

Cómputos Bacteriológicos de la Leche Pasteurizada y Homogenizada en Honduras

P O R

Omar Artola Matamoros

TESIS

MICROISIS:	4707
FECHA:	17/7/90
ENCARGADO:	VILLARREAL

PRESENTADA A LA
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION
DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

BIBLIOTECA WILSON POPENDE
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 93
TEGUIGALPA, HONDURAS

El Zamorano, Honduras

Abril, 1990

COMPUTOS BACTERIOLOGICOS DE LA LECHE PASTEURIZADA
Y HOMOGENEIZADA EN HONDURAS.

por:
Omar Artola Matamoros

Tesis presentada
como requisito previo a la
obtención del título de
Ingeniero Agrónomo

ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

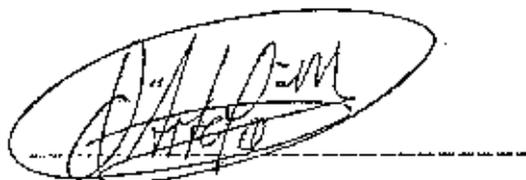
El Zamorano, Honduras

Abril de 1990

COMPUTOS BACTERIOLÓGICOS DE LECHE PASTEURIZADA
Y HOMOGENEIZADA EN HONDURAS

Por:
Omar Artola Matamoros

El autor concede a la Escuela Agrícola
Panamericana permiso para reproducir y
distribuir copias de este trabajo para
los usos que considere necesario.
Para otras personas y otros fines, se
reservan los derechos del autor.

A handwritten signature in black ink, enclosed within an oval-shaped border. The signature is stylized and appears to read 'Omar Artola Matamoros'. Below the signature is a horizontal dashed line.

Omar Artola Matamoros

Abril de 1990

DEDICATORIA

A DIOS

A mis Padres: Domingo Artola Gutierrez

Benigna Matamoros de Artola

A mi Esposa: Angélica M^a Aráuz de Artola

A mis hermanos Marlon, Javier, Hector, Marisol y Fátima.

A la Memoria de mi hermano Favio, Que en Paz Descanse.

AGRADACIMIENTO

A DIOS

A mis Padres por su apoyo y cariño, que Dios los Bendiga.

A mi querida esposa por su paciencia y sacrificio.

Al Ing. Aurelio Revilla por sus consejos y asesoría.

A la Lic. Marlen Medina por su asesoramiento.

Al Dr. Guillermo Torres por su asesoramiento.

Al Dr. Leonardo Corral por su asesoramiento.

Al Ing. Miguel Avedillo por su asesoramiento.

Al Banco Interamericano de Desarrollo (BID) por la
financiación de mis estudios.

A todos mis compañeros y amigos que compartieron conmigo el
cuarto año, en especial a Esteban y Javier por su apoyo en mis
peores momentos.

TABLA DE CONTENIDO

CONTENIDO	PAGINA
I. INTRODUCCION	1
A. Importancia	1
B. Justificación	3
C. Antecedentes	4
II. OBJETIVOS	6
A. Objetivo general	6
B. Objetivos específicos	6
III. REVISION DE LITERATURA	7
A. Obtención de la leche	7
B. Composición química de la leche	9
C. Microbiología de la leche	11
D. Fuentes de contaminación de la leche ..	14
E. Control de calidad	15
F. Conservación de la leche	19
1. Importancia de la conservación de	
la leche	19
2. Métodos de pasteurización	21
3. Pasteurización de la leche	26
G. Legislaciones	27
H. Limpieza de maquinaria y equipo	30
IV. MATERIALES Y METODOS	32
A. Ubicación del estudio	32
B. Duración del estudio	32
C. Procedimiento	32
D. Toma de muestras	33
E. Análisis de laboratorio	34
F. Cómputo bacterial	36
G. Diseño Experimental	37
V. RESULTADOS Y DISCUSION	40
A. Presentación de la leche	40
B. Contenido de Colonias Totales en la	
leche	40
B. Contenido de coliformes en la leche ...	43
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
VII. RESUMEN	54
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	56
IX. ANEXOS	59
X. GRAFICAS	96

LISTA DE ANEXOS

NUMERO	PAGINA
Anexo 1. Informe oficial del contenido total de bacterias en las cinco marcas de leche estudiadas	59
Anexo 2. Informe oficial del contenido de coliformes en las cinco marcas de leche estudiadas	60
Anexo 3. Distribución porcentual de las muestras con contenido bacteriano total dentro de los rangos establecidos	61
Anexo 4. Distribución porcentual de las muestras con contenido de coliformes dentro de los rangos establecidos ..	62
Anexo 5. Reportes de los cálculos de colonias totales efectuados a nivel de laboratorio	63
Anexo 6. Reportes de los cálculos de coliformes efectuados a nivel de laboratorio	76
Anexo 7. Reglas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) utilizadas para reportar los cálculos microbianos a nivel de laboratorio	89
Anexo 8. Análisis estadístico de los cálculos de colonias totales	90
Anexo 9. Análisis estadístico de los cálculos de coliformes	91
Anexo 10. Comparaciones ortogonales	92
Anexo 11. Materiales y equipo para el análisis microbiológico del cálculo de colonias totales	93
Anexo 12. Materiales y equipo para el análisis microbiológico del cálculo de coliformes	94
Anexo 13. Preparación del agua de dilución ...	95

INDICE DE CUADROS

NUMERO		PAGINA
Cuadro 1.	Cateorización de la leche cruda como fuente de materia prima	9
Cuadro 2.	Composición de la leche	10
Cuadro 3.	Porcentaje de incidencia de sabor inaceptable influenciado por la presencia de coliformes en leche pasteurizada y almacenada a 7°C ...	11
Cuadro 4.	Principales fuentes de contaminación de la leche	15
Cuadro 5.	Reacciones de la leche pasteurizada a las pruebas de ebullición y alcohol provocada por la presencia de microorganismos inoculados y almacenados a 7°C	17
Cuadro 6.	Porcentaje de destrucción de bacilos formadores de esporas a diferentes tratamientos de TATC .	22
Cuadro 7.	Crecimiento bacterial en muestras pasteurizada almacenadas por varios días a 7°C	26
Cuadro 8.	Normas en el contenido microbiano para la leche pasteurizada en diferentes países	30
Cuadro 9.	Cómputo de colonias totales en las cinco marcas de leche estudiadas ..	41
Cuadro 10.	Cómputo de coliformes en las cinco marcas de leche estudiadas	44
Cuadro 11.	Porcentaje de muestras dentro y fuera de las normas en los dos cómputos	46

INDICE DE GRAFICAS*

NUMERO	PAGINA
Gráfica 1. Contenido de Coliformes en la marca "A"	96
Gráfica 2. Contenido de Coliformes en la marca "B"	97
Gráfica 3. Contenido de Coliformes en la marca "C"	98
Gráfica 4. Contenido de Coliformes en la marca "D"	99
Gráfica 5. Contenido de Coliformes en la marca "E"	100
Gráfica 6. Cómputo de colonias totales en la marca "A"	101
Gráfica 7. Cómputo de colonias totales en la marca "B"	102
Gráfica 8. Cómputo de colonias totales en la marca "C"	103
Gráfica 9. Cómputo de colonias totales en la marca "D"	104
Gráfica 10. Cómputo de colonias totales en la marca "E"	105

* La raya perpendicular al eje de las "X", representa el límite de la norma para cada cómputo.

I. INTRODUCCION

A. Importancia

A nivel mundial, la leche ocupa uno de los primeros lugares en importancia alimenticia, dándose el caso que en muchos lugares la alimentación de infantes es principalmente en base a leche comercial que es distribuida, ya sea por plantas procesadoras de leche, o bien por los propios finqueros, que por el poco acceso que tienen éstos a las plantas procesadoras, optan por ser ellos mismos los que distribuyen este producto a domicilio.

La leche pasteurizada y homogenizada es uno de los alimentos utilizado más comúnmente, sobre todo en las ciudades con más alta densidad poblacional. Esta es obtenida de la leche cruda la cual es sometida a un proceso de pasteurización, que es un proceso de calentamiento de la leche a una temperatura específica por tiempo determinado.

El objetivo de la pasteurización es destruir todos los microorganismos patógenos y un alto porcentaje de los microorganismos no patógenos, sin alterar la composición físico-química de la leche en forma considerable. Es decir, que la cantidad de microorganismos que contenga la leche pasteurizada, dependerá de la cantidad y tipo de microorganismos presentes en la leche cruda que se use como materia prima.

La pasteurización eficiente elimina el riesgo de infección que, debe reconocerse, se halla siempre presente con la leche cruda. Una posible deficiencia en la pasteurización, la recontaminación y los cambios bruscos de temperatura a que es sometido el producto final, son los principales factores que favorecen el alto contenido microbiano en la leche comercial.

Una alta cantidad de microorganismos presente en la leche comercial es posible, ya que la leche cruda que se utiliza como fuente de materia prima, se obtiene bajo deficientes condiciones de manejo y pobre control sanitario a que los son sometidos la mayoría de los hatos lecheros en nuestros países. La falta de tecnología apropiada en la producción y manejo de la leche por parte de los productores, exponen a la leche cruda a un alto grado de contaminación por parte de las personas, el medio ambiente, y el animal mismo. Además, la alta calidad de los nutrimentos de la leche, facilita aún más el proceso de multiplicación microbiano.

Existen normas y legislaciones que se encargan de controlar las plantas procesadoras de leche, estableciendo parámetros desde el punto de vista de calidad microbiológica. En Centro América y Panamá, las legislaciones establecidas por los Ministerios de Salud que regulan las plantas procesadoras de leche, hacen visitas y muestreo a intervalos largos o simplemente no se realizan, en la mayoría de la casos. El control de calidad existente, es el control interno que tienen algunas plantas, por lo tanto, es posible que la leche

producida por las plantas pasteurizadoras y distribuidas comercialmente por Supermercados y otros centros menores de expendio, contengan cierta cantidad de microorganismos que puedan causar trastornos fisiológicos a los consumidores.

Esta posibilidad, establece la necesidad de implementar controles de calidad en las plantas procesadoras de leche, que se proyecten a impedir errores o descuidos en la operación de los sistemas de pasteurización para mantener un estándar elevado en los productos.

B. Justificación

Las condiciones de higiene que son muy mal manejadas, en algunos hatos lecheros, la posible deficiente pasteurización, los cambios de temperatura a que es sometido el producto final, la falta de aplicación de las Legislaciones existentes y el poco cuidado que se tiene con la leche en los hogares, son los principales factores que hacen que este producto pueda ser perjudicial para los consumidores, principalmente los infantes y ancianos a los cuales podría provocar diarrea o trastornos fisiológicos que afecten su salud.

Un alto contenido de microorganismos y la presencia de coliformes en la leche pasteurizada, es un indicativo de contaminación y que se está consumiendo un producto mal pasteurizado. Por lo tanto, consideramos importante que los análisis de control de calidad deben de realizarse al menos una vez por semana, dada la popularidad de este producto

dentro de la población consumidora. Además, que el alto contenido microbiano, reduce la vida comercial del producto y puede causar pérdidas económicas.

C. Antecedentes

En países de Centroamérica como Honduras y Nicaragua, los productos alimenticios que el consumidor obtiene en los centros de expendio, carecen en su mayoría de una identificación completa que incluya fechas de elaboración y vencimiento.

Muchos productos alimenticios aunque estén bajo condiciones de refrigeración tienen una vida útil determinada. Para leche pasteurizada, que tiene su importancia por ser un alimento de consumo diario, Ledford⁽²¹⁾ encontró que después de 7 días los microorganismos comienzan a cambiar el sabor de la leche.

En los trópicos, la materia prima que utilizan las plantas procesadoras para producir leche pasteurizada y homogeneizada, es generalmente leche cruda de vaca o leche reconstituida con leche descremada en polvo y aceite de mantequilla proveniente de la Comunidad Económica Europea. En ambos casos, el contenido de microorganismos de la materia prima es alto por las condiciones inadecuadas de higiene de la producción que existen a nivel de finca y por el tiempo que transcurre desde la pulverización de la leche descremada en polvo hasta que es reconstituida nuevamente por

las plantas procesadoras de leche pasteurizada.

El Ministerio de Salud de Honduras a través del Centro de Salud "ALONSO SUAZO" DE Tegucigalpa, coordina la toma de muestras de los productos lácteos tomando 25 muestras mensuales para análisis bacteriológicos, sin embargo esta información no pudo ser revisada por el autor por no encontrarse disponible en el momento en que se solicitó.

La falta de información referente a estudios similares al que se presenta en esta Tesis, fue uno de los principales limitantes durante la realización de este estudio, por lo tanto este estudio se presenta como un estudio preliminar para futuras investigaciones de la calidad microbiológica de los alimentos.

II. OBJETIVOS

Bajo la hipótesis de que los sistemas de control de calidad por parte del gobierno dirigido a las plantas procesadoras leche pasteurizada y homogeneizada son inconsistentes, se hace necesario conocer a través de la investigación la calidad microbiológica de la leche que es consumida por la población.

A. Objetivo principal.

1. Determinar la Calidad Microbiológica de la Leche Pasteurizada y Homogeneizada en Honduras.

B. Objetivos Secundarios.

1. Determinar el Contenido Microbiano Total de la Leche Comercial Pasteurizada y Homogeneizada, utilizando la Metodología estándar para este fin.

2. Determinar el grado de contaminación en la leche pasteurizada y homogeneizada a través de la presencia de Coliformes.

III. REVISION DE LITERATURA

A. Obtención de la leche

La leche pasteurizada que se encuentra comercialmente, es la leche de vaca, aunque hay otras especies, como la cabra, que también proveen este alimento pero que no ha sido difundido en Honduras a nivel de plantas procesadoras⁽²⁷⁾.

La leche de vaca requiere de mucho cuidado durante su obtención para evitar peligros de contaminación. La leche cruda proveniente de vacas enfermas es una posible fuente de infección de diversas enfermedades zoonóticas. La hierba, heno y paja y el excremento de vacas, son una potencial fuente de contaminación según lo reporta Demeter⁽²⁾, quien sembró las muestras respectivas por el método de placas de Petry y encontró resultados de 2 a 200 millones de microorganismos por gramo, 7 a 10 millones de microorganismos por gramo y 40,000 microorganismos por gramo respectivamente, sorprendiendo con estos resultados al encontrar mucho más microorganismos en la hierba, heno y paja, que en el propio excremento de la vaca. Con esto se confirma la hipótesis de que las condiciones de producción higiénicamente óptimas, es el principal factor a tomar en cuenta si se quiere producir leche con calidad bacteriológica aceptable⁽²⁸⁾.

La producción de leche sana, pura, fresca y sin adulterar, depende básicamente de que se evite su contaminación por gérmenes patógenos procedentes de la vaca o de la persona, y que se impida su contaminación por el polvo, la suciedad, el estiércol o el agua. Los organismos que hayan podido llegar a ella, deben destruirse o impedir su multiplicación a través de la aplicación de alguno de los métodos aprobados de conservación⁽²¹⁾.

La leche cruda certificada, como la clasifica Umbröit⁽²²⁾, es leche que es colectada bajo condiciones óptimas de producción e higiene, en un establo limpio, donde los animales son sometidos a examen veterinario periódico, y tanto el ordeñador como el resto del personal involucrado en el proceso de obtención de la leche, son examinados periódicamente.

"Standard Methods of Dairy Products"⁽²³⁾ presenta una categorización para la leche cruda dependiendo de su contenido microbiano el cual es utilizado por la Organización Panamericana de la Salud a través de las Normas para Análisis de Productos Lácteos⁽²⁴⁾. Esta clasificación es definida como Grados A, B, y C de leche cruda. El grado A de leche cruda según Adelberg⁽²⁵⁾, Cuadro 3., debería tener menos de 50,000 colonias por Cm³ y de tardarse más de 8 horas en reducir el azul de metileno, esto indica que el sistema de producción reúne buenas condiciones de higiene. Cuando la leche es utilizada para leche pasteurizada Grado A, la leche cruda

debería de tener menos de 200,000 Cómputos de colonias por placa por cm^3 (CCp/ Cm^3), y después de la pasteurización debe de quedar con 30,000 CCp/ Cm^3 . Esto indica, que fue producida bajo condiciones de grado A y procesada en una planta que tiene ciertos ordenes sanitarios⁽²²⁾.

La leche cruda B, debe tener menos de un Millón de CCp/ Cm^3 y requiere más de 3 1/2 horas para reducir el azul de metileno. Después de la pasteurización, debe de quedar con menos de 50,000 CCp/ Cm^3 ⁽²³⁾. La leche cruda grado C, puede tener más de un millón de CCp/ Cm^3 y reducir el azul de metileno en menos de 3 1/2 horas, y no debería ser utilizada para la pasteurización (CUADRO 1.). Para el procesamiento de la leche para consumo humano, debería utilizarse leche producida con grado A, y los grados B y C deberían utilizarse para otros propósitos^(2,21).

Cuadro 1. Categorización de la leche cruda como fuente de materia prima

<u>GRADO</u>	<u>ANTES DE PASTEURIZACION</u>		<u>DESPUES DE PASTEURIZACION</u>	
	<u>CCp/Cm³</u>		<u>REDUCTASA</u>	<u>CCp/Cm</u>
A	<50,000		>8.0 hrs.	30,000
B	<1,000,000		>3 1/2 hrs.	50,000
C	>1,000,000		<3 1/2 hrs.	NO SE USA.

