerables.

La presencia de este microorganismo, indica que el producto fue contaminado con materia fecal de origen humano o de origen animal (roedores e insectos) que pueden estar en contacto con los helados. Además algunos productos contenían trocitos de frutas que pudieron estar contaminadas con dicho microorganismo cuya procedencia sería el agua de riego que se utiliza para su cultivo o el propio lugar donde fueron plantadas ya que pudo haber contaminación por medio de animales callejeros.



a) Tubos con resultado positivo

b) Desplazamiento de campana de Durham

Figura N° 18. Determinación de coliformes fecales.

En la figura N°18 a) se observan tubos con caldo EC que dieron resultado positivo y b) se observa cómo se desplaza la campana de Durham por la presencia de gas producido por coliformes fecales, al igual que la efervescencia del medio al mover el tubo otra evidencia de la presencia de estos microorganismos.

Cuadro N° 7: Microorganismos no contemplados en el RTCA y que se encontraron en los helados a base de leche.

Código de muestra	Observaciones (Otros microorganismos que están presentes)		
	Coliformes Totales (NMP/mL)	Coliformes Fecales (NMP/mL)	Otro microorganismo
DD01	23	23	----
DD03	23	23	----
DD04	460	460	<i>Enterobacter sp.</i>
SSS06	>1600	>1600	<i>Enterobacter sp.</i>
SSS07	>1600	>1600	----
SSS08	23	23	----
SSE09	4	4	<i>Enterobacter sp.</i>
SSE10	460	460	----
SSE11	>1600	>1600	<i>Enterobacter sp.</i>
SSE12	240	21	----
DD13	93	43	<i>Enterobacter sp.</i>
DD14	4	4	<i>Enterobacter sp.</i>
DD15	4	<3	----
DD16	4	<3	----
SSS17	43	23	<i>Enterobacter sp.</i>
SSS18	>1600	>1600	----
SSS19	>1600	>1600	----
SSE21	9	9	<i>Enterobacter sp.</i>
SSE22	>1600	>1600	----
SSE23	4	4	<i>Enterobacter sp.</i>

En el cuadro N° 7 se da la información de las muestras analizadas en donde se encontraron otros microorganismos que no contempla el RTCA como lo son: Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *Enterobacter sp* y su presencia en los helados a base de leche indica contaminación fecal ya sea de origen animal o humano y que el consumidor está expuesto a patógenos entéricos cuando

ingiere el alimento, pudiendo provocar diversas enfermedades del tracto digestivo como lo son diarrea, vómitos, entre otras.



Figura N° 19. Placas de Agar Bismuto Sulfito, Agar Henktoen y agar XLD, que presentaron crecimiento, no característico a *Salmonella spp.*

En la figura N° 19 se observa placas de Agar Bismuto Sulfito, Agar Henktoen y agar XLD, que presentaron crecimiento, no característico a *Salmonella spp.*, por lo cual se realizaron pruebas bioquímicas para determinar el microorganismo que se encuentra presente en las muestras de helados a base de leche y si este implica un peligro para la salud del consumidor.

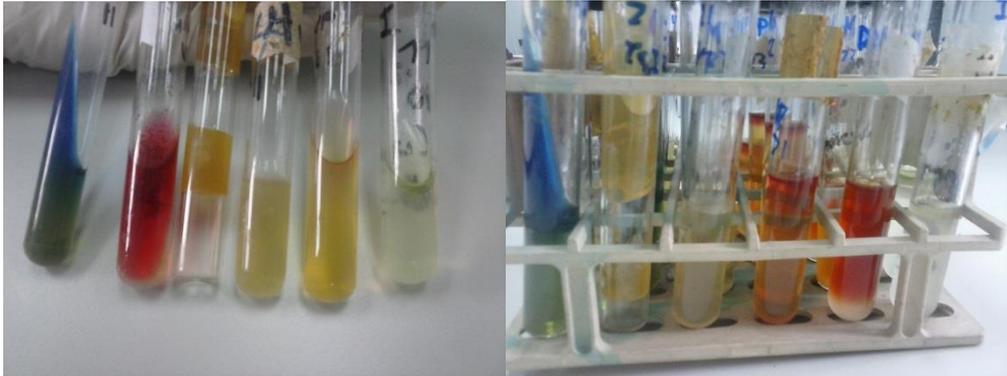


Figura N°20. Pruebas bioquímicas para la determinación de microorganismo presente en las muestras de helado a base de leche.

En la Figura N° 20 se observa el resultado de las pruebas bioquímicas realizadas al microorganismo que creció en las placas de la figura N°19, comparando los resultados con las tablas del Anexo N° 7 y 8 dio que la bacteria que se encuentra presente en 9 muestras de helados a base de leche es la *Enterobacter sp.*(Ver ANEXO N° 19).

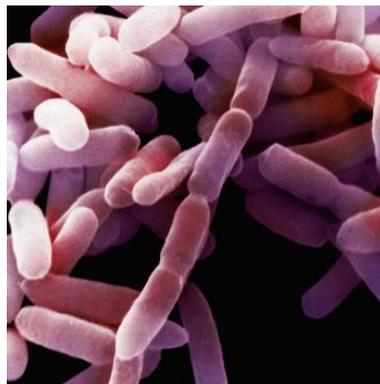


Figura N° 21: *Enterobacter sp.*⁽⁵⁾

En la figura N° 21 se observa a la *Enterobacter sp.*, que es una bacteria gram negativa, de los cuales varias cepas son patógenos oportunistas en los nosocomios. Se encuentran sobre la piel humana, las plantas, los suelos, el agua, las cloacas, los tractos intestinales y en algunos productos lácteos.

Este microorganismo puede ocasionar enfermedades entre las que se puede mencionar: Gastroenteritis aguda, infecciones hospitalarias, infecciones en las vías urinarias que puede agravarse de no ser atendida a tiempo en una insuficiencia renal.

Muchas de las enterobacterias son patógenas y causa de infección oportunista, otras son descomponedoras que viven en la materia orgánica muerta o viven en el ser humano como parte de una población microbiana normal, por lo tanto su presencia en los helados indica contaminación por materia fecal ya sea de origen animal o humana.

Tabla N° 11: Resultados comparativos para las determinaciones realizadas a las muestras de helados a base de leche de cada Supermercado con su respectivo porcentaje.

Código de Supermercado (Ver Anexo N° 1)	N° de muestras	Determinación / Porcentaje de muestras con resultado positivo		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>
M ₁ MetroSur	8	75.0 %	50.0 %	0.0%
M ₁ Metrocentro 8ª Etapa	8	62.5%	62.5%	0.0%
M ₂	8	50.0%	25.0%	0.0%

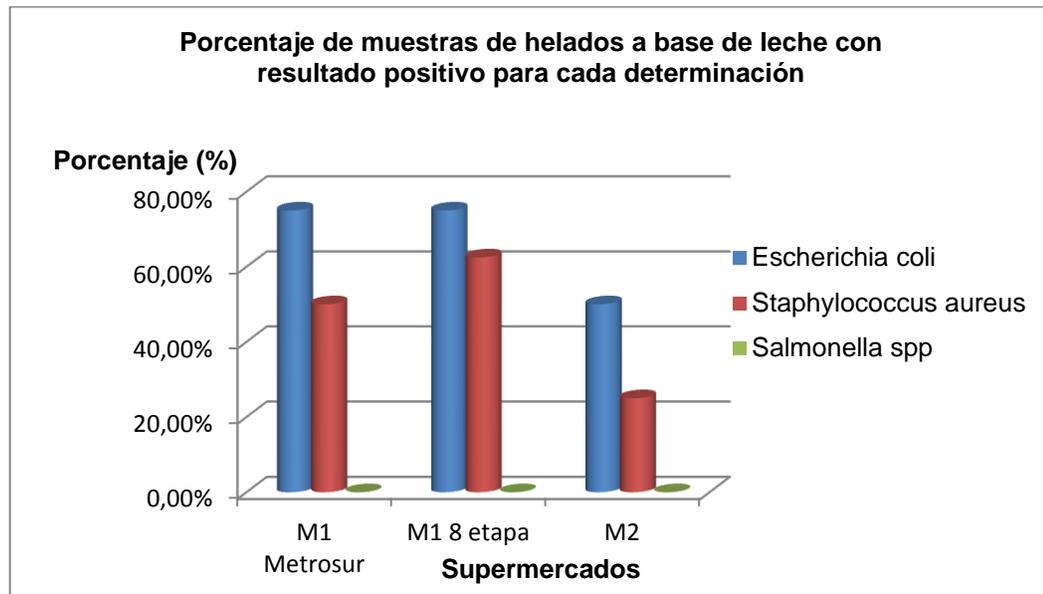


Figura N°22. Gráfico de resultados comparativos para las determinaciones realizadas a las muestras de helados a base de leche de cada Supermercado con su respectivo porcentaje.

La tabla N° 11 y Figura N° 22 muestran los resultados comparativos de cada una de las determinaciones realizadas en las diferentes muestras de helados a base de leche por cada supermercado, de acuerdo a lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y Productos Lácteos” estos resultados se interpretan de la siguiente manera :

- En el análisis realizado en la determinación de *Escherichia coli*: en el Supermercado M₁ Metrosur de las 8 muestras analizadas, el 75.0% de las muestras (6 muestras) dieron positivo para *Escherichia coli*. Mientras que el supermercado M₁ Metrocentro 8^a Etapa de las 8 muestras analizadas, el 62.5 % de las muestras (5 muestras) dieron positivo para este patógeno y de las 8 muestras analizadas en el supermercado M₂ solamente el 50.0 % de las muestras (4 muestras) dieron positivo para *Escherichia coli*. Por lo tanto

el 62.5 % de las muestras analizadas (15 muestras) no cumplen lo establecido por el RTCA debido a que debe ser <3 NMP/mL.

- En el análisis para la determinación de *Staphylococcus aureus*: Para el supermercado: M₁ Metrosur de las 8 muestras analizadas el 50.0 % (4 muestras) dieron resultado positivo para este patógeno. Mientras que para el supermercado: M₁ Metrocentro 8^a Etapa de las 8 muestras analizadas el 62.5 % (5 muestras) de ellas dio positivo. Y de las 8 muestras analizadas en el supermercado: M₂, solamente el 25.0 % de las muestras (2 muestras) dieron positivo para *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto el 45.83% de las muestras analizadas (11 muestras) no cumplen lo establecido por el RTCA debido a que el crecimiento debe ser menor a 10^2 UFC/g.
- Para el análisis de *Salmonella spp.* Ninguna de las muestras analizadas dieron positivo para este patógeno por lo tanto el 100 % de las muestras de helado a base de leche analizadas (24 muestras) cumplen lo especificado por el RTCA que deben tener ausencia de este patógeno. Cabe mencionar que a pesar de que ninguna muestra dio positiva para *Salmonella spp.*, los helados también estaban contaminados con otro microorganismo el Enterobacter que también es patógeno y cuya presencia en el helado pone en riesgo la salud de los consumidores.

ANALISIS DE MUESTRAS DE HELADOS A BASE DE AGUA

El muestreo realizado en los supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, para la obtención de 3 muestras de helados a base de agua de 3 sucursales diferentes y su posterior análisis microbiológico en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), dieron como resultado los datos que a continuación se presentan.

Se realizó el análisis de solamente 3 muestras debido a que solo había 1 muestra de Helado N₆ (Ver Anexo N° 1) sabor Guayaba por cada sucursal muestreada.

Cuadro N° 8: Resultados para análisis de muestras de helados a base de agua.

Código de muestra	<i>Escherichia coli</i>		Cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite permitido por el RTCA		
	<3 NMP/mL		
	1 ^a	2 ^a	
DD25	4	<3	Conforme
SSS26	4	15	No Conforme
SSE27	4	9	No Conforme

En el cuadro N° 8, se muestran los resultados que se obtuvieron de las determinaciones realizadas para helados a base de agua, en cuanto a *Escherichia coli* por medio de caldo LMX por la técnica del Numero Más Probable y confirmando con agar EMB, 2 de las 3 muestras dieron valores mayores 3NMP/mL, estando por encima del límite permitido como se indica en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 en lo referente al grupo 3 “hielos”.

- DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES.

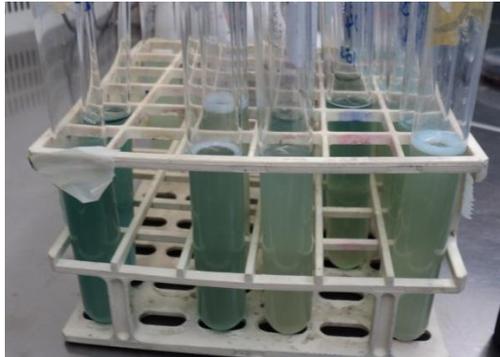


Figura N° 23. Determinación de coliformes totales por medio de NMP.

