

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE DULCES  
TÍPICOS COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO CENTRAL DE SAN  
SALVADOR**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:**

**ANGEL ANTONIO DELGADO GALLEGOS  
MARJORIE PAOLA RUIZ PORTILLO**

**PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO (A) EN QUÍMICA Y FARMACIA**

**OCTUBRE 2015**

**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA**

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

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

**TRIBUNAL CALIFICADOR**

**COORDINADORA DE AREA: QUIMICA AGRICOLA**

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

**COORDINADORA DE AREA: GESTION AMBIENTAL:**

**CALIDAD AMBIENTAL**

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

**DOCENTE ASESORA**

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios primeramente por cada una de las bendiciones que he recibido hasta el día de hoy. Por haberme permitido llegar a esta gran meta y por brindarme la sabiduría y el entendimiento necesario para continuar por el buen camino.

A mi papá y mamá por el apoyo tan incondicional que me han dado ya que sin ellos no podría haber llegado a esta etapa de mi vida. Por todos sus consejos que me permitieron seguir por un camino de rectitud y de éxito. Por ser unos padres ejemplares y amorosos que siempre buscan que me supere día con día.

A mi hermana por ser una de las personas más importantes en mi vida, ya que siempre me ha apoyado en todo, me ha dado ánimo para seguir adelante y no darme por vencido.

A mi novia por todo el apoyo que me ha brindado, porque ante cualquier dificultad siempre ha estado para darme palabras de ánimo y porque fue un apoyo fundamental en los últimos años de mi carrera.

A mis amigos y amigas que de una u otra forma me ayudaron ante cualquier obstáculo, por todos los momentos divertidos y tristes que pasamos juntos en los cinco años de la carrera y porque sé que siempre podré contar con ellos.

A todas estas personas agradezco por el tiempo de calidad que pasamos y por toda la paciencia que me han tenido a lo largo de este proceso.

Finalmente agradecer a todos los catedráticos y asesora de tesis por todas sus enseñanzas brindadas y por la orientación recibida por parte de ellos para poder culminar este proceso

Angel Antonio Delgado Gallegos

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme alcanzar esta meta brindándome la sabiduría, salud perseverancia y darme fuerzas durante todo el camino.

A mi papá por su apoyo incondicional durante toda la carrera y ser un buen ejemplo a seguir y darme sus consejos que me han ayudado día a día.

A mis tías y primos por estar siempre conmigo y darme el apoyo necesario y creer en mí durante todo momento de mi vida.

A mi novio por su apoyo incondicional, paciencia y estar conmigo apoyándome durante la carrera.

A todos mis amigos y personas que de una forma u otra apoyaron mi culminación de esta carrera.

A todos los catedráticos por sus conocimientos brindados.

A la directora general de procesos de trabajos de graduación, coordinadoras de área y docente asesora por aportar sus conocimientos y experiencia durante el desarrollo de esta investigación.

Marjorie Paola Ruiz Portillo

## INDICE

	<b>Página</b>
Resumen	
Capítulo I	
1.0. Introducción	xxi
Capítulo II	
2.0. Objetivos	
Capitulo III	
3.0. Marco Teórico	27
3.1. Dulces Típicos	27
3.2. Elaboración y comercialización de los dulces típicos de feria	28
3.3. Materia prima utilizada para la elaboración de dulces típicos	28
3.4. Ejemplos de dulces típicos	29
3.5. Clasificación de los dulces típicos según sus ingredientes.	30
3.6. El azúcar como ingrediente de conservación en los dulces típicos	31
3.7. Inocuidad de los Alimentos	32
3.8. Fuentes de contaminación de los alimentos	33
3.9. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA's)	34

3.10. Microorganismos indicadores según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turronez mazapán y dulces típicos.	35
3.10.1. <i>Salmonella spp</i>	36
3.10.1.1. Salmonelosis	37
3.10.2. Medios para determinar la presencia de <i>Salmonella spp</i>	37
3.10.2.1. Caldo Rappaport	37
3.10.2.2. Caldo Tetracionato	38
3.10.2.3. Agar Cromogénico <i>Salmonella</i>	38
3.10.2.4. Agar XLD	39
3.10.3. Grupo coliforme total	39
3.10.4. Grupo coliforme fecal	40
3.10.5. <i>Escherichia coli</i>	40
3.10.6. Medios de cultivo para determinar la presencia de <i>Escherichia coli</i> .	41
3.10.6.1. Caldo LMX Fluorocult	41
3.10.6.2. Caldo EC	42
3.10.6.3. Agar EMB	42

3.11. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella sp</i>	43
3.11.1 Pruebas bioquímicas	43
3.12 <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3.12.1 Contaminación de alimentos por <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3.12.2 Medios para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
3.12.2.1 Agar Baird – Parker	46
3.12.2.2 Caldo BHI	46
3.13 Pruebas Diagnósticas para <i>Staphylococcus aureus</i>	47
3.13.1 Prueba de Catalasa	47
3.13.2 Prueba de la coagulasa	47
3.14 Descripción de la zona de estudio	48
Capítulo IV	
4.0. Diseño Metodológico	50
4.1. Tipo de estudio	50
4.2. Investigación bibliográfica	50
4.3. Investigación de campo	51
4.3.1. Universo	51
4.3.2. Muestra	51



## Capítulo VII

### 7.0. Recomendaciones

85

#### Bibliografía

#### Anexos

## INDICE DE ANEXOS

### Anexo N°

- 1 Ubicación de los puestos de venta de Dulces Típicos en Mercado Central de San Salvador
- 2 Listas de chequeo.
- 3 Identificación de cada muestra (código de muestra).
- 4 Fotografías de puestos de ventas de Dulces Típicos.
- 5 Fotografías de las muestras de dulces típicos analizados.
- 6 Pruebas Bioquímicas para *Klebsiella pneumoniae*
- 7 Etiqueta de identificación de cada muestra
- 8 Esquema de dilución de muestra de dulces típicos.
- 9 Técnica número más probable (NMP)
- 10 NMP Para 3 tubos cada uno con 0.1, 0.01 y .001 g de inóculo con límites de confianza de 95%.
- 11 Esquema para determinación de coliformes fecales
- 12 Esquema para la determinación de *Escherichia coli*
- 13 Esquema para la determinación de *Staphylococcus aureus*
- 14 Esquema para la realización de prueba coagulasa para comprobación de presencia de *Staphylococcus aureus*.
- 15 Esquema para la determinación de *Salmonella*.
- 16 Reacciones bioquímicas y serológicas de *Salmonella*
- 17 Resultados a presentar al Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC)

## INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Página
1. Variedad de dulces típicos comercializados en El Salvador	29
2. Dulces Típicos según sus ingredientes	31
3. Criterios microbiológicos	35
4. Condiciones de crecimiento de la <i>Salmonella spp</i>	36
5. Forma en que se presenta la salmonelosis	37
6. Análisis realizados a cada una de las variedades de dulces típicos seleccionados.	54
7. Resultados de parámetros evaluados por medio de una lista de chequeo de las Buenas Practicas Higiénicas con que se comercializan los dulces típicos.	65
8. Muestras de dulces típicos contaminadas con <i>Escherichia coli</i>	73

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>	<b>Página</b>
1. Total de unidades de dulces típicos muestreadas.	52
2. Preferencia de consumo de dulces típicos por la población	63
3. Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos del Mercado Central.	69
4. Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos de la marca comercial calidad exportación.	71
5. Porcentajes de muestras de Dulces que cumplen y no cumplen con los parámetros del Reglamento Técnico Centroamericano.	79

## INDICE DE FIGURAS

Figura N°	Página
1. Grafico de preferencia de consumo de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador	64
2. Gráfico de los parámetros evaluados en la lista de chequeo de las Buenas Practicas Higiénicas con que se comercializan los dulces típicos.	66
3. Coloración azul verdosa en los tubos con Caldo LMX indican prueba positiva para Coliformes totales.	74
4. Confirmación de <i>Escherichia coli</i> mediante fluorescencia con luz UV y formacion de anillo violáceo con reactivo de Kovacs.	74
5. Confirmación de <i>Escherichia coli</i> . Presencia de turbidez en tubos con Caldo EC y formación de gas en las campanas de Durham.	75
6. Confirmación de <i>Escherichia coli</i> en agar EMB mediante el crecimiento de colonias características de color verde brillante.	75
7. Placas de Agar Baird Parker sin crecimiento de <i>Staphylococcus Aureus</i>	76
8. Pre-enriquecimiento de <i>Salmonella spp</i> en Caldo Lactosado.	77
9. Enriquecimiento de <i>Salmonella spp</i> en Caldo Rappaport y Caldo Tetratonato	78

10. Placas con agar XLD y Agar Cromogénico *Salmonella* sin crecimiento de *Salmonella spp* pero si con crecimiento de *Klepsiella pneumoniae*. 78
11. Gráfica de muestras de dulces típicos que cumplen y no cumplen con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08. 80

## **ABREVIATURAS**

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

**NMP/g**= Número más probable por gramo de muestra.

**ETA's**= Enfermedades transmitidas por alimentos.

**BAM**= Manual de análisis bacteriológico.

**RTCA**= Reglamento Técnico Centroamericano.

**TSI**= Agar triple azúcar hierro.

**H<sub>2</sub>S**= Sulfuro de hidrógeno.

**XLD**= Agar Xilosa-Lisina-Desoxilato

**Agar EMB**= Eosina-azul de metileno.

## **RESUMEN**

## RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la calidad microbiológica de dulces típicos de marca calidad exportación y aquellos comercializados en el mercado central de San Salvador con el objeto de comparar la inocuidad de estos. Dichas determinaciones se realizaron en el periodo de julio a agosto de 2015.

Para el desarrollo del trabajo se realizó una lista de chequeo con la cual se determinaron las 6 variedades de dulces típicos más comercializadas en el mercado central de San Salvador; las cuales fueron: dulce de tamarindo, dulce de nance, dulce de leche, espumilla, conserva de coco blanca y coco rallado.

Adicionalmente, se evaluaron por medio de una lista de chequeo las buenas prácticas higiénicas en las que se comercializan dicho dulces.

Posteriormente se realizaron análisis microbiológicos basados en la metodología del Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) para determinar la presencia de microorganismos patógenos como: *Escherichia coli* en todas las muestras analizadas, *Staphylococcus aureus* en aquellas elaboradas a base de leche y *Salmonella spp* en las que son elaboradas a base de huevo, todos los resultados fueron comparados con los límites especificados en Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos.

En la determinación de *Escherichia coli* (NMP/g) se observó que para las muestras del Mercado Central de San Salvador los quintuplicados de muestras analizadas de dulce de nance, dulce de tamarindo y espumillas, cumplen con lo especificado en Reglamento Técnico Centroamericano; sin embargo, la conserva de coco blanca, dulce de leche y coco rallado analizadas no cumplen con el parámetro microbiológico para *Escherichia coli*, ya que los valores

obtenidos sobrepasan el límite máximo que es  $<3$  NMP establecido por dicho Reglamento.

Además para la determinación de *Staphylococcus aureus* el quintuplicado de muestras analizadas de dulce de leche cumplen con este parámetro microbiológico ya que los resultados fueron  $<10$ UFC/g mientras que en el análisis de espumilla el resultado fue la ausencia de *Salmonella spp* cumpliendo con lo especificado en el Reglamento

Del total de muestras analizadas para exportación el 100% cumplen con los parámetros microbiológicos especificados en el Reglamento Técnico Centroamericano considerándose todas estas muestras, aptas para consumo humano.

Con base en los resultados del estudio se recomienda que las autoridades correspondientes aumenten el monitoreo de los análisis microbiológicos a todas las variedades de dulces típicos comercializados y realizar inspecciones periódicas y así cumplir con el Reglamento Técnico Centroamericano para garantizar al consumidor del Mercado Central de San Salvador un producto inocuo. Así mismo, que el Ministerio de Salud implemente programas de capacitación sobre Buenas Practicas Higiénicas a las personas que comercializan y elaboran dulces típicos.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

En El Salvador los dulces típicos son una tradición popular y la mayoría de ellos son elaborados artesanalmente en pequeños lugares instalados en casas acondicionadas de acuerdo a las necesidades del proceso. Debido a su forma de elaboración estos dulces típicos tiene un estrecho contacto con la persona que los elabora, haciéndolos más susceptibles a la contaminación con microorganismos patógenos <sup>(19)</sup>

Con base en lo anterior se determinó la calidad microbiológica de 30 muestras de dulces típicos mayormente comercializados en el mercado central de San Salvador. Para ello, previo a la realización de este trabajo se visitó el mercado central de San Salvador para verificar el número de puestos de venta de dulces típicos existentes y para conocer mediante una lista de chequeo las variedades de dulces típicos mayormente comercializados en dichos lugares. También se verificó en cada puesto de venta las condiciones ambientales y Buenas Prácticas Higiénicas en las que se comercializan los dulces típicos, mediante una lista de chequeo.

Adicional a las 30 unidades de dulces comercializadas en el mercado central de San Salvador se analizaron 6 muestras de dulces típicos de una marca específica que son de calidad de exportación (1 muestra por cada variedad seleccionada), para comparar la inocuidad.

Para determinar la calidad microbiológica de las 6 variedades de dulces típicos se realizaron los métodos de análisis y ensayos establecidos en el Manual de Análisis Bacteriológico (BAM), para determinar la presencia de microorganismos patógenos como: *Escherichia coli* (NMP/g) en todas las variedades seleccionadas, *Salmonella spp* en la variedad que tiene en su composición huevo y *Staphylococcus aureus* en aquella que posee leche.

Además se compararon los resultados con los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos.

Las variedades de dulces típicos fueron recolectadas y transportadas al laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador para sus respectivos análisis los cuales se realizaron en los meses de julio a noviembre del 2015.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la calidad microbiológica de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 2.2.1** Verificar a través de una lista de chequeo las buenas prácticas higiénicas en que se comercializan los dulces típicos.
- 2.2.2** Identificar la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en dulces típicos elaborados a base de huevo, *Staphylococcus aureus* en aquellos elaborados a base de leche y *Escherichia coli* en todos los dulces típicos seleccionados.
- 2.2.3** Comparar los resultados microbiológicos obtenidos, con los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrones mazapán y dulces típicos.
- 2.2.4** Comparar los resultados microbiológicos de dulces típicos de una marca comercial calidad exportación con los resultados obtenidos de las muestras comercializadas en el Mercado Central de San Salvador.

**2.2.5** Dar a conocer a las autoridades del Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC), los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de dulces típicos analizados en esta investigación.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

### 3.0 MARCO TEORICO

#### 3.1. Dulces Típicos. <sup>(16)</sup> <sup>(20)</sup>

Los dulces típicos son aquellos elaborados de manera artesanal, no poseen ningún tipo de químicos, son 100% típicos y son producidos y comercializados en las diferentes fiestas patronales de toda una región.

Los dulces artesanales o típicos, son deliciosos manjares elaborados a base del moldeado a mano y fogón de leña; sus sabores han ido variando con el tiempo, experimentando con nuevas texturas y frutas para ampliar las variedades.

Dentro de las variedades de dulces típicos se encuentran los dulces de tamarindo, nance, coco rallado, chilacayote, leche, conservas de coco blanca y negra, espumillas, melcochas, entre otros.

En El Salvador, existen diferentes tipos de dulces:

- En la periferia del departamento de Santa Ana se tiene como patrimonio cultural los “acitrones” que son dulces elaborados a base de frutas recubiertos de azúcar, uno de los más reconocidos es la “naranja tronada”.
- En el departamento de San Vicente en la Villa de San Esteban Catarina se preparan los dulces “chiclosos” como las melcochas, pero el patrimonio de la ciudad de San Vicente son los dulces de “camote”, un tubérculo de color rosa, que al ser cocido adquiere una consistencia pastosa que le da el sabor característico a este tipo de dulce.
- El dulce de “colación” elaborado de harina con azúcar es característico de la comunidad de Guacotecti del departamento de Cabañas.

- En la Zona Oriental del país reconocida por su tradición cañera, se encuentran las moliendas de donde se obtiene el atado de dulce y los batidos.

### **3.2. Elaboración y comercialización de los dulces típicos de feria.** <sup>(21)</sup>

La mayoría de empresas que elaboran estos dulces son de tipo familiar, instaladas en residencias familiares; acondicionadas a las necesidades que requieren los procesos de fabricación de los dulces típicos.

La mayoría de éstas empresas no cuentan con maquinaria para los procesos de producción, sino que principalmente se utiliza el método artesanal, donde se incluyen hornos, estufas, ollas, cuchillos, cucharas, tenedores, paletas de madera, bandejas, espátulas, básculas, ralladores, entre otros.

Cada dulce conlleva una serie de pasos para su fabricación y por el hecho de ser una forma de elaboración artesanal dependerá de las tradiciones que tengan las empresas familiares para dar un toque especial que los diferencie de otros dulces.

La forma más común de comercialización de los productos es mediante la exposición de los mismos en las ferias de los pueblos, motivo por el cual muchas personas le denominan dulce de feria.

### **3.3. Materia prima utilizada para la elaboración de dulces típicos** <sup>(21)</sup>

En la elaboración de los dulces típicos, la materia prima principal es la panela conocida como dulce de atado, y azúcar, frutas de temporada (coco, zapote, nance, higo, naranja, tamarindo, entre otras); semillas (marañón, maní,

almendra) hortalizas (camote, chilacayote) y leche. Otras materias primas utilizadas son la canela y colorantes naturales. También se utilizan materiales que no son parte directa del proceso pero que son necesarios para su desarrollo, como el papel celofán, papel mantequilla o papel de empaque. <sup>(16)</sup>

La mayoría de los dulces típicos que son elaborados en residencias familiares no poseen una marca específica que los identifique, no contienen una etiqueta en donde se observen sus características, el nombre de la dulcería ni el nombre del producto.