(ADELBERG, 1958)

D. Composición Química de la Leche

La alta calidad de los nutrimentos de la leche, hace de

ella un excelente medio para el desarrollo de la mayoría de los microorganismos⁽²⁰⁾ (CUADRO 2.). Además, puede ocurrir un desarrollo considerable de bacterias sin que haya un cambio que pueda ser detectado a simple vista⁽²¹⁾. En síntesis, desde el punto de vista alimenticio, existe una competencia por el alimento entre el humano y los microorganismos.

Cuadro 2. Composición de la Leche

Agua	87.0%
Grasa	3.8%
Proteína	3.5%
Azúcar	4.9%
Cenizas	0.8%

(Revilla, 1982)

El efecto negativo de los microorganismos sobre la calidad de la leche puede ser comprobado dejando en reposo a temperatura ambiente una muestra de leche cruda y otra de leche hervida. En la leche cruda puede observarse cambios en la constitución de la leche provocado por la degradación de sus componentes. El sabor de la leche puede verse afectado, por la degradación de la caseína, que es la proteína de la leche, pero los microorganismos en sí, son otra fuente de variación en el sabor de la leche. Cuando el contenido de microorganismos en la leche es alto, es un indicativo de que alcanzó niveles considerables de descomposición^(22,23).

Los tratamientos térmicos ligeramente mayores que 62°C

durante 10 minutos, destruyen las encimas de la leche, además de que podría afectar su sabor⁽¹³⁾. Ledford⁽¹⁴⁾, encontró que la presencia de coliformes en la leche que ha sido procesada para ser distribuida comercialmente, afectó el sabor en el 11% de las muestras que originalmente tenían coliformes a los 7 días de estar almacenadas a 7°C, y que el 57% de estas mismas muestras tenían afectado su sabor a los 10 días de estar almacenadas. Las muestras que originalmente no tenían coliformes, solamente en el 8% de ellas se había afectado negativamente el sabor, sin embargo, a los 14 días de estar almacenadas, el 69% de ellas ya tenían afectado el sabor (CUADRO 3.).

Cuadro 3. Porcentaje de incidencia de sabor inaceptable influenciado por la presencia de coliformes en leche pasteurizada y almacenada a 7°C

	DIAS			
	1	7	10	14
MUESTRAS SIN COLIFORMES	0	8	8	69
MUESTRAS CON COLIFORMES	0	11	57	91

LEDFORD, ET AL. 1983.
CORNELL UNIVERSITY.

C. Microbiología de la Leche

Existe un sin número de bacterias que manifiestan exclusivamente comportamiento perjudicial en lactología, principalmente las bacterias Gram- negativo⁽²⁰⁾. La presencia

en la leche y productos lácteos de este tipo de bacterias es siempre indeseable, debido a sus propiedades patogénicas e hidrolíticas. Se pueden encontrar en todas partes, y sobre todo en los utensilios mal lavados, y por ello también se los encuentran con frecuencia en los alimentos, en los cuales disminuye su calidad y dificultan su conservación⁽²⁴⁾.

La presencia de determinadas especies pertenecientes a este grupo, sirve de referencia en la industria de productos alimenticios, y sobre todo en la industria de la leche, para determinar las condiciones de higiene en la obtención y elaboración de los productos correspondientes⁽²⁵⁾.

Dentro de los grupos de microorganismos presentes en la leche, se encuentran principalmente las Familias *Achromobacteraceae* y *Enterobacteriaceae*, las cuales son consideradas como los grupos de bacterias más estudiados por contar con algunas especies que son patógenas para los humanos, los animales y las plantas⁽²⁶⁾. Además del efecto patógeno, la presencia de Enterobacterias en la leche afecta el pH, la coagulación y la actividad proteolítica y lipolítica. Dependiendo de la especie y el número, las enterobacterias presentes en la leche y productos lácteos tienen dos puntos de significancia: el potencial de deterioro y el índice de pobre sanidad⁽²⁷⁾.

Los coliformes pertenecen a la familia de las *Enterobacteriaceae*, los cuales forman ácido y gas de la lactosa que es el principal azúcar de la leche. Dentro el

grupo de los coliformes se encuentra la Escherichia coli. Cuando esta bacteria es detectada en 10 colonias o más por cm³ en la leche, significa de que las condiciones sanitarias bajo las cuales se obtuvo o procesó esta leche, están fuera de norma y que el grado de contaminación a que está expuesta la leche es alto⁽²⁴⁾. La presencia de coliformes en la leche se ha visto incrementada últimamente, en vista de que los programas actuales para control de la mastitis por estreptococo les favorece su desarrollo⁽⁶⁾.

La presencia de E. coli en la leche, significa que también puede estar presente una gran cantidad de bacterias anaeróbicas que forman esporas, las cuales están presentes en grandes cantidades en el tracto intestinal del humano y de los animales⁽²²⁾. Existen otras especies de bacterias en el intestino del humano o animal que son benéficas o peligrosos agentes productores de enfermedades infecciosas intestinales, a pesar de que en estos no causa daño alguno^(17,27).

La cantidad de microorganismos encontrados en la leche, está grandemente influenciado por las condiciones de procesamiento y principalmente por el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Umbreit⁽²⁴⁾, reportó que a bajas temperaturas menor de 10°C, se encuentran la mayoría de bacterias proteolíticas que forman esporas; en temperaturas de 10° a 15°C, se desarrollan principalmente las bacterias productoras de ácido láctico; a temperaturas de 15° a 35°C se desarrollan las bacterias lácticas, principalmente el Streptococcus.

Lactia⁽¹²⁾. Temperaturas más altas permiten el desarrollo de bacterias termófilas en la leche y muy pocas de estas producen ácido láctico. Los coliformes y bacterias formadoras de esporas no pueden desarrollarse bajo la influencia de las bacterias productoras de ácido láctico.

Las bacterias patógenas del tipo Gram-Negativo que tienen la capacidad de formar esporas, adquieren un estado de latencia donde casi no tienen lugar los procesos metabólicos⁽¹³⁾. Debido a estas propiedades, son capaces de sobrevivir a condiciones externas desfavorables como sequedad, temperaturas elevadas y productos tóxicos, y de permanecer con vida durante varios años.

D. Fuentes de Contaminación de la Leche;

No existen colibacterias termorresistentes, por eso la presencia de estos gérmenes en leche pasteurizada en equipos que funcionan perfectamente, proviene de recontaminaciones posteriores al pasteurizador, tales como, tuberías de conducción, válvulas, aparatos de envase, etc⁽¹⁴⁾. Es necesario prevenir la recontaminación de la leche de cualquier patógeno posible.

Las principales fuentes de recontaminación son:

1. Equipo dañado o pobremente esterilizado.
2. Contacto de condensado con leche pasteurizada durante o después del proceso de pasteurización.
3. Contaminación directa o indirecta de equipos por

insectos o por las manos o gérmenes del operador.

Las condiciones de producción de leche son tales, que los microorganismos están obligados a convivir con ella⁽²⁷⁾. Existen algunas fuentes principales de contaminación de la leche que son: utensilios, cuerpo del animal, ubres y pezones, medio ambiente y ordeñador o máquinas. De estas fuentes de contaminación, los utensilios son el principal factor, llegándose a encontrar de 100 mil a Un Millón de bacterias por Centímetro Cúbico (CUADRO No.4).

Cuadro 4. Principales fuentes de contaminación de la leche

FUENTE	CCp/cm ³	A	B	C	D	E
UTENSILIOS	100000 - 1,000000	-	-	+	+	+
CUERPO DE La VACA	10000 - 100000	-	-	-	+	-
UBRE Y PEZON	500 - 1000	+	+	+	-	-
MEDIO AMBIENTE	40 - 50	-	-	-	-	-
ORDEÑADOR	1 - 10	-	-	+	+	+

(ADELBERG 1958, REVILLA 1982)

- A: Micobacterium tuberculosis.
 B: Brucella abortus.
 C: Streptococcus spp.
 D: Salmonella typhosa.
 E: Diphtheria.

E. Control de Calidad

El control de calidad de la leche debe efectuarse desde su obtención hasta su distribución al público. En la planta de procesamiento, las pruebas de control de calidad deben

realizarse durante la recepción de la leche para decidir el destino de la misma. Tales pruebas pueden ser: Alcohol, Acidez, ebullición, reductasa, y sedimento para constatar la pulcritud de las operaciones de obtención, tratamiento y transporte de la leche⁽¹⁰⁾. También deben realizarse controles durante el procesamiento, almacenamiento, y comercialización de la leche.

Existen microorganismos capaces de hacer variar algunas pruebas tal como lo comprueban Juven y colaboradores⁽¹¹⁾, quienes inocularon leche pasteurizada con seis especies de enterobacterias incluyendo E. coli. para determinar los cambios que producen estos microorganismos en la leche. Dentro de los resultados más relevantes encontrados por Juven y colaboradores se reporta que en presencia de E. coli y Citrobacter freundii, la leche no coagula cuando se somete a la prueba de alcohol y ebullición. (Cuadro No.5)

Esta información al mismo tiempo nos sirve para determinar la calidad de la leche que saldrá al mercado, lo cual tiene especial importancia en el caso de consumidores sensibles, tales como niños pequeños, enfermos intestinales y personas ancianas⁽¹²⁾. El control ejercido por el laboratorio de las plantas lecheras, es el responsable inmediato de la calidad, y debe planificarse de tal manera que nos permita descubrir, investigar y rectificar los errores antes de que adquieran grandes proporciones⁽¹³⁾.

Cuadro 5. Reacciones de la leche pasteurizada a las pruebas de alcohol y ebullición provocadas por la presencia de microorganismos inoculados y almacenados a 7°C.

ORGANISMO	TIEMPO DE INCUBACION (DIAS)	COAGULACION CON EBULLICION	CON ALCOHOL
Ninguno	0	-	-
Ninguno	7	-	-
C. freundii	7	-	-
E. agglomerans	7	+	+
E. cloacae	7	-	+
E. coli	7	-	-
K. ozaenae	7	+	+
S. liquefaciens	7	+	+

Juven et al, 1981.

Los coliformes y otras bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas, son capaces de producir ácidos y gas de la fermentación de la lactosa incubado a 32°C durante 18 a 24 horas. Al cabo de este tiempo han crecido exclusivamente los coliformes y los bacilos Gram-negativos con análogas exigencias nutritivas, tales como los géneros Escherichia y Aerobacter que son géneros clasificados dentro de este grupo de bacterias⁽²²⁾. Mientras que los gérmenes Gram-positivos, incluyendo los esporógenos, permanecen inhibidos⁽²⁰⁾.

Las pruebas de Laboratorio deben involucrar pruebas de detección microbiológica, para las cuales se establece el uso de medios de cultivo selectivos ya que algunas especies presentan dificultad de diferenciación, por ejemplo

enterococos y coliformes⁽²³⁾. De esta forma se permite un cómputo y una valoración efectiva de los microorganismos que están presentes en la leche.

En vista de que se puede crear un medio donde se den requerimientos nutricionales especiales, condiciones de incubación favorables y algunos otros factores que facilitan el crecimiento de microorganismos, los analistas consideran el método de Cómputo de Colonias en Placas por cm^3 (CCP/ cm^3) como proporcionador de resultados confiables⁽²⁾. Este método es bastante utilizado para estimar poblaciones bacteriales en la mayoría de los productos lácteos, principalmente cuando la densidad microbiana es baja, por ejemplo en productos pasteurizados^(2,25,27).

Senyk y colaboradores⁽²⁹⁾ realizaron un estudio de comparación de siete diferentes métodos analizando muestras de leche recolectada en diez diferentes productores, esta leche fue refrigerada a 1.7°, 4.4°, 7.2° y 10°C, y el Método de "Standard Plate Count" o Cómputo de Colonias en Placas por Centímetro Cúbico (CCP/ cm^3), resultó ser el mejor indicador de las condiciones de producción y sanidad de las fincas muestreadas, sin embargo, otra de las conclusiones fue de que cada método tiene sus ventajas y desventajas, y que el método por sí sólo no puede detectar todas las causas de contaminación.

El CCP es el procedimiento básico utilizado por la Comisión de Leche de la Asociación Americana de Médicos para

analizar leche certificadas. El Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, estipula este método para el examen de leche pasteurizada y productos lácteos de Grado A del Reglamento de Leche Pasteurizada. También es recomendado para detectar fuentes de contaminación en líneas de proceso, tomando muestras en estados sucesivos del procesamiento^(2,21,27).

Es importante saber que en este procedimiento las colonias son originadas por gérmenes aislados o por grupos de bacterias que originan una única colonia solamente^(2,27).

El método del microscopio es también utilizado para los análisis bacteriológicos de la leche, con la diferencia de que este método cuenta cada germen aislado, de ahí que el cómputo final sea más elevado que por el método de placas, dependiendo de las condiciones y tiempo de incubación. Por lo tanto, siempre es importante saber por que método se ha determinado el número de gérmenes⁽¹⁷⁾. El método del microscopio tiene la desventaja, sobre el método de placas de Petry, de que no se puede distinguir los gérmenes muertos de los vivos. Las determinaciones de los gérmenes anaerobios obligados y facultativos son más fáciles cuando se emplean métodos cuantitativos⁽²⁸⁾.

F. Conservación de la Leche

1. Importancia de la Pasteurización

Las principales razones que hacen necesario la conservación de la leche son el higiénico y el económico.

Higiénicamente, tiene su importancia desde el punto de vista de salud,⁽²⁹⁾ La propagación de infecciones por comestibles debe ser prevenida, así como el desarrollo de microorganismos que pueden producir sustancias dañinas o tóxicas en los

alimentos. Económicamente, esta necesidad se basa en la poca durabilidad que tiene este producto elaborado.

Indudablemente, una gran parte de la descomposición de la mayoría de los alimentos es causada por microorganismos, y estos pueden ser eliminados o detenidos en su desarrollo⁽³⁰⁾.

Los alimentos pueden ser conservados por más tiempo dependiendo de su naturaleza y el proceso de conservación a que es sometido⁽³¹⁾. El seguimiento que se le dé a los principales componentes de preservación, determinará si un microorganismo desarrollará o no⁽³²⁾.

La leche puede ser preservada para un período relativamente largo si se logra el siguiente propósito:

"Reducir el número de microorganismos tanto como sea posible". La vida comercial de la leche en un mercado bajo condiciones normales, es inversamente proporcional a la cantidad de microorganismos que contiene⁽³³⁾. Si en el proceso de preparación de esta leche, se logra reducir el número de microorganismos a su nivel más bajo, la leche se mantendrá por mayor tiempo sin perder calidad.

Lo anteriormente planteado se puede lograr de varias

maneras, siendo las más importantes las siguientes:

a. Reducir el tiempo que transcurre entre el ordeño y el momento en que la leche es sometida a tratamientos térmicos, ya sea en frío (preservación inmediata), o en caliente (pasteurización). En esto interviene también la situación del transporte del producto terminado, el cual debe ser distribuido tan pronto como sea posible y bajo condiciones de refrigeración⁽¹⁹⁾.

b. También se puede reducir el número de microorganismos presente en la leche haciendo remoción de ellos por sedimentación con uso de clarificadoras⁽²⁷⁾.

c. Método de pasteurización. La pasteurización es el proceso de calentamiento de la leche a una temperatura específica por tiempo determinado, con el objeto de eliminar todos los microorganismos patógenos y un alto porcentaje de microorganismos no patógenos⁽¹¹⁾.

d. Existen otros métodos como la Ultrapasteurización o Esterilización que no serán mencionados por no estar incluidos en el estudio.

2. Métodos de Pasteurización.

Existen dos métodos de pasteurización que son los más utilizados^(11,20):

- a. Temperatura alta por tiempo corto (TATC).
- b. Temperatura baja por tiempo largo (TBTL).

El primer método permite manejar altos volúmenes de leche

en un tiempo relativamente corto. La leche se calienta a una temperatura alta o relativamente alta, pero permanece poco tiempo en contacto⁽¹⁾. El tiempo y la temperatura utilizada es variable en cada país y planta de procesamiento, por ejemplo, en España utilizan 150°C por 3 décimas de segundo, Gran Bretaña admite 71.7°C por 15 segundos, La EAP utiliza 75°C por 16 segundo, etc.

En 1975, Martín et al⁽¹⁸⁾, reportan estudios combinados por National Institute for Research in Dairying y la FAO (Cuadro 6.), que fueron conducidos para determinar la presencia de bacterias formadoras de esporas en la leche aplicando tratamientos de TATC con temperaturas 104.5, 121 y 137.8°C, por un segundo en los tres casos. La destrucción de esporas, principalmente del género Bacillus, fue de 50, 97.7 y 98.7% respectivamente⁽¹⁹⁾. Estos resultados indican, que para lograr una destrucción efectiva de bacterias formadoras de esporas se necesita tratamientos térmicos superiores a los 137.8°C.

Cuadro 6. Porcentaje de destrucción de bacilos formadores de esporas a diferentes tratamientos de TATC.

TEMPERATURA	104.5	121.0	137.8
Destrucción (%)	50.0	97.7	98.7

MARTIN et al, 1981.