En la figura N° 23 se observa la prueba de coliformes totales realizada a los helados a base de agua la cual dio como resultado una prueba positiva para todas las muestras, en diferentes diluciones. Esto indica contaminación del producto posiblemente por el agua utilizada en su elaboración o por una mala higiene del personal encargado de la manufacturación.



Figura N° 24. Prueba presuntiva para *Escherichia coli* por medio de la lámpara de luz UV.

En la figura N°24 se observa la prueba presuntiva para *E. coli* por medio de una lámpara de luz UV, la cual da como resultado positivo una fluorescencia en el medio, en algunos casos de los helados a base de agua dieron negativa esta prueba como se observa en la figura.

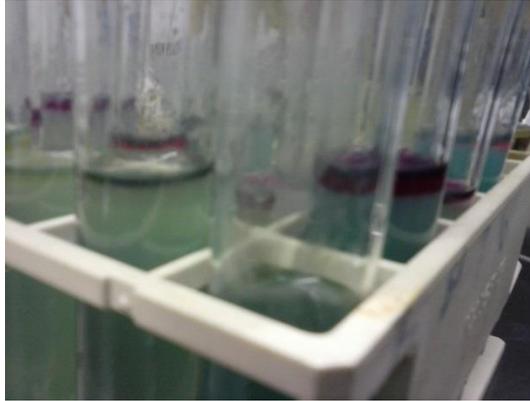


Figura N° 25. Prueba confirmativa para *E. coli* con reactivo de Kovack.

En la figura N° 25 se observó la formación de un anillo violeta al aplicar el reactivo de Kovack, indicando reacción positiva para la presencia de *E. coli* en las muestras de helados que dieron positivo para coliformes fecales.

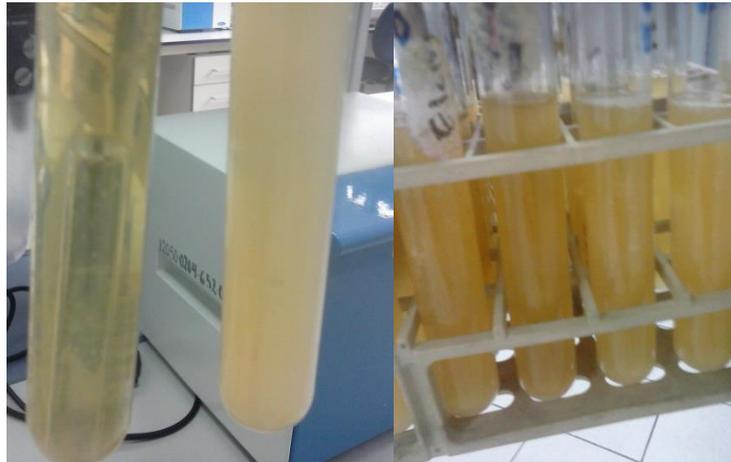
Para confirmar este resultado se tomó una asada de los tubos con caldo LMX que resultaron positivos y se inoculó en agar EMB, ya que este es una prueba confirmatoria para determinar la presencia de *E. coli* en las muestras analizadas.



Figura N°26. Colonias de *E. coli* en placa de Agar EMB.

En la figura N°26 se observan colonias verde con brillo metálico características de *E. coli* en agar EMB, lo que indica que algunos de los helados a base de agua muestreados tienen presente este microorganismo patógeno y otros como se observa en la placa.

Esto nos indica que el producto fue contaminado con materia fecal de origen tanto humano como animal, ya sea de forma directa por medio de los manipuladores en el proceso de fabricación, no cumpliendo con la Buenas Prácticas de Higiene y de forma indirecta durante la elaboración al no realizar una buena limpieza y sanitización de la maquinaria que se utiliza en el proceso de fabricación del helado.



a) Prueba negativa y positiva b) Tubos con resultado positivo
Figura N° 27. Determinación de coliformes fecales.

En la figura N°27 a) se observa cómo en el tubo de la derecha se desplaza la campana de Durham por la presencia de gas producido por coliformes fecales, al igual que la efervescencia del medio al mover el tubo otra evidencia de la presencia de estos microorganismos., en el tubo de la izquierda se presenta una prueba negativa para coliformes fecales y b) se observan tubos con caldo EC que dieron resultado positivo.

Cuadro N° 9: Microorganismos no contemplados en el RTCA y que se encontraron en los helados a base de agua.

Código de muestra	Observaciones (Otros microorganismos que están presentes)	
	Coliformes Totales (NMP/mL)	Coliformes Fecales (NMP/mL)
DD25	4	4
SSS26	15	7
SSE27	43	21

En el cuadro N° 9 se da la información de las muestras analizadas en donde se encontraron otros microorganismos que no contempla el RTCA como lo son:

Coliformes Totales, Coliformes Fecales, su presencia en los helados a base de leche indica contaminación fecal ya sea de origen animal o humano.

Como resultado de los análisis realizados a las muestras de helados a base de agua se puede interpretar que el 33.33% cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Hielos” y un 66.67% no cumple con este criterio debido a que el límite permitido debe ser <3 NMP/mL.

Cuadro N°10: Resumen de microorganismos encontrados en las muestras de helados a base de leche

Código de muestra	Microorganismos especificados por el RTCA			Otros microorganismos		
	<i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	<i>Salmonella spp.</i>	Coliformes totales (NMP/mL)	Coliformes fecales (NMP/mL)	<i>Enterobacter sp.</i>
DD01	23	<10	Ausencia	23	23	----
DD02	<3	<10	Ausencia	----	-----	----
DD03	23	40	Ausencia	23	23	----
DD04	305	<10	Ausencia	460	460	Presencia
SSS05	<3	<10	Ausencia	---	----	----
SSS06	290	55	Ausencia	>1600	>1600	Presencia
SSS07	135	<10	Ausencia	>1600	>1600	----
SSS08	12	<10	Ausencia	23	23	----
SSE09	<3	<10	Ausencia	4	4	Presencia
SSE10	25	<10	Ausencia	460	460	----
SSE11	780	>65,000	Ausencia	>1600	>1600	Presencia
SSE12	125	>65,000	Ausencia	240	21	----

Cuadro N°10: Continuación... Resumen de microorganismos encontrados en las muestras de helados a base de leche

Código de muestra	Microorganismos especificados por el RTCA			Otros microorganismos		
	<i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	<i>Salmonella</i> spp.	Coliformes totales (NMP/mL)	Coliformes fecales (NMP/mL)	<i>Enterobacter</i> sp.
DD13	4	>65,000	Ausencia	93	43	Presencia
DD14	<3	<10	Ausencia	4	4	Presencia
DD15	<3	<10	Ausencia	4	<3	----
DD16	<3	<10	Ausencia	4	<3	----
SSS17	16	170	Ausencia	43	23	Presencia
SSS18	10	>65,000	Ausencia	>1600	>1600	----
SSS19	34	>65,000	Ausencia	>1600	>1600	----
SSS20	<3	<10	Ausencia	----	----	---
SSE21	<3	>65,000	Ausencia	23	23	----
SSE22	135	>65,000	Ausencia	460	460	Presencia
SSE23	4	21,667	Ausencia	23	23	----
SSE24	<3	<10	Ausencia	----	----	---

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. De acuerdo con los resultados obtenidos de la encuesta dirigida a la preferencia de los consumidores, la mayoría de las personas consumen más, los helados a base de leche, su marca de preferencia es la codificada como N₃. Los sabores de mayor preferencia son Vainilla y Chocolate y la presentación que más consumen es en vasito o galón.
2. En la lista de chequeo que se realizó dentro de los supermercados para verificar las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados, un 66.67% de los establecimientos no cumplen con la temperatura adecuada para la conservación de estos productos, lo cual pone en riesgo la integridad del helado al no encontrarse a la temperatura óptima para su comercialización.
3. En la determinación de *Escherichia coli* de las muestras de helados a base de leche se encontró que el 62.5% de las muestras analizadas presentan valores >3 NMP/mL, por lo que los helados posiblemente fueron contaminados por materia fecal ya sea de origen humano o animal, posiblemente por falta de limpieza de los equipos y del personal, además el agua utilizada en la elaboración de estos productos pueda estar contaminada.
4. La presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas de helados a base de leche que representan un 45.83%, indican que las personas encargadas en participar en cualquier etapa de elaboración de este alimento no cumplen con las buenas prácticas higiénicas. Representando así un riesgo a la salud del consumidor al ingerir productos contaminados con esta bacteria.

5. El 100% de las muestras de helados a base de leche analizadas dieron como resultado ausencia de *Salmonella spp.* por lo que indica que el producto cumple la especificación de ausencia de *Salmonella spp.* según lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Grupo 1 “Leche y Productos Lácteos”.
6. En el análisis realizado a las muestras de helados a base de leche, se encontró con la presencia de otros microorganismos que ponen en riesgo la salud del consumidor y que no se encuentran especificados en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Grupo 1 “Leche y Productos Lácteos”, como lo son: *Enterobacter sp.*, Coliformes totales y Coliformes fecales.
7. La presencia de la *Enterobacter sp.* en 9 de las 24 muestras de helados a base de leche analizados indica que no son aptos para el consumo ya que es un microorganismo patógeno que puede ocasionar enfermedades como gastroenteritis aguda e infecciones en vías urinarias.
8. En general, según los resultados obtenidos de las muestras de helados a base de leche analizados, el 66.67% no cumplen con el límite permitido por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Grupo 1 “Leche y Productos Lácteos”, por lo que estos productos no son aptos para el consumo humano, ya que representan un riesgo para la salud del consumidor.
9. En la determinación de *Escherichia coli* para las muestras de helado a base de agua analizados un 66.67% de las muestras presentaron valores >3 NMP/mL, lo que sobrepasa lo declarado por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Grupo 3 “Hielos”, por lo tanto estos helados no son aptos para el consumo humano.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que los Supermercados, mejoren las condiciones en las cuales se comercializan los helados y no almacenarlos cerca de otros alimentos que pueden ser contaminantes para el producto, además que los gerentes de cada sucursal verifiquen las condiciones de limpieza, las puertas y empaques de los frigoríficos para conservar la calidad con la que fabrican el producto.
2. Que la gerencia de los Supermercados mejore la inspección del producto verificando que no se encuentre abierto o con el envase y tapadera rota antes de ofrecerse a los consumidores, debido a que esto puede conllevar a la contaminación de los helados poniendo en riesgo la salud de los consumidores.
3. A las Industrias fabricantes de helados, incluir en su empaque primario el sello de seguridad para garantizar que el producto a comercializar mantenga la calidad con la que es fabricado.
4. Que la Defensoría del consumidor incluya realizar inspecciones en las industrias fabricantes de helados con el fin de conocer las condiciones bajo las cuales están siendo elaborados los helados, además de realizar las respectivas inspecciones en los supermercados para chequear si se están cumpliendo con las condiciones de almacenamiento adecuadas para estos productos y así evitar riesgos en la salud de las personas que consumen dichos productos.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Añorve Morga, J.; Cabrera Canales, Z.; Castañeda Ovando, A.; Contreras López, E.; Jaimez Ordaz, J. y Ramírez Godinez, J. (2011). *Calidad Microbiológica de Paletas base agua y base láctea elaboradas en el estado de Hidalgo, México*. Hidalgo, México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
2. AOAC. (Official methods of analysis of the association of official analytical chemists). (1998). [Online]. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>. Fecha de Consulta: 18 de febrero de 2014.
3. Ávila, V. A. y Silva, M. F. (2008). *Evaluación de la calidad microbiológica de los helados elaborados en una empresa del municipio de Soacha y su impacto a nivel local*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.
4. Borja Orantes, C. E.; Pineda Velásquez, D. E. (2002). *Evaluación de la calidad microbiológica de nieves elaboradas artesanalmente y comercializadas en las afueras de los centros escolares del municipio de Mejicanos*. San Salvador: Universidad de El Salvador.
5. Calderón, V. y Pascual M. (1999) *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas* (2 ed.). Madrid: España.

6. CapitalFederal.evisos.com.ar/homogenizador-de-muestras-analisis-microbiologicos-stomacher-id-113167. [Online]. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2014.
7. Cenzano, I y Madrid. A. (2003). *Helados: Elaboración, Análisis y Control de Calidad*. Madrid: Mundi-Prensa.
8. COMIECO (Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana). (2009). *Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos*. Centro América: Autor.
9. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). (2004). Norma Salvadoreña NSO 67.01.11:04. *Helados y Mezcla de Helados. Especificaciones (primera Actualización)*. El Salvador: Autor. Disponible en: <http://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/HELADOS/SORBETE.pdf>. Fecha de consulta: 18 de febrero de 2014
10. Doyle, M. (2001). *Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras*. Zaragoza, España: Acribia S. A.
11. FDA (Food and Drug Administration). (1992). *Bacteriological analytical manual* (8 ed.). United States of America: Arlington.
12. Flores Gonzales, C. D. (2010). *Estudio de Inocuidad de los sorbetes artesanales comercializados en las zonas de Soyapango, Mejicanos y zona*

del centro de la ciudad de San Salvador. San Salvador: Universidad de El Salvador.