### 3.4. Ejemplos de dulces típicos

**Cuadro N° 1.** Variedad de dulces típicos comercializados en El Salvador <sup>(19)</sup>

Dulce Típico	Presentación
Quiebradiante	Es un caramelo duro, de color café, generalmente puede encontrarse con trozos de maní, ajonjolí o una mezcla de ambos.
Leche de burra	La leche de burra es un dulce blando de color café oscuro, se encuentra cubierto de azúcar pulverizada.
Conserva de coco	Existen dos variedades de esta conserva, “la conserva de coco blanca” (a base de azúcar) y “la conserva de coco negra” (a base de dulce de panela). Este dulce típico es muy blando y desmenuzable debido a los pequeños pedazos de coco rallado que lo conforman.
Dulce de chilacayote	Dulce de color café claro de consistencia crujiente y fibrosa, en este dulce se suele encontrar semillas negras y planas originales del chilacayote. Este dulce no tiene miel ya que el chilacayote la absorbe durante su proceso de elaboración.

Dulce de nance	Este dulce artesanal es de forma redonda y de color negro. Esta elaborado a partir de una pasta obtenida después de someter la pulpa de los nances a un proceso de cocción con dulce de panela. La parte externa del dulce de nance está cubierto de azúcar granulada y en su interior suelen encontrarse semillas de nance.
Dulce de Tamarindo	Este dulce artesanal se comercializa en forma redonda y de color café claro. Esta elaborado a partir de una pasta obtenida después de someter la pulpa del tamarindo a un proceso de cocción con azúcar. La parte externa del dulce de Tamarindo está cubierto de azúcar granulada y en su interior suelen encontrarse semillas de tamarindo.
Melcocha	También denominado alfandoque, dulce constituido básicamente por melado o miel espesa, generalmente de panela o de miel de azúcar. Generalmente es comercializa en forma de trozos circulares.
Coco rallado	Tiras de coco deshidratado con azúcar granulada como cobertura.
Espumilla	Dulces blandos hechos a base de clara de huevo y azúcar puestos al horno.
Batido	Es uno de los dulces más comunes en las ferias populares del país. Se obtiene de la miel de caña de azúcar y por lo general se adereza con semillas de marañón, ajonjolí, cacahuates y anís.

### 3.5. Clasificación de los dulces típicos según sus ingredientes. <sup>(19)</sup>

Existe una gran variedad de dulces típicos que se comercializan en el Mercado Central de San Salvador. Sin embargo, están aquellos que la población prefiere mayoritariamente para su consumo y que además se exportan o que son llevados por compatriotas a otros países.

**Cuadro N° 2.** Dulces Típicos según sus ingredientes

<b>Tipo de dulce típico</b>	<b>Ejemplo</b>	<b>Ingredientes</b>
Dulces Típicos a base de leche	Dulce de leche	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Canela</li> <li>- Leche</li> <li>- Azúcar</li> </ul>
Dulce Típico a base de huevo	Espumilla	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Claras de huevo</li> <li>- Azúcar</li> <li>- Esencia de vainilla</li> <li>- Colorante (opcional)</li> </ul>
Dulces Típicos a base de frutas de temporada	Conserva de coco	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coco</li> <li>- Azúcar granulada</li> <li>- Canela</li> <li>- Agua</li> <li>- Dulce de atado</li> </ul>
	Dulce de nance	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nance</li> <li>- Dulce de panela</li> <li>- Azúcar granulada</li> <li>- Agua</li> </ul>
	Dulce de tamarindo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tamarindo</li> <li>- Azúcar granulada</li> <li>- Agua</li> </ul>
	Coco rallado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coco</li> <li>- Azúcar granulada</li> <li>- Agua</li> </ul>

### **3.6. El azúcar como ingrediente de conservación en los dulces típicos.** <sup>(7)</sup>

La adición de altas cantidades de azúcar evita el deterioro del alimento y desempeña un papel antiséptico. El azúcar, además de endulzar, desempeña la función de conservante por su capacidad para inhibir el crecimiento microbiano

Los microorganismos patógenos necesitan agua para sobrevivir y reproducirse, y así poder colonizar alimentos. Por tanto, cualquier sustancia que deshidrate los alimentos o elimine el agua que contengan ayudará a evitar que crezcan y se reproduzcan. El azúcar es una sustancia que se disuelve bien en el agua, de ahí la costumbre de usarla para la conservación de distintos tipos de alimentos por su capacidad para reducir la humedad en ellos y, por tanto, disminuir el riesgo de formación de patógenos.

De la misma manera que la sal, el azúcar actúa por ósmosis, es decir, absorbe la humedad de los alimentos y detiene el crecimiento de bacterias patógenas. Para la conservación con azúcar, es necesario que la proporción sea alta, ya que de no ser así se podrían producir reacciones de fermentación. En la elaboración de frutas confitadas o mermeladas, se introducen las frutas en una solución saturada de azúcar después de esterilizar el tarro a través de la cocción.

Pero antes de empezar con la conservación, deben manipularse las frutas, de manera que se asegure que están del todo limpias, incluidos los utensilios que se utilizarán.

### **3.7. Inocuidad de los Alimentos** <sup>(17)</sup>

La Inocuidad de los alimentos es la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan. Sin embargo, los alimentos pueden contaminarse en cualquier eslabón de la cadena que va desde la producción hasta el consumo. Todos los participantes en la cadena de suministro deben tomar medidas para mantener la inocuidad de los alimentos, desde el productor hasta el consumidor, pasando por el procesador y el vendedor.

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que junto con las nutricionales, las organolépticas, y las comerciales componen la calidad de los alimentos.

La publicación de la OMS “*Cinco claves para la inocuidad de los alimentos*” ofrece a los vendedores y consumidores orientaciones prácticas sobre cómo manipular y preparar los alimentos:

- Clave 1: Mantenga la limpieza
- Clave 2: Separe alimentos crudos y cocinados
- Clave 3: Cocine los alimentos completamente
- Clave 4: Mantenga los alimentos a temperaturas seguras
- Clave 5: Use agua y materias primas inocuas

### **3.8. Fuentes de contaminación de los alimentos** (14) (15)

Los alimentos que consumimos, raramente, por no decir nunca, son estériles, sino, que contienen microorganismos (bacterias, hongos, parásitos y virus) cuya composición depende de qué microorganismo llega a él y de cómo se multiplican o sobreviven en el alimento en el transcurso del tiempo.

Los microorganismos presentes en un alimento procederán tanto de la microflora propia de la materia prima como de los introducidos durante la elaboración, almacenamiento y distribución. La cantidad y tipo de microorganismos serán determinados por las propiedades del alimento, por la atmósfera donde éste se almacene y por efecto de los tratamientos que se hayan realizado.

Por tanto las causas y fuentes que originan la contaminación microbiológica de los alimentos son muy diversas, en general pueden llegar a ellos por dos vías:

- De forma directa: que es a través del manipulador, que al no tener buenas prácticas higiénicas contamina los alimentos, bebidas y utensilios con los que los elabora. Esto puede suceder al momento de la elaboración de los dulces típicos.
- De forma indirecta: que es a través de un intermediario como insectos, los utensilios o el agua con la que se lavan. Los dulces típicos al ser elaborados en su mayoría por azúcar y frutas tienden a estar rodeados de insectos como abejas, moscas, entre otros.

### 3.9. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA's) <sup>(5) (17)</sup>

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un importante problema de salud a nivel mundial. Son provocadas por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos o parásitos, o bien por las sustancias tóxicas que aquellos producen.

Estas se clasifican de la siguiente manera:

- **Infecciones transmitidas por alimentos:** son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales vivos. Por ejemplo: salmonelosis, hepatitis viral tipo A y toxoplasmosis.
- **Intoxicaciones causadas por alimentos:** ocurren cuando las toxinas o venenos de bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido. Estas toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar enfermedades después que el microorganismo es eliminado. Algunas toxinas pueden estar presentes de manera natural en el

alimento, como en el caso de ciertos hongos y animales como el pez globo. Ejemplos: botulismo, intoxicación estafilocócica o por toxinas producidas por hongos.

- **Toxi-infección causada por alimentos:** es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos. Ejemplos: cólera. <sup>(15)</sup>

**3.10. Microorganismos indicadores según Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turronez mazapán y dulces típicos.**

**Cuadro N° 3.** Criterios microbiológicos <sup>(23)</sup>

5.2 Subgrupo de Alimentos: Otros productos de azúcar						
5.2.1 Turronez mazapán y dulces típicos						
Parámetro	Plan de muestreo				Límite	
	Tipo de Riesgo	Clase	n	c	m	M
<i>Salmonella spp</i> /25 g (productos con huevo)	B	2	5	0	Ausencia	-----
<i>Staphylococcus aureus</i> (productos con leche)		3		1	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
<i>Escherichia coli</i>		2		0	< 3 NMP/g	-----

### 3.10.1. *Salmonella spp.* <sup>(2)</sup>

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos gram negativos, de 0.7-1.5 x 2-5 µm, anaerobios facultativos, no formadores de esporas, generalmente móviles por flagelos peritricos. Fermentan glucosa, maltosa y manitol, pero no fermentan lactosa ni sacarosa. Son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos. Son viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración y congelación y mueren por calentamiento (mayor a los 70 °C).

La *Salmonella* pertenece a un grupo de bacterias que están presentes en el intestino de personas y animales sanos, de forma que las heces son el principal foco de contaminación a los alimentos y al agua. Cuando llega a los alimentos frescos, tiene la habilidad de multiplicarse muy rápidamente, y cuando una persona ingiere dicho alimento contaminando, el gran número de bacterias provoca "salmonelosis", infección gastrointestinal provocada por dicha bacteria.

**Cuadro N° 4.** Condiciones de crecimiento de la *Salmonella spp*

Condiciones	Mínimo	Optimo	Máximo
Temperatura (°C)	5.2	35-45	46.2
pH	3.8	7-7.5	9.5
Actividad del agua	0.93	0.99	>0.99

### 3.10.1.1. Salmonelosis <sup>(2)</sup>

La salmonelosis es considerada una zoonosis de distribución mundial y de origen alimentario. La vía de transmisión es fecal-oral a través de alimentos y agua contaminada con heces humanas o animales, materiales y utensilios de cocina contaminados o por contacto directo de persona a persona. Desde el punto de vista epidemiológico, puede manifestarse como casos esporádicos o brotes con un número variable de afectados.

**Cuadro N° 5.** Formas en que se presenta la Salmonelosis <sup>(1)</sup>

Forma no sistémica o gastroenteritis	Forma Sistémica o Fiebre Tifoidea
Período de incubación de 12 a 72 horas. Puede manifestarse en forma aguda con fiebre ligera (resuelve en 2 - 3 días), náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea durante unos días o una semana. La gravedad de los síntomas puede variar desde ligero malestar a deshidratación grave	Con una incubación de entre 3 y 56 días y síntomas de fiebre, dolor de cabeza, sensibilidad abdominal, constipación, manchas en la superficie del cuerpo de color rojo, infección del flujo biliar, hemorragias provocadas por úlceras y perforación del intestino causando peritonitis.

### 3.10.2. Medios para determinar la presencia de *Salmonella spp.* <sup>(2)</sup>

#### 3.10.2.1. Caldo Rappaport

Este medio es utilizado para el enriquecimiento de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, provenientes de diferentes tipos de muestras. El bajo pH del medio de cultivo combinado con la presencia de verde malaquita y la alta concentración de cloruro de magnesio, que incrementa la presión osmótica, tiene carácter selectivo para las especies de *Salmonella*.

### 3.10.2.2. Caldo Tetrionato

Medio de cultivo utilizado para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* spp. a partir de heces, orina, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.

El medio de cultivo contiene peptona que provee los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, y carbonato de sodio que neutraliza y absorbe metabolitos tóxicos.

La selectividad está dada por la presencia de tiosulfato de sodio, tetrionato (generado en el medio por el agregado de la solución iodo-iodurada) y sales biliares, los cuales permiten el desarrollo de bacterias que contienen la enzima tetrionato reductasa, como ser la *Salmonella* spp. e inhiben el desarrollo de la flora acompañante.

### 3.10.2.3. Agar Cromogénico *Salmonella*

Está diseñado para identificar las especies de *Salmonella* en función de su utilización de un sustrato cromogénico. Su incapacidad para utilizar otro sustrato cromogénico, como la mayoría de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae se puede utilizar, permite la identificación rápida y fiable de las especies de *Salmonella*. Los medios utilizados tradicionalmente, para diferenciar especies de *Salmonella* del resto de la familia enterobacteriaceae, basados en la capacidad de producir H<sub>2</sub>S asociada a su inhabilidad de fermentar la lactosa no son realmente adecuados, ya que existen más de 2000 especies de *Salmonella* que no tienen estas características. La peptona de Caseína y el Extracto de carne aportan nitrógeno, vitaminas y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La mezcla de cromogénicos y el citrato sódico, inhiben microorganismos gram positivos, Proteus y Coliformes.

Como prueba positiva para *Salmonella*, las colonias presentan un color magenta.

#### **3.10.2.4. Agar XLD**

XLD Agar es un medio selectivo y de diferenciación. Contiene extracto de levadura como fuente de nutrientes y vitaminas. Utiliza el desoxicolato de sodio como agente selectivo y, por consiguiente, inhibe los microorganismos gram positivos. La xilosa se incorpora en el medio dado que la fermentan prácticamente todos los entéricos, excepto *Shigella*, y esta propiedad hace posible la diferenciación de dicha especie. La lisina se incluye para permitir la diferenciación del grupo *Salmonella* de los organismos no patógenos, dado que, sin lisina, *Salmonella* fermentaría rápidamente la xilosa y no se distinguiría de las especies no patógenas. Cuando la *Salmonella* agota el suministro de xilosa, la lisina es atacada por la enzima lisina descarboxilasa, lo que genera un cambio a un pH alcalino que imita la reacción de *Shigella*. Para evitar el cambio similar en los organismos coliformes positivos a la lisina, se añaden lactosa y sacarosa para producir ácido en exceso. Para aumentar la capacidad de diferenciación de la fórmula, se incluye un sistema indicador de H<sub>2</sub>S, formado por tiosulfato sódico y citrato férrico amónico, para la visualización del ácido sulfhídrico producido, lo que origina la formación de colonias con centros de color negro.

#### **3.10.3. Grupo Coliforme Total <sup>(10)</sup>**

El grupo coliforme está formado por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gramnegativas, no formadoras de esporas y con forma de bastón que fermentan la lactosa, produciendo gas y ácido en 48 horas a 35° C.

Pertenece a este grupo los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*.

#### **3.10.4. Grupo Coliforme Fecal** <sup>(10)</sup>

Son bacterias que forman parte del grupo coliforme total y son definidas como bacilos gramnegativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 44.5 °C 0.2 °C, dentro de las 48 - 72 horas. Este grupo también es denominado termotolerante y la especie más predominante es la *Escherichia coli*, que constituye una gran proporción de la población intestinal humana.

#### **3.10.5. *Escherichia coli*** <sup>(4) (15) (20)</sup>

*Escherichia coli* es una bacteria que está dentro del grupo de coliformes fecales que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inofensivas. Sin embargo algunas de ellas, como *Escherichia coli enterohemorrágica* (EHEC), pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos.<sup>(8)</sup>

Microscópicamente es una bacteria en forma de bacilo, aerobia y anaerobia facultativa, Gram negativa. Macroscópicamente forma colonias puntiformes, convexas, mucosas y cremosas. Esta bacteria sólo se encuentra en forma vegetativa, no forma esporas. Se caracteriza por ser un patógeno intestinal capaz de causar enfermedad diarreica en el hombre y en los animales.

En la actualidad, las formas patógenas han sido relacionadas con la enfermedad transmitida por alimentos y son cinco tipos principales de *Escherichia coli* patógenos:

- *Escherichia coli enteropatógeno* (EPEC)
- *Escherichia coli enterotoxigénico* (ETEC)
- *Escherichia coli enteroinvasor* (EIEC)
- *Escherichia coli enteroagregativa* (ADEC)
- *Escherichia coli enterohemorrágico* (EHEC)

Debido a su alta presencia en el intestino, la *Escherichia coli* se utiliza como el indicador principal para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad del agua y de los alimentos.

La *Escherichia coli* es casi exclusivamente de origen fecal y se transmite a través de la contaminación fecal de los alimentos y del agua, así como también a través de la contaminación cruzada o por contacto humano directo durante la preparación de los alimentos. Mientras tanto, la principal vía de exposición pareciera ser el consumo de alimentos contaminados.

### **3.10.6. Medios de cultivo para determinar la presencia de *Escherichia coli*.**

#### **3.10.6.1. Caldo LMX Fluorocult <sup>(4)</sup>**

El método consta de una sola etapa que consiste en colocar volúmenes determinados de muestras en una serie de tubos conteniendo medio de cultivo Caldo Fluorocult LMX (Lauril sulfato-MUG-X-GAL) y luego son incubados a  $35 \pm 0.5$  °C durante 24 horas. El caldo Fluorocult contiene un cromógeno, 5-bromo-4-cloro-3-indol- $\beta$ -D-galactopiranosido (X-GAL), el cual es hidrolizado por la

enzima  $\beta$ -D-galactosidasa que es producida por las bacterias coliformes totales, ocasionando un cambio de color en el caldo, de amarillo claro a azul – verde que indica y confirma una prueba positiva para coliformes totales dentro de 24 - 48 horas. Así mismo, el caldo contiene un fluorogéno, 4-metilumbiferil- $\beta$ -D-glucoronido (MUG), el cual es hidrolizado por la enzima  $\beta$ -D-glucoronidasa que es producida por la bacteria *Escherichia coli*, ocasionando una fluorescencia en el caldo bajo la luz ultravioleta de onda larga (336 nm) que indica la presencia de esta bacteria.

Para confirmar la presencia de *Escherichia coli* debe comprobarse la producción de Indol en los tubos que presentan fluorescencia, utilizando el reactivo de Kovacs indol (solución de p-dimetilaminobenzaldehído en alcohol amílico); por medio del desarrollo de un anillo color rosado que indica una reacción positiva.

#### **3.10.6.2. Caldo EC** <sup>(4)</sup>

Medio utilizado para el recuento de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua, alimentos y otros materiales. El contenido de lactosa en este medio, favorece el crecimiento de bacterias lactosa positivas, mientras que las sales biliares inhiben el crecimiento de gran parte de la flora acompañante. Este caldo es recomendado por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1975), y por Hajna y Perry (1943), para el recuento de coliformes en alimentos. Se considera como resultado positivo la producción de gas en la campana de Durham que se coloca dentro del tubo de ensayo.