El segundo método utiliza temperaturas de 60 a 64.4°C por 30 a 20 minutos. 62.8°C durante 30 minutos es el rango más comúnmente utilizado, y el cual también es aceptado por las Legislaciones Británicas, donde son destruidos del 90 al 95% de los microorganismos totales⁽¹⁷⁾.

Para la destrucción de los microorganismos de la leche, originalmente se tomó como base la eliminación de Mycobacterium tuberculosis, que en la práctica requiere de 61°C de temperatura durante 30 minutos. Actualmente existen varias combinaciones de temperatura y tiempo de exposición basados en la eliminación de la Coxiella burnetti, la cual es una bacteria un poco más resistente que Mycobacterium tuberculosis⁽¹⁷⁾.

Las bacterias que sobreviven al proceso de pasteurización son del tipo que forman esporas, como lo comprueba en 1974, Thomas citado por Martin⁽¹⁷⁾, quién realizó cómputos bacterianos en leche almacenada en tanques, y encontró que algunas especies termodúricas como Streptococcus y Micrococcus se desarrollan perfectamente bajo condiciones de almacenamiento previo al tratamiento de pasteurización, sin embargo, cuando se aplica un tratamiento de TATC los microorganismos que comúnmente se encuentran en la leche son del tipo formadores de esporas. Se ha establecido con fijeza que la leche cruda debe tener una calidad bacteriológica satisfactoria si el producto pasteurizado debe cumplir los requisitos establecidos⁽¹⁷⁾. La considerable resistencia adquirida por los

gérmenes esporulados y en forma vegetativa, además de su diminuto tamaño, traen consigo el que muchas especies de gérmenes se hallen difundidos por todas partes y en grandes cantidades⁽⁷⁾.

Las cepas termorresistentes de Streptococcus faecalis sobreviven en un 70% al calentamiento a 76°C por 15 segundos, y un 10% sobreviven a 85°C en el mismo tiempo de calentamiento⁽⁷⁾. No se puede indicar directamente una muerte global de los gérmenes de interés técnico existentes en la leche cruda, ya que el efecto de la pasteurización, a una temperatura y en un período dados, depende de la composición específica y del estado la flora bacteriana de la leche cruda, es por eso que es de capital importancia examinar la leche cruda en los aspectos químico y bacteriológico⁽¹⁷⁾.

Todo proceso de pasteurización es necesario que sea seguido de un enfriamiento rápido. De otra forma, los microorganismos termófilos que en su mayoría son lácticos, podrían desarrollarse rápidamente. La leche puede ser refrigerada, pero si ha habido efecto negativo de los microorganismos el cual ha cambiado sus propiedades físicas, no podrá recuperar ni reconstruir su calidad⁽³⁴⁾. Por eso el tratamiento entre la producción y el enfriamiento de la leche es muy crítico para determinar la cantidad de microorganismos que pueda estar presente con un determinado grado de contaminación⁽⁷⁾.

Cuando la práctica de almacenar leche por un período

relativamente largo es común, la presencia de bacterias Psicotrópicas debe ser tomada en consideración debido a la capacidad que tienen estos microorganismos de desarrollarse en la leche que ha sido pobremente procesada⁽²⁸⁾. A temperaturas de refrigeración también pueden desarrollarse bacterias del género Proteus las cuales sobreviven en una pasteurización deficiente.

Senyk y colaboradores⁽²⁷⁾ en su experimento encontraron que los cómputos más altos se reportaron en aquellas leche que fueron almacenadas a 7.2 y 10°C durante 6 días. Mikolajcik y Simons(1978) citados por Martin⁽²⁸⁾, analizaron 109 muestras de leche las cuales fueron tratadas a 80°C por 12 minutos y luego almacenadas a 7°C (Cuadro 7.). El cómputo inicial reportó 1 bacteria por cm³. en el 39% de las muestras con un máximo de 140/cm³. Después de 14 días de almacenamiento, el 34% de las muestras tenían más de un millón/cm³, y a los 28 días de almacenamiento, el 71% de las muestras tenían cerca de un millón de bacterias por cm³. Estos resultados demuestran que la leche debidamente pasteurizada, tiene poco tiempo de vida útil y que deben tomarse en cuenta la temperatura y tiempo de pasteurización y almacenamiento.

Cuadro 7. Crecimiento bacterial en leche pasteurizada almacenada por varios días a 7°C

DIAS DE ALMACENAMIENTO	1	14	28
MUESTRAS AFECTADAS (%)	39	34	71
COMPUTO BACTERIAL	1-140/cm ³	>1 Millón	1 millón

MARTIN et al, 1981.

3. Pasteurización de la leche

La pasteurización es el tratamiento térmico específico por un tiempo determinado de un producto en particular⁽²⁷⁾.

La pasteurización de la leche tiene las siguientes ventajas:

a. Elimina todos los microorganismos patógenos y parte de los no patógenos y algunas enzimas sin alterar en forma considerable sus características naturales.

b. Prolonga la vida comercial de la leche⁽²⁷⁾.

Actualmente, la pasteurización es ampliamente utilizada en la preparación de brebajes y alimentos libres de bacterias que producen enfermedades⁽²⁷⁾. El proceso de pasteurización mejor conocido, es el de la pasteurización de la leche, aunque este proceso elimina las bacterias patógenas, deja vivas algunas bacterias que no son nocivas y que no tienen efecto marcado sobre el sabor de la leche^(2,27).

Después del proceso de pasteurización quedan suficientes microorganismos lácticos, los cuales van a utilizar la lactosa de la leche para la producción de ácido láctico. Las cepas que

fermentan la lactosa están presentes en el tracto intestinal de animales homeotermos y viven así mismo en estado saprofitico⁽¹⁴⁾. La pasteurización reduce el número total de microorganismos en un 90% a 99% sin alterar la composición fisico-química de la leche.

El control sobre la pasteurización abarca control sobre los flujos de la leche y el agua calientes, las cuales deben ser constantes para mantener la temperatura correcta⁽¹⁵⁾, además de un registro que indique los alti-bajos de temperatura y donde se pueda detectar en que momento falló la presión de vapor, y de esta manera poder bloquear el producto procesado antes y después de la falla, de esta manera puede ser liberado o reprocesado dependiendo de los resultados bacteriológicos de laboratorio⁽¹⁷⁾.

Ninguna prueba de laboratorio puede revelar la calidad bacteriológica de la leche mientras se está realizando el proceso. Entre el momento del procesado y la obtención de los resultados de las pruebas de laboratorio, la leche puede haber sufrido daños irreparables como consecuencias de algún error en la operación.

G. Legislaciones

Las legislaciones locales juegan un papel muy importante en vista de que son las responsables de garantizar la calidad microbiológica de la leche que se distribuye comercialmente⁽¹⁸⁾. En la práctica, además de las normas bacteriológicas, las

legislaciones locales deberían fijar las especificaciones en cuanto a tiempo y temperatura de pasteurización, tomando en cuenta el equipo utilizado en el proceso. Estas medidas más las inspecciones para cerciorarse de su cumplimiento, podrían garantizar la liberación al mercado de un producto procesado eficientemente⁽¹⁷⁾.

Las legislaciones deben estar basadas en principios generales, uno de los cuales es que no se debe formular reglamentaciones que no pueda hacerse cumplir⁽¹⁷⁾. Por norma general, sobre todo donde el nivel de higiene no es elevado, es mejor en un principio, limitar las reglamentaciones a lo necesario para la garantía higiénica del producto⁽¹⁸⁾. Es importantísimo que la leche esté libre de patógenos, pero también debe ser limpia, es decir exenta de impurezas, lo suficientemente fresca para que resulte agradable al paladar. Otras reglamentaciones relativas a la clasificación, precio y composición son económicamente importantes y favorables al comercio, siempre que no afectan directamente a la Salud Pública^(19,22).

Por otro lado, las legislaciones deben hechas con la cooperación de la mayoría de los interesados⁽¹⁷⁾, estos deben ser consultados antes de emitir las reglamentaciones. En Alemania, la regulación legal de las exigencias microbiológicas en la obtención, elaboración y venta de leche y productos lácteos, está determinada por la Sociedad Alemana de la Agricultura, la cual está organizada en comisiones⁽²⁰⁾.

En Honduras existe un programa de control de calidad para las plantas procesadoras de productos lácteos, el cual es implementado y desarrollado por el Ministerio de Salud Pública. Los inspectores encargados de ejercer esta función, toman 25 muestras mensuales de cada planta o de los centros de distribución y son analizadas en el laboratorio del Ministerio. Los resultados son informados a la planta en referencia o al centro de distribución para tomar las medidas correctivas necesarias en caso de encontrarse el producto con un contenido bacteriano fuera de las normas, es decir, más de 50,000 colonias o más de 10 colonias de coliformes por cm^3 de leche, (Cuadro 8).

El contenido de microorganismos en la leche está regulado por normas establecidas por los Servicios de Salud Pública de cada País y organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS). En el Cuadro 8, se presentan algunas normas que rigen en varios países de Latinoamérica y Estados Unidos. Estas normas no son uniformes y están influenciadas por las condiciones de cada país.

Cuadro 8. Normas en el contenido para la leche pasteurizada en diferentes países.

PAIS	TIPO DE LECHE	CCp/cm ³	COLIFORMES
C.A y Panamá.	Pasteurizada A	500	No > 1/ cm ³
	Pasteurizada B	5000	Ausencia en un cm ³
	Pasteurizada C	10000	Ausencia en un cm ³
EE.UU	Pasteurizada A	20000	No > 10/ cm ³
México	Pasteurizada A	30000	No hay datos.
	Pasteurizada B	100000	No hay datos.
	Pasteurizada C	200000	No hay datos.
P. Rico	Pasteurizada A	30000	No > 10/ cm ³
Perú	Pasteurizada	50000	Ausencia en 0.1cm ³
Honduras*	Pasteurizada	50000	No > 10 / cm ³
Nicaragua*	Pasteurizada	50000	No > 10 / cm ³

(REVILLA 1982, ICAITI, OPS, 1974).

*Consultas personales a representantes de los Ministerios de Salud de los respectivos países.

H. Limpieza de Maquinaria y Equipo

Es muy importante la rutina diaria de limpieza y esterilización de la planta de procesado y del equipo correspondiente. La limpieza y desinfección insuficientes de los aparatos de una central lechera permite la acumulación de gérmenes y como consecuencia de ello, se crean focos de recontaminación⁽¹³⁾. Es tan necesario limpiar y esterilizar eficazmente, como lo es manejar bien la central de procesado.

Las deficiencias en ambos casos causan problemas en el producto obtenido.

Una limpieza eficaz es sobre todo, cuestión de la selección y adiestramiento del personal, el cual tiene asignadas sus operaciones de acuerdo a la organización y planificación de la planta⁽¹²⁾. La limpieza consiste en eliminar los residuos de leche de las superficies internas y externas del equipo, mientras que la esterilización comprende matar o eliminar los gérmenes que puedan quedar en contacto con la leche. De los factores más importantes que afectan la eficacia de la limpieza podemos citar los siguientes: Selección y adiestramiento del personal, condiciones propias de la planta y el abastecimiento y calidad del agua y los productos químicos utilizados^(17,20)

IV. MATERIALES Y METODOS

A. Ubicación del Estudio

Los análisis de la investigación se realizaron en el Laboratorio de la Planta de Productos Lácteos de la Escuela Agrícola Panamericana, situada a 800 m.s.n.m. en el Valle de El Zamorano, Departamento Francisco Morazán, Honduras. Las muestras de leche fueron obtenidas en Supermercados de Tegucigalpa, que poseen condiciones de almacenamiento similares.

B. Duración del Estudio

El estudio abarca un periodo de 84 días comprendidos entre los meses de Agosto y Noviembre de 1989.

C. Procedimiento

Se trabajó con cinco marcas de leche pasteurizada y homogeneizada, debido a la popularidad e importancia alimenticia en la población consumidora. Las marcas comerciales analizadas son las representadas por los nombres de: Delta, Leyde, Poli-Mil, Fradera y Zamorano, que serán designadas posteriormente por una letra escogida al azar. Se decidió trabajar con estas cinco diferentes de marcas de leche comercial, por ser las que más comúnmente se encuentran en los Supermercados.

D. Toma de Muestras

Se compró un litro de leche de cada marca en tres Supermercados de Tegucigalpa, o sea, tres litros de leche de cada marca, lo que hace un total de 15 litros de leche. La leche se trasladó a la Escuela Agrícola Panamericana en el camión refrigerado, y se almacenó en el cuarto frío de la Planta de Lácteos a 4°C, para ser analizadas al día siguiente. Cada grupo de 15 litros de leche se constituyó en una repetición del estudio.

Esta operación de toma de muestra, se realizó en un intervalo de 84 días durante los meses de Agosto y Noviembre de 1989, distribuidos en 12 períodos. El intervalo entre cada período fue de cinco a siete días. En resumen se hicieron 720 observaciones que resultó de cinco marcas, por tres muestras de cada marca obtenidas en los supermercados, por dos diluciones aplicadas a cada muestra, por doce períodos en que se tomaron las muestras, y dos tipos de cómputos bacteriológicos.

Si por algún motivo en un Supermercado no se encontraba la leche que se necesitaba se buscaba en otro, al menos que no se encontrara definitivamente como ocurrió con el caso de la muestra D4, la cual el día de la compra no se le encontró en ningún Supermercado, de ahí que el tratamiento D sólo tenga once repeticiones en el reporte oficial (Anexo No.1).

E. Análisis de Laboratorio

Los análisis bacteriológicos fueron realizados en el laboratorio de la planta de lácteos siguiendo la metodología de "Standard Plate Count" o Cómputo de Colonias en Placa por Centímetro Cúbico (CCP/cm³) y Cómputo de Coliformes por Centímetro Cúbico. Ambos procedimientos, son recomendados por la Organización Panamericana de la Salud y por el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos, como métodos proporcionadores de resultados satisfactorios y confiables (2,10,20,24)

Los medios de cultivo utilizados fueron:

1. Agar Peptona de Caseína-Glucosa-Extracto de Levadura. Para cómputo de Colonias Totales (ANEXO 11).
2. Agar violeta Cristal-Rojo Neutro-Bilis. Para cómputo de Coliformes (ANEXO 12).

En ambos casos, la preparación de los medios de cultivo se hizo de acuerdo a las recomendaciones de la casa "MERCK", fabricante del producto utilizado.

En el momento de realizar los análisis, cada litro de leche fue utilizado de la siguiente manera:

Se agitó lenta y constantemente la leche para lograr una buena mezcla de la muestra, se desinfectó el envase haciendo uso un mechero o alcohol a 68%, luego se extrajo la leche con una pipeta esterilizada de 2.1 Cm³. Se depositó por separado 0.1 Cm³ y 1.0 Cm³ en platos Petry esterilizados para cómputo

de Coliformes y el Cm^3 de leche restante en la pipeta, se colocó en una botella de dilución conteniendo 99 Cm^3 de agua tamponada para dilución (Anexo 13), para formar un dilución de 1:100. Esta dilución 1:100 se agitó con 25 movimientos de arriba hacia abajo en un recorrido de 30 cm. durante siete segundos, luego se extrajeron 1.1 Cm^3 y se colocaron por separado, 0.1 Cm^3 y 1.0 Cm^3 en platos Petry esterilizados, para el cómputo de colonias totales.

Los platos Petry conteniendo las muestras para coliformes, se cubrieron con 10 a 12 Cm^3 de medio de cultivo para Coliformes agitando en forma circular en el sentido de las agujas del reloj, luego en sentido contrario y posteriormente hacia adelante y hacia atrás hasta lograr una mezcla uniforme entre la muestra y el medio de cultivo, luego se dejó reposar el plato de 10 a 15 minutos hasta la solidificación del medio. Después se cubrió con 3 a 5 Cm^3 del mismo medio de cultivo para crear condiciones anaeróbicas, y se dejó en reposo por 30 minutos y luego se incubaron a 32°C durante 24 horas. Después del período de incubación, se contó las colonias de coliformes.

Los platos Petry conteniendo las muestras para cómputo de colonias totales, se cubrieron con 10 Cm^3 de Medio de Cultivo para este fin, mezclándose de la misma forma que las muestras para coliformes. Una vez alcanzada la solidificación del medio, se invirtieron los platos y se procedió a incubar a 32°C durante 48 horas, al término del cual se contó las

colonias desarrolladas en el medio.

F. Cómputo Bacterial

Las muestras 0.1 y 1.0 cm³ de leche que corresponden al cómputo de coliformes, están representadas en el Reporte de cómputo de Coliformes (ANEXO No.6), con la notación 1 y 10⁻⁴ y bajo los cuales se reportan las lecturas de los cómputos de bacterias coliformes contenidas 1.0 y 0.1 cm³ de leche respectivamente. Por su parte, las muestras obtenidas de la dilución madre 1:100, 1.0 y 0.1 cm³, representan diluciones de 1:100 y 1:1000 respectivamente. Estas están representadas en el Reporte de Cómputo Total de Colonias por Placa (ANEXO 5.), con la notación 10⁻² y 10⁻³, bajo las cuales se reportan las lecturas de cómputos de bacterias contenidas en 0.01 y 0.001 cm³ de leche respectivamente. Estas lecturas multiplicadas por el respectivo factor de dilución, nos proporcionan el Reporte Oficial de Cómputo Bacterial.