13. Hayes, P. R. (1993). *Microbiología e higiene de los alimentos.* Zaragoza, España: Acribia S. A.
14. Morales V, Pedro. (13/12/2012). Tamaño necesario de la muestra: ¿Cuántos sujetos necesitamos? [Online]. Disponible en: <http://www.upcomillas.es/personal/peter/investigacion/Tama%F1oMuestra.pdf>. Fecha de Consulta: 15 de Marzo de 2014.
15. PaBon, S. y Mateus, M. (2008). *Búsqueda e identificación de puntos de control microbiológico en la preparación de conos y paletas rellenas a nivel industrial.* Bogotá: Universidad Javeriana.
16. Vivanco, M. (2005). *Muestreo Estadístico. Diseño y Aplicaciones* (1 ed). Santiago Chile: Universitaria.
17. <http://es.thefreedictionary.com/>. Diccionario Manual de la Lengua Española. (2007). Madrid: Autor. [Online]. Fecha de consulta: 3 de mayo de 2014
18. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0480s/i0480s03.pdf>. *Estudio de caso-enfermedad transmitida por alimentos en El Salvador.* [Online]. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2014.

19. <http://targiles.blogspot.com/2010/10/los-riesgos-microbiologicos-de-la-leche.html>. *Los riesgos microbiológicos de la leche*. [Online]. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2014.
20. <http://www.wisis.ufg.edu.sv/www.wisis/documentos/TE/637.4-C232p/637.4-C232p-CAPITULO%20I.pdf>. *Aspectos Generales sobre los fabricantes de Helados (paletas y sorbetes)*. [Online]. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2014.
21. http://www.canalsalud.info/informacion/6062/microbiologia_de_la_leche.html. [Online]. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2014.
22. <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2001/12/04/568.php>. [Online]. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2014.
23. <http://www.icmsf.org/pdf/icmsf2.pdf>. [Online]. Fecha de consulta: 04 de marzo de 2014
24. <http://www.mundoheladoconsulting.com/notas/Materias%20-%20Leche%20-%20Microbiologia.pdf>. *Factores microbiológicos que afectan a la leche*. [Online]. Fecha de consulta: 20 de febrero de 2014.
25. <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/laleche-microbiologia.htm>. [Online]. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2014.

GLOSARIO

GLOSARIO ⁽⁹⁾ (6)

Agar: Es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se licúa completamente a la temperatura del agua hirviendo y se solidifica al enfriarse a 40 grados.

Asa Bacteriológica: es un instrumento de laboratorio tipo pinza que consta de una base que puede estar hecha de platino, acero, aluminio y un filamento que puede ser de nicromo, tungsteno o platino que termina o en un arito de 5 mm o en punta.

Se emplea para transportar o arrastrar o trasvasar inóculos (pequeño volumen que contiene microorganismos en suspensión) desde la solución de trabajo también llamada “solución madre” al medio de cultivo (sólido o líquido) o de un medio a otro (resiembra). También sirve para la realización de frotis.

Barquillo: *s. m.* Hoja delgada de pasta de harina con azúcar y canela u otra esencia, a la que se da forma de canuto.

Caldo fluorocult LMX: El medio contiene dos sustratos, el X-gal que reacciona específicamente con la enzima exclusiva de los coliformes totales la β -galactosidasa, dando un compuesto cromogénico de color verde. Adicionalmente el medio posee un sustrato fluorogénico el MUG, que reacciona con la enzima característica de la *E. coli*, la β -D-glucoronidasa, dando un compuesto fluorescente a la luz UV a 366nm. El medio tiene además el Triptofano para realizar la prueba del Indol al adicionar reactivo de Kovac's.

Catalasa: Detectar la presencia de la enzima la cual degrada el peróxido en agua y oxígeno.

Codex Alimentarius: establecida por la FAO y la OMS en 1963, elabora normas, directrices y códigos de prácticas alimentarias internacionales armonizadas destinadas a proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas equitativas en el comercio de los alimentos. Asimismo promueve la coordinación de todos los trabajos sobre normas alimentarias emprendidos por las organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales.

Distribución normal: La *distribución gaussiana*, recibe también el nombre de *distribución normal*, ya que una gran mayoría de las v.a continuas de la naturaleza siguen esta distribución

Drepanocitosis: La drepanocitosis o anemia de células falciformes comprende un grupo de anemias hemolíticas crónicas, hereditarias, que aparecen como consecuencia de una mutación del ADN en el cromosoma 11, que es el responsable de la producción de la hemoglobina (Hb), la proteína contenida en el interior de los glóbulos rojos y que se ocupa de transportar oxígeno a los tejidos.

Ensacar: *verbo transitivo* meter una cosa en un saco o bolsa.

Escisión: Rotura de un núcleo atómico, mediante el bombardeo de neutrones, para liberar energía.

Frigorífico: Aparato eléctrico que sirve para conservar fríos los alimentos y las bebidas. Adj. Que produce frío o que lo mantiene de manera artificial.

Gérmenes: *m.* BIOL. Pequeña masa de materia viva capaz de originar, desarrollándose, un ser orgánico. Conjunto de células germinales de un ser. Principio u origen de alguna cosa, material o moral. BOT. Parte de la semilla de que se forma la planta. MICROB. Microorganismo, patógeno o no, esp. bacterias.

Hidrófobo: Se aplica al organismo o sustancia que rechaza el agua.

Hidrófilo: Que se disuelve en el agua con facilidad: molécula hidrófila. hidrófobo. Se aplica al ser vivo que vive en ambientes húmedos: el musgo es hidrófilo.

INVIMA: Es un entidad pública de Colombia del orden nacional, de carácter científico y tecnológico, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio independiente, perteneciente al Sistema de Salud, adscrito al Ministerio de la Protección Social y con sujeción a las disposiciones generales que regulan su funcionamiento. Ejecuta las políticas formuladas por el Ministerio de la Protección Social en materia de vigilancia sanitaria y de control de calidad de: medicamentos, productos biológicos, alimentos, bebidas alcohólicas, cosméticos, dispositivos, elementos médicoquirúrgicos, odontológicos, productos naturales, homeopáticos y los generados por biotecnología, reactivos de diagnóstico y otros que puedan tener impacto en la salud individual y colectiva.

Microbiota: También conocida como *microflora* es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo humano.

Muestreo aleatorio estratificado: es aquel en el que se divide la población de N individuos, en k subpoblaciones o estratos, atendiendo a criterios que puedan ser importantes en el estudio, de tamaños respectivos N_1, \dots, N_k , $N = N_1 + N_2 + \dots + N_k$ y realizando en cada una de estas subpoblaciones muestreos aleatorios simples de tamaño n_i .

Muestreo aleatorio simple: Si se selecciona un tamaño de muestra n de una población de tamaño N de tal manera que cada muestra posible de tamaño n tenga la misma probabilidad de ser seleccionada, el procedimiento de muestreo se denomina muestreo aleatorio simple. A la muestra así obtenida se le denomina muestra aleatoria simple.

Rudimentaria: *adj.* Que es sencillo o elemental. *abreviación* que se limita a los aspectos más básicos y elementales.

Sápido: (Del lat. *sapīdus*). *adj. culto* Que tiene algún sabor, *adj.* Díc. de la sustancia que tiene algún sabor. Sinónimo: Sabroso.

Sensoriales: *adj.* Relativo a los sentidos.

Stomacher: Homogenizador de muestras para análisis microbiológico de alimentos y otros.

Tarrina: *s. f.* Recipiente pequeño de vidrio o cerámica que sirve para contener un alimento: abrió la tarrina de paté.

Toxiinfecciones: La toxiinfección alimentaria o enfermedades de transmisión alimentaria son enfermedades producidas por la ingesta de alimentos contaminados por agentes biológicos (bacterias, virus, parásitos) o sus toxinas. Estos agentes y toxinas llegan a los alimentos por una inadecuada manipulación o por una mala conservación.

Pasterización o Pasteurización: Tratamiento por medio del calor que tiene por objeto eliminar las bacterias patógenas que pueden hallarse en un producto (comúnmente la leche) a temperaturas determinadas que no alteren los caracteres naturales del producto tratado. Consiste en calentar el producto a una determinada temperatura y mantenerlo durante un cierto tiempo para proceder inmediatamente a un rápido enfriamiento.

Proteólisis: *f.* BIOQUÍM. Hidrólisis de las proteínas por la acción de ciertas enzimas.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Tabla N° 12: Codificación de supermercados y marcas de helados.

Código	Descripción
M ₁	Súper Selectos
M ₂	Despensa de Don Juan
N ₁	TASTY
N ₂	Rio Soto
N ₃	Sarita
N ₄	Eskimo
N ₅	Dos pinos
N ₆	POPS
N ₇	Nevería

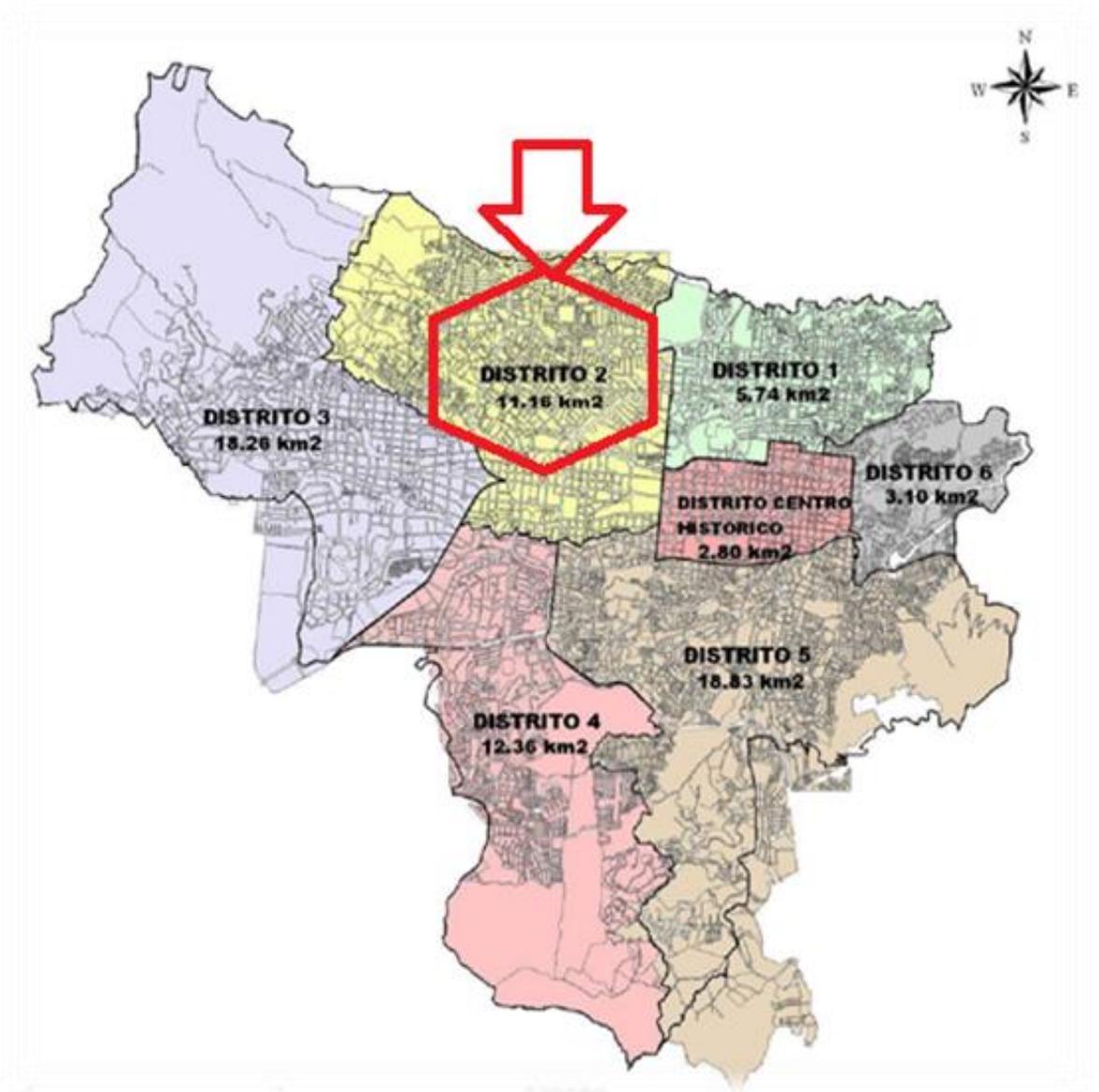


Figura Nº 28: Ubicación el Distrito dos en el Departamento de San Salvador. (29)