#### **3.10.6.3. Agar EMB** <sup>(15)</sup>

Este medio es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.

Su fundamento radica en que este medio combina las fórmulas de Holt-Harris y Teague con la de Levine, para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de *Escherichia coli* y *Citrobacter spp.* presentan un característico brillo metálico. En este medio se obtiene además, un buen desarrollo de especies de *Salmonella* y *Shigella*.

### **3.11. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*** <sup>(10)</sup>

#### **3.11.1. Pruebas bioquímicas** <sup>(10)</sup>

Se realizan distintas pruebas para determinar si la bacteria es capaz de utilizar sustratos específicos en su metabolismo; esto se verifica por medio de cambios en los medios de cultivo y se interpretan los resultados de acuerdo a la tabla de pruebas bioquímicas para determinar si el microorganismo es *Escherichia coli* o *Salmonella*.

##### **a. Prueba de triple-azúcar-hierro y sulfuro de hidrogeno (TSI y H<sub>2</sub>S)** <sup>(10)</sup>

Se fundamenta en la capacidad de las bacterias de aprovechar los sustratos en medio aerobio o anaerobio, produciendo acidez o alcalinidad en el medio que origina cambios de color tanto en la superficie como en el fondo del medio.

**b. Prueba de Indol** <sup>(10)</sup>

Cuando las bacterias son capaces de utilizar el triptófano, este se oxida liberando indol como subproducto, el cual al reaccionar con el reactivo de Kovac forma un anillo violáceo en la superficie del caldo el cual se interpreta como prueba positiva.

**c. Prueba de rojo de metilo** <sup>(10)</sup>

Se realiza en un medio denominado VP en el que se realiza la prueba de Voges Proskauer. Las bacterias acidifican el medio y al agregar el indicador rojo de metilo se mantiene la coloración rosada, esto se interpreta como prueba positiva. Si el pH es superior a 6, se da un viraje del indicador a color amarillo lo cual determina que la prueba resulta negativa.

**d. Prueba de motilidad** <sup>(10)</sup>

Esta prueba determina si la bacteria posee estructuras que le permitan moverse, con la ayuda de un asa en punta se pica verticalmente el medio SIM solidificado en un tubo de ensayo. El crecimiento se observa tanto en el área inoculada como en el medio que no fue inoculado lo que se interpreta como prueba positiva.

**e. Prueba de Voges Proskauer** <sup>(10)</sup>

Se detecta la presencia de Acetil Metil Carbinol el cual se extrae con alfa naftol, posteriormente se oxida a diacetilo agregando hidróxido de potasio y oxígeno del ambiente. El desarrollo de un color rosado se considera resultado positivo.

**f. Prueba de Citrato** <sup>(10)</sup>

La bacteria es capaz de utilizar el citrato como fuente de carbono y energía, se utiliza el medio solidificado Citrato Simmons que contiene sales de amonio,

citrato y el indicador azul de bromo timol; el cual vira el color del medio de verde a azul, resultado de la liberación de amoníaco que provee basicidad al medio.

### **3.12. *Staphylococcus aureus*** <sup>(6) (24)</sup>

Los integrantes del género *Staphylococcus*, son cocos gram positivos, de 0.5-1.5 µm de diámetro, catalasa positivos, que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, tétradas o formando racimos irregulares (término derivado del griego staphylé: racimo de uvas, Ogston, 1883). Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula

*Staphylococcus aureus*, especie coagulasa positiva, es un reconocido patógeno humano, siendo agente etiológico de un amplio espectro de infecciones de origen comunitario y nosocomial.

#### **3.12.1. Contaminación de alimentos por *Staphylococcus aureus*** <sup>(24)</sup>

Entre los alimentos que frecuentemente se ven involucrados en el envenenamiento alimentario causado por *Staphylococcus* se encuentran la carne y los productos cárnicos; los productos avícolas y los huevos; las ensaladas como la de huevo, atún, pollo, papas y macarrones; los productos de panadería como los pasteles rellenos con crema, las tartas cremosas y los chocolates; los rellenos para emparedados; y además, la leche y los productos lácteos. Los alimentos que requieren de una considerable manipulación durante su preparación y son mantenidos a temperaturas ligeramente elevadas después de la misma, son aquellos involucrados en el envenenamiento de este tipo.

*Staphylococcus* se puede encontrar en a) medio ambiente como puede ser: aire, polvo, superficies en donde se manejan alimentos, agua, agua residual, b) en alimentos: por ejemplo los que presentan un alto contenido proteico, como puede ser la leche y derivados lácteos, también se desarrolla en aquellos alimentos que presentan altas concentraciones de sal, uno de ellos sería el jamón.

La contaminación de alimentos por *Staphylococcus aureus*, está asociada con una forma de gastroenteritis que se manifiesta clínicamente por un cuadro caracterizado por vómitos (76% de casos) y diarrea (77% de casos). El corto período de incubación de 1-6 horas orienta a la sospecha de enfermedad producida por ingestión de una o más enterotoxinas preformadas en el alimento que ha sido contaminado con cepas de *Staphylococcus aureus* productor de la misma. Son raramente observados signos de toxicidad sistémica, tales como fiebre e hipotensión

### **3.12.2. Medios para la determinación de *Staphylococcus aureus* <sup>(4)</sup>**

#### **3.12.2.1. Agar Baird – Parker**

Es un medio moderadamente selectivo y de diferenciación para el aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus* en alimentos, muestras ambientales y clínicas.

Los estafilococos producen colonias de color de gris oscuro a negro debido a la reducción del telurito; los estafilococos que producen lecitinasa descomponen la yema de huevo y crean zonas transparentes alrededor de las colonias correspondientes. Es posible que se forme una zona de precipitación debido a

la actividad de lipasa. El medio no debe utilizarse para el aislamiento de estafilococos diferentes de *Staphylococcus aureus*.

#### **3.12.2.2. Caldo BHI**

El BHI es un medio líquido usado para cultivar microorganismos patógenos y no patógenos, incluyendo Bacterias aerobias y anaerobias, además también es usado en la preparación de inóculos en pruebas de susceptibilidad microbiana.

Este caldo es un medio de cultivo nutritivo que contiene infusión de cerebro, tejido de corazón y peptonas que proporciona proteínas y otros nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de microorganismos patógenos y no patógenos.

### **3.13. Pruebas Diagnósticas para *Staphylococcus aureus* <sup>(16)</sup>**

#### **3.13.1. Prueba de Catalasa**

Esta prueba se utiliza para detectar la presencia de enzimas citocromo oxidasa. Se coloca una gota de una solución de peróxido de hidrógeno al 3 % en un portaobjeto y se aplica una pequeña cantidad de del crecimiento bacteriano en la solución. La formación de burbujas (liberación de oxígeno) indica una prueba positiva.

#### **3.13.2. Prueba de la coagulasa**

El plasma de conejo (o humano) citratado diluido 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o del cultivo proveniente de colonias crecidas en agar y se incuba a una temperatura de 37 °C. Se incluye como control un tubo de

ensayo con plasma mezclado con caldo estéril. Si se forman coágulos en un lapso de 1 a 4 horas es positivo.

#### **3.14. Descripción de la zona de estudio**

El Mercado Central de San Salvador se encuentra ubicado 7<sup>a</sup>. Av. Sur y Calle Gerardo Barrios, San Salvador.

Estructuralmente está organizado por 10 pabellones en donde se comercializan: productos de primera necesidad, productos para el hogar, frutas y verduras, ropa, calzado, medicina popular, lácteos, comida, pupusas, productos desechables, cócteles, carnes, mariscos, pollos y también existen salas de belleza.

En el mercado se encuentran ubicados 4 puestos de venta de dulces típicos (2 en el sótano, 1 en el edificio 6 y otro en el 8) y 2 en sus alrededores que son los puestos sujetos a estudio en esta investigación. (Ver anexo N° 1)

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## **4.0 DISEÑO METODOLOGICO**

### **4.1. Tipo de estudio**

- Prospectivo: Los resultados que se obtuvieron en este trabajo servirán de antecedentes para futuras investigaciones.
- Experimental: Se realizaron análisis microbiológicos a las muestras que se recolectaron de dulces típicos. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

### **4.2. Investigación bibliográfica**

Para la realización de este trabajo de graduación se consultaron libros y trabajos de graduación:

- Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca Central “Hugo Lindo” de la Universidad José Matías Delgado
- Biblioteca Facultad de Química y Farmacia, Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Internet.

### **4.3. Investigación de campo**

Se realizó una visita de campo al mercado central de San Salvador con el objetivo de verificar el número de puestos de venta de dulces típicos que existen y para determinar los tipos de dulces típicos más comercializados; para ello se realizó una lista de chequeo (Ver anexo N° 2) dirigida a los vendedores del mercado central de San Salvador.

Además se evaluó de cada uno de los puestos de venta de dulces típicos las condiciones ambientales y las buenas prácticas higiénicas en las que se comercializan los dulces típicos utilizando para ello otra lista de chequeo (Ver anexo N° 2)

#### **4.3.1. Universo**

Está conformado por todas las variedades de dulces típicos comercializados en el mercado central de San Salvador.

#### **4.3.2. Muestra**

Las seis variedades de Dulces típicos mayormente comercializados en el Mercado Central de San Salvador seleccionados de acuerdo a los resultados de la lista de chequeo, fueron las siguientes: dulce de tamarindo, dulce de nance, dulce de leche, espumilla, conserva de coco blanca, coco rallado.

#### **4.3.3. Toma de muestra**

Se tomaron 30 paquetes o bolsitas de dulces típicos (5 por cada variedad empacados individualmente) de los 6 puestos de venta en el mercado central

de San Salvador. Se seleccionó al azar la variedad de dulce típico a analizar en cada uno de los puestos de venta. Además de un puesto de venta de dulces típicos calidad exportación se tomó un paquete de dulce típico por cada variedad analizada en el mercado central de San Salvador.

**Tabla N° 1. Total de unidades de dulces típicos muestreadas**

Puesto de venta N°	Número de muestras por puesto de venta						Total de muestras por puesto
	Dulce de nance	Dulce de tamarindo	Conserva de coco blanca	Espumilla	Dulce de leche	Coco rallado	
1	5	----	----	----	----	----	5
2	----	5	----	----	----	----	5
3	----	----	5	----	----	----	5
4	----	----	----	5	----	----	5
5	----	----	----	----	5	----	5
6	----	----	----	----	----	5	5
7 (Exportación)	1	1	1	1	1	1	6
<b>Total de muestras</b>							<b>36</b>

#### **4.3.4. Tamaño de muestra**

El tamaño de la muestra se determinó en base a lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos, en donde especifica que para la vigilancia de cualquier tipo de alimento se deben de tomar cinco muestras para analizar <sup>(23)</sup>. Por lo que de cada variedad de dulce típico seleccionado, se tomaron 5 bolsas de dulces (cada bolsa corresponde a una unidad) tal como se comercializan, haciendo un total de 30 unidades tomadas en los 6 puestos de venta ubicados en el Mercado Central de San Salvador y 6 unidades de dulces típicos de marca de calidad exportación.

#### **4.3.5. Toma y transporte de muestra**

Las muestras seleccionadas se identificaron con su correspondiente viñeta codificándola con base a la fecha de muestreo y un número correlativo (Ver anexo N° 3 y anexo N° 7) y luego fueron transportadas en una bolsa estéril al laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, para los correspondientes análisis

### **4.4. Parte experimental**

#### **4.4.1. Análisis microbiológicos**

Se realizaron análisis microbiológicos de *Escherichia coli* a todas las variedades de dulces típicos, *Salmonella spp* a la variedad elaborada a base de huevo y *Staphylococcus aureus* a la elaborada a base de leche.

**Cuadro N° 6. Análisis realizados a cada una de las variedades de dulces típicos seleccionados.**

Variedades de dulces típicos	Determinación a realizar		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>
Dulce de leche	✓	✓	-----
Dulce de nance	✓	-----	-----
Coco rallado	✓	-----	-----
Dulce de tamarindo	✓	-----	-----
Espumilla	✓	-----	✓
Conserva de coco blanca	✓	-----	-----

#### 4.4.1.1. Preparación de diluciones. (Ver Anexo N° 8) <sup>(25)</sup>

- Pesar 25 g de muestra de una forma aséptica en una bolsa Stomacher.
- Adicionar 225 mL de solución Agua Peptonada bufferada y luego rotular como dilución  $10^{-1}$ .
- Posteriormente agitar por 2 minutos a 260 rpm por medio del Stomacher.
- De la primera dilución medir 10 mL con pipeta de Mohr, estéril y despuntada y transferir a un frasco que contiene 90 mL de solución Agua Peptonada bufferada (diluyente) y rotular como dilución  $10^{-2}$ .
- Homogenizar durante 2 minutos dilución  $10^{-2}$ .
- De la dilución anterior medir 10 mL con otra pipeta Mohr, despuntada y estéril, y colocar en un frasco de vidrio que contiene 90 mL de solución Agua Peptonada bufferada (diluyente) y rotular como dilución  $10^{-3}$ .

#### 4.4.1.2. Determinación de coliformes totales <sup>(25)</sup>

##### 4.4.1.2.1. Técnica número más probable (NMP) <sup>(25)</sup> (Ver Anexo N° 9).

- Preparar una serie de nueve tubos conteniendo 9 mL de Caldo LMX.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución  $10^{-1}$  e inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución  $10^{-2}$  e inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
- Pipetear con pipeta de Mohr estéril y despuntada 1 mL de la dilución  $10^{-3}$  e inocular en una serie de 3 tubos de caldo LMX previamente rotulados.
- Incubar los 9 tubos por 24-48 horas a  $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .
- Se considera positiva la prueba para coliformes totales si los tubos presentan una coloración azul verdosa.

Calcular el NMP utilizando la tabla para 9 tubos (Ver Anexo N° 10) y reportar los resultados como NMP/g. Valor máximo permisible para *Escherichia coli* es <3 NMP/g de acuerdo a lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano.

##### 4.4.1.3. Determinación de coliformes fecales <sup>(25) (28)</sup> (Ver anexo N° 11)

- De los tubos positivos de la prueba de coliformes totales, pasar 2 a 3 asadas a tubos que contengan 10 mL de caldo EC y campana de Durham.
- Incubar a  $44.5^{\circ}\text{C}$  durante 24-48 horas, en baño de agua.
- Se considera positiva la prueba para coliformes fecales si los tubos presentan turbidez y presencia de gas.

Para confirmar las coliformes fecales calcular el NMP utilizando la tabla para 9 tubos (Ver Anexo N° 10) y reportar los resultados como NMP/g. Valor máximo permisible para *Escherichia coli* es de <3 NMP/g.

#### 4.4.1.3.1. Determinación de *Escherichia coli*.<sup>(25) (28)</sup> (Ver Anexo N° 12)

- Los tubos que resultaron positivos en la determinación de coliformes totales, caldo LMX, observarlos con luz ultravioleta.
- Se considera la presencia de *Escherichia coli* como positiva si la coloración presenta fluorescencia brillante.
- Para confirmar la presencia de *Escherichia coli* agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovacs, se considera positivo si se forma en la superficie un anillo de color rojo.
- Por el método de estrías antes de agregar el reactivo de Kovacs, tomar una asada y estriar en placas de petri que contengan agar EMB.
- Incubar las placas invertidas a 35°C por 45 a 48 horas.
- Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Escherichia coli* de aspecto verde brillante.

#### 4.4.1.4. Determinación de *Staphylococcus aureus*<sup>(27)</sup> (Ver Anexo N° 13)

- De la dilución  $10^{-1}$  (225 mL agua peptonada bufferada conteniendo 25 g de muestra) transferir asépticamente 0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL a 3 placas que contengan agar Baird-Parker (BPA).
- Esparcir la muestra sobre la superficie del agar utilizando varilla de vidrio doblado estéril.
- Incubar las placas invertidas durante 45-48 horas a 35 ° C.

- Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus*, de aspecto negro, brillante, o gris oscuro, con formación de halo alrededor de la colonia.

Valor mínimo permisible 10 UFC/g y valor máximo permisible para *Staphylococcus aureus*, es de  $10^2$  UFC/g de acuerdo a lo especificado en Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos.

**Ejemplo:** Si en la placa en donde se agregó 0.4 mL de muestra de la dilución  $10^{-1}$  crecieron 5 colonias, entonces se tiene lo siguiente:

El Factor decimal de dilución (FDD) de la dilución  $10^{-1}$  es 10

$$\text{UFC/g} = (\text{N}^\circ \text{ de colonias contadas} \times \text{FDD}) / \text{volumen sembrado}$$

$$\text{UFC/g} = (5 \times 10) / 0.4 \text{ mL}$$

$$\text{UFC/g} = 125$$

#### 4.4.1.4.1. Prueba de la coagulasa <sup>(27)</sup> (Ver Anexo N° 14)

- Seleccionar 5 colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* y sembrar en 0.3 mL de caldo infusión cerebro corazón (BHI)
- Incubar el caldo a 35°C por 18 a 24 horas.
- Adicionar 0.5 mL de plasma coagulasa con EDTA al cultivo en BHI
- Mezclar e incubar a 35°C.
- Examinar periódicamente durante de 6 horas para observar la formación del coágulo. La formación de coagulo firme, que no se deshace al invertir el tubo, indica prueba positiva para *Staphylococcus aureus*.