Los Informes oficiales de cómputo de colonias totales (Anexo No.1), y cómputo de coliformes (Anexo 2.), provienen de un promedio de seis observaciones (Anexos 5 y 6), representados por las tres muestras y las dos diluciones, aplicando los reglas de la Organización Mundial de la Salud (Anexo 7.). Sin embargo, el análisis estadístico (Anexos 8 y 9), es realizó en base a las 360 observaciones que componen cada uno de los cómputos.

Para reducir el efecto de las variaciones de los

cómputos, se aplicó Transformación Logarítmica de valores, siendo éstos Logaritmo de X en el cómputo de colonias totales, y Logaritmo de X + 2 en el cómputo de coliformes. En los casos donde hay valores faltantes por accidentes de laboratorio, Placas demasiado numerosas, y en los casos donde no se encontró muestras, se aplicó la metodología de estimación de valores perdidos ^(16,31) para evitar el efecto de tener desigual número de observaciones.

Para la evaluación de los resultados, se tomó como base las normas bacteriológicas para productos lácteos que rigen en Honduras y que son controladas por el Ministerio de Salud. Estas normas indican un contenido máximo de 50,000 colonias totales y 10 colonias de coliformes por cm³ de leche pasteurizada.

Para determinar el promedio de microorganismos por cm³ de leche, se aplicaron una serie de reglas presentadas por la Organización Mundial de la Salud en el Texto Normas Para el Análisis de los Productos Lácteos⁽¹⁹⁾, que originalmente las presentó el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos. Las reglas para Cómputos Bacteriales utilizadas se presentan en el Anexo 7.

G. Diseño Experimental

Tomando en cuenta que las plantas procesadoras de productos lácteos funcionan en condiciones similares de manejo de la materia prima, control de calidad y procesamiento de la

misma, y que por lo tanto no deberían presentar diferencia en la calidad microbiológica.

De igual forma, los Supermercados que fueron seleccionados también poseen condiciones similares de almacenamiento.

Se planificó un Diseño con una distribución completamente al azar. Los datos fueron analizados por el método de la Clasificación Nested ó Clasificación Jerarquizada como también suele ser llamado ^(14, 29, 30, 31). Además se realizaron comparaciones ortogonales utilizando la marca "E", utilizada como testigo.

Las variables que se estudiaron en orden Jerarquizado fueron las siguientes:

1. Las marcas de leche que son nuestro principal objetivo de investigación, se plantearon como la variable de Criterio Principal.

2. Los Períodos de toma de muestra, que fueron las repeticiones del experimento, se plantearon como la primera variable jerárquica⁽³⁰⁾, y sirvió como error de toma de muestra para probar las marcas, además recogió el efecto de los períodos y de su interacción con las marcas.

3. Las tres muestras de leche de cada marca, fueron las sub-muestras, es decir una variable jerarquizada a los períodos y cuyos resultados dependen tanto del período como de la marcas. Sirve de error de sub-muestra, y recoge el efecto de las muestras y su interacción con los períodos y las marcas.

4. Las diluciones aplicadas a cada de leche, se plantearon como sub-submuestras, fueron la última variable jerarquizada y representó el Error Experimental. Las diluciones junto con el efecto de las muestras, sirvieron para evaluar el trabajo de laboratorio y la eficiencia del analista.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A. Presentación de la Leche.

Los envases de presentación que utilizan las plantas procesadoras son: Bolsa plástica con un litro de leche en la marca "E", y caja de cartón con 946 cm³ de leche en las otras cuatro. Cabe señalar que a excepción de la marca "E", las otras no presentaron fechas claras y legibles de elaboración y vencimiento del producto. Debido a esta situación, no fue posible comprar muestras de la misma fecha o sea, con el mismo tiempo de almacenamiento del producto. Esto es discutido por Martin et al (1981), quienes aseguran que la leche almacenada por más de siete días bajo condiciones óptimas, ya presentan un desarrollo y crecimiento microbiano que tiene su efecto negativo sobre la calidad de la leche y el sabor.

A. Contenido de Colonias Totales en la Leche.

Todas las marcas de leche incluidas en el estudio, presentaron diferencia estadística altamente significativa con un nivel de probabilidad menor al 1%, en cuanto a la calidad microbiológica (Anexo 8.). El 64.4% de las muestras estuvieron dentro de las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Honduras; o sea que el 35.6% no cumplía con las normas vigentes de calidad microbiológica del producto.

Cuadro 9. Cómputo de colonias totales por cm³
(miles de colonias)

Repeticiones	MARCAS				
	A	B	C	D	E
I. 7- 8-89	16	5	13	380	24
II. 22- 9-89	16	310	23	10	12
III. 28- 9-89	13	500	240	12	460
IV. 3-10-89	20	15	54		2
V. 7-10-89	44	10	43	300	4
VI. 14-10-89	20	410	38	4	27
VII. 19-10-89	170	360	57	820	5
VIII. 24-10-89	40	7	41	15	42
IX. 28-10-89	23	40	16	12	12
X. 4-11-89	230	23	1200	350	18
XI. 9-11-89	330	660	19	240	7
XII. 17-11-89	350	12	1100	1500	7

La marca "E", es la única que se encontró con 91.67% de sus muestras dentro de las normas (Anexo No.3), o sea, menos de 50 Mil Colonias por cm³ de leche, las otras marcas mostraron entre 33.33% y 54.55% de sus muestras fuera de norma. Las comparaciones ortogonales (Anexo 10.), muestran que solamente la marca "A" y la marca "E" presentan diferencia significativa al 5%, y que las restantes cuatro marcas no tuvieron diferencia significativa en el contenido promedio de bacterias totales durante el tiempo que tardó el estudio.

Las marcas "C" y "D" tuvieron 16.7% y 9.09% de sus muestras con un millón o más de colonias por cm³ de leche, respectivamente, y sólo el 58.33% y 45.45% de sus muestras respectivas, dentro de las normas. La marca "A" presentó 66.67% de sus muestras dentro las normas establecidas y en el 33.33% de sus muestras se encontraron entre 100 mil y 500 mil colonias por centímetro cúbico de leche. La marca "B" tuvo el

58.33% de sus muestras dentro de normas al igual que la marca "C". El 33.33% de las muestras se encontraron con contenido microbiano entre 100 mil y 500 mil y el 8.34% de las muestras entre 500 mil y un millón de colonias por centímetro cúbico (Anexo No.3).

Analizando los períodos de toma de muestra, se pudo determinar la inconsistencia con que las diferentes marcas de leche salen al mercado, ya que los resultados con diferencia estadística altamente significativa con una probabilidad menor del 1%, comprobaron que una misma marca de leche puede salir al mercado con el contenido bacteriano dentro de las normas durante una semana, y que a la semana siguiente está totalmente fuera de las normas.

Para ilustrar lo expuesto anteriormente, podemos observar en el Anexo No.1, que la marca "D", tiene 45.45% de sus muestras con contenido bacteriano dentro de las normas, o sea menos de 50 mil colonias por cm^3 de leche, el 36.37% de sus muestras se encontraron en un rango entre 100 mil y 500 Mil colonias por cm^3 , 9.09% de las muestras están entre 500 mil y un millón de colonias y 9.09% de las muestras presentan un contenido microbiano mayor de un millón por cm^3 de leche.

La marca "E", la cual presenta un 91.67% de sus muestras dentro de las normas, y 8.33% de las muestras con contenido bacteriano entre 100 mil y 500 Mil de colonias por cm^3 . Esta marca aunque tiene el 8.33% de sus muestras fuera de las normas, demuestra ser la marca de leche de mejor calidad

microbiológica que llega al mercado.

Estadísticamente, la diferencia encontrada entre los periodos de recolección de las muestras dentro de una misma marca, es altamente significativa aunque menor que la diferencia entre las marcas. Entre un periodo y el siguiente no se mantienen los niveles microbiológicos de la leche, pudiendo adjudicar como las posibles causas, la limpieza y la higienización inadecuadas, además de la baja calidad de la materia prima.

Entre las muestras tomadas en cada periodo de cada marca, no se encontró diferencia que estadísticamente resulte significativa, por lo que podemos considerar que a nivel de laboratorio se trabajó satisfactoriamente, al igual que las dos diluciones aplicadas a cada muestra.

B. Contenido de Coliformes en la Leche.

El contenido de coliformes encontrado en la leche de las cinco marcas presentó 76.73% del total de muestras fuera de las normas establecidas, es decir que sólo el 23.27% de las muestras obtenidas durante el tiempo que duró el estudio, estuvieron dentro las normas. El comportamiento estadístico fue similar al contenido de colonias totales. Las diferencias estadísticas entre marcas y periodos son altamente significativas. Las comparaciones ortogonales indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar todas las marcas con la marca "E", lo que indica que durante el tiempo que duró el estudio, las marcas de leche circularon

por igual en el mercado con más del 75% de sus muestras con un contenido de coliformes fuera de normas.

Cuadro 10. Cómputo de coliformes por cm³

Repeticiones	MARCAS				
	A	B	C	D	E
I. 7- 8-89	17	1	42	69	4
II. 22- 9-89	138	155	182	20	8
III. 28- 9-89	8	262	26	1	129
IV. 3-10-89	70	1	72		15
V. 7-10-89	82	57	22	94	14
VI. 14-10-89	1	498	2	20	39
VII. 19-10-89	58	1708	37	3326	2
VIII. 24-10-89	6	6	61	7	44
IX. 28-10-89	18	107	2	7	56
X. 4-11-89	832	23	106	5916	30
XI. 9-11-89	932	3930	53	1920	34
XII. 17-11-89	1479	24	5334	4726	32

En los cómputos de estos resultados, la marca "C" tiene el 83.3% de sus muestras fuera de las normas, la marca "D" presentó el 72.73% de sus muestras fuera de las normas, o sea con más de 10 coliformes por cm³ de leche, y las marcas "A", "B" y "E", tienen el 75% de sus muestras fuera de normas.

La marca "E", tuvo 25% de sus muestras dentro de las normas, 66.67% entre 11 y 100 coliformes y 8.33% entre 100 y 500 coliformes por centímetro cúbico de leche. La marca "C" tuvo 16.67% de sus muestras dentro de las normas, 56.33% entre 11 y 100 coliformes, 16.16% entre 100 y 500 coliformes, y 8.33% de sus muestras con más de mil coliformes por centímetro cúbico de leche. La marca "D" presentó el 27.27% de sus muestras dentro de las normas, 36.37% entre 11 y 100

coliformes y 36.36% de sus muestras con más de mil coliformes por centímetro cúbico de leche. La marca "B" presentó el 25% de sus muestras dentro de las normas, 25% entre 11 y 100 coliformes, 33.33% entre 100 y 500 coliformes y el 16.67% de sus muestras con más de mil coliformes por centímetro cúbico de leche. La marca "A" presentó el 25% de sus muestras dentro de las normas, 41.67% de sus muestras entre 11 y 100 coliformes, el 25% entre 100 y mil coliformes y el 8.33% de sus muestras con más de mil coliformes por centímetro cúbico de leche (Anexo 4.).

Esto debe de ser un punto de preocupación de las autoridades sanitarias y de la administración de las plantas, en lo que se refiere a Control de Calidad interno, como a nivel Ministerio de Salud lo que sería el Control de Calidad externo.

La diferencia estadística entre marcas es menor que la diferencia encontrada en cuanto al Contenido Total de Bacterias (Anexo No.9), pero de igual forma es altamente significativa. La diferencia entre períodos también es menor que la diferencia entre marcas pero estadísticamente, es altamente significativa.

A nivel de laboratorio se trabajó en forma satisfactoria al no encontrar diferencias significativas estadísticamente, entre las muestras y las diluciones.

La aplicación del examen de detección de coliformes, no intenta detectar contaminación fecal. Específicamente no es para detectar E. coli en productos lácteos, pero si nos da

una idea de las prácticas de higiene usadas.

Cuadro 11. Porcentaje de muestras dentro y fuera de las normas en ambos cómputos

	<u>% de Muestras</u>	
	<u>Dentro de Normas</u>	<u>Fuera de Normas</u>
Colonias Totales	64.4	35.6
<u>Coliformes</u>	<u>23.7</u>	<u>76.3</u>

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De los resultados encontrados en este estudio se concluye lo siguiente:

1. El contenido total de bacterias en las cinco marcas de leche pasteurizada y homogeneizada que formó parte de este estudio, el 64.4% del total de muestras estuvieron dentro de las normas que establece el Ministerio de Salud Pública de Honduras. Sin embargo sólo la marca "E", demuestra ser más consistente en lo que se refiere a higiene, pues es la que presenta el porcentaje más alto de sus muestras dentro de las normas con 91.67%, y la marca "D" la menos consistente con sólo el 45.45% de sus muestras dentro de las normas.

2. En el cómputo de coliformes, todas las marcas presentan porcentajes bajos de sus muestras dentro de las normas establecidas, siendo la marca "D" la que presenta el porcentaje más alto de sus muestras dentro de las normas con 27.27%, y la marca "C" sólo el 16.67% de sus muestras dentro las normas. El resto tienen 75% de sus muestras fuera de las normas, y con excepción de la marca "E", el resto tienen entre uno y cuatro de los cómputos con mil coliformes o más por cm³ de leche pasteurizada.

3. La diferencia estadística significativa encontrada en los cómputos microbiológicos de la leche entre las diferentes marcas y aún dentro de una misma marca, puede ser debido a

múltiples fuentes de microorganismo siendo las principales las siguientes:

a. Materia Prima.

En el trópico la materia prima puede ser considerada como la principal fuente de microorganismos en la leche pasteurizada, porque tanto la leche cruda que es obtenida bajo condiciones inadecuadas de higiene y mantenida a temperatura ambiente hasta la entrega a la planta procesadora, como la leche en polvo donada al gobierno y vendida a las plantas procesadoras normalmente tienen un contenido alto de microorganismos, como lo asegura Tijerino, 1989.

b. Fuentes de Contaminación de la Materia Prima.

En la leche cruda las principales fuentes de contaminación son el cuerpo del animal, la ubre, utensilios, manos del ordeñador, alimento, etc. como lo asegura Revilla en 1982. Mientras que la leche en polvo que se usa en la leche reconstituida, es leche que ha sido pulverizada con varios meses de anticipación, envasadas en bolsas de papel y almacenadas en los puertos en bodegas que no son adecuadas.

El número de bolsas rotas es generalmente alto y el producto expuesto al medio ambiente antes de ser reconstituido en las plantas procesadoras. Todo esto hace que el contenido inicial de bacterias de la leche reconstituida sea alto.

c. Instalaciones y Equipos.

Farral en 1963, asegura que el estado mecánico óptimo de las instalaciones y equipos garantizan un procesamiento

adecuado de la leche. Cuando estos no funcionan correctamente por ejemplo, termómetros defectuosos que no indican la temperatura exacta, fugas de vapor del equipo de pasteurización, etc., pueden conducir a obtener una leche que no esté debidamente pasteurizada. La revisión de los equipos antes, durante y después del proceso, debe ser norma de la planta llevada acabo diariamente por una persona responsable.

d. Sistema de Pasteurización.

La eficiencia del método de pasteurización utilizado es la garantía de la calidad microbiológica del producto. La pasteurización destruye del 90% al 99% de los microorganismos que se encuentran en la leche⁽²⁷⁾, por lo tanto, el contenido de bacterias que se encuentre en la leche después de la pasteurización, estará en dependencia del contenido inicial de la misma.

e. Limpieza y Desinfección del equipo.

Debe de garantizarse la eficiencia del sistema de limpieza y desinfección de las instalaciones y equipos, sobre todo las que se encuentran después del pasteurizador, como codos y válvulas en la tubería de conducción. Hall en 1968, asegura que los residuos de leche que quedan en la parte interna de la tubería, codos y válvulas, forman lo que se conoce como piedra de leche, la que es propicia para el desarrollo de los microorganismos y por lo tanto puede convertirse en la principal fuente de recontaminación de la leche pasteurizada. Un programa interno de limpieza en cada

planta debe involucrar, además del enjuague a las instalaciones después de cada proceso, la recirculación de un producto químico específico y el desarme para hacer la limpieza manual de las instalaciones. Si esta limpieza se realiza después de cada 3 procesos, el contenido de microorganismos aumenta en la leche pasteurizada como lo asegura Tijerino en 1989. Este aspecto también está en dependencia del volumen de leche que se procese.

4. Control de Calidad Interno.

La leche pasteurizada debería ser analizada microbiológicamente en cada planta antes de ser liberada al mercado. Dos análisis por semana usando la metodología empleada en este estudio, han dado buenos resultados en la planta de lácteos de la EAP, para tomar las medidas correctivas necesarias durante el procesamiento de la leche. Esta medida, requiere al menos de 24 horas para obtener un desarrollo microbiano y si hay dudas al respecto, es necesario esperar 48 horas para tomar la decisión sobre el destino del producto. Sin embargo existen otros métodos que dan los resultados más rápido y que pueden ser utilizados a nivel de laboratorio para determinar el contenido de microorganismos en la leche pasteurizada.

Existe el método del microscopio recomendado por Tarragona 1971, que sirve para determinar el cómputo de bacterias en forma directa, en una cantidad determinada de leche. Este método tiene el inconveniente que no determina el

cómputo de coliformes y confunde las bacterias y las vivas como lo asegura Revilla 1982.