ANEXO N°3

Tabla N° 13: Tabla de Distribución Normal Estándar. ⁽¹⁴⁾

Z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.50000	0.50399	0.50798	0.51197	0.51595	0.51994	0.52392	0.52790	0.53188	0.53586
0.1	0.53983	0.54380	0.54776	0.55172	0.55567	0.55962	0.56356	0.56749	0.57142	0.57535
0.2	0.57926	0.58317	0.58706	0.59095	0.59483	0.59871	0.60257	0.60642	0.61026	0.61409
0.3	0.61791	0.62172	0.62552	0.62930	0.63307	0.63683	0.64058	0.64431	0.64803	0.65173
0.4	0.65542	0.65910	0.66276	0.66640	0.67003	0.67364	0.67724	0.68082	0.68439	0.68793
0.5	0.69146	0.69497	0.69847	0.70194	0.70540	0.70884	0.71226	0.71566	0.71904	0.72240
0.6	0.72575	0.72907	0.73237	0.73565	0.73891	0.74215	0.74537	0.74857	0.75175	0.75490
0.7	0.75804	0.76115	0.76424	0.76730	0.77035	0.77337	0.77637	0.77935	0.78230	0.78524
0.8	0.78814	0.79103	0.79389	0.79673	0.79955	0.80234	0.80511	0.80785	0.81057	0.81327
0.9	0.81594	0.81859	0.82121	0.82381	0.82639	0.82894	0.83147	0.83398	0.83646	0.83891
1.0	0.84134	0.84375	0.84614	0.84849	0.85083	0.85314	0.85543	0.85769	0.85993	0.86214
1.1	0.86433	0.86650	0.86864	0.87076	0.87286	0.87493	0.87698	0.87900	0.88100	0.88298
1.2	0.88493	0.88686	0.88877	0.89065	0.89251	0.89435	0.89617	0.89796	0.89973	0.90147
1.3	0.90320	0.90490	0.90658	0.90824	0.90988	0.91149	0.91308	0.91466	0.91621	0.91774
1.4	0.91924	0.92073	0.92220	0.92364	0.92507	0.92647	0.92785	0.92922	0.93056	0.93189
1.5	0.93319	0.93448	0.93574	0.93699	0.93822	0.93943	0.94062	0.94179	0.94295	0.94408
1.6	0.94520	0.94630	0.94738	0.94845	0.94950	0.95053	0.95154	0.95254	0.95352	0.95449
1.7	0.95543	0.95637	0.95728	0.95818	0.95907	0.95994	0.96080	0.96164	0.96246	0.96327
1.8	0.96407	0.96485	0.96562	0.96638	0.96712	0.96784	0.96856	0.96926	0.96995	0.97062
1.9	0.97128	0.97193	0.97257	0.97320	0.97381	0.97441	0.97500	0.97558	0.97615	0.97670
2.0	0.97725	0.97778	0.97831	0.97882	0.97932	0.97982	0.98030	0.98077	0.98124	0.98169
2.1	0.98214	0.98257	0.98300	0.98341	0.98382	0.98422	0.98461	0.98500	0.98537	0.98574
2.2	0.98610	0.98645	0.98679	0.98713	0.98745	0.98778	0.98809	0.98840	0.98870	0.98899
2.3	0.98928	0.98956	0.98983	0.99010	0.99036	0.99061	0.99086	0.99111	0.99134	0.99158
2.4	0.99180	0.99202	0.99224	0.99245	0.99266	0.99286	0.99305	0.99324	0.99343	0.99361
2.5	0.99379	0.99396	0.99413	0.99430	0.99446	0.99461	0.99477	0.99492	0.99506	0.99520
2.6	0.99534	0.99547	0.99560	0.99573	0.99585	0.99598	0.99609	0.99621	0.99632	0.99643
2.7	0.99653	0.99664	0.99674	0.99683	0.99693	0.99702	0.99711	0.99720	0.99728	0.99736
2.8	0.99744	0.99752	0.99760	0.99767	0.99774	0.99781	0.99788	0.99795	0.99801	0.99807
2.9	0.99813	0.99819	0.99825	0.99831	0.99836	0.99841	0.99846	0.99851	0.99856	0.99861
3.0	0.99865	0.99869	0.99874	0.99878	0.99882	0.99886	0.99889	0.99893	0.99896	0.99900
3.1	0.99903	0.99906	0.99910	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	0.99960	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	0.99981	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	0.99992	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° 4



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Encuesta para conocer las preferencias del consumidor de helados dentro de los supermercados del distrito dos de San Salvador.

Fecha: _____

Preferencia del consumidor de Helados	
Que prefiere más Helados a base de leche o Helados a base de agua.	
¿Cuál es la marca de helados que más prefiere?	
¿Cuál es su sabor de helado favorito?	
Cuál es la presentación que usted adquiere en supermercados: Galones, medios galones, pintas o vasitos.	



ANEXO N° 5

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Lista de Chequeo para la verificación de las condiciones higiénicas del lugar de comercialización de helados y preferencias del consumidor de helados dentro de los supermercados del distrito dos de San Salvador.

Supermercado: _____ Sucursal: _____

Fecha: _____

Parámetro a Verificar	Si	No
La temperatura de la cámara de producto congelado es $< -20\text{ }^{\circ}\text{C}$		
El frigorífico cuenta con su respectivo medidor de temperatura y humedad.		
Se observa deterioro de puertas y empaques		
Se encuentra otro producto almacenado junto a los helados. Si la respuesta es sí, ¿Cuál es ese producto?		
Hay derrame de agua sobre el piso		
Se observa la presencia de Escarcha en el interior del frigorífico.		
Observaciones:		

ANEXO N° 6

Cuadro N° 11: Etiqueta para la recolección de datos de las muestras en los supermercados.

Datos de la muestra de helados recolectada	
Lugar de muestreo: _____	Fecha: _____ Hora: _____
N° de muestra: _____	Código: _____
Nombre del Analista:	
Marca de Helado:	
Presentación: <input type="checkbox"/> 1/2 Galón <input type="checkbox"/> Pinta <input type="checkbox"/> Otros _____	
Lote :	
Fecha de Fabricación:	Fecha de vencimiento:
Observaciones:	

ANEXO N° 7

Tabla N°14: Criterios microbiológicos para Helados a base de leche. ⁽⁸⁾

1.11 Subgrupo del alimento: Helados a base de leche			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	A	< 3 NMP/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ² UFC/g
<i>Salmonella ssp/25g</i>	10		Ausencia
<i>Listeria monocytogenes /25g</i>	10		Ausencia