#### 4.4.1.5. Determinación de *Salmonella*<sub>(26)</sub> (Ver Anexo N° 15)

- Pesar 25 g de muestra de una forma aséptica en una bolsa estéril y adicionar 225 mL de Caldo Lactosado.
- Homogenizar durante 2 minutos a 260 rpm por medio del Stomacher e incubar a  $35^{\circ} \pm 2.0^{\circ}$  C durante  $24 \pm 2.0$  horas.
- Agitar la muestra incubada y transferir asépticamente 1 mL a un tubo que contiene 10 mL de Caldo Tetrionato; y 0.1 mL a un tubo que contiene 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis.
- Incubar los medios selectivos de la siguiente manera:
  - Tubo con Caldo Rappaport -Vassiliadis a  $24 \pm 2$  horas a  $42 \pm 0.2^{\circ}$  C por 24 horas (circulante, con termostato, baño de agua)
  - Tubo con Caldo Tetrionato a  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 2.0^{\circ}$  C
- Sembrar por estrías sobre placas que contienen Agar Xilosa-Lisina-Desoxilato (XLD) y Agar Cromogénico *Salmonella* e incubar ambas placas  $24 \pm 2$  horas a  $35^{\circ}$  C.
- Observar el desarrollo de colonias sospechosas de *Salmonella spp* (agar XLD: colonias rosadas con o sin centro negro y agar Cromogénico *Salmonella*: colonias color magenta).
- Seleccionar las colonias sospechosas y realizar pruebas bioquímicas sembrando en agar inclinado TSI, UREA, Voges Proskauer, Indol, Rojo de Metilo y Citrato de Simmons.
- Incubar a  $37 \pm 1^{\circ}$ C por 24 horas.
- Comparar los resultados obtenidos con tablas de pruebas bioquímicas (Ver Anexo N° 16).
- Se considera conforme el resultado si hay ausencia de *Salmonella spp*.

#### 4.4.1.6. Pruebas Bioquímicas <sup>(10)</sup>

-Sembrar el microorganismo sospechoso en agar TSA e incubar a 35 °C por 24 horas.

-Con las colonias que crezcan en el agar TSA realizar el siguiente procedimiento.

##### a) Agar TSI <sup>(10)</sup>

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

-Incubar los tubos a 37 °C ± 2 °C durante 24 – 48 horas.

##### b) Agar Citrato <sup>(10)</sup>

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

-Incubar los tubos a 37 °C ± 2 °C durante 24 – 48 horas.

Un cambio en la coloración del medio que va del verde a azul indica prueba positiva.

##### c) Agar movilidad (Prueba SIM) <sup>(10)</sup>

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

-Incubar los tubos a 37 °C ± 2 °C durante 24 – 48 horas.

**d) Prueba de Indol** <sup>(10)</sup>

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

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

-Luego de incubar agregar al tubo 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.

**e) Prueba Rojo de Metilo.** <sup>(10)</sup>

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

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

-Luego de la incubación agregar al tubo 5 gotas de reactivo Rojo de Metilo.

La formación de una coloración roja difusa en el medio indica prueba positiva.

**f) Prueba de Voges Proskauer.** <sup>(10)</sup>

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

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

-Luego de la incubación agregar al tubo 0.6 mL de alfa-naftol y 0.4 mL de KOH.

La formación de una coloración en el medio rosa o rojo indica prueba positiva.

#### **4.5. Comparación de inocuidad**

Se analizaron 6 muestras de marca calidad exportación (1 muestra por cada variedad seleccionada) para comparar la inocuidad de estos dulces con los comercializados en el Mercado Central de San Salvador.

#### **4.6. Presentación de resultados**

Luego de realizar los análisis a las variedades de dulces típicos; los resultados obtenidos se presentaron al Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica (OSARTEC).

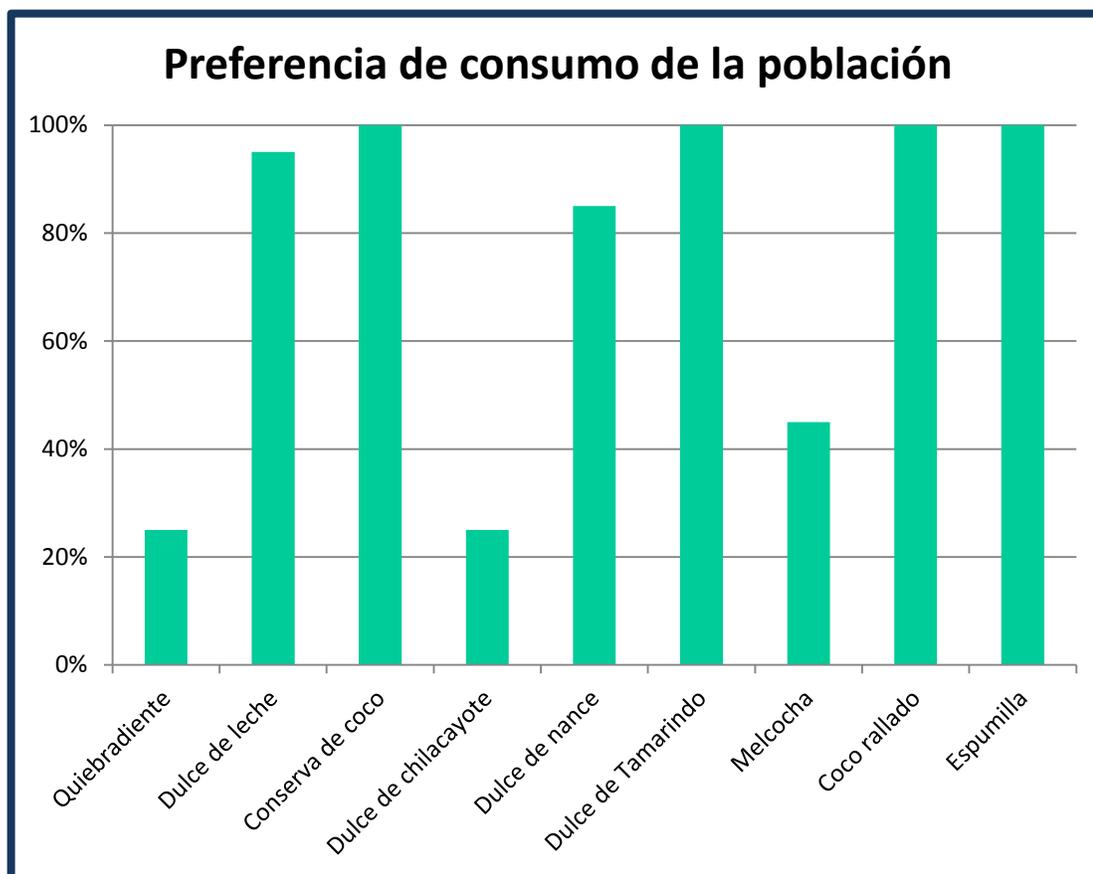
**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Previo al muestreo se realizó una lista de chequeo (ver anexo N° 2: lista de chequeo N° 1) de los dulces típicos que se comercializan mayoritariamente en cada uno de los puestos del mercado central de San Salvador. Dicha lista se pasó a un total de 20 personas; entre ellas los vendedores y compradores. Los resultados fueron que los dulces típicos más comercializados son: Conserva de coco blanca, dulce de nance, dulce de tamarindo y espumilla con el 100% de preferencia en la población, dulce de leche con una preferencia del 95% y dulce de nance con 85%

**Tabla N° 2.** Preferencia de consumo de dulces típicos por la población

Variedad de dulce típico	Preferencia de consumo de la población	Porcentaje de preferencia
Quebradiente	5	25%
Dulce de leche	19	95%
Conserva de coco	20	100%
Dulce de chilacayote	5	25%
Dulce de nance	17	85%
Dulce de Tamarindo	20	100%
Melcocha	9	45%
Coco rallado	20	100%
Espumilla	20	100%



**Figura N° 1.** Grafico de preferencia de consumo de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador

La tabla N° 2 y la Figura N° 1 muestran los resultados obtenidos mediante la lista de chequeo de los dulces típicos que más se comercializan en los puestos del Mercado Central de San Salvador.

Estas seis variedades de dulces típicos resultaron ser las de mayor preferencia, por ello se tomaron para realizar las diferentes determinaciones microbiológicas a las variedades de dulces.

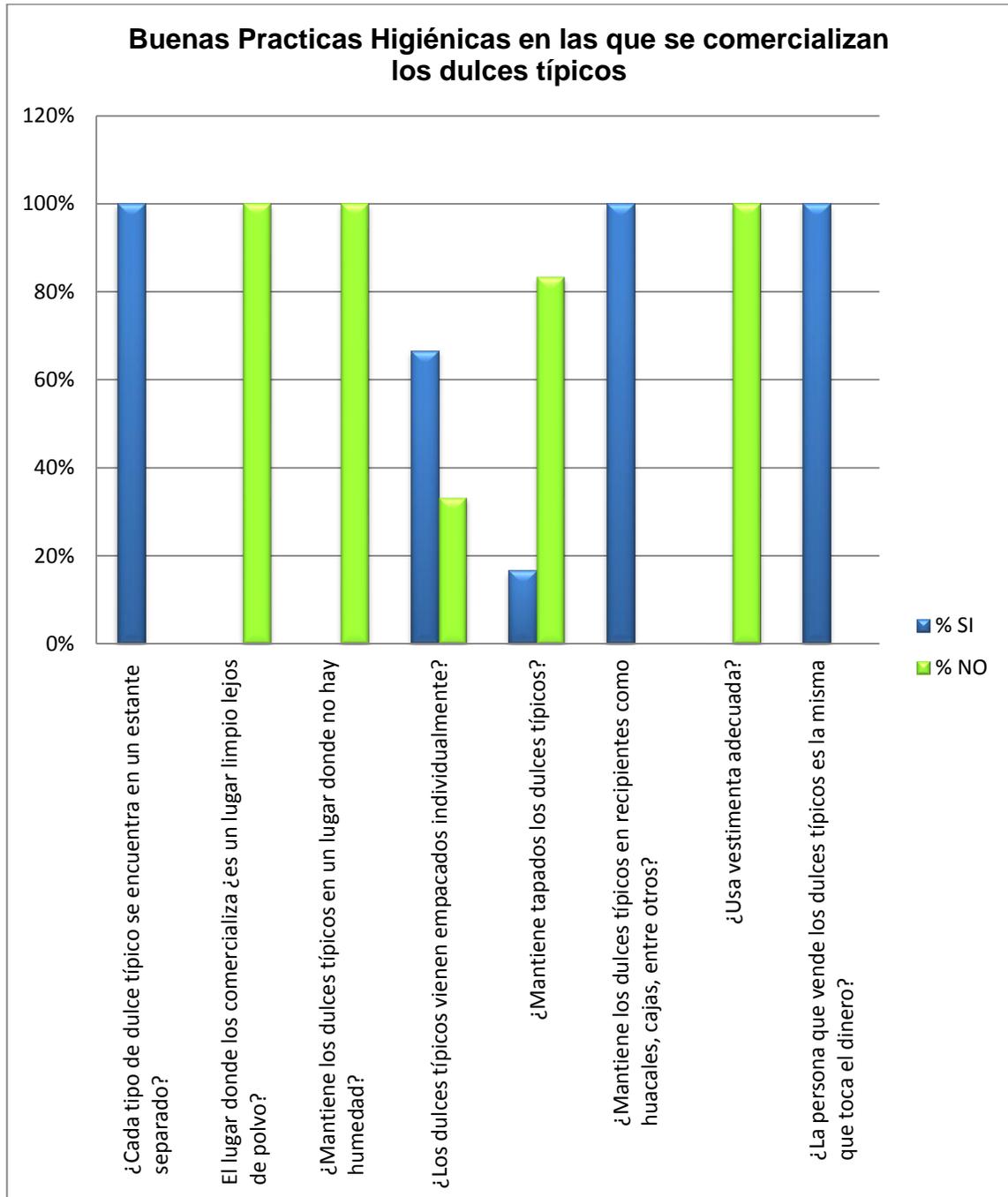
**Cuadro N° 7.** Resultados de parámetros evaluados por medio de una lista de chequeo de las Buenas Practicas Higiénicas con que se comercializan los dulces típicos.

N°	Parámetros a evaluar	N° de puesto de venta que si cumplen	N° de puesto de ventas que no cumplen
1	¿Cada tipo de dulce típico se encuentra en un estante separado?	1, 2, 3, 4, 5 y 6	ninguno
2	El lugar donde los comercializa ¿es un lugar limpio lejos de polvo?	ninguno	1, 2, 3, 4, 5 y 6
3	¿Mantiene los dulces típicos en un lugar donde no hay humedad?	ninguno	1, 2, 3, 4, 5 y 6
4	¿Los dulces típicos vienen empacados individualmente?	2, 3, 5, 6	1 y 4
5	¿Mantiene tapados los dulces típicos?	1	2, 3, 4, 5 y 6
6	¿Mantiene los dulces típicos en recipientes como huacales, cajas, entre otros?	1, 2, 3, 4, 5 y 6	ninguno
7	¿Usa vestimenta adecuada como guantes, gorro o mascarilla?	ninguno	1, 2, 3, 4, 5 y 6
8	¿La persona que vende los dulces típicos es la misma que toca el dinero?	1, 2, 3, 4, 5 y 6	ninguno

Nota: Para determinar los porcentajes se toma que:

1 puesto = 16.67%

6 puestos = 100%



**Figura N° 2.** Gráfico de los parámetros evaluados en la lista de chequeo de las Buenas Practicas Higiénicas con que se comercializan los dulces típicos

El cuadro N° 7 y la figura N° 2 muestran los resultados obtenidos mediante una Lista de chequeo de las Buenas Prácticas Higiénicas con las que se comercializan los dulces típicos de los puestos del Mercado Central de San Salvador.

Ningún puesto cumple con las Buenas Practicas Higiénicas para comercializar los dulces típicos, ya que ningunos de los 6 puestos evaluados comercializa los dulces típicos en un lugar limpio, lejos del polvo; el lugar de almacenamiento es de fácil acceso a la humedad. Este último aspecto es de suma importancia ya que la presencia de humedad significa la presencia de carga microbiana que podría afectar la calidad de los dulces típicos.<sup>(7)</sup>

Por otro lado se observó que el puesto N°2, N°3, N°5 y N°6 no empacan individualmente todos los dulces típicos si no que los comercializan a granel de acuerdo a la cantidad solicitada por el comprador, además de que el puesto N°2 está ubicado en el sótano del Mercado Central donde la mayor parte del piso se encuentra mojado y los dulces a granel no están cubiertos sino que están expuestos a la contaminación por hongos, microorganismos, moscas entre otros.

En los otros dos puestos restantes muchos de los dulces estaban sin tapar y algunos dulces cerca del suelo y colocados en lugares no adecuados como estantes o en huacales y con fácil accesibilidad al polvo. Además en estos tres puestos las muestras de dulces típicos presentaron contaminación con *Escherichia coli* que puede ser por la falta de buenas prácticas higiénicas con que se comercializan los dulces. Sin embargo, se tendría que ver toda la cadena de elaboración y comercialización de dichos dulces para comprobar en qué momento fueron contaminados ya sea por las personas que los elaboran como por las personas que los comercializan y manipulan.

Además en todos los puestos los vendedores de dulces típicos no utilizan guantes, mascarilla o gorro para comercializarlos y por lo general son las mismas que toman el dinero.

Con respecto a los puestos N° 1, N° 3 y N° 4 son los puestos que a simple vista se observaban limpios, sin embargo algunos de los dulces típicos estaban destapados y con la facilidad de contaminarse ya sea por las personas que los manipulaban o por agentes externos a ellos como lo son: microorganismos patógenos para la salud como *Escherichia coli*, *Salmonella spp* o *Staphylococcus aureus*.

Para realizar las determinaciones microbiológicas de las variedades de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador se analizó por quintuplicado cada variedad obteniendo los siguientes resultados.

**Tabla N° 3.** Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos del Mercado Central

Variedades de dulces	Quintuplicados	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) muestras que poseen leche	<i>Salmonella spp.</i> muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
		Límite máximo permitido por el RTCA			
		< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
Dulce de nace	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
Dulce de tamarindo	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
Conserva de coco blanca	1	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	2	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	3	15 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	4	43 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	5	38 NMP/g	N/A	N/A	No cumple

Tabla N° 3: Continuación

Variedades de dulces	Quintuplicados	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) Todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) Muestras que poseen leche	<i>Salmonella</i> spp. Muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
		Límite máximo permitido por el RTCA			
		< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
Espumilla	1	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
Dulce de leche	1	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	3	3.6 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	No cumple
	4	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
Coco rallado	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	3	3.6 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	4	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple

**Nota:** Los quintuplicados de cada variedad de dulces típicos se codificaron con base a la fecha de muestreo y un número correlativo (Ver anexo N° 3)

**Tabla N° 4.** Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos de la marca comercial calidad exportación

Código de Muestra	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) Todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) Muestras que poseen leche	<i>Salmonella</i> spp. Muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite máximo permitido por el RTCA			
	< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
140715-31-E (Espumilla)	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
140715 -32-DL (Dulce de leche)	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
140715-33- DT (Dulce de tamarindo)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-34-DN (Dulce de nance)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-35-CB (conserva de coco blanca)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-36-CR (coco rallado)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple

Según las variedades de dulces típicos analizados de calidad exportación se observa que el 100% de ellas cumple con lo establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos. Por tanto son aptos para el consumo humano, ya que es de suma importancia que estos dulces tenga una inocuidad alimentaria que vaya de acuerdo a los valores de aceptación microbiológicos puesto que al ser de calidad exportación pueden cumplir con los requisitos necesarios para poderse comercializar en otros países o que los mismos compatriotas salvadoreños llevan al extranjero cuando vienen de visita al país.

Comparando la inocuidad de los dulces típicos calidad exportación observamos que la conserva de coco blanca, dulce de leche y coco rallado que se comercializan en el Mercado Central de San Salvador no son aptos para el consumo humano. Esto podría deberse a la falta de Buenas Practicas Higiénicas en la mayoría de puestos de ventas del mercado. Caso contrario a la comercialización de los dulces calidad exportación, ya que estos se encuentran en lugares limpios y se encuentran muy bien almacenados. Además el manipulador no toca directamente los dulces típicos con las manos disminuyendo la posibilidad de contaminación microbiana.

Sin embargo es necesario que para poder comparar los resultados obtenidos de los dulces típicos calidad exportación con lo especificado en el RTCA se tomen el número de muestras significativas para poder inferir el cumplimiento o no cumplimiento de los parámetros microbiológicos de las muestras analizadas.