También se puede hacer la prueba de fosfatasa la cual es una encima que se encuentra presente en la leche cruda y que se inactiva en un 99.6% cuando la leche es calentada a 62°C por 13 minutos y 30 segundos, a 74°C por 5.9 segundos y a 80°C por 0.44 segundos determinado por Farral 1963.

La prueba de fosfatasa sirve para comprobar la efectividad del calentamiento de la leche durante 30 minutos a 61°C o 14 segundos a 71.5°C para la contrastación de la pasteurización de la leche y es necesario que el resultado de esta prueba sea siempre negativo. Cuando se comprueba que la fosfatasa ha sido inactivada por calentamiento, puede admitirse que al mismo tiempo han quedado destruidos todos los gérmenes patógenos que se encuentran en esa leche.

Estas podrían ser algunas de las medidas internas que podrían implementarse en las plantas procesadoras si es que no las tienen, para evitar que salga al mercado un producto de mala calidad. Independientemente del método o análisis bacteriológico que se practique a nivel de laboratorio, este debe realizarse de ser después de cada proceso.

5. Control de Calidad Externo.

La leche pasteurizada no debería de permanecer más de 7 días bajo condiciones de almacenamiento a 4°C en los centros de expendio para garantizar al consumidor un producto en óptimas condiciones para el consumo, sobre todo cuando se

comprobó, que al menos durante el tiempo que duró este estudio, el 35.6% de las muestras de leche pasteurizada y homogeneizada que se tomaron de los supermercados de Tegucigalpa que distribuyen este producto, están con el contenido bacteriano total fuera de las normas, y que el 75.27% de estas mismas muestras tienen el contenido de coliformes fuera de las normas.

Otro aspecto que debe ser tomado en cuenta desde el punto de vista del control de calidad externo, es la presentación de la leche y la información contenida en el envase, principalmente en lo que se refiere a fechas de elaboración y vencimiento, ya que esta es información de la que podría partir el consumidor al tomar la decisión de compra del producto.

6. Según Pavón 1990, en el trópico y bajo las condiciones ambientales de alta contaminación, el nivel de coliformes de 10 por cm^3 de leche tiende a ser bajo si se toma en cuenta el desarrollo de anticuerpos por parte del organismo. Sin embargo, este nivel no puede ser alterado porque la presencia de una sola bacteria coliforme puede ser perjudicial sobre todo en personas de estómagos sensibles como los niños y adultos.

7. Se recomienda utilizar los resultados de esta Tesis como un estudio preliminar, ya que existe muy poca información referente a la calidad microbiológica de los alimentos en Honduras.

8. Se recomienda realizar más estudios referente a la

calidad microbiológica de los alimentos y en particular estudios relacionados con la leche por ser este un alimento de consumo diario. Los investigadores dan como obvio que la leche tiene cierta cantidad permisible de microorganismos, ya que las investigaciones más recientes como las de Senik y Ledford, se orientan a determinar el efecto de los microorganismos sobre la leche. Sin embargo en nuestro medio la cantidad de microorganismos que tiene la leche pasteurizada en un alto porcentaje está por fuera de las normas, por lo que las investigaciones debe estar orientadas a descubrir las causas directas del alto contenido de microorganismos de la leche pasteurizada y homogeneizada en Honduras, y a aislar los microorganismos para determinar las especies que más predominan en la leche.

VII. RESUMEN

Durante la realización de este estudio, se analizaron 180 litros de leche pasteurizada y homogeneizada correspondiente a cinco marcas, durante 24 días divididos en 12 periodos. En cada periodo se obtuvieron 15 litros de leche que se constituían en una repetición del estudio.

A cada litro de leche se le practicó análisis bacteriológico de cómputo de colonias totales y cómputo de coliformes, aplicando la metodología recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) con dos diluciones en serie para cada cómputo.

A los reportes oficiales de ambos cómputos, se le aplicaron las reglas que la OMS tiene para tal fin. Tomando como base las normas bacteriológicas establecidas para la leche pasteurizada y homogeneizada por el Ministerio de Salud Pública de la República de Honduras las cuales son las siguientes:

1. 50000 colonias totales por cm^3 de leche.
2. 10 coliformes por cm^3 de leche.

En el análisis estadístico se aplicó un diseño completamente al azar con análisis de función Jerarquizada. Las variables analizadas en forma jerárquica fueron: Marcas de leche, Periodos de muestreo, Muestras obtenidas en cada periodo y Diluciones aplicadas a cada muestra. Para reducir

BIBLIOTECA WILSON POENDE
ESUELA AGRICOLA PANAMERICANA
AVIAAO 22
TEUCIGALY HONDURAS

Salud Pública de Honduras.

muestras dentro de las normas establecidas por Ministerio de "E" resultó ser la más consistente con el 91.67% de sus microrganismos fuera de las normas. En este aspecto, la marca muestras se encontraron con el contenido total de higiénicas de producción. Por otra parte, el 35.6% de las comprueba la irregularidad en cuanto a las condiciones ellas con más de mil coliformes por cm³ de leche; esto encontraron fuera de las normas establecidas, con 13.9% de el 76.3% de las muestras totales para coliformes se Lo más relevante de los resultados encontrados, es que

en forma satisfactoria.

diluciones, significa que a nivel de laboratorio se trabajó diferencia estadística significativa entre muestras y entre revela inconsistencia en la producción. Al no encontrar significativa entre marcas y dentro de cada marca, lo cual En los resultados se encontró diferencia estadísticas

datos tales.

También se encontraron los valores perdidos en los crece de totales y logaritmo de $X + Z$ para cómputo de coliformes. transformaciones de logaritmo de X para cómputo de colonias el efecto de variación de los datos, se aplicó

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. ADELBERG, S.D. The Microbial World. 2nd edición. California, U.S.A. Prentice-Hall, inc. 1958. 682p.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, INC. Standard Methods for the Examination of the Dairy Products, 20th edition. Montana State University, 1967. 304p.
3. ANUARIO CENTROAMERICANO DE ESTADISTICAS DE LA SALUD. Organización de Estados Americanos, 1969. 70p.
4. AVEDILLO, M. Notas del Curso de Estadísticas, Departamento de Economía Agrícola. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, 1984.
5. BISHOP, J.C., BODINE, A.B., And JANZEN, J.J. Effect of Environments on Survival of Selected Bacterial Populations. J. Dairy Sci, 63: 523-525. 1980.
6. CORRAL, L. Notas del Curso de Diseños Experimentales, Departamento de Agronomía. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, 1989.
7. DEMETER, K Y ELBERTZHAGEN, H. Elementos de Bacteriología Lactológica. 6^a Ed. Zaragoza, España. 1971.
8. FAIRCHILD, T.P., Mc ARTHUR, B.J., MOORE, J.H., And HALTON, W.D. Coliforms Counts in Various Bedding Materials. J Dairy Sci, 65: 1029-1035. 1982.
9. FARRAL, A. Ingeniería Para la Industria Lechera. México, D F, México. 1963.
10. FIELDS, M. Laboratory Manual In Food Preservation. Westport, Connecticut, U.S.A. 1977.
11. GODED, A. La Leche y Sus Adulteraciones. 2^a Ed. Madrid, España. 1946.
12. GODED, A. Modernas Técnicas Aplicadas, Analisis de la Leche. Zaragoza, España. s.f.
13. HALL, C Y TROUT, G. Milk Pasteurization. Westport, Connecticut, U.S.A. 1968.
14. JAY, J.M. Microbiología Moderna de los Alimentos. Zaragoza, España, 1973. 319p.

15. JUVEN, B.J., GORDIN, S., ROSENTHAL, I., And LAUFER, A. Changes in Refrigerated Milk Caused by Enterobacteriaceae. J. Dairy Sci, 64: 1781-1981. 1984.
16. LEDFORD, R.A., SENIK, G.F., SHIPE, W.F., KOTSIDES, E., And WOLFF, E.T. Influence of Growth of Coliforms on Flavor acceptability of Comercially Processed Milk Samples. J. Dairy Sci, 66(10): 1611- 1615. 1983.
17. Manual de Plantas de Pasteurización. Traducido del Inglés por Dr. José M. Tarragona V. Zaragoza, España. 1971.
18. MARTIN, H.J. Heat Resistent Microorganisms in dairy Sistem. Heat Resistent Mesophilic Microorganism. J Dairy Sci, 64: 149- 156. 1981.
19. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Principios de la Legislación y el Control Lecheros. Cuaderno de Fomento Agropecuario N° 59. Roma, Italia. 1956.
20. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Higiene de la Leche. Ginebra, Suiza, 1966. 837p.
21. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Oficina Sanitaria Panamericana, Washington, U.S.A. Boletín 108, No.3. Pag.322.
22. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Normas para el Examen de Productos Lácteos. Publicaciones Científicas, boletín No.84, 1963. 540p.
23. PALLERONI, N.J. Principios Generales de Microbiología. Monografía No.6 Serie Biológica. Berkeley University, California, U.S.A, 1970. 124p.
24. PAVON, F. Director de Centro de Salud "Alonso Suazo". Consulta personal. Tegucigalpa, Honduras, 1990.
25. RATTU, M.A. Examen Microbiológico de Leche y Productos Lácteos. E.Merck Vertrieb Diagnostica, Alemania, 1982. 43p.
26. REVILLA, A. Introducción a la Microbiología. Escuela agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras, 1986. 173 p.
27. REVILLA, A. Tecnología de la Leche. IICA San José, C.R, 1982. 399p.

28. SCHONHERR, W. Manual Práctico de Análisis de Leche. Traducido del alemán por Dr. José M. Santiago L. Zaragoza, España. 1959.
29. SENYK, G.F., GOODALL, C., KOSLOWSKI, S.M., and BLANDER, D.K. Selection of Test for Monitoring the Bacterial Quality of Refrigerated Raw Milk Supplies. J. Dairy Science. 71(3): 613-619. 1988.
30. SNEDECOR, G. AND COCHRAN, W. Statistical Methods. 6th Edition. IOWA, USA, 1967.
31. STEEL, R. Y TORRIE, J. Bioestadísticas Principios y Procedimientos. 2^a Ed. Mc Graw Hill Inc. Bogotá, Colombia. 1985.
32. THATCHER, F.S Y CLARK, D.S. Análisis Microbiológico de los Alimentos. Zaragoza, España, 1973. 271p. 29(23).
33. TIJERINO, R. Compañía Centroamericana de Productos Lácteos, S.A. PROLACSA. Consulta Personal. Matagalpa, Nicaragua, 1989.
34. TROUT, G. Homogenized Milk. Michigan State College Press, U.S.A. 1950.
35. UMBREIT, W.W. Modern Microbiology. San Francisco and London, 1962. 507p.

ANEXO No. 1

REPORTE OFICIAL DE COMPUTO DE COLONIAS TOTALES
(Miles de colonias)

REPETICIONES

MARCAS	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
A	16	16	13	20	44	20	170	40	23	230	330	350
B	5	310	500	15	10	410	360	7	40	23	660	12
C	13	23	240	54	43	58	57	41	16	1200	13	1100
D	360	10	12		300	4	820	15	12	350	240	1500
E	24	12	460	2	4	27	5	42	12	18	7	7

TRANSFORMACIONES: (LOG X)

REPETICIONES

MARCAS	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
A	4,204	4,204	4,114	4,301	4,643	4,301	5,230	4,602	4,362	5,362	5,513	5,544
B	3,663	5,491	5,699	4,176	4,000	5,613	5,596	3,869	4,602	4,362	5,820	4,079
C	4,114	4,362	5,380	4,732	4,633	4,580	4,756	4,613	4,204	6,079	4,279	6,041
D	5,580	3,982	4,079		5,477	3,580	5,914	4,176	4,079	5,544	5,380	6,176
E	4,380	4,079	5,663	3,255	3,602	4,431	3,724	4,623	4,079	4,258	3,869	3,851

ANEXO No. 2

REPORTE OFICIAL DE COMPUTO DE COLIFORMES

REPETICIONES

MARCAS	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
A	17	138	8	70	82	1	58	6	18	892	992	1479
B	1	155	262	1	57	498	1708	6	107	23	3990	24
C	42	182	26	72	22	2	37	61	2	106	58	5994
D	69	20	1		94	20	3926	7	7	5916	1920	4726
E	4	8	129	15	14	39	2	44	56	30	34	32

TRANSFORMACIONES: (LOG X+2)

REPETICIONES

MARCAS	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
A	1.279	2.146	1.000	1.857	1.924	0.477	1.778	0.903	1.301	2.921	2.970	3.171
B	0.477	2.196	2.422	0.477	1.771	2.699	3.233	0.903	2.037	1.398	3.595	1.415
C	1.643	2.265	1.447	1.869	1.380	0.602	1.591	1.799	0.602	2.033	1.740	3.727
D	1.851	1.342	0.477		1.982	1.342	3.522	0.954	0.954	3.772	3.284	3.675
E	0.778	1.000	2.117	1.230	1.204	1.613	0.602	1.663	1.763	1.505	1.556	1.531

ANEXO No.3

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE MUESTRAS DE LAS DIFERENTES
 MARCAS CON COMPUTO BACTERIANO TOTAL COMPRENDIDO
 DENTRO DE LOS RANGOS ESTABLECIDOS

MARCAS					
CCP/cm3	A	B	C	D	E
50000	66.67	58.33	58.33	45.45	91.67
50 mil a 100 mil	-	-	16.67	-	-
100 mil a 500 mil	33.33	33.33	8.33	36.37	8.33
500 mil a un millón	-	8.34	-	9.09	-
uno a 1.5 millones	-	-	16.67	9.09	-
	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

ANEXO No.4

PORCENTAJE DE MUESTRAS CON COMPUTO
DE COLIFORMES COMPRENDIDO DENTRO DE
LOS RANGOS ESTABLECIDOS

CCP/cm ³	MARCAS				
	A	B	C	D	E
1 A 10	25.00	25.00	16.67	27.27	25.00
11 a 20	16.67	-	-	18.18	16.67
21 a 30	-	16.67	16.67	-	8.33
31 a 40	-	-	8.33	-	25.00
41 a 50	-	-	8.33	-	8.33
51 a 100	25.00	8.33	25.00	18.18	8.34
101 a 500	8.33	33.33	16.67	-	8.33
501 a 1000	16.67	-	-	-	-
1001 a 2000	8.33	8.34	-	9.09	-
2001 a 3000	-	-	-	-	-
3001 a 4000	-	8.33	-	9.09	-
4001 a 5000	-	-	-	9.09	-
5001 a 6000	-	-	8.33	9.09	-
	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

COMPUTOS GIB...
 SIMBOL...
 TIEMPO DE INCREMENTO...
 RESULTADO...
 RESULTADO...

CUESTION...
 A-1 150
 A-2 158
 A-3 161

Reportes de los Computos de Colonias Totales

D-1 75
 D-2 75
 D-3 75
 E-1 15
 E-2 15
 E-3 15
 F-1 492
 F-2 492
 F-3 492
 G-1 348
 G-2 348
 G-3 348

(1) ...
 (2) ...
 (3) ...