Tabla N° 15: Criterios microbiológicos para Helados a base de agua. ⁽⁸⁾

3.2 Subgrupo del alimento: Helados de agua			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	A	< 3 NMP/mL

ANEXO N° 8

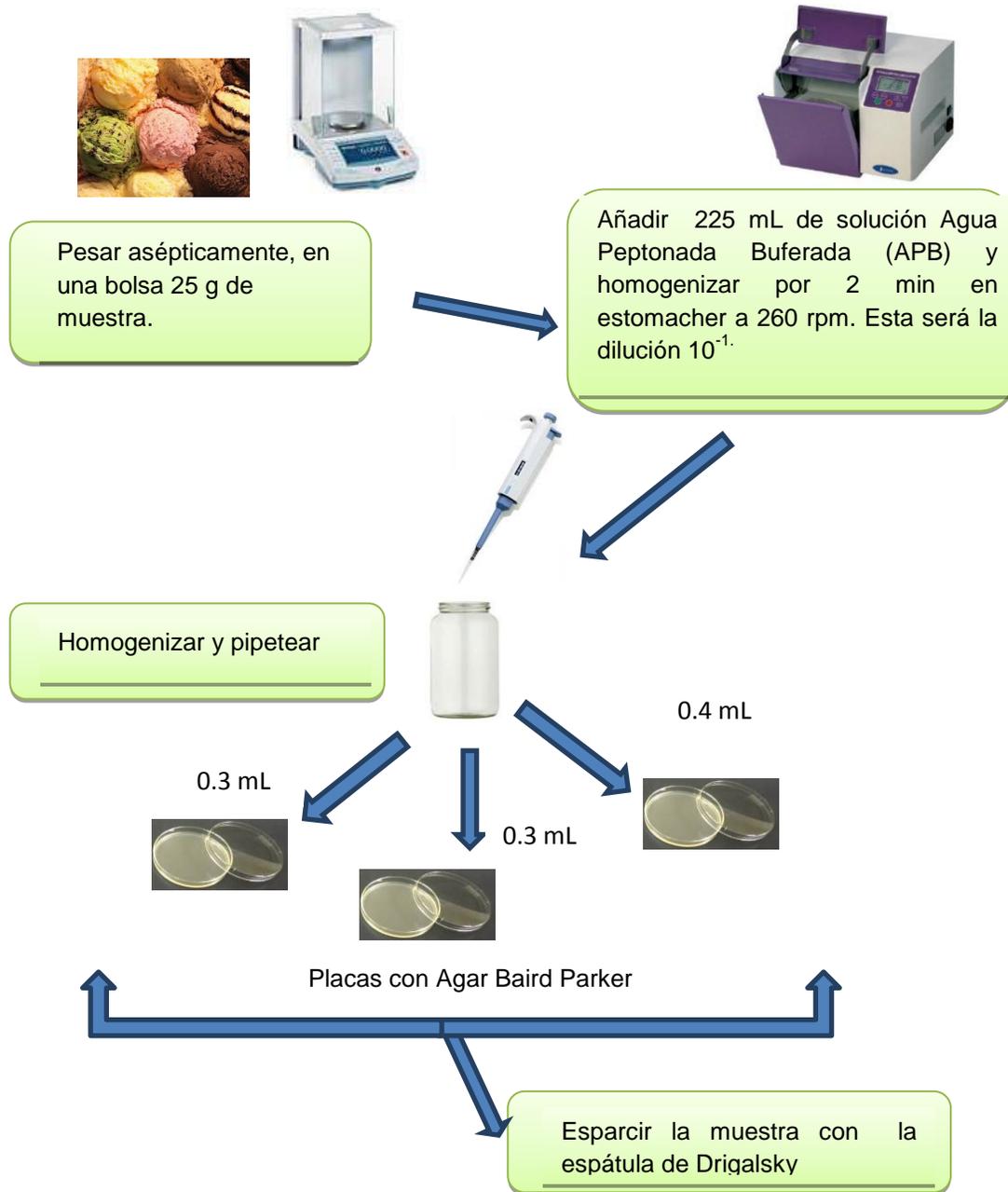


Figura N°29: Procedimiento para el aislamiento de *Staphylococcus aureus*.⁽¹¹⁾

ANEXO N° 9

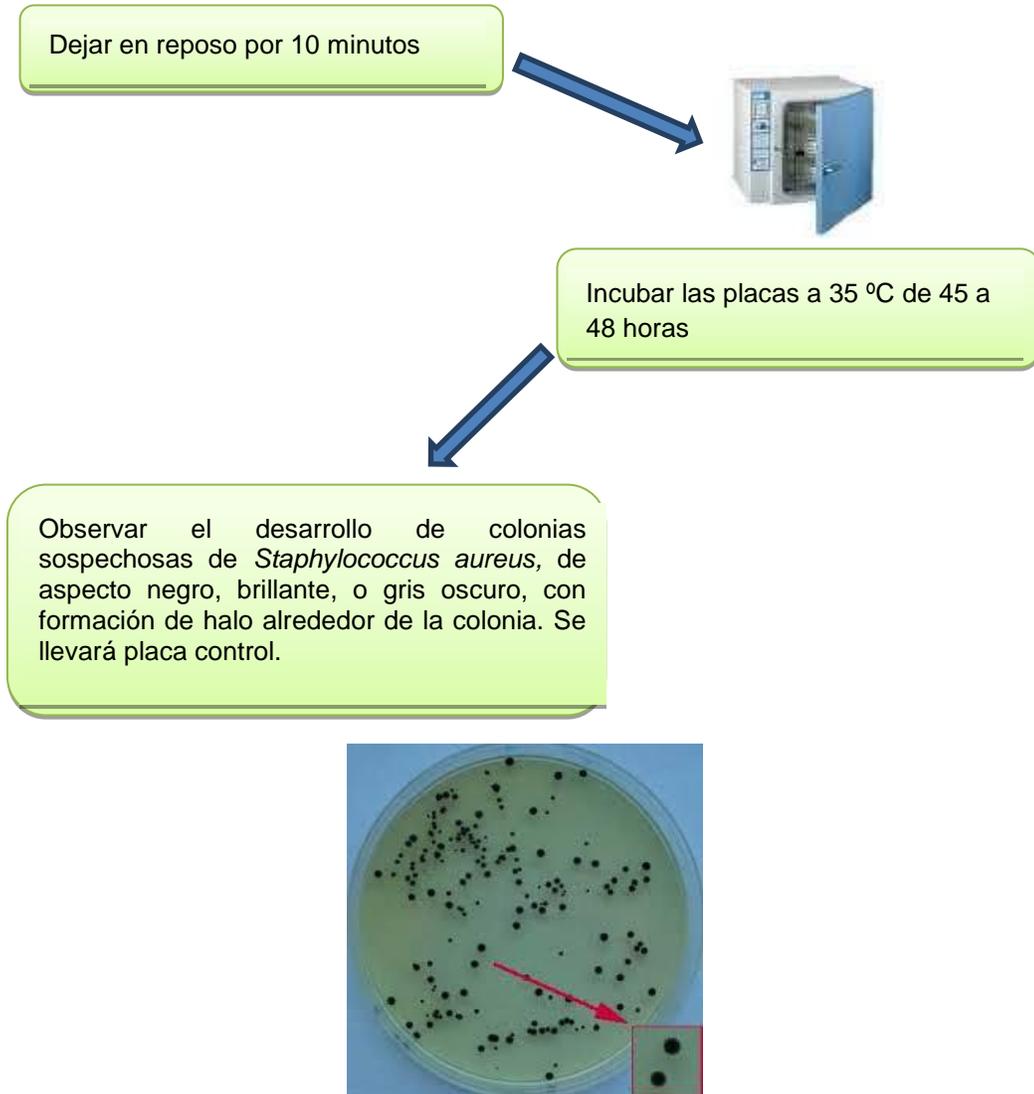


Figura N°30: Procedimiento para la Determinación de *S. aureus*.⁽¹¹⁾

ANEXO N° 10

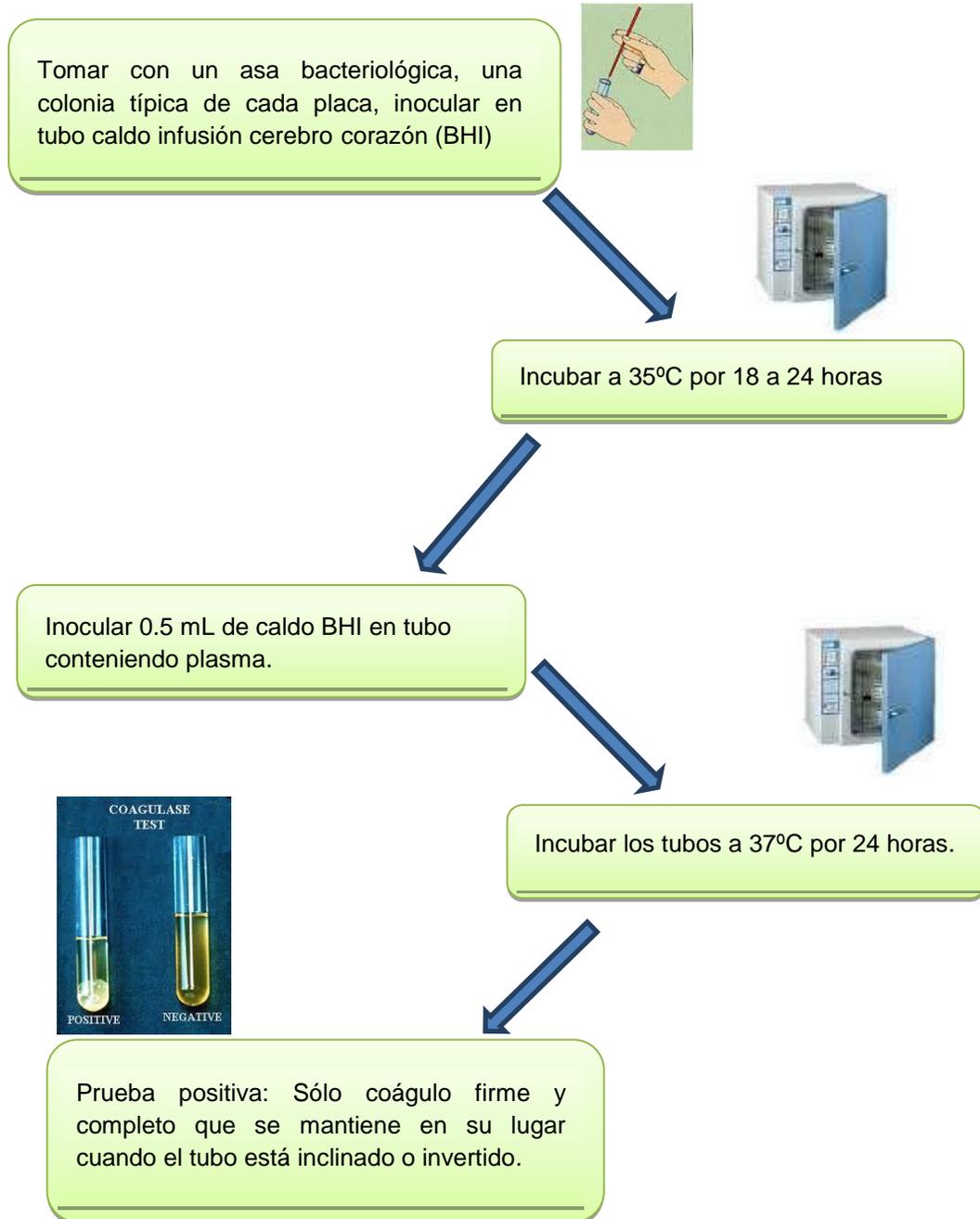


Figura N°31: Procedimiento para la Identificación por prueba de coagulasa para *S. Aureus*.⁽¹¹⁾

ANEXO N° 11

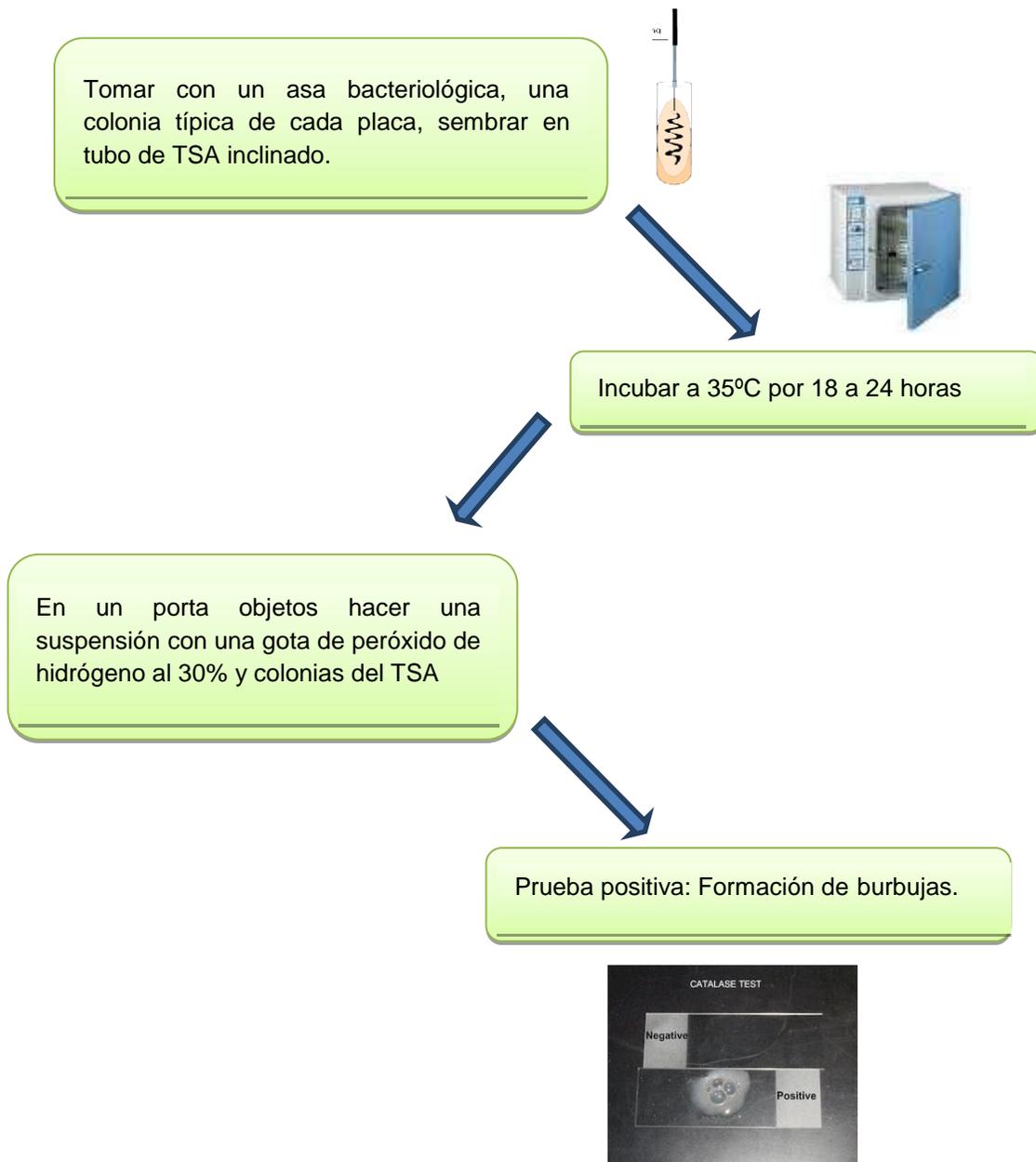


Figura N°32: Procedimiento para la Identificación por prueba de catalasa para *S. aureus*.⁽¹¹⁾

ANEXO N° 12

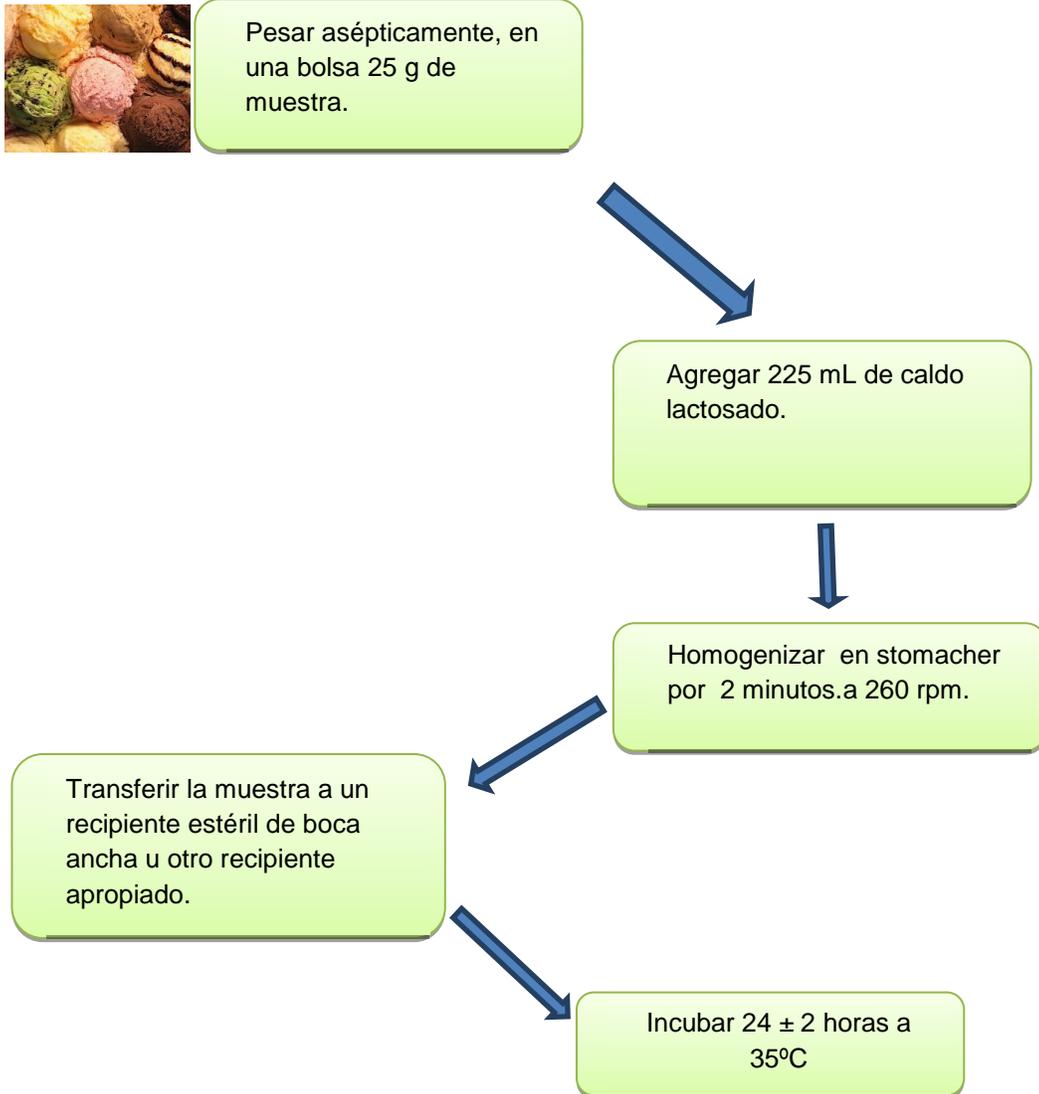


Figura N°33: Tratamiento de muestra para la Determinación de *Salmonella spp.* ⁽¹¹⁾