**Resultados obtenidos en la determinación de *Escherichia coli* (NMP/g), en muestras de Dulces Típicos.**

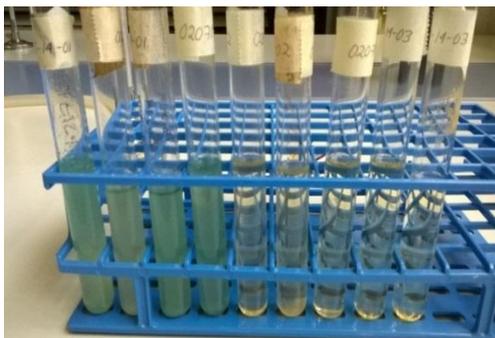
**Cuadro N° 8.** Muestras de dulces típicos contaminadas con *Escherichia coli*

Dulce típicos	Quintuplicados	N° de puesto
Conserva de coco blanca	1	3
	2	
	3	
	4	
	5	
Dulce de leche	3	5
Coco rallado	2	6
	3	
	4	

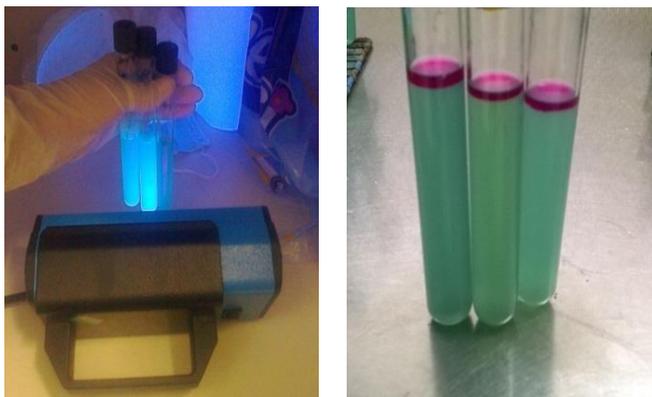
En los análisis realizados para la determinación de *Escherichia coli* (NMP/g) se observó que los quintuplicados en el cuadro N°8, no cumplen con este parámetro microbiológico, ya que los valores obtenidos sobrepasan el límite máximo que es  $< 3$  NMP/g establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos.

Dichas muestras resultaron con un alto valor de NMP/g lo que puede deberse a una posible contaminación por parte de las personas que los elaboraron o durante el transporte de éstos hacia el Mercado Central de San Salvador.

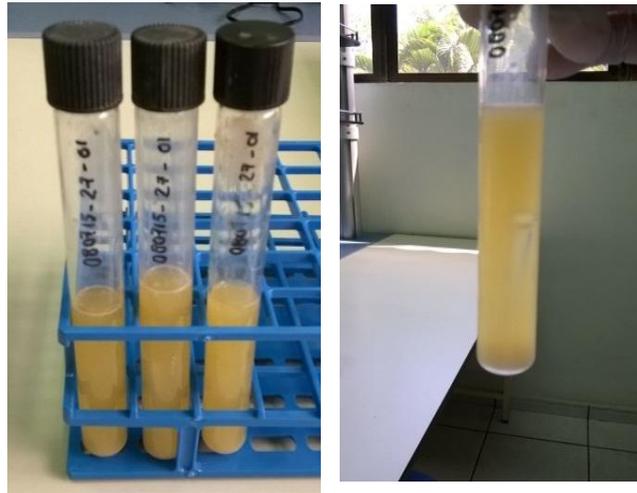
Por otro lado las condiciones de mal almacenamiento de los dulces típicos en lugares sucios y con humedad pueden contribuir a su contaminación. Sin embargo es necesario evaluar a cadena de elaboración y comercialización ya que la *Escherichia coli* es un indicador de contaminación fecal lo que significa que probablemente las personas son las causantes de esta contaminación.



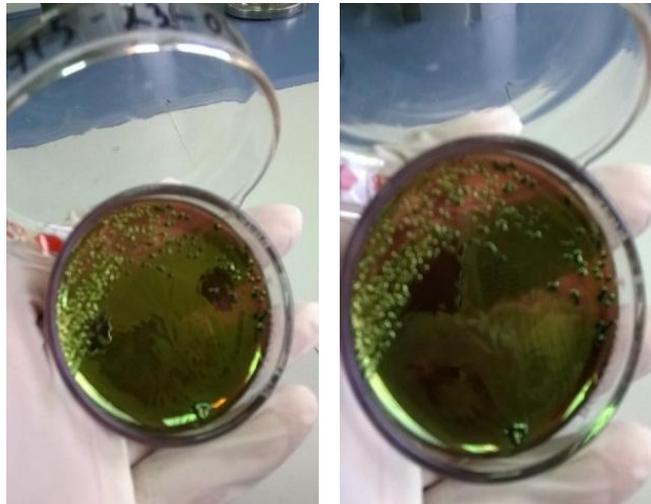
**Figura N° 3.** Coloración azul verdosa en los tubos con Caldo LMX indican prueba positiva para Coliformes totales.



**Figura N° 4.** Confirmación de *Escherichia coli* mediante fluorescencia con luz UV y formación de anillo violáceo con reactivo de Kovacs.



**Figura N° 5.** Confirmación de *Escherichia coli*. Presencia de turbidez en tubos con Caldo EC y formación de gas en las campanas de Durham

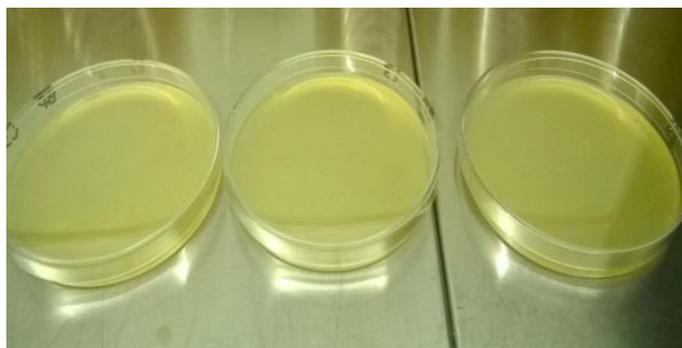


**Figura N° 6.** Confirmación de *Escherichia coli* en agar EMB mediante el crecimiento de colonias características de color verde brillante.

**Resultados obtenido en la determinación de *Staphylococcus aureus* (UFC/g), en muestras de Dulces Típicos que contienen leche como ingrediente.**

La determinación de *Staphylococcus aureus* solo se realizó en el dulce de leche por ser la única variedad de las seleccionadas que en su composición posee leche como ingrediente.

Con respecto a los resultados obtenidos en la determinación de *Staphylococcus aureus*, en agar Baird Parker no hubo crecimiento de colonias características de este microorganismo patógeno. La ausencia de este microorganismo patógeno posiblemente se debe en parte al alto contenido de azúcar <sup>(7)</sup> que presenta el dulce de leche ya que esta disminuye el agua disponible de este tipo de dulce imposibilitando así el crecimiento de este microorganismo patógeno. Por lo tanto los resultados obtenidos de esta variedad de dulce comercializada en el Mercado Central de San Salvador y la muestra de calidad exportación cumplen con este criterio microbiológico.



**Figura N° 7.** Placas de Agar Baird Parker sin crecimiento de *Staphylococcus aureus*

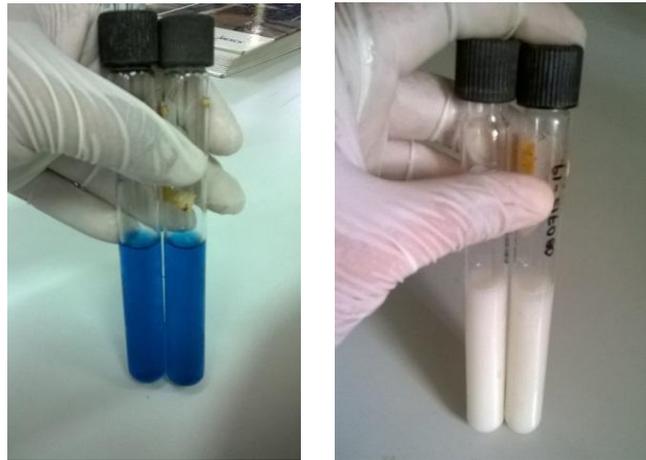
### Resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella spp* en muestras de Dulces Típicos que contienen huevo como ingrediente.

En los resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella spp*, no se observó crecimiento de colonias con características típicas de *Salmonella spp*, en los medios: Agar XLD y Agar Cromogénico, sin embargo en Agar XLD y en Agar Cromogénico *Salmonella* hubo crecimiento de colonias características de *Klebsiella pneumoniae*. Por lo que se optó a realizar pruebas bioquímicas para confirmar la presencia de *Klebsiella* y la ausencia *Salmonella* (Ver anexo N° 6).

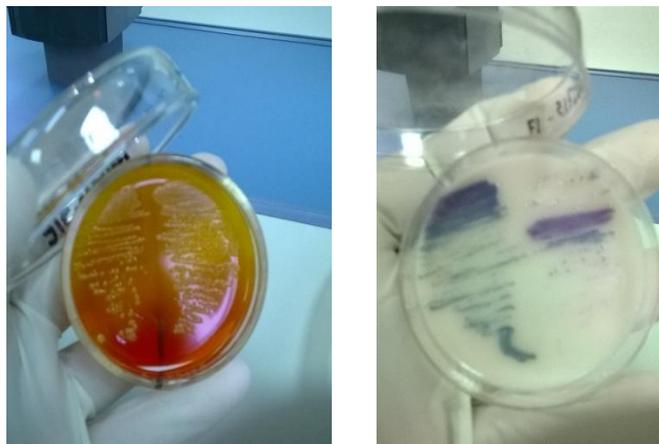
La *Klebsiella pneumoniae*, como su propio nombre sugiere es la causante de neumonía en los seres humanos, y la enfermedad se denomina neumonía por *Klebsiella*. Además de los pulmones, también se reportan infecciones en las zonas intra abdominales y el tracto urinario. De hecho, es la segundo microorganismo más patógeno virulento, al lado de *Escherichia coli*, que causa infección del tracto urinario. Normalmente afecta a las personas inmunodeficientes, pacientes hospitalizados, pacientes diabéticos y personas con enfermedad pulmonares crónicas. (3)



**Figura N° 8.** Pre-enriquecimiento de *Salmonella spp* en Caldo Lactosado.



**Figura N° 9.** Enriquecimiento de *Salmonella spp* en Caldo Rappaport y Caldo Tetracionato.



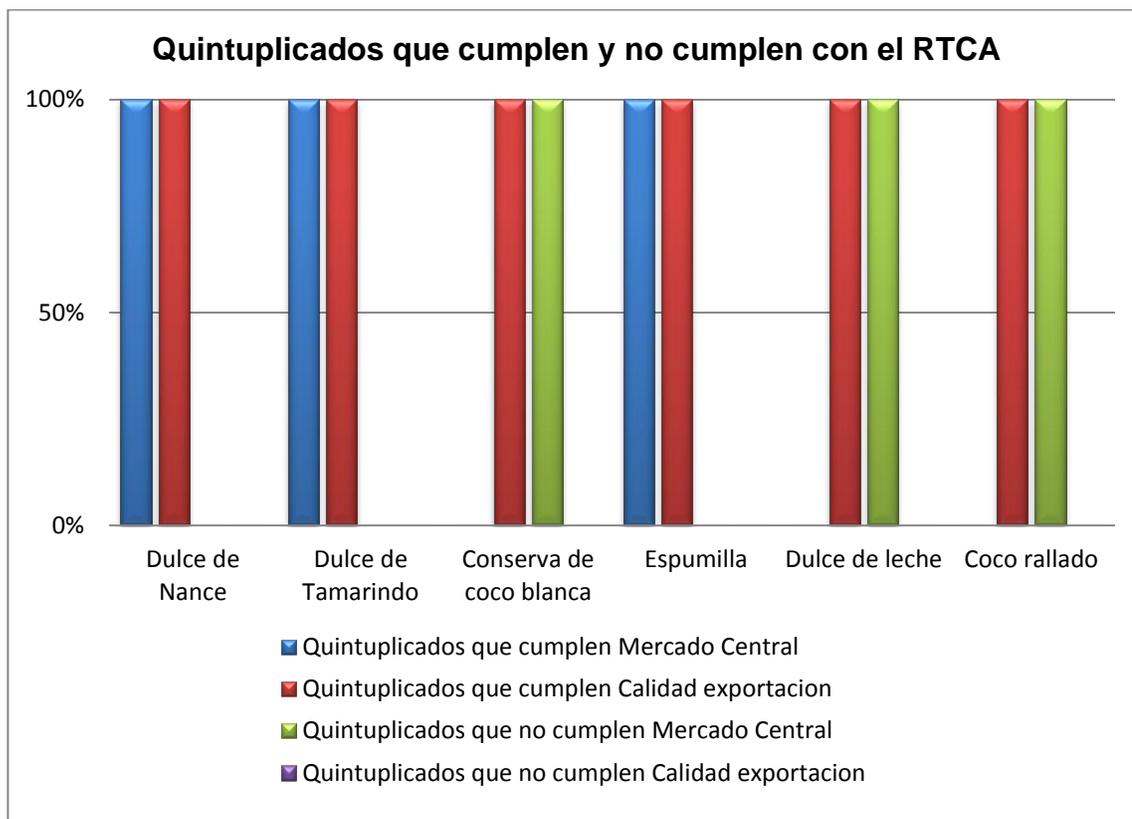
**Figura N° 10.** Placas con agar XLD y Agar Cromogénico *Salmonella* sin crecimiento de *Salmonella spp* pero con crecimiento de *Klepsiella pneumoniae*. (ver anexo N° 6)

**Tabla N° 5.** Porcentajes de muestras de Dulces que cumplen y no cumplen con los parámetros del Reglamento Técnico Centroamericano.

Variedades de Dulces Típicos	Quintuplicados que cumplen		Quintuplicados que no cumplen	
	Mercado Central	Calidad Exportación	Mercado Central	Calidad Exportación
Dulce de Nance	100%	100%	0%	0%
Dulce de Tamarindo	100%	100%	0%	0%
Conserva de coco blanca	0%	100%	100%	0%
Espumilla	100%	100%	0%	0%
Dulce de leche	0%	100%	100%	0%
Coco rallado	0%	100%	100%	0%

La tabla N° 5 muestra el porcentaje de los quintuplicados de cada variedad de dulce típico analizado que cumplen y no cumplen según los especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano.

Si un duplicado no cumple con las especificaciones se tomó como que las 5 unidades de la variedad de dulce analizada no cumple.



**Figura N° 11.** Gráfica de muestras de dulces típicos que cumplen y no cumplen con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Los puestos de ventas de los diferentes dulces típicos ubicados en el Mercado Central de San Salvador poseen prácticas higiénicas deficientes, debido a que en su mayoría el almacenamiento y comercialización de estos son en lugares sucios, húmedos y con manipulación directa de los vendedores.
2. Las muestras analizadas de las variedades conserva de coco blanca, dulce de leche y coco rallado comercializadas en el Mercado Central de San Salvador no cumplen con el parámetro microbiológico para *Escherichia coli*, ya que los valores obtenidos sobrepasan el límite máximo establecido que es <3 NMP establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos, lo que indica contaminación de origen fecal debida posiblemente a mala manipulación durante la preparación, transporte o comercialización.
3. Los quintuplicados de las muestras en las variedades dulce de nance y dulce de tamarindo cumplen con lo especificado en Reglamento Técnico para *Escherichia coli*, lo que indica que estas variedades de dulce son aptas para consumo humano debido que es la única especificación que da el Reglamento Técnico Centroamericano para estas variedades de dulce.
4. Los quintuplicados de muestras analizadas de dulce de leche cumplen con la determinación de *Staphylococcus aureus* dado que los resultados son menores a lo especificado en el Reglamento. La ausencia de este microorganismo patógeno puede deberse en parte al alto contenido de

azúcar que presenta el dulce de leche ya que esta disminuye el agua disponible de este tipo de dulce imposibilitando así el crecimiento de este microorganismo patógeno.

5. La determinación de *Salmonella* spp, realizada a los quintuplicados de muestra de espumilla por contener huevo como ingrediente están ausente de este microorganismo patógeno; cumpliendo con lo especificado en dicho Reglamento y por tanto son aptos para consumo humano.
  
6. Comparando los resultados obtenidos de las variedades de dulces típicos del Mercado Central de San Salvador con las de marca calidad exportación se observó que la inocuidad de ambos no es la misma debido a que los dulces típicos de marca cumplen las especificaciones del Reglamento y las comercializadas en el mercado no cumplen; ya que algunas variedades de dulces estaban contaminadas con *Escherichia coli*, posiblemente por mala manipulación durante la preparación, transporte o comercialización de estos. Caso contrario a los dulces de marca en los que la manipulación del vendedor al momento de su comercialización es mínima debido a que usa guantes y otros utensilios.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Que el Ministerio de Salud implemente campañas de divulgación sobre las Buenas Practicas Higiénicas a las personas que comercializan y elaboran dulces para evitar la contaminación de ellos con *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* u otro patógeno que pongan en riesgo la inocuidad y la calidad de estos alimentos.
2. Que las autoridades correspondientes realicen análisis microbiológicos a todos los tipos de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador, además de inspecciones periódicas verificando que todas las variedades de dulces típicos cumplan con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos, para garantizar al consumidor un producto inocuo.
3. Que las autoridades correspondientes exijan que los dulces típicos sean empacados de forma individual desde el momento de su elaboración para evitar la inadecuada manipulación de estos dulces y que estos se contaminen durante la comercialización.
4. Realizar en futuros trabajos de graduación efectuados en la Facultad de Química y Farmacia puedan realizar análisis microbiológicos y fisicoquímicos como pH, grados Brix, características organolépticas, contenido nutricional, entre otras a los diferentes variedades de dulces típicos comercializados, para determinar si estas características fisicoquímicas influyen en los resultados que se puedan obtener.