Anexo 5.2

COMPUTO: CCP.2 FECHA: 24/09/89 HORA: 14:00:00SIEMBRA: 22/09/89 HORA: 15:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 47:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB.
A-1	170	15(**)	16000	SF
A-2	163	21(**)		
A-3	159	44(*)		
B-1	3653	518	310000	SF
B-2	2275	287		
B-3	1989	285		
C-1	136	31(*)	23000	SF
C-2	188	23(**)		
C-3	268	46		
D-1	10(**)	2(**)	9600	SF
D-2	62	3(**)		
D-3	131	11(**)		
E-1	105	8(**)	12000	2227
E-2	59	3(**)		
E-3	185	22(**)		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.3

COMPUTO: CCP.3 FECHA: 30/09/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 28/09/89 HORA: 15:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 48:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB.
A-1	114	13(**)	13000	0 - 08
A-2	103	27(**)		
A-3	159	24(**)		
B-1	3965	503	500000	23 - 04 OCT
B-2	4280	480		
B-3	5650	650		
C-1	A.L	130	240000	492305
C-2	4485	340		
C-3	2080	203		
D-1	1(**)	5(**)	12000	SF
D-2	2(**)		2(**)	
D-3	116	11(**)		
E-1	3892	495	460000	2228
E-2	5005	464		
E-3	5245	386		

AL Accidente de Laboratorio.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.4

COMPUTO: CCP.4 FECHA: 05/10/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 03/10/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 47:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	FECHA DE ELAB.
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	
A-1	137	68(*)	20000	S.F.
A-2	184	49(*)		
A-3	290	89(*)		
B-1	54	8(**)	15000	30 11OCT 89
B-2	150	17(**)		
B-3	236	53(*)		
C-1	869	96	54000	0 14
C-2	342	72(*)		
C-3	264	47		
D-1				
D-2				
D-3				
C-1	25	3	1800(***)	0207
C-2	18	2		
C-3	29	8		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

(***) Cuando todos los cómputos están por debajo de la norma, se reporta el menor de ellos.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.5

COMPUTO: CCP.5 FECHA: 09/10/89 HORA: 09:00:00SIEMBRA: 07/10/89 HORA: 10:30:00 T° de INCLUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 46:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB. -
A-1	520	147(*)	44000	01 5
A-2	277	74(*)		
A-3	535	180(*)		
B-1	61	7(**)	10000	21 0
B-2	165	27(**)		
B-3	74	20(**)		
C-1	336	45	43000	1 7
C-2	385	3(**)		
C-3	349	69		
D-1	3410	411	300000	S.F.
D-2	3445	280		
D-3	2140	520(*)		
E-1	49	2(**)	4000	0511
E-2	37	4(**)		
E-3	34	2(**)		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.6

COMPUTO: CCP.6 FECHA: 16/10/89 HORA: 08:45:00SIEMBRA: 14/10/89 HORA: 09:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 47:15:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ²	FECHA ELAB.
A-1	249	14(**)	20000	02 - 3
A-2	151	7(**)		
A-3	201	53(*)		
B-1	DNPC	256	410000	SF
B-2	DNPC	435		
B-3	DNPC	529		
C-1	292	97(*)	38000	02 - 4
C-2	352	64		
C-3	362	84(*)		
D-1	17	20(**)	3800	SF
D-2	30	22(**)		
D-3	68	31(*)		
E-1	108	16(**)	27000	1015
E-2	462	73		
E-3	105	22(**)		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.7

COMPUTO: CCP.7 FECHA: 21/10/89 HORA: 16:00:00SIEMBRA: 19/10/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 48:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB.
A-1	2665	290	170000	02 - 8
A-2	620	127(*)		
A-3	AL	AL		
B-1	2684	325	360000	11 21 OCT 3Y
B-2	2795	437		
B-3	3228	539		
C-1	397	116(*)	57000	02 - 80
C-2	783	116		
C-3	356	99(*)		
D-1	DNPC	918	820000	SF
D-2	DNPC	1020		
D-3	DNPC	520		
E-1	31	56	5300	1724
E-2	7(**)	0		
E-3	53	72		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

AL Accidente de laboratorio.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.8

COMPUTO: CCP.8 FECHA: 26/10/89 HORA: 15:00:00SIEMERA: 24/10/89 HORA: 16:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 46:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 1

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB. -
A-1	280	42	40000	0 - 08
A-2	375	54		
A-3	364	42		
B-1	87	5(**)	7400	21 01 NOV 3Y
B-2	61	10(**)		
B-3	AL	AL		
C-1	253	33	41000	SF
C-2	529	55		
C-3	261	51		
D-1	74	32(*)	15000	SF
D-2	56	17(**)		
D-3	312	74(*)		
E-1	456	62	42000	2127
E-2	234	36		
E-3	495	34		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

AL Accidente de Laboratorio.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.9

COMPUTO: CCP.9 FECHA: 30/10/89 HORA: 08:30:00SIEMBRA: 28/10/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 48:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 3

TESTIGO A.B: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB.
A-1	199	35	23000	SF
A-2	248	30		
A-3	137	26(**)		
B-1	20(**)	6(**)	40000	24 03 NOV 89
B-2	347	46		
B-3	310	48		
C-1	154	26(**)	16000	SF
C-2	158	78(*)		
C-3	153	24(**)		
D-1	29(**)	25(**)	12000	SF
D-2	67	8(**)		
D-3	165	88(*)		
E-1	156	61(*)	12000	2603
E-2	116	AL		
E-3	102	AL		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

Al Accidente de Laboratorio.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.10

COMPUTO: CCP.10 FECHA: 06/11/89 HORA: 08:00:00SIEMBRA: 04/11/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 46:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 3

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP./cm ³	FECHA ELAB. -
A-1	1999	618(*)	230000	0 - 9
A-2	1739	98		
A-3	2503	462		
B-1	262	27(**)	23000	01-11 NOV 3Y
B-2	204	29(**)		
B-3	232	14(**)		
C-1	DNPC	1234	1200000	SF
C-2	DNPC	1183		
C-3	DNPC	1275		
D-1	1348	609	350000	SF
D-2	1284	359(*)		
D-3	1495	429(*)		
E-1	52	2(**)	18000	3107
E-2	343	51		
E-3	52	3(**)		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placa como mínimo.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

SF Muestras Sin Fecha.

Anexo 5.11

COMPUTO: CCP.11 FECHA: 11/11/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 09/11/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 47:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 1

TESTIGO A.D: 5

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	FECHA ELAB. -
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP/cm ³	
A-1	3770	300	330000	N 1 - 6
A-2	3120	345		
A-3	2780	370		
B-1	6280	880	660000	7 17 NOV 3Y
B-2	6420	700		
B-3	5720	540		
C-1	151	25(**)	19000	N 1 - 8
C-2	182	23(**)		
C-3	170	32		
D-1	1690	200	240000	SF
D-2	2035	247		
D-3	2962	305		
E-1	67	10(**)	7400	0713
E-2	65	13(**)		
E-3	90	18(**)		

(**) Sólo se reportan cómputos con 30 Colonias por Placas como mínimo.

SF Muestras sin Fecha.

Anexo 5.12

COMPUTO: CCP.12 FECHA: 19/11/89 HORA: 09:45:00SIEMBRA: 17/11/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 47:45:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

TESTIGO A.D: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO	FECHA ELAB.
	10 ⁻²	10 ⁻³	CCP/cm ³	
A-1	1385	796(*)	350000	2 N - 2
A-2	3667	263		
A-3	2848	254		
B-1	124	21(**)	12000	3 Y 2 31
B-2	147	8(**)		
B-3	104	5(**)		
C-1	DNPC	1120	1100000	N - 8
C-2	DNPC	1320		
C-3	DNPC	826		
D-1	DNPC	1528	1500000	-
D-2	DNPC	1414		
D-3	DNPC	DNPC		
E-1	92	10(**)	7100	1421
E-2	70	12(**)		
E-3	52	8(**)		

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Sólo se reportan cómputos de 30 Colonias por Placa como mínimo.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

Anexo 6.

Reporte de los Cálculos de Coliformes
efectuados a nivel de Laboratorio

Anexo 6.1

COMPUTO: COLIF.1 FECHA: 8/08/89 HORA: 09:15:00SIEMBRA: 7/08/89 HORA: 09:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:45:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	1 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	13	1	17
A-2	27	3	
A-3	23(*)	1	
B-1	1	0	1
B-2	0	0	
B-3	0	0	
C-1	47	9	42
C-2	54	4	
C-3	44(*)	1	
D-1	86	10	69
D-2	68(*)	3	
D-3	96	7	
E-1	6	0	4
E-2	2	0	
E-3	5	0	

* Se elimina por ser mayor del doble del menor.

Anexo 6.2

COMPUTO: COLIF.2 FECHA: 23/09/89 HORA: 14:30:00SIEMBRA: 22/09/89 HORA: 15:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	70	4	138
A-2	67	9	
A-3	202	36	
B-1	74	9	158
B-2	206	31	
B-3	130	12	
C-1	74	11	182
C-2	148	16	
C-3	260	34	
D-1	22(*)	1	20
D-2	19	1	
D-3	29	4	
E-1	36(*)	1	8
E-2	3	0	
E-3	10	0	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

Anexo 6.3

COMPUTO: COLIF.3 FECHA: 29/09/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 28/09/89 HORA: 15:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 24:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	8	1	8
A-2	2	1	
A-3	10	1	
B-1	137	12	262
B-2	180	24	
B-3	354	54	
C-1	4	1	26
C-2	43	18(*)	
C-3	25	3	
D-1	0	0	1(**)
D-2	1	0	
D-3	18	1	
E-1	67	11	129
E-2	164	20	
E-3	115	38(*)	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Cuando de dos resultados, uno está por encima, y el siguiente por debajo de las normas, se reporta el menor de ellos.

Anexo 6.4

COMPUTO: COLIF.4 FECHA: 04/10/89 HORA: 16:15:00SIEMBRA: 03/10/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 24:15:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	1 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	36	8(*)	70
A-2	70	12	
A-3	78	18(*)	
B-1	1	0	1
B-2	0	0	
B-3	0	0	
C-1	32	7(*)	72
C-2	48	9	
C-3	85	18	
D-1			
D-2			
D-3			
E-1	12	1	15
E-2	15	3	
E-3	24(*)	1	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

Anexo 6.5

COMPUTO: COLIF.5 FECHA: 08/10/89 HORA: 10:00:00SIEMBRA: 07/10/89 HORA: 10:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻²	COL./cm ³
A-1	67	9	82
A-2	81	17(*)	
A-3	72	10	
B-1	40	10(*)	57
B-2	74	17(*)	
B-3	AL	AL	
C-1	19	6(*)	22
C-2	33(*)	1	
C-3	36	14(*)	
D-1	120	12	94
D-2	60	14(*)	
D-3	103	29(*)	
E-1	13	0	14
E-2	13	1	
E-3	17	0	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

Anexo 6.6

COMPUTO: COLIF.6 FECHA: 15/10/89 HORA: 08:45:00SIEMBRA: 14/10/89 HORA: 09:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:15:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻¹	CDL./cm ³
A-1	1	0	1
A-2	0	0	
A-3	3	0	
B-1	280	55	498
B-2	509	93	
B-3	360	78(*)	
C-1	0	0	2
C-2	2	0	
C-3	3	0	
D-1	6	0	20
D-2	36	5	
D-3	10	0	
E-1	15	0	39
E-2	33	3	
E-3	71	19(*)	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

Anexo 6.7

COMPUTO: COLIF.7 FECHA: 20/10/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 19/10/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	0	0	58
A-2	55	6	
A-3	AL	AL	
B-1	3373(*)	143 (1110)**	1708
B-2	1625	290 (1410)**	
B-3	3120(*)	143 (1110)**	
C-1	30	5	37
C-2	34	6	
C-3	26	2	
D-1	2830	312	3326
D-2	4280	355	
D-3	3246	293	
E-1	1	0	2
E-2	2	0	
E-3	2	0	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

** Fecha de Elaboración.

AL Accidente de Laboratorio.

Anexo 6-B

COMPUTO: COLIF.8 FECHA: 25/10/89 HORA: 16:30:00SIEMBRA: 24/10/89 HORA: 16:30:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 24:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	1 ⁻¹	COL./cm ³ .
A-1	6	0	6
A-2	6	4(*)	
A-3	7	0	
B-1	2	0	6
B-2	10	0	
B-3	AL	AL	
C-1	42	6	61
C-2	64	9	
C-3	55	12(*)	
D-1	45	0	7(**)
D-2	0	0	
D-3	7	0	
E-1	82	8	44
E-2	44*	1	
E-3	51	3	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

(**) Cuando de dos resultados, uno está por debajo, y el siguiente por encima de las normas, se reporta el menor de ellos.

AL Accidente de Laboratorio

Anexo 6.9

COMPUTO: COLIF.9 FECHA: 29/10/89 HORA: 10:00:00SIEMBRA: 28/10/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 24:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPLIDO
	1	10 ⁻²	COL./cm ³
A-1	15	2	18
A-2	23	2	
A-3	18	1	
B-1	73	41(*)	107
B-2	141	31(*)	
B-3	AL	AL	
C-1	3	0	2
C-2	1	0	
C-3	3	0	
D-1	4	0	7
D-2	0	0	
D-3	10	0	
E-1	18	2	56
E-2	78	8	
E-3	67	7	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

AL. Accidente de Laboratorio.

Anexo 6.10

COMPUTO: COLIF.10 FECHA: 05/11/89 HORA: 09:30:00SIEMBRA: 04/11/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻²	COL./cm ³
A-1	845	227(*)	832
A-2	910	191(*)	
A-3	740	156(*)	
B-1	24	2	23
B-2	25	0	
B-3	21	0	
C-1	110	19	106
C-2	AL	AL	
C-3	61	16(*)	
D-1	6432	885	5916
D-2	2986	405	
D-3	5630	755	
E-1	18	3	30
E-2	28	17(*)	
E-3	25	5	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

AL Accidente de Laboratorio.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

Anexo 6.11

COMPUTO: COLIF.11 FECHA: 10/11/89 HORA: 15:30:00SIEMBRA: 09/11/89 HORA: 16:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:30:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	10 ⁻¹	COL./cm ³
A-1	1030	137	932
A-2	517	115(*)	
A-3	845	131	
B-1	2980	380	3930
B-2	3840	594	
B-3	3120	390	
C-1	44	17(*)	53
C-2	47	9	
C-3	51	4	
D-1	2450	534(*)	1920
D-2	DNPC	1425	
D-3	DNPC	1885	
E-1	44	17(*)	34
E-2	27	3	
E-3	30	0	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

Anexo 6.12

COMPUTO: COLIF.12 FECHA: 18/11/89 HORA: 09:00:00SIEMBRA: 17/11/89 HORA: 10:00:00 T° de INCUBACION: 32°CTIEMPO DE INCUBACION: 23:00:00 HORAS.

TESTIGO AGAR: 0

MUESTRAS	DILUCIONES		COMPUTO
	1	1 ⁻¹	COL./cm ⁵
A-1	1680	220	1479
A-2	1120	82	
A-3	1412	164	
B-1	11	2	24
B-2	38	4	
B-3	17	4(*)	
C-1	5485	414	5334
C-2	6428	819	
C-3	7983(*)	388	
D-1	5436	887	4726
D-2	2490	138	
D-3	3680	650	
E-1	36	4	32
E-2	30	2	
E-3	0	0	

(*) Se elimina por ser mayor del doble del menor.

DNPC Demasiado Numeroso Para Contar.

Anexo 7.

Reglas de la Organización Mundial de Salud
utilizadas para reportar los Cómputos
Microbianos a nivel de laboratorio.

1. Selecciónense placas que tengan 30 a 300 colonias no difusas. Cuéntense todas las colonias en las placas seleccionadas, incluyendo las de tamaño puntiforme, anótese la dilución o diluciones y anótese el total de colonias como base para el recuento estándar en placa oficial.

2. Si las placas de dos diluciones consecutivas producen de 30 a 300 colonias cada una, cómputese el cómputo aproximado por cm^3 para cada dilución multiplicando el número de colonias por placa por la dilución usada y anótese el promedio aritmético como el Recuento Estándar en Placa por cm^3 , a menos que el recuento más alto computado sea más del doble del más bajo, en cuyo caso debe anotarse el cómputo más bajo como el cómputo Estándar en Placa por cm^3 .

3. Si las placas de todas las diluciones producen menos de 30 colonias cada una, repórtese el cómputo más bajo como el cómputo oficial. A menos que sean colonias difusas o provocadas por accidentes de laboratorio, los cuales deben ser reportados como tal.

4. En los casos en que el número de las colonias por placa sea muy superior a 300, cuéntense las colonias en las porciones de las placas representativas de la distribución de colonias y calcúlese de ahí el número total por placa. Si hay menos de 10 colonias por cm^2 , cuéntense las colonias en 12 a 14 de estas áreas, preferiblemente en 13. Si la superficie de la placa es de 65 cm^2 , la suma de colonias en 13 cm^2 representativos, multiplicado por 5, dará por resultado el número aproximado de colonias por placa.

5. Si el número de colonias por placa es excesivamente superior a 300 e imposibilita su cómputo, se reporta como Demasiado Numeroso Para Contar (DNPC).

Otras reglas que hablan de Colonias Difusas, Accidentes de Laboratorio, etc, también fueron tomadas en cuenta para reportar el cómputo oficial de cada tratamiento.

Anexo B.

ANALISIS ESTADISTICOTITULO: Cómputo Total de Colonias por Placa por cm³.

FUNCION: Jerarquizada

VARIABLE 5: Cómputo

Tabla jerarquizada desde el más interior.

Variable 4 de 1 a 2 DILUCIONES

Variable 3 de 1 a 3 MUESTRAS

Variable 1 de 1 a 12 PERIODOS

Variable 2 de 1 a 5 PLANTAS

<u>ANALISIS DE VARIANZA</u>					
<u>F. DE VARIACION</u>	<u>GRADOS</u>	<u>SUMA</u>	<u>CUADR.</u>		
	<u>LIBERT.</u>	<u>CUADR.</u>	<u>MEDIO</u>	<u>F</u>	<u>PZ</u>
Entre var. 2	4	7648	1912.02	826.72**	0.0
Ent. var.1 Dent. Var.2	55	127	2.31	14.41**	0.0
Ent. var.3 Dent. Var.1	120	19	0.16	0.82	
Ent. var.4 Dent. Var.3	180	0	0.0		

Anexo. 9

ANALISIS ESTADISTICOTITULO: Cómputo de Coliformes por cm³

FUNCION: Jerarquizada

VARIABLE 5: Cómputo

Tabla jerarquizada desde el más interior.

Variable 4 de 1 a 2 DILUCIONES

Variable 3 de 1 a 3 MUESTRAS

Variable 1 de 1 a 12 PERIODOS

Variable 2 de 1 a 5 MARCAS

ANALISIS DE VARIANZA

F.DE VARIACION	GRADOS LIBER.	SUMA CUADRA.	CUADR. MEDIO	F	P%
Entre Var. 2	4	1072	267.90	50.21	0.0
Ent. Var.1 Dent. Var.2	55	293	5.34	27.94	0.0
Ent. Var.3 Dent. Var.1	120	23	0.19	2.34	0.0
Ent. var.4 Dent. Var.3	179	15	0.08	0.50	
Dentro Var.4	1	0.16	0.16		

Anexo 10.

Comparaciones Ortogonales

P < 0.05

	<u>Colonias Totales</u>		<u>Coliformes</u>
A vs. E	4.52(*)	A vs. E	1.59(ns)
B vs. E	3.48(ns)	B vs. E	2.04(ns)
C vs. E	3.35(ns)	C vs. E	1.27(ns)
D vs. E	3.03(ns)	D vs. E	3.11(ns)

Anexo 11.