ANEXO N° 13

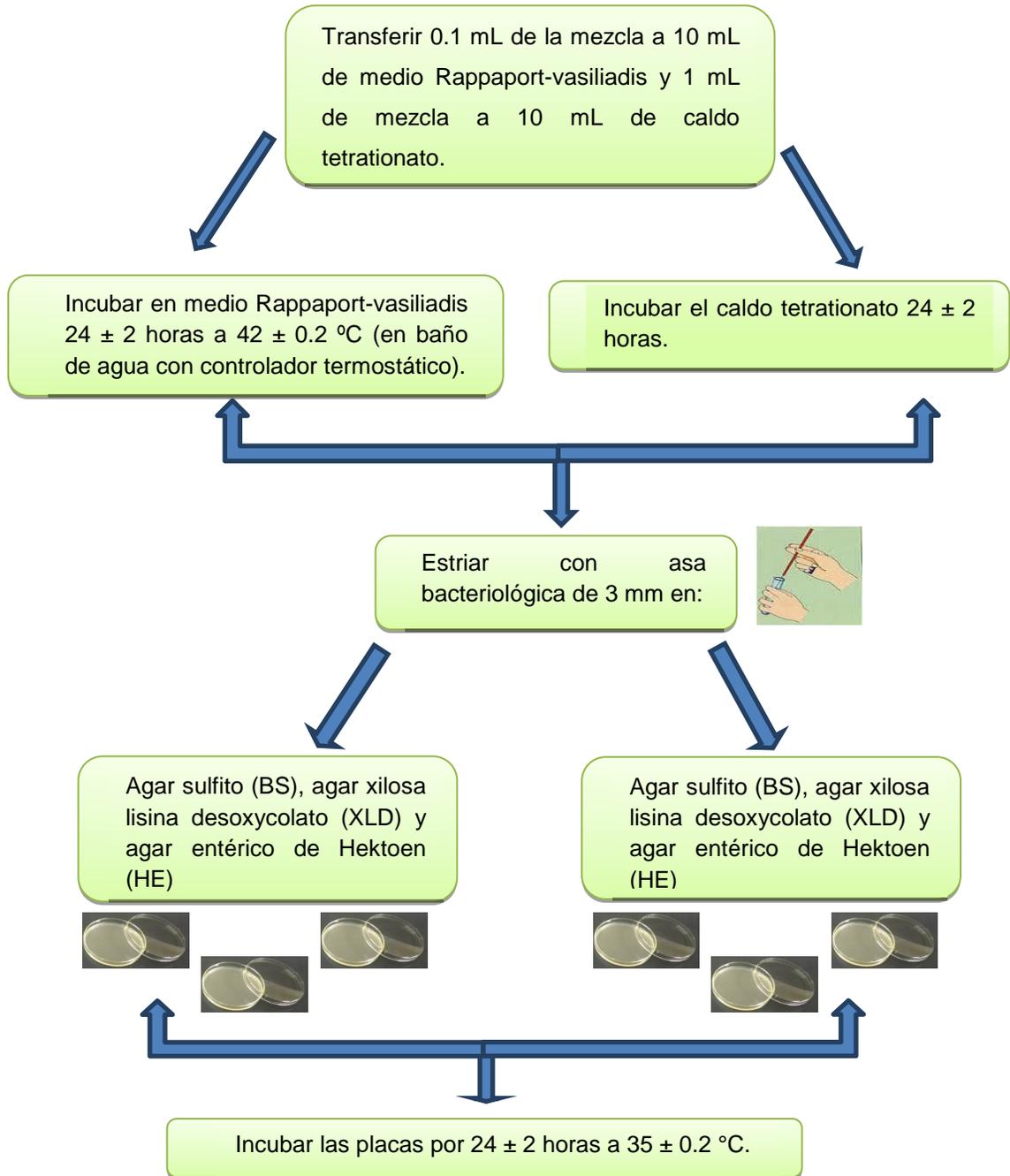


Figura N°34: Procedimiento para el Aislamiento de *Salmonella spp.* (11)

ANEXO N° 14

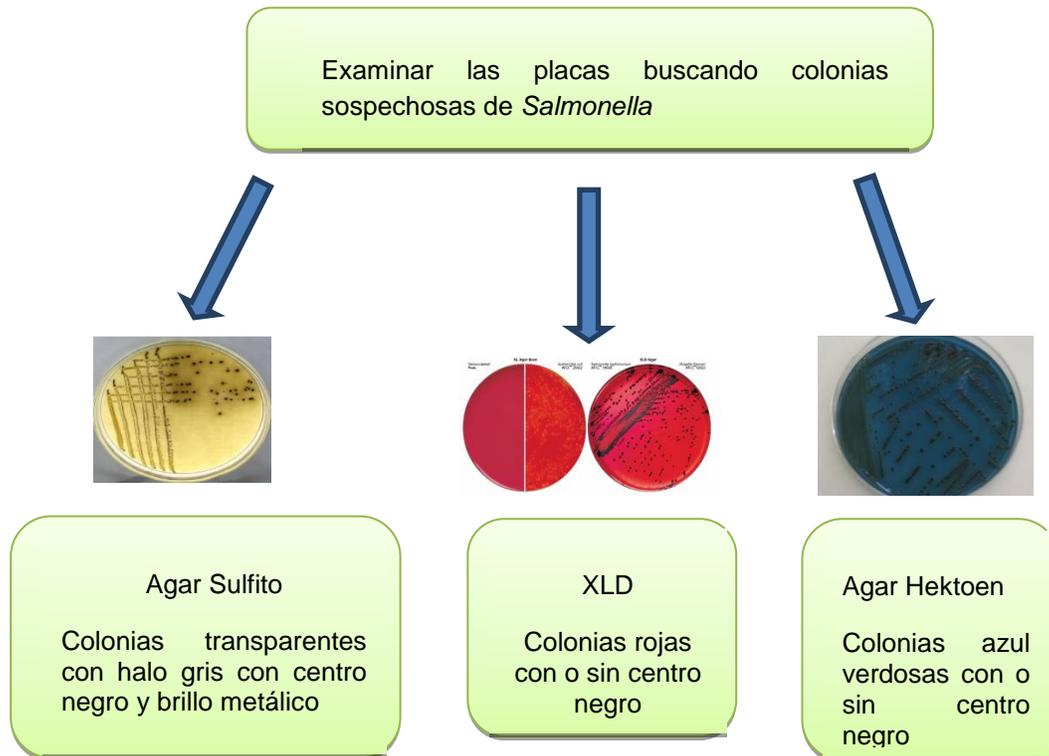


Figura N°35: Identificación de *Salmonella spp.* en agar Sulfito, XLD y Agar Hektoen. ⁽¹¹⁾

ANEXO N° 15

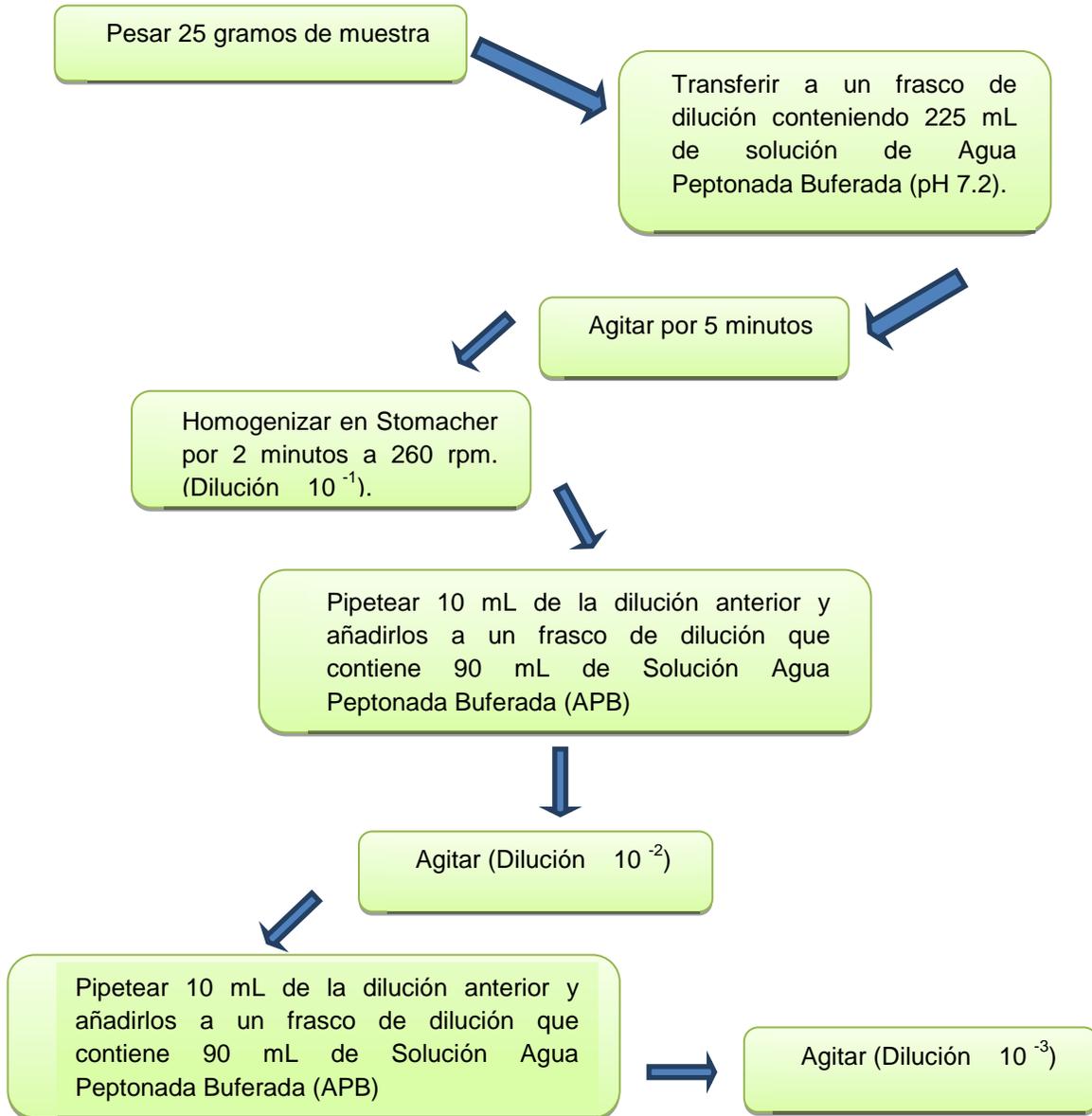


Figura N°36: Preparación de la muestra para la determinación de *E. coli* en helados. ⁽¹¹⁾