5. A las autoridades encargadas de revisar el Reglamento Técnico Centroamericano proponer límites para análisis fisicoquímicos en dulces típicos con el fin de hacer un mejor análisis a las muestras.
  
6. Realizar análisis microbiológicos y fisicoquímicos de dulces típicos a las muestras comercializadas en las ferias donde se encuentra una gran cantidad de variedades de estos con el fin de garantizar la inocuidad y calidad con la que se elaboran y comercializan dichos dulce que consume la población salvadoreña y otras personas que visitan nuestro país.

## **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Enfermedades Transmitidas por alimentos. Disponible: [http://www.anmat.gov.ar/Cuida\\_Tus\\_Alimentos/eta.htm](http://www.anmat.gov.ar/Cuida_Tus_Alimentos/eta.htm) (Visto el 25 de enero de 2015).
2. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficial (Diciembre, 2011). Volumen 1. (en línea). Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_vol\\_i.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_i.pdf) (visto el 03 de junio de 2015).
3. American Society for Microbiology. Infectología Avanzada. *Klebsiella pneumoniae*. (en línea) Disponible en: <http://lasaludi.info/klebsiella-pneumoniae.html> (visto el 22 de septiembre de 2015).
4. Cabrera Aguilar, J. R. y Hernández Acosta, M. G. (2008). Validación de la prueba de coliformes totales y fecales por la técnica de tubos múltiples utilizando un medio fluorogénico. Tesis de grado. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, El Salvador.
5. Calderón, G. Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s/i0480s03.pdf> (Visto el 03 de junio de 2015).
6. Cervantes García, Estrella; García González, Rafael y Salazar Schettino, Paz María. Características generales del *Staphylococcus aureus*.

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México (UNAM).

7. Chavarrias, M. (2013, Agosto 22). El Poder conservador del Azúcar. (en línea) Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2013/08/22/217572.php>
8. Chavarrias, M. (2014, Junio 18). Los alimentos de bajo riesgo microbiológico. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2014/06/18/220058.php> (visto el 20 de julio de 2015).
9. Dirección de Salud Pública. Secretaría de Salud de Bogotá. Alimentos de Menor Riesgo. (2010). Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Protocolos%20de%20Vigilancia%20en%20Salud%20Publica/Alimentos%20de%20Menor%20Riesgo.pdf> (visto el 20 de julio de 2015).
10. Escalante Escobar, L. G. y Ortíz Hernández, R. M. (2010). Evaluación de la calidad microbiológica de refrescos naturales no pasteurizados comercializados en el interior y los alrededores de la Universidad de El Salvador. Tesis de grado. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, El Salvador.
11. AOAC, Food and Drug Administration (2003) "Bacteriological Analytical Manual". 9th ed. Arlington, VA:.

12. Guzmán Álvarez, Z. G. (2012). Determinación de la calidad microbiológica de escabeche comercializado en los supermercados del distrito dos de la zona metropolitana de San Salvador. Tesis de grado. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, El Salvador.
13. Guzmán Deras, M. S. (2011). Estudio Gastronómico y alimenticio de Dulces Típicos salvadoreños. Seminario de Especialización. Universidad Dr. José Matías Delgado, Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola. El Salvador.
14. Hayes, PR. 1993. Microbiología e higiene de los alimentos. ES. Ed. Acribia. p. 10-14, 21.
15. Jawetz E. y otros. 2004. Microbiología Médica. 18 ed. México D.F. Ed. Manual Moderno. Trad. F. Sánchez. p. 107, 241-243.
16. Jawetz E. y otros. 2010. Microbiología Médica. 25 ed. México D.F. Ed. Manual Moderno. Trad. F. Sánchez. p. 185-190.
17. Leiva Rodríguez, M. R.; Nieto, S.; Pilatti, L.; Rizzardo, A. y Soria, R. R. (Abril, 2012). Manual de Buenas Prácticas de Manufactura, Sector Dulces y Confituras (en línea). Disponible en: [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/BPM/BPM\\_Dulces\\_Confituras.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/BPM/BPM_Dulces_Confituras.pdf) (visto el 04 de junio de 2015).
18. Merck. Microbiology Manual. (2012) 12th Edition. Págs: 358, 434, 436, 488, 512 y 513.

19. Orellana Zelaya, A. M. y Roque Machado, F. M. (2011). Estudio de la composición nutricional de Dulces Típicos. Seminario de Investigación Profesional. Universidad Dr. José Matías Delgado, Facultad de Agricultura e Investigación Agrícola. El Salvador.
20. Organización Mundial de la Salud (2011). *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC). Nota descriptiva N° 125 (en línea). Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/> (visto el 5 de febrero de 2015).
21. Portillo Vigil, E. R.; Rivas Anaya, E. E. y Viscarra Salazar, C. C. (2005). Propuesta de un modelo competitivo para la producción y exportación de dulces, conservas y jaleas tradicionales de El Salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ingeniería y Arquitectura. El Salvador.
22. Potter, N y Hotchkiss, J. (1999), Ciencia de los Alimentos, Editorial ACRIBIA, S.A., España. pags. 101, 585-590, 597 y 481
23. Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.
24. Silva, M. (2006, Noviembre 7) *Staphylococcus aureus*. (en línea). Disponible en: <http://staphylococcus-aureus.blogspot.com/> (visto el 05 de junio de 2015).
25. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>. Bacteriological Analytical Manual. Most Probable Number

from Serial Dilutions (en línea). Disponible en: (visto el 06 de junio de 2015).

26. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, Identification of *Salmonella* (en línea). Disponible en: (visto el 06 de junio de 2015).

27. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 12: *Staphylococcus aureus* (en línea). Disponible en: (visto el 06 de junio de 2015).

28. <http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm&prev=search>. Manual Analítico Bacteriológico. Capítulo 4: Enumeración de *Escherichia coli* y las bacterias coliformes. (en línea). Disponible en: (visto el 05 de junio de 2015)

## **ANEXOS**

## ANEXO N° 1



**Figura N°13.** Ubicación de los puestos de venta de Dulces Típicos en Mercado Central de San Salvador.

**ANEXO N° 2**  
**LISTAS DE CHEQUEO**



Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia



Trabajo de Graduación

**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE DULCES  
TÍPICOS COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO CENTRAL DE SAN  
SALVADOR**

**Lista de chequeo N°1**

La siguiente lista de chequeo es para conocer cuáles son las variedades de dulces típicos mayormente comercializados en los puestos del mercado central de San Salvador y sus alrededores.

Indicaciones

Marca con un X las variedades de dulces típicos mayormente comercializados en su puesto de venta:

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Quebradiente         | <input type="checkbox"/> Dulce de Tamarindo |
| <input type="checkbox"/> Dulce de leche       | <input type="checkbox"/> Melcocha           |
| <input type="checkbox"/> Conserva de coco     | <input type="checkbox"/> Coco Rallado       |
| <input type="checkbox"/> Dulce de chilacayote | <input type="checkbox"/> Espumilla          |
| <input type="checkbox"/> Dulce de nance       | <input type="checkbox"/> Otros _____        |

\_\_\_\_\_



Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia



Trabajo de Graduación

**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE DULCES  
TÍPICOS COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO CENTRAL DE SAN  
SALVADOR**

**Lista de chequeo N°2**

La siguiente lista de chequeo es para verificar las condiciones ambientales y las buenas prácticas higiénicas en las que se comercializan los dulces típicos en el Mercado Central de San Salvador.

Código del puesto: \_\_\_\_\_ Ubicación: \_\_\_\_\_

Parámetros a evaluar	SI	NO
¿Cada tipo de dulce típico se encuentra en un estante separado?		
El lugar donde los comercializa ¿es un lugar limpio lejos de polvo?		
¿Mantiene los dulces típicos en un lugar donde no hay humedad?		
¿Los dulces típicos vienen empacados individualmente?		
¿Mantiene tapados los dulces típicos?		
¿Mantiene los dulces típicos en recipientes como huacales, cajas, entre otros?		
¿Usa vestimenta adecuada?		
¿La persona que vende los dulces típicos es la misma que toca el dinero?		

Observaciones \_\_\_\_\_

**ANEXO N° 3**  
**IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS**

**Tabla N° 7.** Identificación de los quintuplicados de las diferentes variedades de Dulces Típicos analizados

<b>Variedades de dulces Típicos</b>	<b>Número de puestos de venta</b>	<b>Código de quintuplicados</b>
Dulce de nance	1	020715 – 01
		020715 – 02
		020715 – 03
		020715 – 04
		020715 – 05
Dulce de Tamarindo	2	020715 – 06
		020715 – 07
		020715 – 08
		020715 – 09
		020715 – 10
Conserva de coco blanca	3	020715 – 11
		020715 – 12
		020715 – 13
		020715 – 14
		020715 – 15
Espumilla	4	080715 – 16
		080715 – 17
		080715 – 18
		080715 – 19
		080715 – 20
Dulce de leche	5	080715 – 21
		080715 – 22
		080715 – 23
		080715 – 24
		080715 – 25

Continuación. **Tabla N° 7**

<b>Variedades de dulces Típicos</b>	<b>Número de puestos de venta</b>	<b>Código de quintuplicados</b>
Coco rallado	6	080715 – 26
		020715 – 27
		020715 – 28
		020715 – 29
		020715 – 30
Espumilla	Dulces marca calidad exportación	140715 – 31 - E
Dulce de leche		140715 – 32 - DL
Dulce de tamarindo		140715 – 33 - DT
Dulce de nance		140715 – 34 - DN
Conserva de coco blanca		140715 – 35 - CB
Coco rallado		140715 – 36 - CR

## ANEXO N° 4



**Figura N° 14.** Fotografías de uno de los puestos de venta de Dulces Típicos en el Mercado Central de San Salvador



**Figura N° 15.** Fotografías de unos de los puestos de venta de Dulces Típicos de marca comercial calidad exportación

## ANEXO N° 5



a. Dulce de tamarindo



b. Dulce de nance



c. Conserva de coco blanca



d. Espumilla



e. Dulce de leche



f. Coco rallado

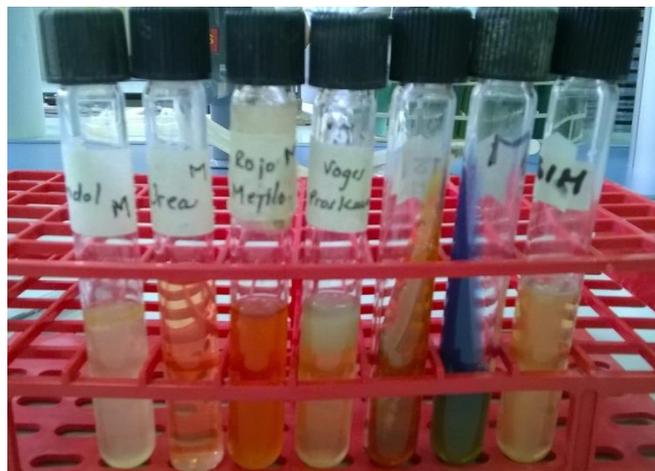
Figura N°16. Fotografías de las muestras de dulces típicos analizados

## ANEXO N° 6

### Pruebas Bioquímicas para *Klebsiella pneumoniae*

**Tabla N° 8.** Resultados de las pruebas bioquímicas de *Klebsiella pneumoniae* <sup>(22)</sup>

Prueba	Resultado esperado	Resultado obtenido
TSI	amarillo / amarillo	amarillo / amarillo
Citrato	( + ) cambio de color verde a azul	( + ) cambio de color verde a azul
Indol	( - )	( - )
Urea	( - )	( - )
Motilidad	( - )	( - )
Rojo de Metilo	( + )	( + )
Voges Proskauer	( - )	( - )



**Figura N° 17.** Fotografía de resultados de pruebas bioquímicas para *Klebsiella pneumoniae*

## ANEXO N° 7

 <p style="text-align: center;"><b>Universidad de El Salvador</b> <b>Facultad de Química y Farmacia</b></p> 	
<b>Fecha de muestreo</b>	
<b>Hora de recolección</b>	
<b>Código de muestra</b>	
<b>Nombre de muestra</b>	
<b>Nombre de la persona que muestreó</b>	
<b>Número de puesto</b>	

**Figura N° 18:** Etiqueta de identificación de cada muestra

## ANEXO N° 8

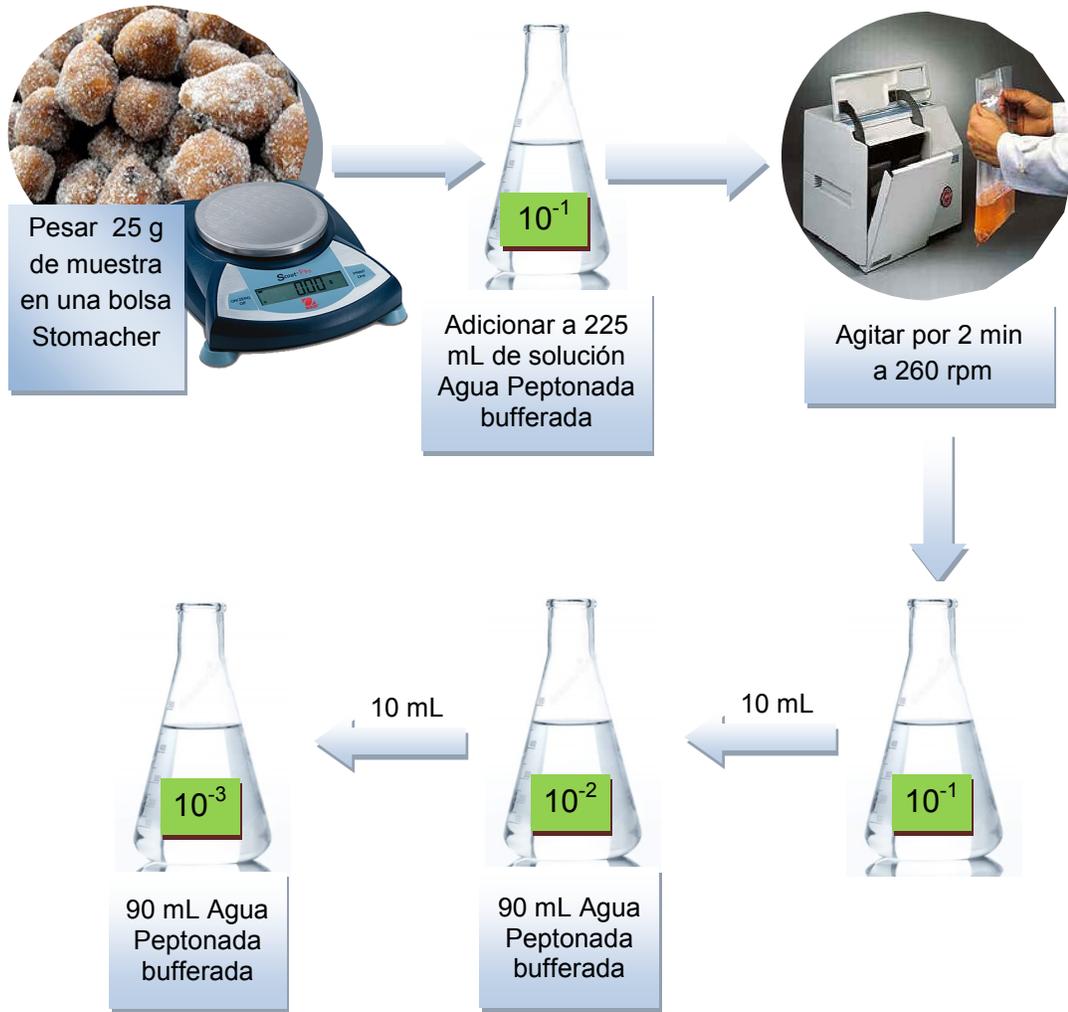


Figura N° 19: Esquema de dilución de muestra de dulces típicos

## ANEXO N° 9

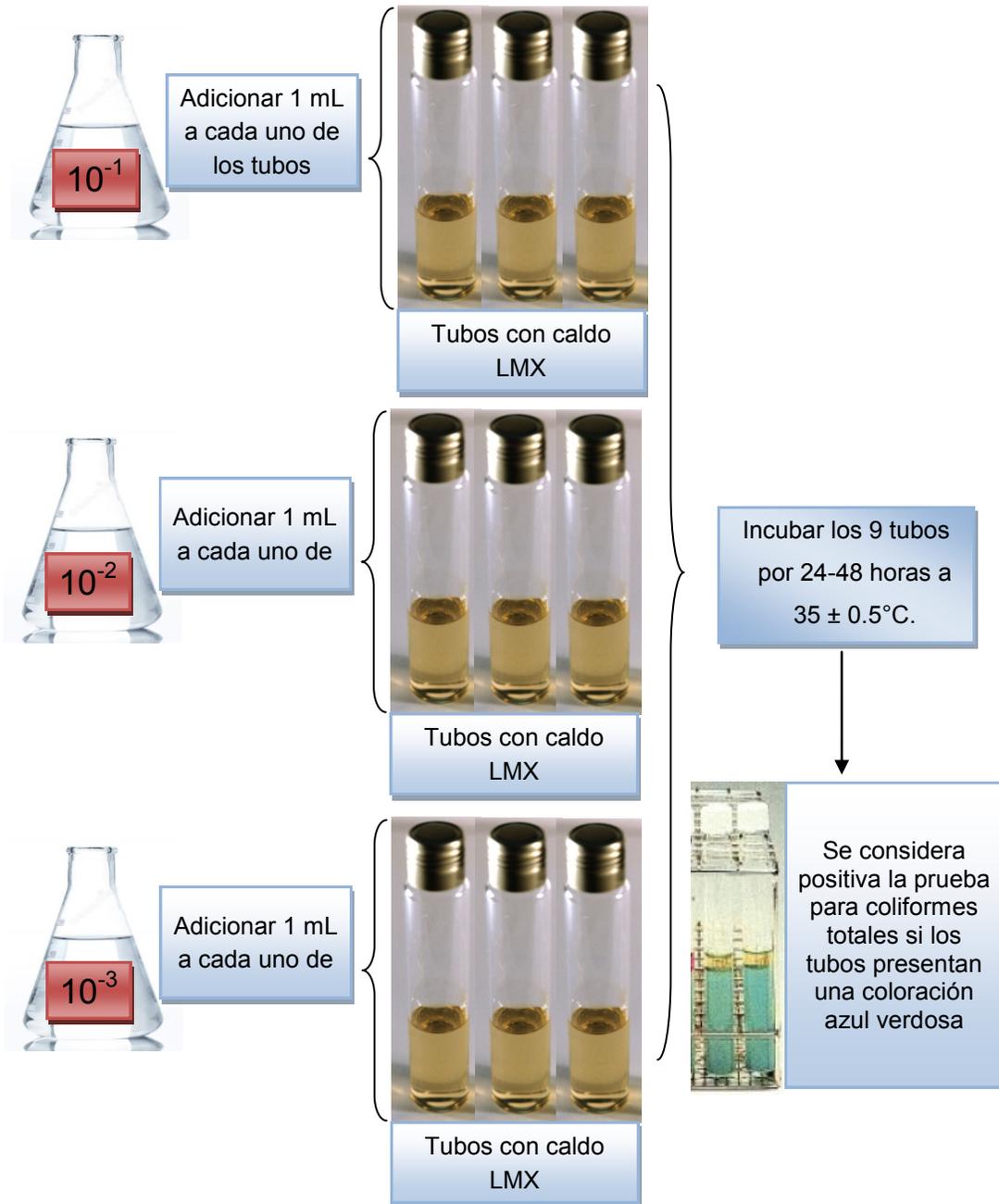


Figura N° 20: Técnica número más probable (NMP) <sup>(25)</sup>

## ANEXO N° 10

**Tabla N° 9:** NMP Para 3 tubos cada uno con 0.1, 0.01 y 0.001 g de inculo,  
con limites de confianza de 95% <sup>(25)</sup>