Materiales y equipo utilizado para el análisis microbiológico del cómputo de colonias totales.

1. Equipo.

- a. Pipetas esterilizadas de 1.1, 2.2, y 11 cc.
- b. Placas de Petri.
- c. Lápiz de cera.
- d. Mechero Buncen.
- e. Termómetro.
- f. Frascos de Dilución.
- g. Frascos para el Medio de Cultivo.
- h. Autoclave.
- i. Horno.
- j. Incubadora.
- k. Luna de aumento para ver colonias.
- l. Contador mecánico.
- m. Baño maría.
- n. Potenciómetro.
- o. Balanza.

2. Reactivos.

- a. Agua tamponada estéril para diluciones.
- b. Agua destilada.
- c. Medio de cultivo.
- d. Fosfato de potasio.
- e. Hidróxido de sodio 0.1N.

3. Medio de Cultivo: AGAR PEPTONA CASEINA-GLUCOSA-EXTRACTO DE LEVADURA.

Componentes:

a. Triptoria o caseina digerida por jugo pancreático.....	5.0 gm.
b. Extracto de levadura.....	2.5 gm.
c. Glucosa	1.0 gm.
d. Agar.....	15.0 gm.
e. Agua destilada	1.0 lt.

Anexo 12.

Materiales y equipo utilizados para el análisis microbiológico del cómputo de Coliformes

1. Equipo:

- a. Baño maría.
- b. Placas Petri.
- c. Frascos de dilución.
- d. Pipetas estériles de 1,1, 2,2 y 11cc.
- e. Lápiz de cera.
- f. Mechero buncen.
- g. Termómetro.
- h. Frascos para el medio de cultivo.
- i. Autoclave.
- j. Horno.
- k. Incubadora.
- l. Luna de aumento para ver colonias.
- m. Contador mecánico.
- n. Potenciómetro.
- o. Balanza.

2. Reactivos:

- a. Agua tamponada estéril para diluciones.
- b. Agua destilada.
- c. Medio de Cultivo.

3. Medio de Cultivo: AGAR VIOLETA CRISTAL-ROJO NEUTRO-BILIS.

a. Extracto de Levadura	3.0	gm.
b. Peptona	7.0	gm.
c. Bilis	1.5	gm.
d. Lactosa	10.0	gm.
e. Cloruro de sodio	5.0	gm.
f. Rojo neutro	0.03	gm.
g. Violeta Cristal	0.002	gm.
h. Agar	15.0	gm.
i. Agua destilada	1.0	lt.

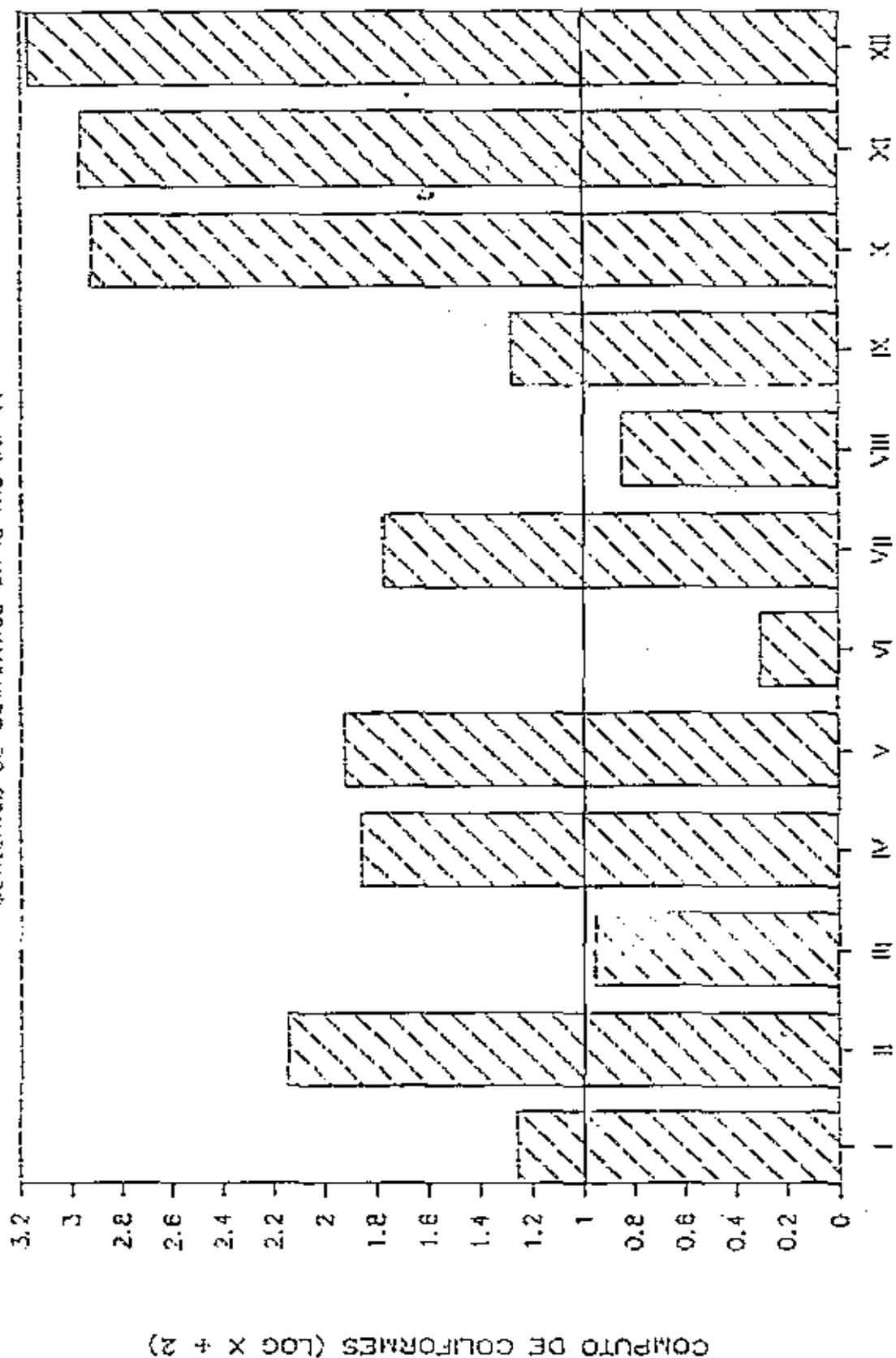
Anexo 13

Preparación del Agua de Dilución

- a. Disolver 3.4 gramos de fosfato monobásico (KH_2PO_4) en 50 cc de agua destilada.
- b. Ajustar el Ph a 7.2 con Hidróxido de Sodio 0.1N.
- c. Completar a 100 cc.
- d. Esterilizar con la tapa suelta a 121°C por 15 minutos y dejar enfriar lentamente.
- e. Usar 1.25 cc de la solución anterior y agregar agua destilada hasta completar 1000 cc, para obtener la solución tamponada.
- f. Colocar aproximadamente 101 cc de la solución tamponada en frascos de dilución.
- g. Esterilizar los frascos con la tapa suelta a 121°C por 15 minutos y dejar enfriar lentamente.
- h. Almacenar en refrigeración hasta ser usados.

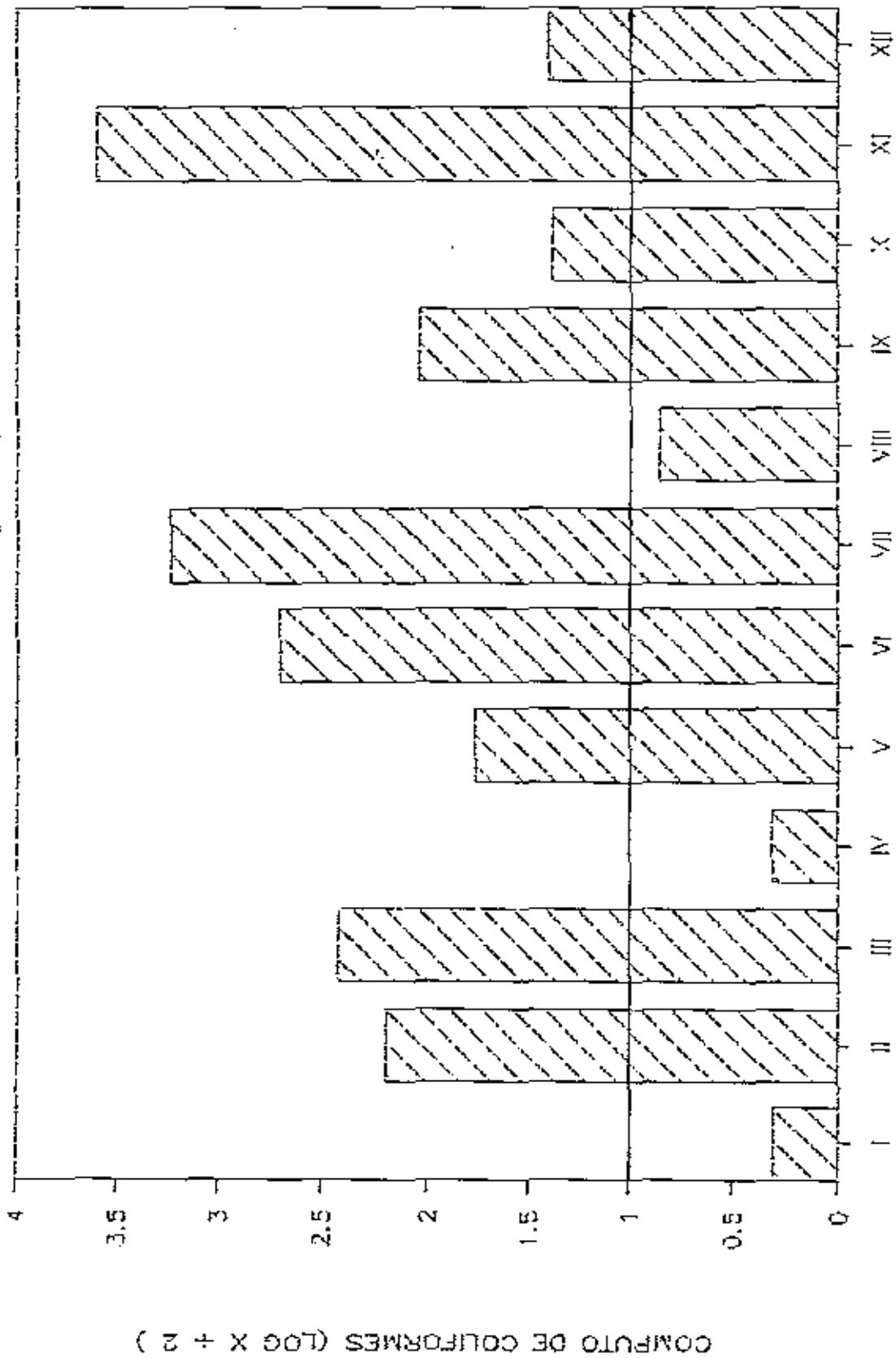
GRAFICA 1.

Contenido de Coliformes en la marca "A"



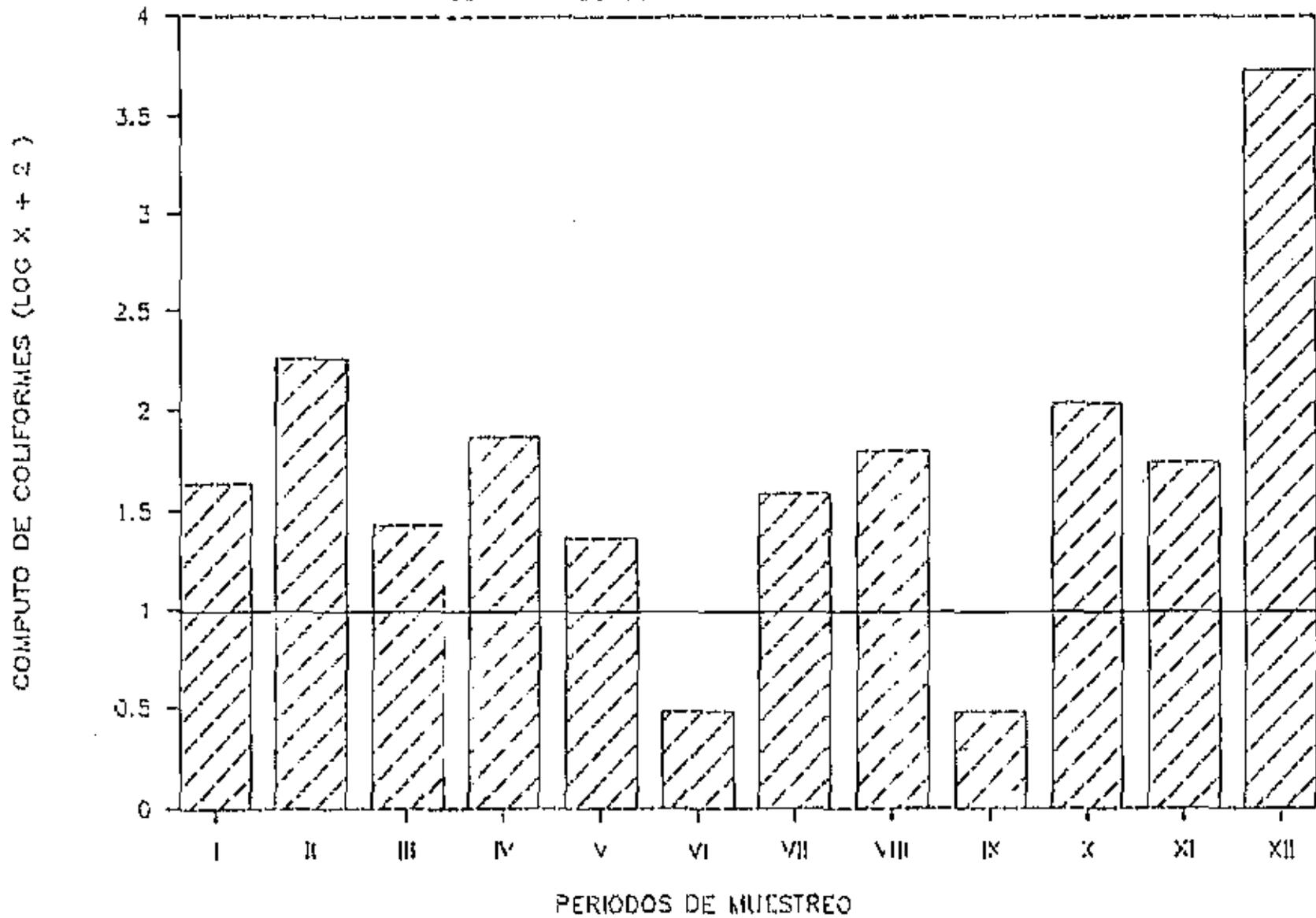
GRAFICA 2.

Contenido de Coliformes en la moraca "B"



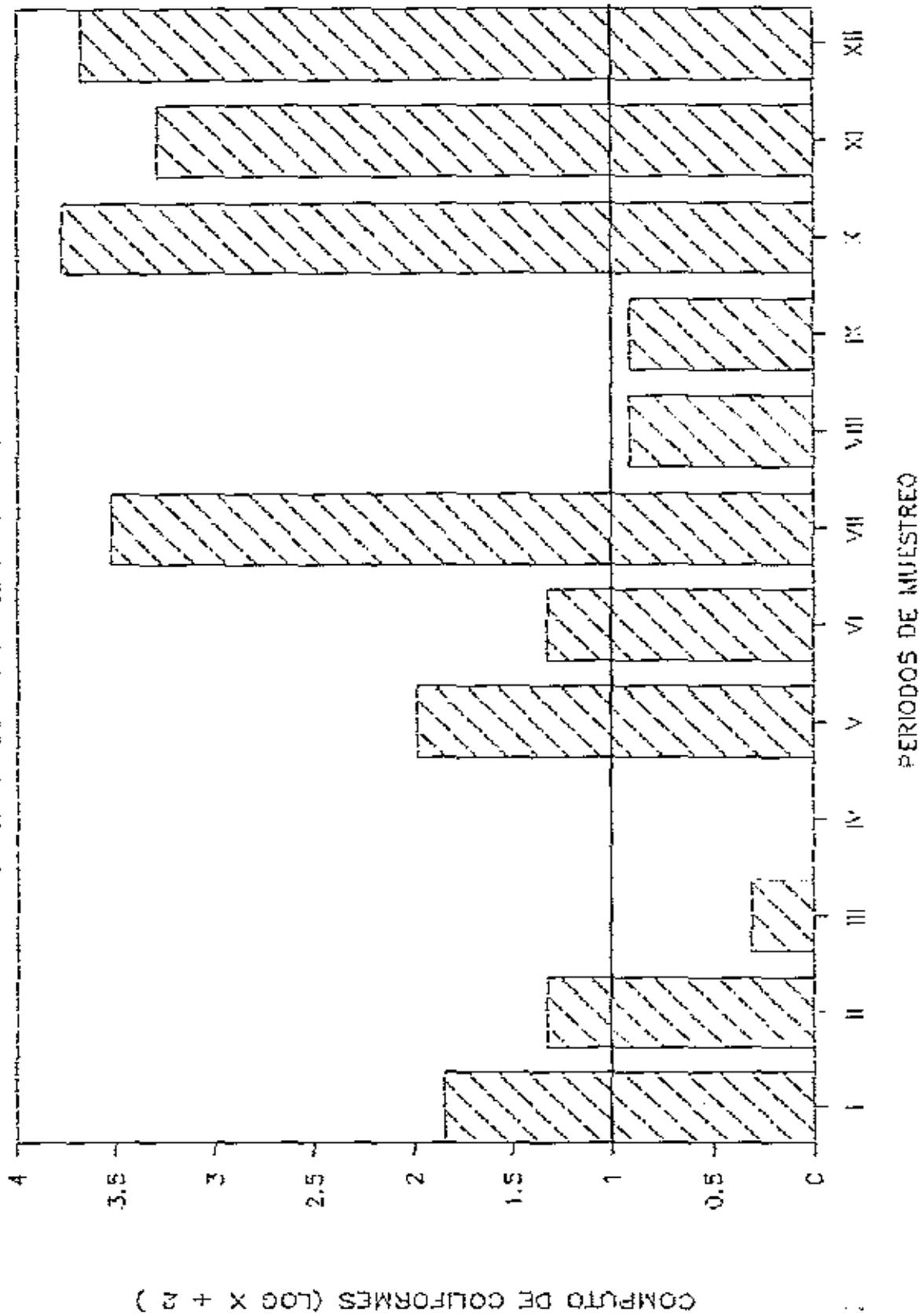
GRAFICA 3.