ANEXO N° 16

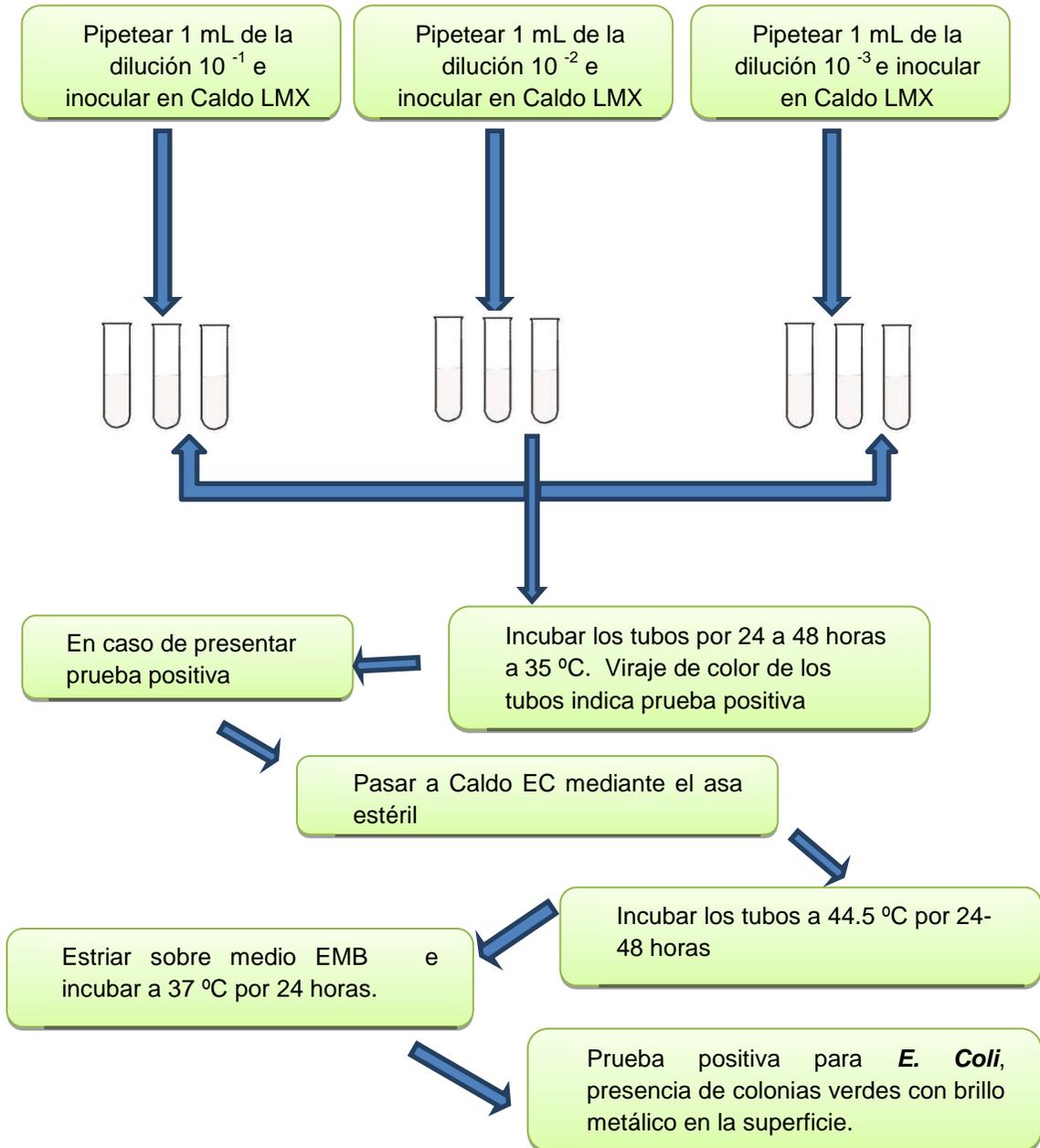
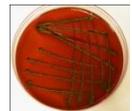


Figura N°37: Prueba confirmativa para *E. coli*.⁽¹¹⁾



ANEXO N° 17

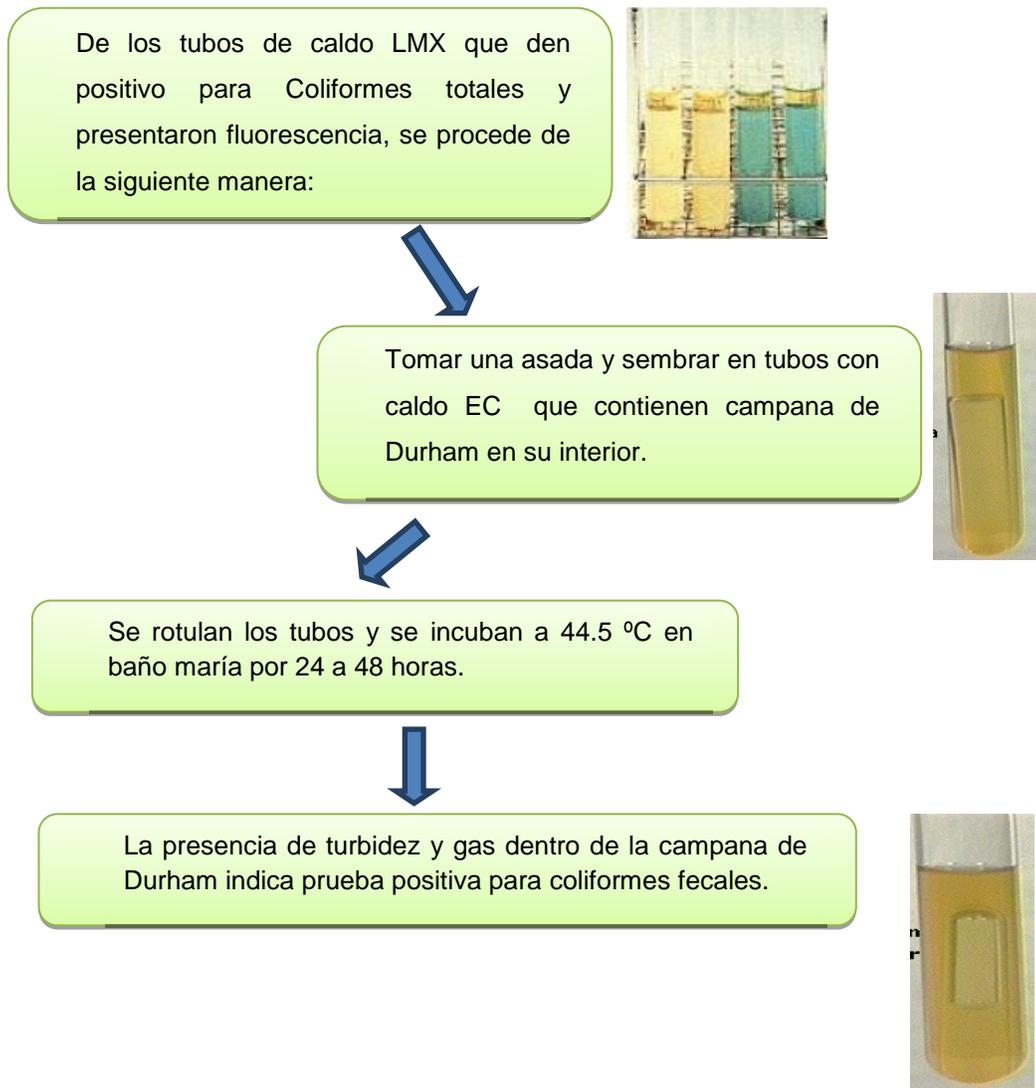


Figura N°38: Prueba confirmativa para Coliformes Fecales. ⁽¹¹⁾

ANEXO N° 18

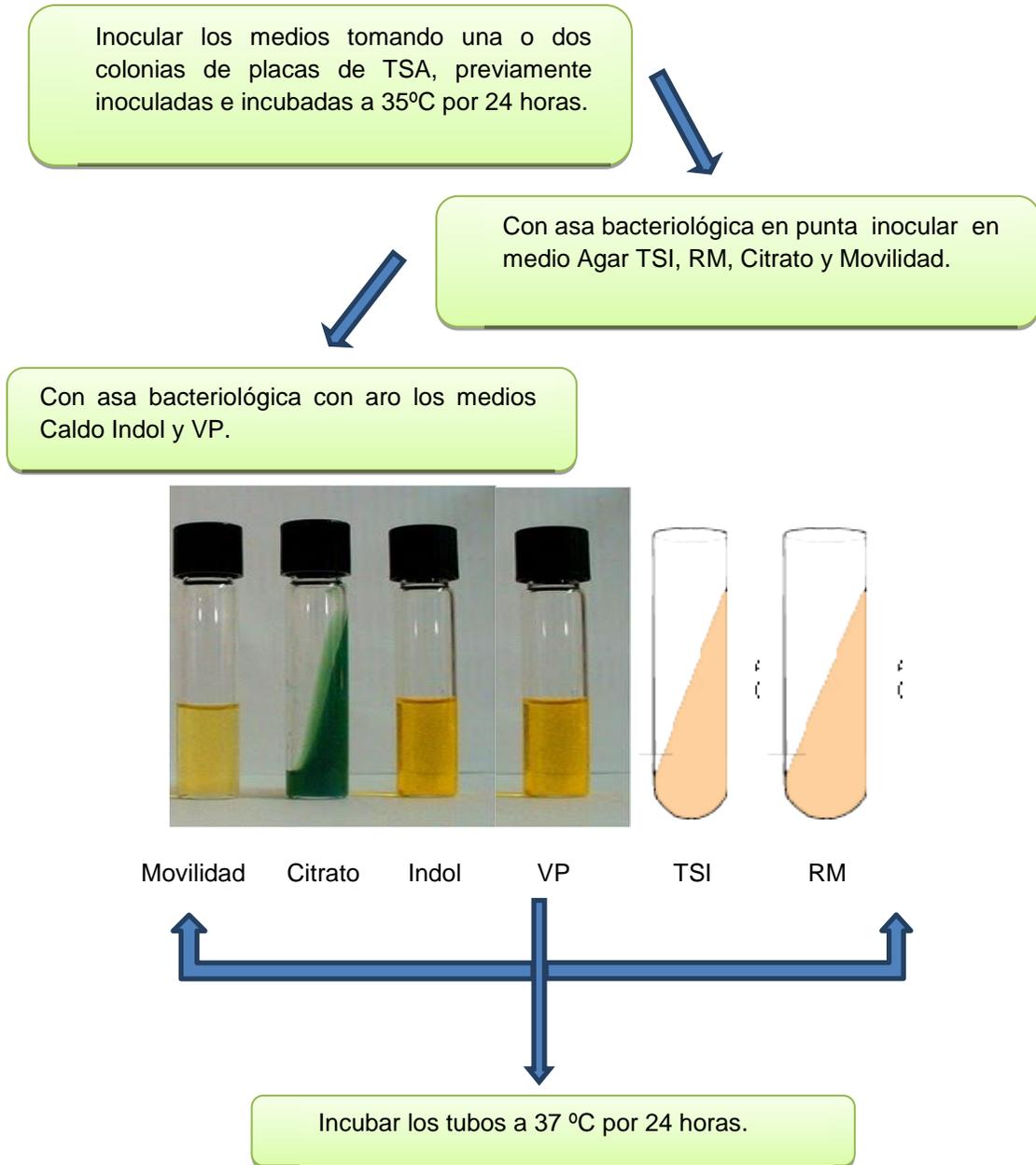


Figura N°39: Prueba Bioquímicas para *Salmonella spp.* ⁽¹¹⁾

ANEXO N° 19

Tabla N° 16: Interpretación de Resultados de Pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.* ⁽⁵⁾

Sustrato	Reactivos	Resultado positivo	Resultado negativo	Resultado obtenido
Indol	5 gotas de éter etílico + 5 gotas de reactivo de Erlich.	Se forma un anillo violeta en la superficie del caldo.	Coloración amarilla en superficie.	Negativo
Rojo de Metilo	Agregar 5 gotas de rojo de metilo.	El medio cambia a Rojo difuso	Amarillo difuso	Positivo
Voges Proskauer	1 mL de KOH + 1 mL de alfa-naftol.	El medio cambia a Rosado - rojo	No cambia de color	Positivo
Citrato	Medio color verde inicial.	El medio cambia a color azul.	No cambia de color.	Positivo
Movilidad	Observar movilidad	Se observa Movilidad en el medio.	No hay Movilidad.	Positivo
TSI	Ver coloración de Bisel y fondo. Observar producción de gas y H ₂ S.	Fondo amarillo con ennegrecimiento y producción de gas en el medio.	Fondo rojo sin ennegrecimiento sin producción de gas.	Negativo

ANEXO N° 20

Tabla N° 17: Resultados de Pruebas bioquímicas a microorganismos sospechoso. ⁽⁵⁾

Microorganismo Prueba Bioquímica	Resultado	Enterobacter
H ₂ S	Sin ennegrecimiento	-
TSI Bisel/fondo	Medio color amarillo Producción de gas	A/A gas (+)
Indol	Sin cambio de color del medio	-
VP	Coloración rosado-rojiza al agregar el reactivo	+
RM	Coloración rojiza profunda al agregar el reactivo	+ ó -
Citrato	El medio cambio a color azul	+
Movilidad	Se observa movilidad en el medio	+

ANEXO N° 21

Tabla N° 18: Tabla del número Más Probable (NMP) por mL/g de muestra, utilizando series de tres tubos con 10, 1.0, 0.1 mL respectivamente. ⁽¹⁰⁾

Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo	Combinación de tubos positivos			NMP por gramo
10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
0	0	0	<3	1	1	1	11	2	2	2	35
0	0	1	3	1	1	2	15	2	2	3	42
0	0	2	6	1	1	3	19	2	3	0	29
0	0	3	9	1	2	0	11	2	3	1	36
0	1	0	3	1	2	1	15	2	3	2	44
0	1	1	6	1	2	2	20	2	3	3	53
0	1	2	9	1	2	3	24	3	0	0	23
0	1	3	12	1	3	0	16	3	0	1	39
0	2	0	6	1	3	1	20	3	0	2	64
0	2	1	9	1	3	2	24	3	0	3	95
0	2	2	12	1	3	3	29	3	1	0	43
0	2	3	16	2	0	0	9	3	1	1	75
0	3	0	9	2	0	1	14	3	1	2	120
0	3	1	13	2	0	2	20	3	1	3	160
0	3	2	16	2	0	3	26	3	2	0	93
0	3	3	19	2	1	0	15	3	2	1	150
1	0	0	4	2	1	1	20	3	2	2	210
1	0	1	7	2	1	2	27	3	2	3	290
1	0	2	11	2	1	3	34	3	3	0	240
1	0	3	15	2	2	0	21	3	3	1	460
1	1	0	7	2	2	1	28	3	3	2	1100
								3	3	3	>1600

ANEXO Nº 22

Presentación de información de las muestras de helados a base de leche y agua analizados.