Combinación de tubos positivos			NMP/g	Limite de confianza		Combinación de tubos positivos			NMP/g	Limite de confianza	
0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

## ANEXO N° 11

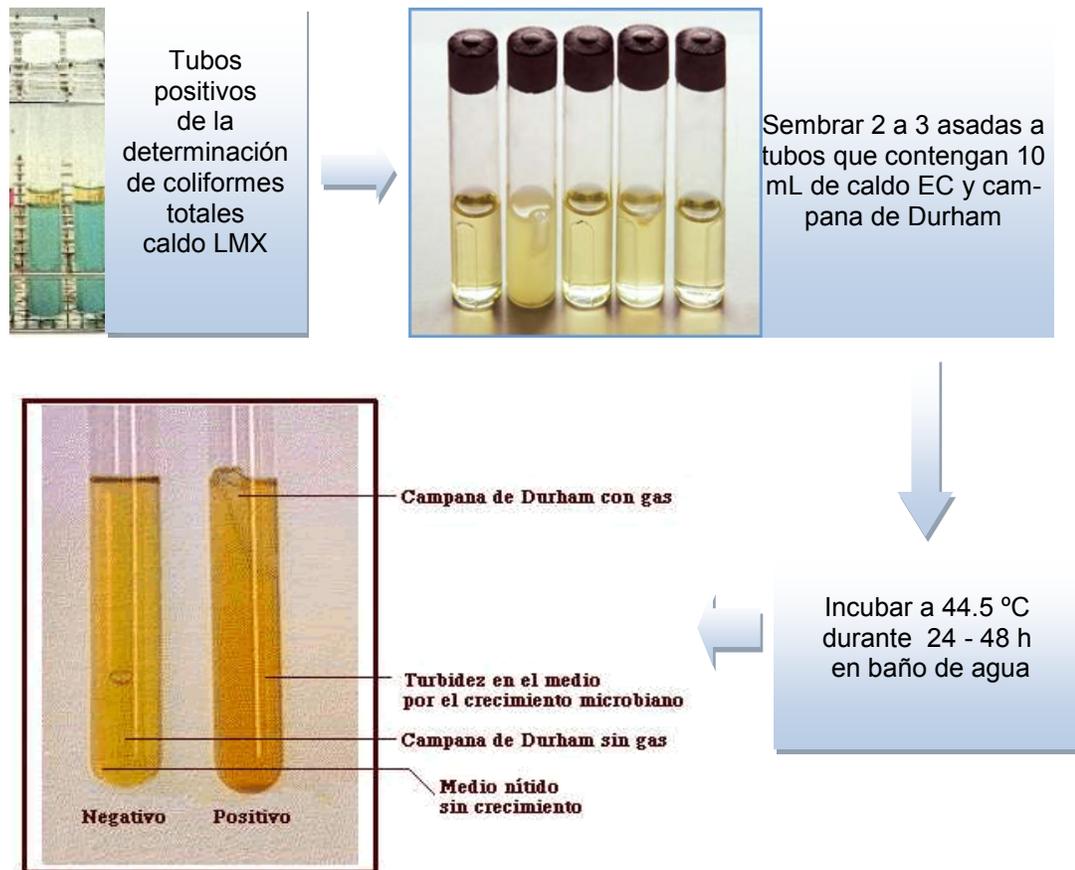


Figura N° 21: Esquema para determinación de coliformes fecales. (28)

## ANEXO N° 12

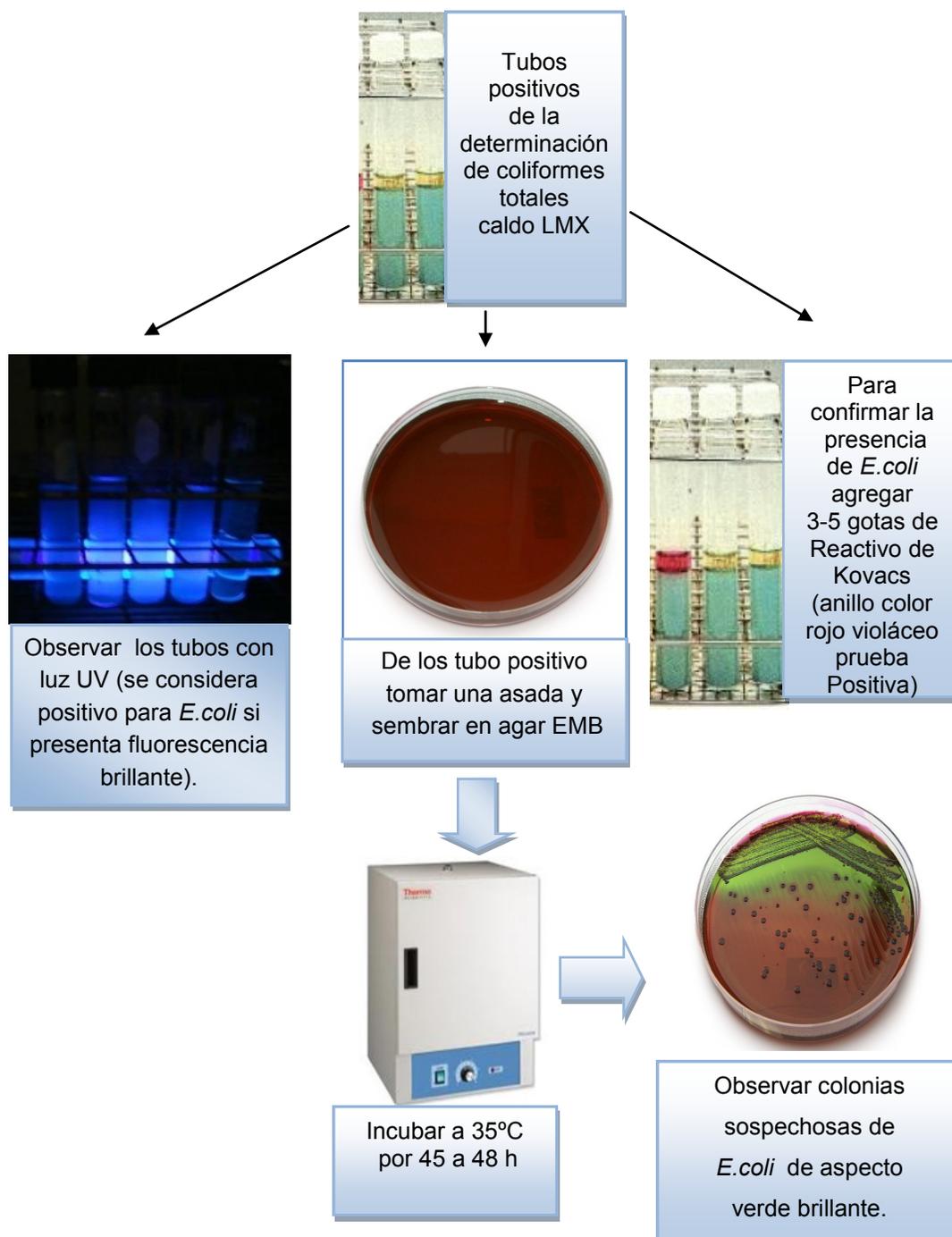


Figura N° 22: Esquema para la determinación de *Escherichia coli* <sup>(28)</sup>

## ANEXO N° 13

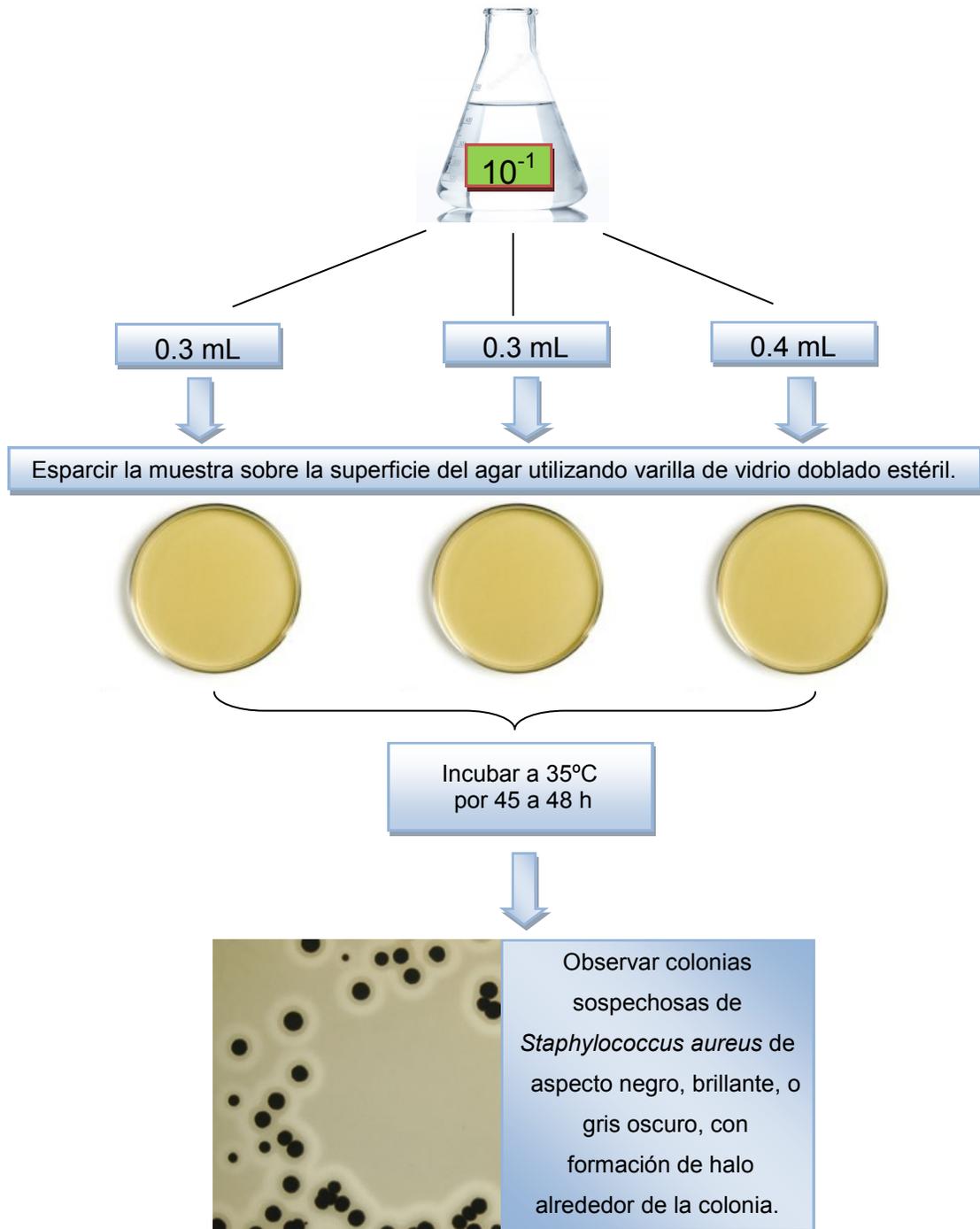
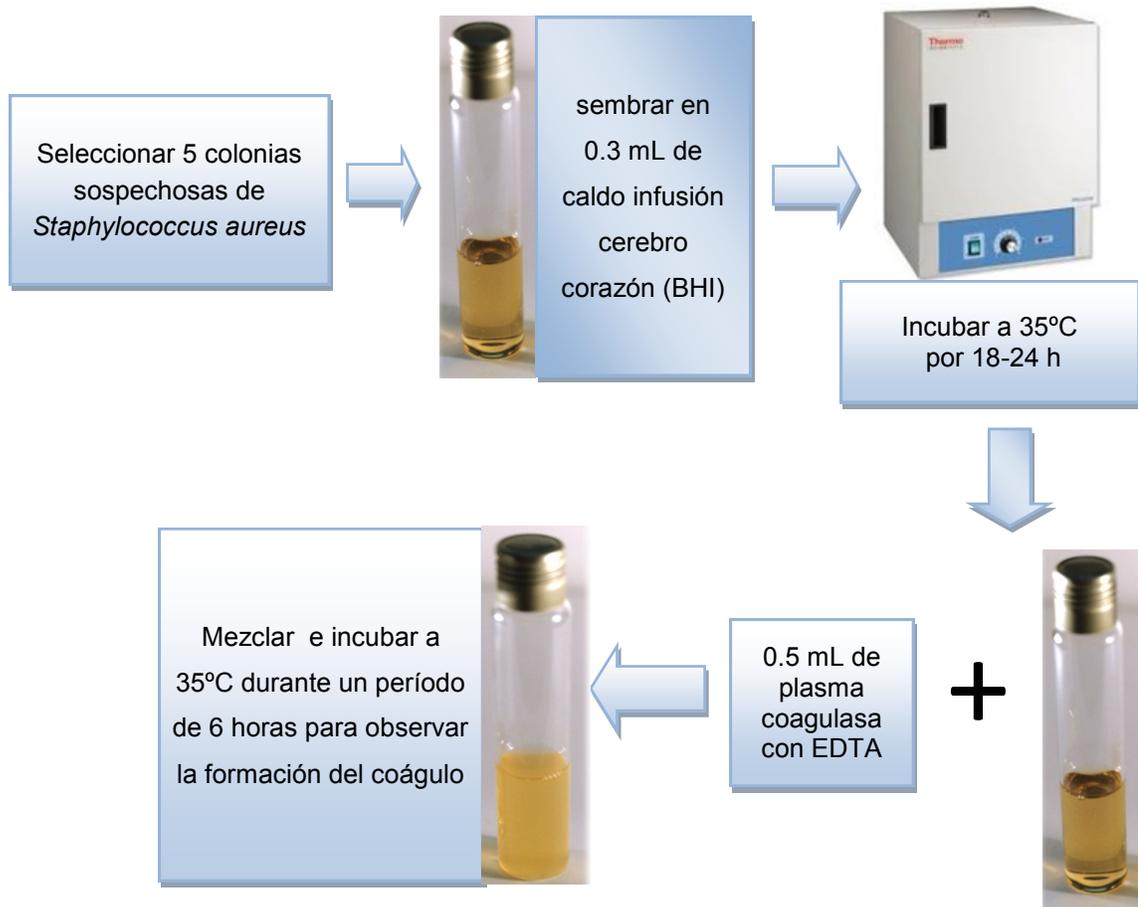


Figura N° 23: Esquema para la determinación de *Staphylococcus aureus* <sup>(27)</sup>

## ANEXO N° 14



**Figura N° 24:** Esquema para la realización de prueba coagulasa para comprobación de presencia de *Staphylococcus aureus* <sup>(27)</sup>

## ANEXO N° 15

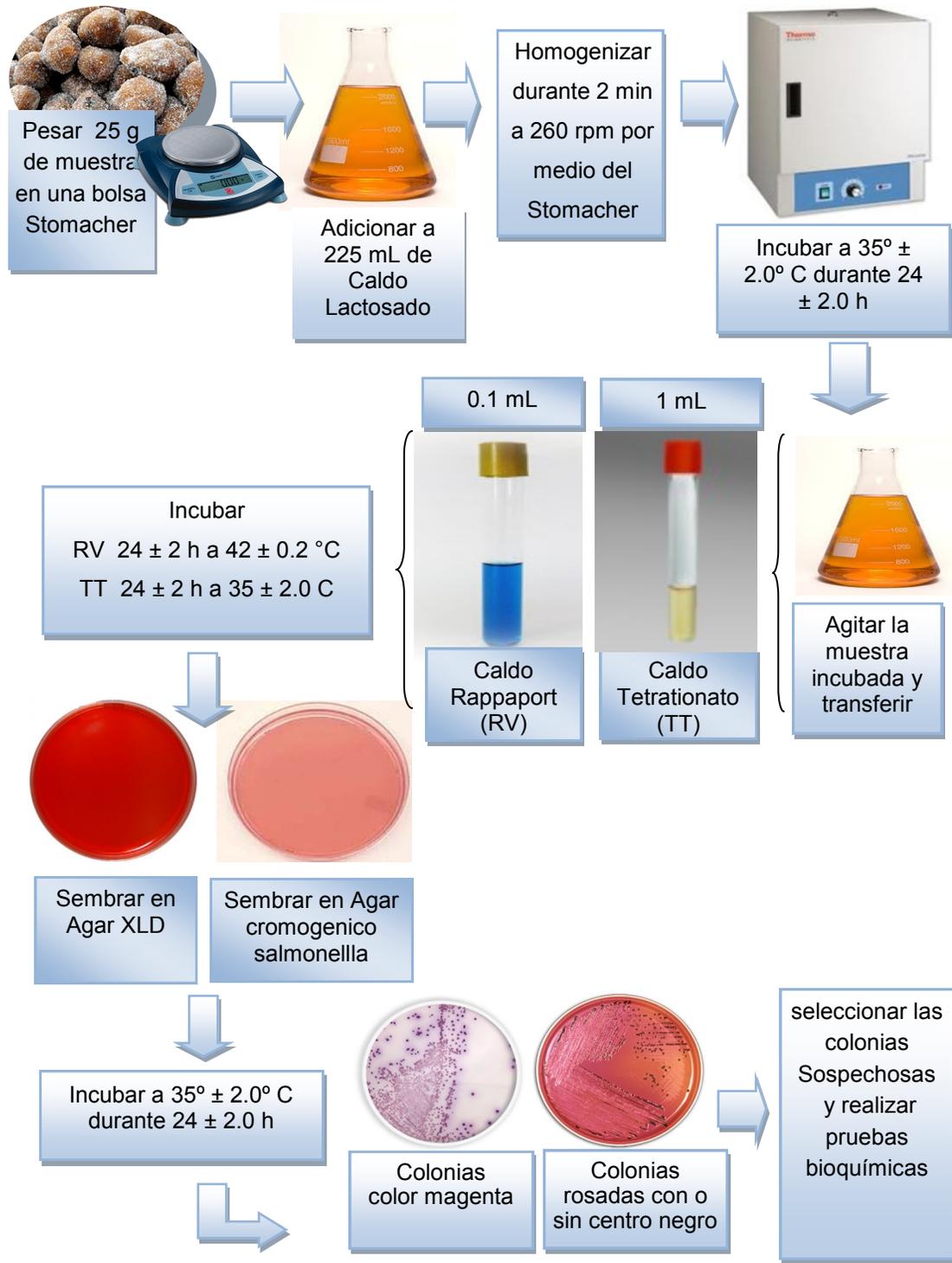


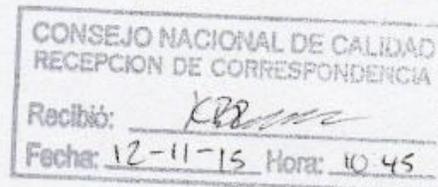
Figura N° 25: Esquema para la determinación de *Salmonella* <sup>(26)</sup>

## ANEXO N° 16

**Tabla N° 10:** Reacciones bioquímicas y serológicas de *Salmonella* <sup>(26)</sup>

#	Prueba o sustrato	Resultado		Salmonella especies de reacción
		Positivo	Negativo	
1.	La glucosa (TSI)	Fondo amarillo	Fondo rojo	+
2.	H <sub>2</sub> S (TSI y LIA)	ennegrecimiento	sin ennegrecimiento	+
3.	Prueba de urea	color rojo púrpura	ningún cambio de color	-
4.	Prueba de indol	color rojo en la superficie	color amarillo en la superficie	-
5.	Prueba SIM	movilidad	Sin movilidad	+
6.	Prueba de	Rosado a color rojo	ningún cambio de color	-
7.	Rojo de metilo	difusa de color rojo	difusa de color amarillo	+
8.	Simmons citrato	crecimiento; color azul	no hay crecimiento; ningún cambio de color	variable

**ANEXO N° 17**  
**RESULTADOS A PRESENTAR AL ORGANISMO SALVADOREÑO DE**  
**REGLAMENTACION TECNICA (OSARTEC)**



Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia

San Salvador, Noviembre 2015  
Licda. Mariana Gómez  
Directora  
OSARTEC  
Presente.

Reciba un cordial saludo deseándole éxitos en su labor diaria.

El motivo de la presente es para dar a conocer los resultados de trabajo de graduación titulado: **“Determinación de la calidad microbiológica de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador”**, en cumplimiento a uno de los objetivos específicos de nuestro trabajo. Además de que con los resultados obtenidos de ésta investigación se puedan evaluar y verificar los límites establecidos para el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08

Anexamos los resultados que incluyen las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos.

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos  
Docente Directora

Angel Antonio Delgado Gallegos  
Estudiante Egresado de la Facultad  
de Química y Farmacia

Marjorie Paola Ruíz Portillo  
Estudiante Egresado de la Facultad  
de Química y Farmacia

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE DULCES  
TÍPICOS COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO CENTRAL DE SAN  
SALVADOR**

**PRESENTADO POR:**

**ANGEL ANTONIO DELGADO GALLEGOS  
MARJORIE PAOLA RUIZ PORTILLO**

**NOVIEMBRE 2015**

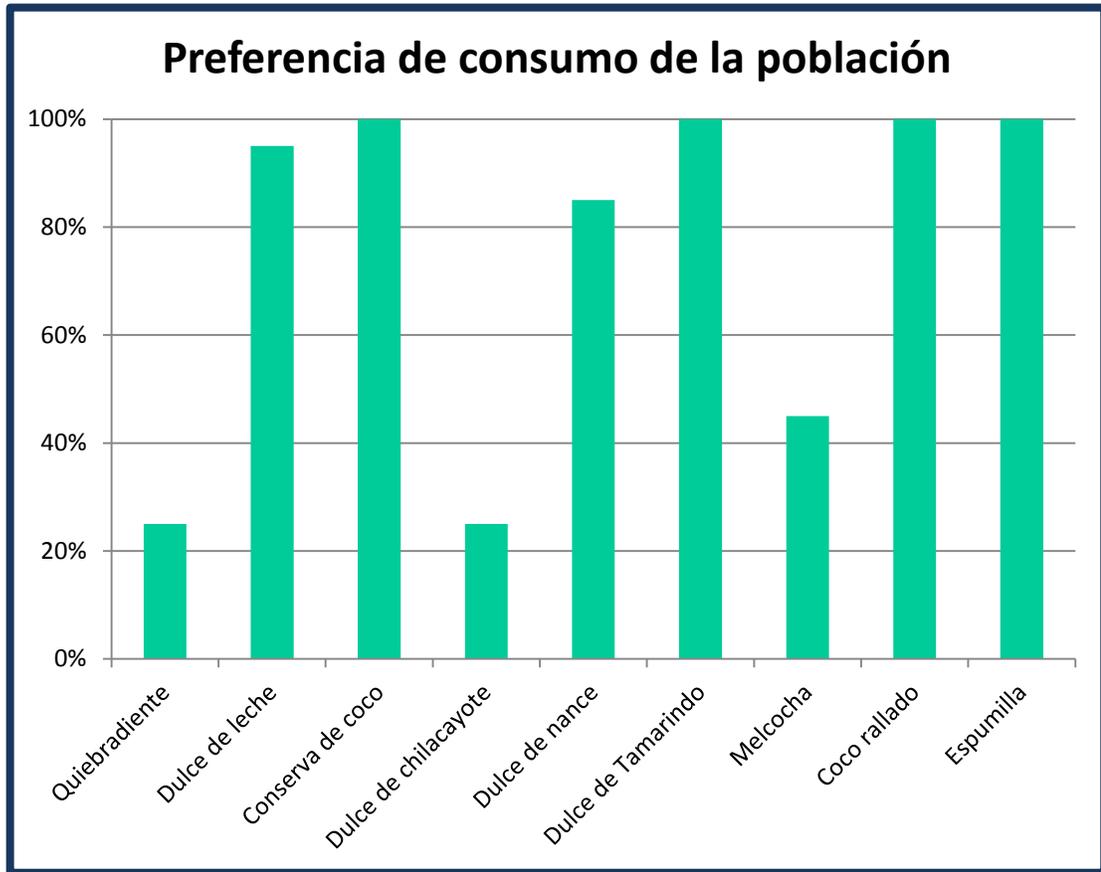
**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA**

## I. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Previo al muestreo se realizó una lista de chequeo (ver anexo N° 2: lista de chequeo N° 1) de los dulces típicos que se comercializan mayoritariamente en cada uno de los puestos del mercado central de San Salvador. Dicha lista se pasó a un total de 20 personas; entre ellas los vendedores y compradores. Los resultados fueron que los dulces típicos más comercializados son: Conserva de coco blanca, dulce de nance, dulce de tamarindo y espumilla con el 100% de preferencia en la población, dulce de leche con una preferencia del 95% y dulce de nance con 85%

**Tabla N° 1.** Preferencia de consumo de dulces típicos por la población

<b>Variedad de dulce típico</b>	<b>Preferencia de consumo de la población</b>	<b>Porcentaje de preferencia</b>
Quebradiente	5	25%
Dulce de leche	19	95%
Conserva de coco	20	100%
Dulce de chilacayote	5	25%
Dulce de nance	17	85%
Dulce de Tamarindo	20	100%
Melcocha	9	45%
Coco rallado	20	100%
Espumilla	20	100%



**Figura N° 1.** Grafico de preferencia de consumo de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador

La tabla N° 1 y la Figura N° 1 muestran los resultados obtenidos mediante la lista de chequeo de los dulces típicos que más se comercializan en los puestos del Mercado Central de San Salvador.

Estas seis variedades de dulces típicos resultaron ser las de mayor preferencia, por ello se tomaron para realizar las diferentes determinaciones microbiológicas a las variedades de dulces.

Para realizar las determinaciones microbiológicas de las variedades de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador se analizó por quintuplicado cada variedad obteniendo los siguientes resultados.

**Tabla N° 2.** Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos del Mercado Central

Variedades de dulces	Quintuplicados	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) muestras que poseen leche	<i>Salmonella spp.</i> muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
		Límite máximo permitido por el RTCA			
		< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
Dulce de nace	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
Dulce de tamarindo	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
Conserva de coco blanca	1	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	2	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	3	15 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	4	43 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	5	38 NMP/g	N/A	N/A	No cumple

**Tabla N° 2:** Continuación

Variedades de dulces	Quintuplicados	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) Todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) Muestras que poseen leche	<i>Salmonella spp.</i> Muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
		Límite máximo permitido por el RTCA			
		< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
Espumilla	1	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	2	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	3	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	4	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
Dulce de leche	1	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	2	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	3	3.6 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	No cumple
	4	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
	5	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
Coco rallado	1	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
	2	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	3	3.6 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	4	23 NMP/g	N/A	N/A	No cumple
	5	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple

**Nota:** Los quintuplicados de cada variedad de dulces típicos se codificaron con base a la fecha de muestreo y un número correlativo (Ver anexo N° 3)

**Tabla N° 3.** Resultados obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas a las muestras de dulces típicos de la marca comercial calidad exportación

Código de Muestra	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g) Todas las muestras	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) Muestras que poseen leche	<i>Salmonella</i> spp. Muestras que poseen huevo	Cumple o no cumple con las especificaciones del RTCA
	Límite máximo permitido por el RTCA			
	< 3 NMP/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	Ausencia	
140715-31-E (Espumilla)	< 3 NMP/g	N/A	Ausencia	Cumple
140715 -32-DL (Dulce de leche)	< 3 NMP/g	< 10 <sup>2</sup> UFC/g	N/A	Cumple
140715-33- DT (Dulce de tamarindo)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-34-DN (Dulce de nance)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-35-CB (conserva de coco blanca)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple
140715-36-CR (coco rallado)	< 3 NMP/g	N/A	N/A	Cumple

Según las variedades de dulces típicos analizados de calidad exportación se observa que el 100% de ellas cumple con lo establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos. Por tanto son aptos para el consumo humano, ya que es de suma importancia que estos dulces tenga una inocuidad alimentaria que vaya de acuerdo a los valores de aceptación microbiológicos puesto que al ser de calidad exportación pueden cumplir con los requisitos necesarios para poderse comercializar en otros países o que los mismos compatriotas salvadoreños llevan al extranjero cuando vienen de visita al país.

Comparando la inocuidad de los dulces típicos calidad exportación observamos que la conserva de coco blanca, dulce de leche y coco rallado que se comercializan en el Mercado Central de San Salvador no son aptos para el consumo humano. Esto podría deberse a la falta de Buenas Practicas Higiénicas en la mayoría de puestos de ventas del mercado. Caso contrario a la comercialización de los dulces calidad exportación, ya que estos se encuentran en lugares limpios y se encuentran muy bien almacenados. Además el manipulador no toca directamente los dulces típicos con las manos disminuyendo la posibilidad de contaminación microbiana.

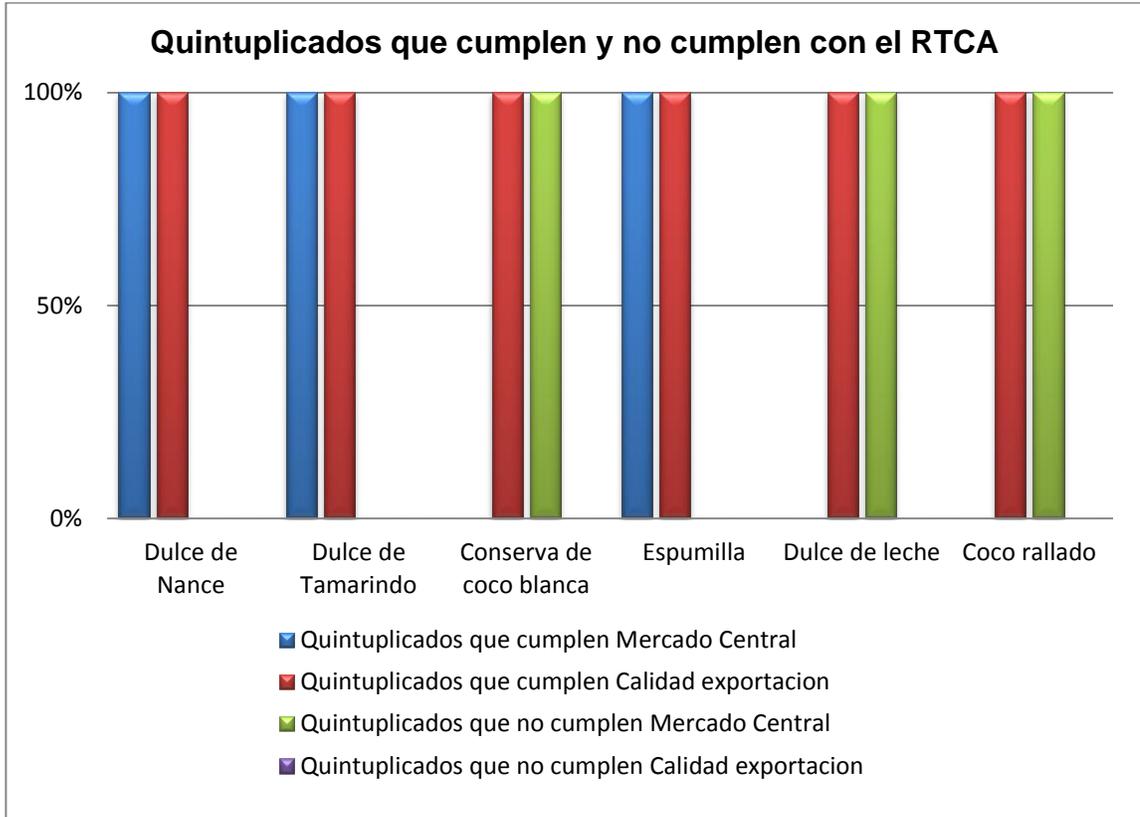
Sin embargo es necesario que para poder comparar los resultados obtenidos de los dulces típicos calidad exportación con lo especificado en el RTCA se tomen el número de muestras significativas para poder inferir el cumplimiento o no cumplimiento de los parámetros microbiológicos de las muestras analizadas.

**Tabla N° 4.** Porcentajes de muestras de Dulces Típicos del mercado central de San Salvador que cumplen y no cumplen con los parámetros del Reglamento Técnico Centroamericano.

Variedades de Dulces Típicos	Quintuplicados que cumplen		Quintuplicados que no cumplen	
	Mercado Central	Calidad Exportación	Mercado Central	Calidad Exportación
Dulce de Nance	100%	100%	0%	0%
Dulce de Tamarindo	100%	100%	0%	0%
Conserva de coco blanca	0%	100%	100%	0%
Espumilla	100%	100%	0%	0%
Dulce de leche	0%	100%	100%	0%
Coco rallado	0%	100%	100%	0%

La tabla N° 5 muestra el porcentaje de los quintuplicados de cada variedad de dulce típico analizado que cumplen y no cumplen según los especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano.

Si un duplicado no cumple con las especificaciones se tomó como que las 5 unidades de la variedad de dulce analizada no cumple.



**Figura N° 2.** Gráfica de muestras de dulces típicos que cumplen y no cumplen con los parámetros establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08.

## CONCLUSION

Las determinaciones microbiológicas que se realizaron a las diferentes variedades de dulces típicos seleccionados fueron en base al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrone mazapán y dulces típicos. Se determinó *Escherichia coli* a todas las variedades, *Staphylococcus aureus* la dulce de leche y *Salmonella spp* a la espumilla

Las variedades de dulce de nance, dulce de tamarindo y espumillas comercializados en el Mercado Central de San Salvador cumplen con las especificaciones de dicho Reglamento; sin embargo la conserva de coco blanca, dulce de leche y coco rallado analizadas no cumplen con los parámetros microbiológicos. Por otra parte las muestras analizadas de dulces marca calidad exportación cumplen con los parámetros microbiológicos especificados en el Reglamento considerándose aptas para consumo humano.

## RECOMENDACION

Que el Ministerio de Salud implemente campañas de divulgación sobre las Buenas Prácticas Higiénicas a las personas que comercializan y elaboran dulces para evitar la contaminación de ellos con *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* u otro patógeno que pongan en riesgo la inocuidad y la calidad de estos alimentos. Además que las autoridades correspondientes realicen análisis microbiológicos a todos los tipos de dulces típicos comercializados en el Mercado Central de San Salvador e inspecciones periódicas verificando que todas las variedades de dulces típicos cumplan con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Productos de confitería, Sub grupo: otros productos de azúcar; Turrónes mazapán y dulces típicos, para garantizar al consumidor un producto inocuo.