Tabla N°19: Presentación de información de las muestras de helados a base de leche y agua analizados.

Código	Presentación	Lote	Fecha de Fabricación	Fecha de vencimiento
DD01	½ Litro	03/03/2014	03/03/2014	03/03/2015
DD02	½ Litro	2504	----	25/04/2015
DD03	1 Litro	1803123	----	18/11/14
DD04	½ Litro	L08G22C	----	25/04/15
SSS05	Vaso	04314	----	12/02/2015
SSS06	½ Litro	09/05/2014	09/05/2014	09/05/2015
SSS07	900 mL	----	----	10/14
SSS08	536 g	11/01/14	----	11/09/14
SSE09	½ Litro	14/04	----	14/04/15
SSE10	1 Litro	13/05/2014	----	13/05/15
SSE11	½ Litro	----	----	10/10/14
SSE12	½ Litro	L08B11B	----	06/03/15
DD13	½ Litro	L08B11B	----	06/03/15
DD14	946 mL	2304	----	31/01/15
DD15	½ Litro	03/03/14	----	03/03/15

Tabla N°19: Continuación... Presentación de información de las muestras de helados a base de leche y agua analizados.

Código	Presentación	Lote	Fecha de Fabricación	Fecha de vencimiento
DD16	½ Litro	2304	-----	23/04/15
SSS17	1 pinta	E126:E1	-----	30/11/2015
SSS18	½ Litro	16/04/14	16/04/14	16/04/15
SSS19	Vaso	----	----	30/10/14
SSS20	1 Litro	----	28/03/14	28/11/14
SSE21	1 Litro	----	----	06/09/14
SSE22	½ Litro	L08CD11A	-----	19/03/15
SSE23	½ Litro	1104	----	11/04/15
SSE24	1 pinta	E119:E1	----	31/10/15
DD25	1 Litro	21/02/14	----	21/10/14
SSS26	1 Litro	16/03/14	----	16/11/14
SSS27	1 Litro	09/02/14	----	09/10/14

ANEXO N° 23

Carta, resultados, conclusiones y recomendación de los análisis microbiológicos presentados a la Defensoría del Consumidor



San Salvador, 28 de Agosto de 2014
Licda. Yanci Guadalupe Urbina González
Presidenta de la Defensoría del Consumidor
Presente

Defensoría del Consumidor	
RECEPCION	
RECIBIDO	
Fecha:	28 Ago 2014
Hora:	11:40am
Nombre:	
Firma:	Blanca Palacios

Reciba un cordial saludo deseándole éxitos en su labor diaria.

El motivo de la presente es para presentar a usted los resultados del análisis microbiológico realizado a 27 muestras de helados provenientes de los principales supermercados del distrito dos del área metropolitana de San Salvador, ya que fue el objetivo de nuestro trabajo de graduación, titulado: **ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE HELADOS ELABORADOS DE FORMA INDUSTRIAL Y COMERCIALIZADOS EN LOS SUPERMERCADOS DEL DISTRITO DOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**, además para dar cumplimiento a uno de los objetivos específicos dar a conocer a las autoridades correspondientes, en este caso a la Defensoría del Consumidor, los resultados obtenidos en esta investigación.

Cabe mencionar que anexo a los resultados, se le incluyen las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 "Leche y productos lácteos" y "Hielos"; la cual se ha tomado como parámetro para comparar los resultados del estudio.

Agradeciendo de antemano su atención.

Atentamente,

F. 
Karla Marisela Grande González

F. 
Ruth Nathalia Vásquez Madrid

Estudiantes Egresadas de la Facultad de Química y Farmacia.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las muestras de helados que fueron recolectadas en los supermercados: Super Selectos (Metrosur y Metrocentro 8ª Etapa) y Despensa de Don Juan (Bulevar los Heroes), a los cuales se le realizaron las siguientes determinaciones que a continuación se detallan: para las 24 muestras de helados a base de leche se realizó recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además de ausencia o presencia de *Salmonella spp.* de acuerdo el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Grupo 1 “Leche y Productos Lácteos”:

Cabe destacar que se encontraron otros microorganismos no especificados por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 y que son de peligro para la salud del consumidor como lo son los Coliformes totales, Coliformes Fecales, los cuales causan enfermedades gastrointestinales y *Enterobacter sp.*, que puede causar infección urinaria.

La determinación realizada a cada una de las 3 muestras de los helados a base de agua según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Hielos” fue la siguiente: recuento de *Escherichia coli*, encontrándose también microorganismos como Coliformes fecales y Coliformes fecales no establecidos en el Reglamento antes mencionado.

Cuadro N° 12: Resultados del análisis de muestras de helados a base de leche.

Supermercado	Marca	Lote	Sabor	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Cumple con las especificaciones del RTCA
				Límite permitido por el RTCA			
				<3 NMP/mL	10 ² UFC/g	Ausencia	
Despensa de Don Juan Bulevar los Heroes	Rio Soto	03/03/2014	Zebra	23	<10	Ausencia	No Conforme
	Eskimo	2504	Vainilla	<3	<10	Ausencia	Conforme
	POPS	1803123	Galleta	23	40	Ausencia	No conforme
	Sarita	L08G22C	Chocolate	305	<10	Ausencia	No conforme
Súper Selectos Metrosur	Dos pinos	04314	Vainilla Chocolate	<3	<10	Ausencia	Conforme
	Rio Soto	09/05/2014	Besito	290	55	Ausencia	No conforme
	Tasty	----	Vainilla-Fresa	135	<10	Ausencia	No conforme
	POPS	11/01/14	ChocoChips	12	<10	Ausencia	No conforme
Súper Selectos Metrocentro 8ª Etapa	Eskimo	14/04	Napolitano	<3	<10	Ausencia	Conforme
	Rio Soto	13/05/2014	Vanimora	25	<10	Ausencia	No Conforme
	Tasty	----	Chocolate-Vainilla	780	>65,000	Ausencia	No Conforme
	Sarita	L08B11B	Ron con Pasa	125	>65,000	Ausencia	No Conforme

Cuadro N° 12: Continuación...Resultados para análisis de muestras de helados a base de leche

Supermercado	Marca	Lote	Sabor	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Cumple con las especificaciones del RTCA
				Límite permitido por el RTCA			
				<3 NMP/mL	10 ² UFC/g	Ausencia	
Despensa de Don Juan Bulevar los Heroes	Sarita	L08B11B	Ron con Pasas	4	>65,000	Ausencia	No Conforme
	Dos pinos	2304	Veteado Vainilla Caramelo	<3	<10	Ausencia	Conforme
	Rio Soto	03/03/14	Vanimora	<3	<10	Ausencia	Conforme
	Eskimo	2304	Chocolate	<3	<10	Ausencia	Conforme
Súper Selectos Metrosur	La Neveria	E126:E1	Vainilla	16	170	Ausencia	No Conforme
	Rio Soto	16/04/14	Ron con Pasas	10	>65,000	Ausencia	No Conforme
	Tasty	----	Zebra	34	>65,000	Ausencia	No Conforme
	POPS	----	Chocolate	<3	<10	Ausencia	Conforme
Súper Selectos Metrocentro 8ª Etapa	Tasty	----	Vainilla-Fresa	<3	>65,000	Ausencia	No conforme
	Sarita	L08CD11A	Fresa	135	>65,000	Ausencia	No Conforme
	Eskimo	1104	Crema con Galleta	4	21,667	Ausencia	No Conforme
	La Neveria	E119:E1	Fresa	<3	<10	Ausencia	Conforme

Cuadro N° 13: Resultados de otros microorganismos encontrados en muestras de helados a base de leche.

Supermercado	Marca	Lote	Sabor	Otros microorganismos		
				Coliformes Totales (NMP/mL)	Coliformes Fecales (NMP/mL)	<i>Enterobacter sp.</i>
Despensa de Don Juan Bulevar los Heroes	Rio Soto	03/03/2014	Zebra	23	23	Ausencia
	POPS	1803123	Galleta	23	23	Ausencia
	Sarita	L08G22C	Chocolate	460	460	Presencia
	Sarita	L08B11B	Ron con Pasas	>1600	>1600	Presencia
	Dos pinos	2304	Veteado Vainilla Caramelo	>1600	>1600	Ausencia
	Rio Soto	03/03/14	Vanimora	23	23	Ausencia
	Eskimo	2304	Chocolate	4	4	Presencia
Súper Selectos Metrosur	Rio Soto	09/05/2014	Besito	460	460	Ausencia
	Tasty	----	Vainilla-Fresa	>1600	>1600	Presencia
	POPS	11/01/14	ChocoChips	240	21	Ausencia
	La Neveria	E126:E1	Vainilla	93	43	Presencia
	Rio Soto	16/04/14	Ron con Pasas	4	4	Presencia
	Tasty	----	Zebra	4	<3	Ausencia

Cuadro N° 13: Continuación... Resultados de otros microorganismos encontrados en muestras de helados a base de leche

Supermercado	Marca	Lote	Sabor	Otros microorganismos		
				Coliformes Totales	Coliformes Fecales	<i>Enterobacter sp.</i>
Súper Selectos Metrocentro 8ª Etapa	Eskimo	14/04	Napolitano	4	<3	Ausencia
	Rio Soto	13/05/2014	Vanimora	43	23	Presencia
	Tasty	----	Chocolate-Vainilla	>1600	>1600	Ausencia
	Sarita	L08B11B	Ron con Pasa	>1600	>1600	Ausencia
	Tasty	----	Vainilla-Fresa	9	9	Presencia
	Sarita	L08CD11A	Fresa	>1600	>1600	Ausencia
	Eskimo	1104	Crema con Galleta	4	4	Presencia
	Eskimo	14/04	Napolitano	4	<3	Ausencia

Cuadro N° 14: Resultados para análisis de muestras de helados a base de agua.

Código de muestra	Marca	Lote	Sabor	<i>Escherichia coli</i>		Cumple con las especificaciones del RTCA	Otros microorganismos
				Límite permitido por el RTCA			
				<3 NMP/mL			
				1 ^a	2 ^a		
Dispensa de Don Juan Bulevar los Héroes	POPS	21/02/14	Guayaba	4	<3	Conforme	-----
Súper Selectos Metrosur	POPS	16/03/14	Guayaba	4	15	No Conforme	Coliformes totales y fecales
Súper Selectos Metrocentro 8 ^a Etapa	POPS	09/02/14	Guayaba	4	9	No Conforme	Coliformes totales y fecales



Conclusión:

De las 24 muestras de Helados a base de leche analizados en 3 sucursales de Supermercados (2 Súper Selectos y 1 Despensa de Don Juan) solamente el 33.33% de las muestras cumplen lo especificado por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Leche y productos Lácteos” y son aptas para ser consumidas sin que puedan causar daño a la salud de los consumidores. Mientras el 66.67% de muestras no cumplen con los criterios microbiológicos establecidos en Reglamento anteriormente mencionado. En cuanto a las 3 muestras de Helados a base de agua que se analizaron en las 3 sucursales de Supermercados, solamente el 33.33% de las muestras cumplió con las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 en lo referente a “Hielos”. Mientras que el 66.67% de muestras restantes no cumplieron con el límite y representa un riesgo su consumo para la salud de los consumidores. Como puede observarse en el cuadro de resultados muchas de las muestras tienen altas cargas de microorganismos patógenos que indican que el producto posiblemente en su elaboración no se está siguiendo Buenas Prácticas de Manufactura ni buenas prácticas de almacenamiento, distribución y comercialización del producto.

Recomendación: Por lo anterior se recomienda que se realicen inspecciones en las industrias fabricantes de helados con el fin de conocer las condiciones bajo las cuales están siendo elaborados, así como también realizar las inspecciones respectivas en los supermercados para verificar las condiciones de almacenamiento, comercialización, verificación de tapaderas y sellos de estos productos.