Contenido de Coliformes en la marca "D"



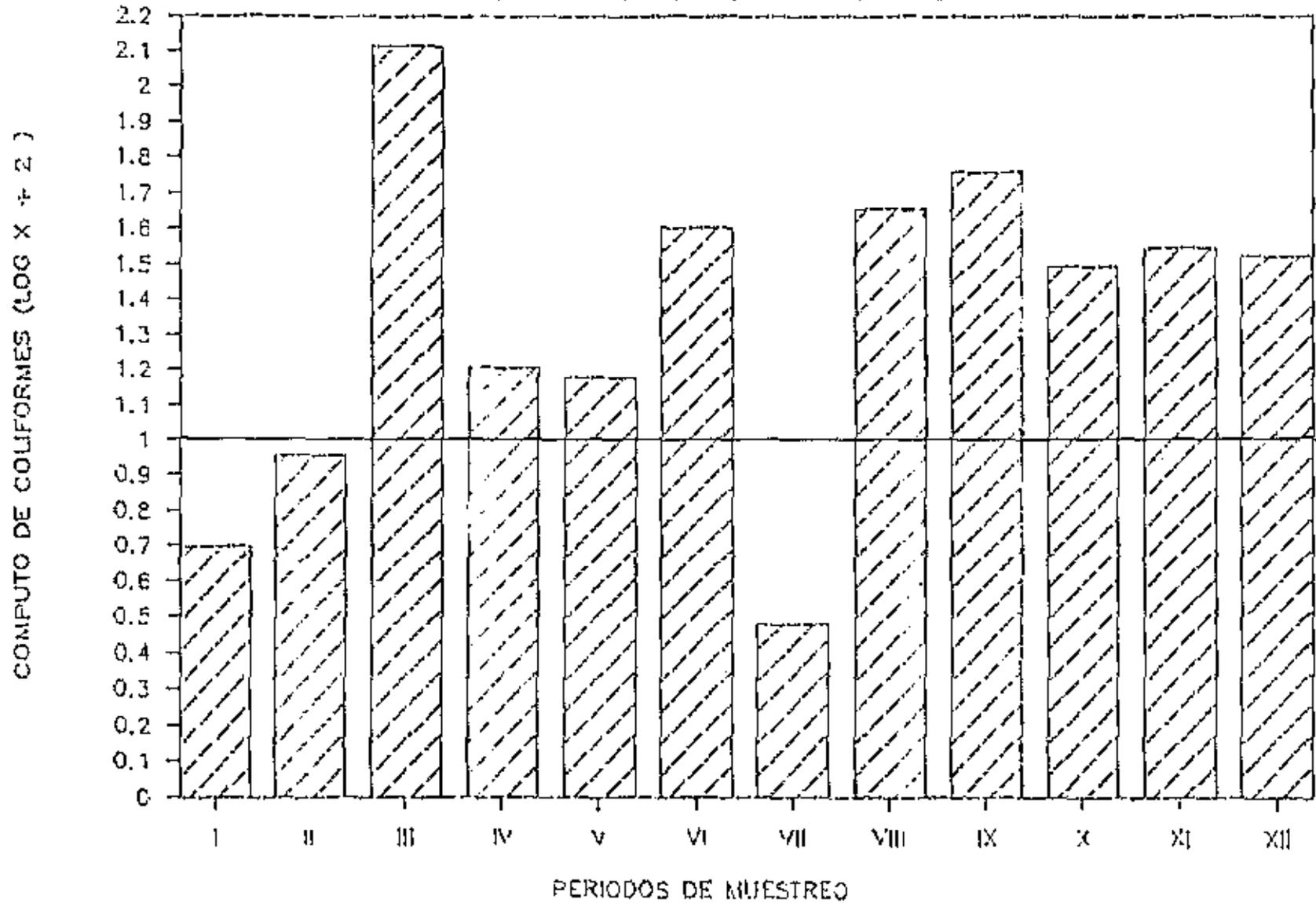
GRAFICA 4.

Contenido de Coliformas en la marca "D"



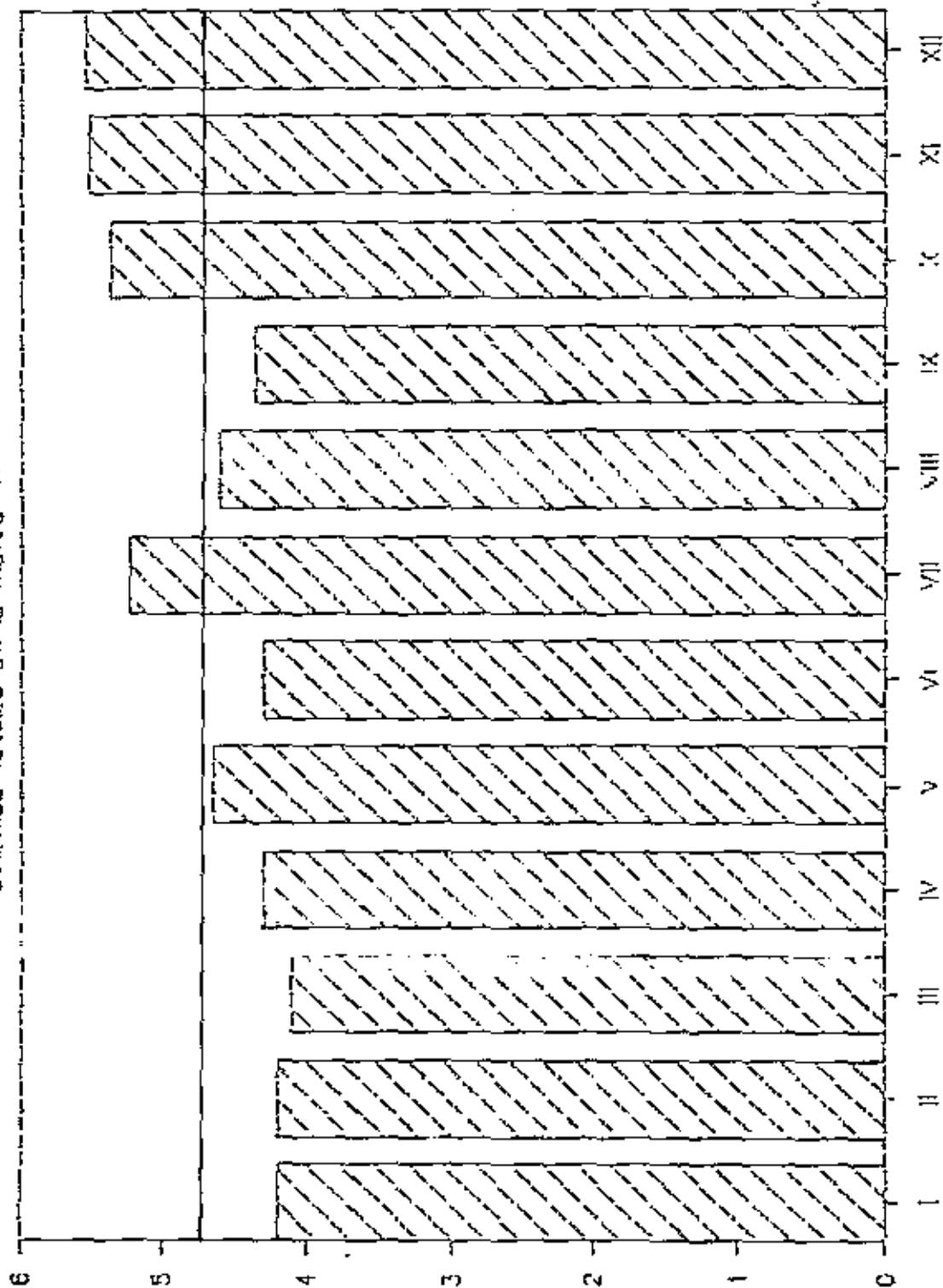
GRAFICA 5.

Contenido de Coliformes en la marca "E"



GRAFICA 6.

Colonias Totales en la marca "A"

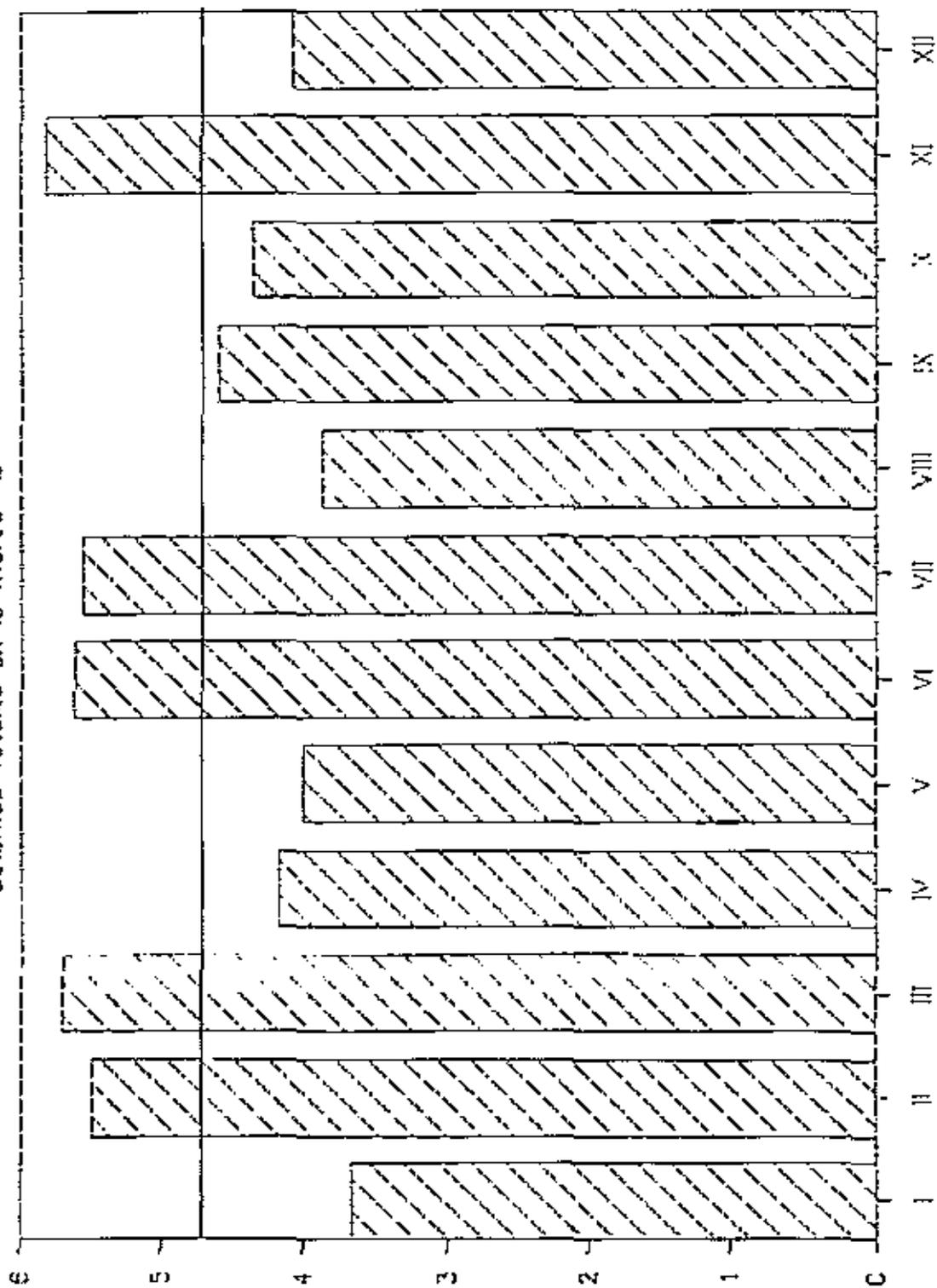


COMPUTO DE COLONIAS TOTALES (LOG X)

PERIODOS DE MUESTREO

GRAFICA 7.

Colonias Totales en la marca 'B'

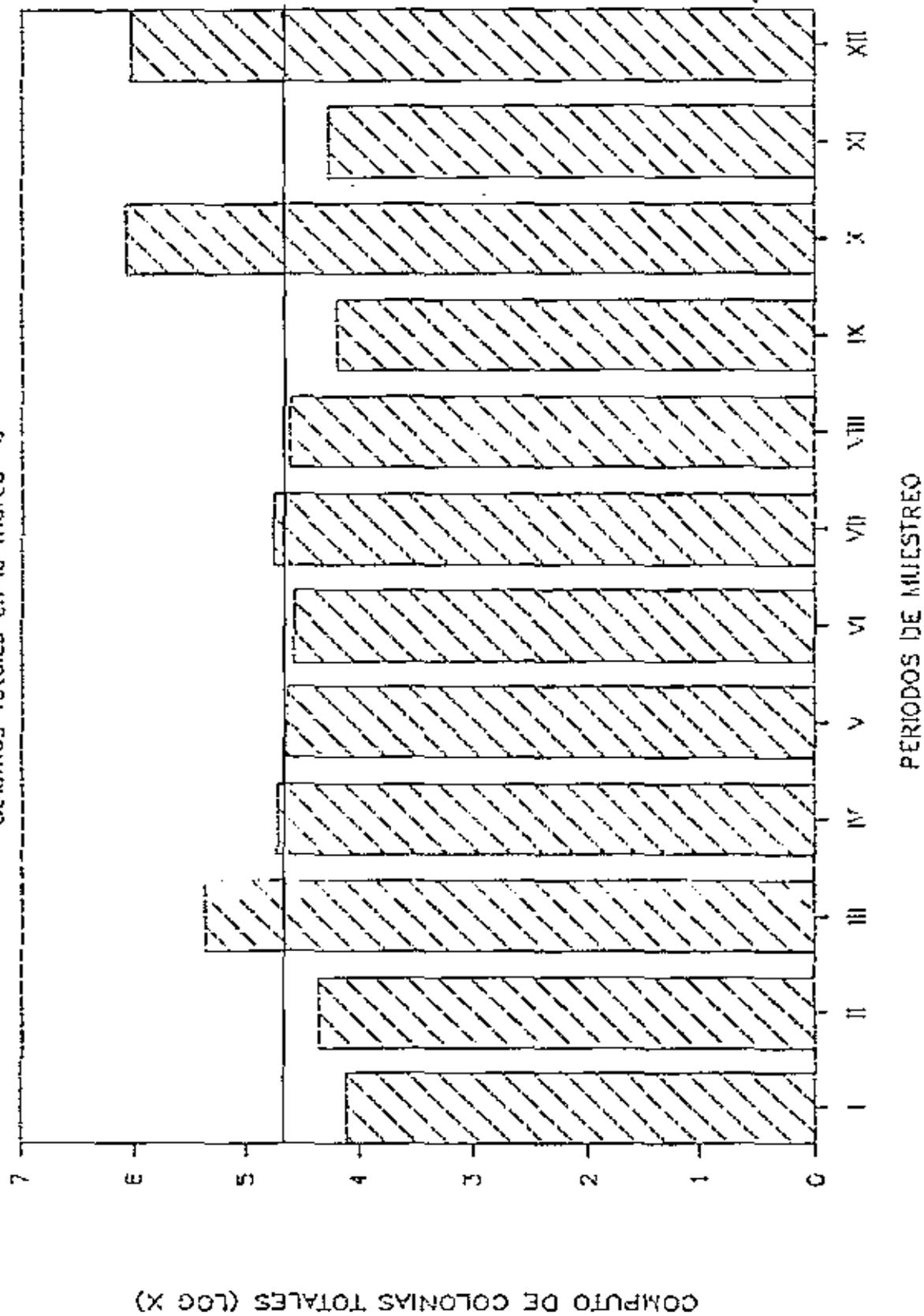


COMPUTO DE COLONIAS TOTALES (LOG X)

PERIODOS DE MUESTREO

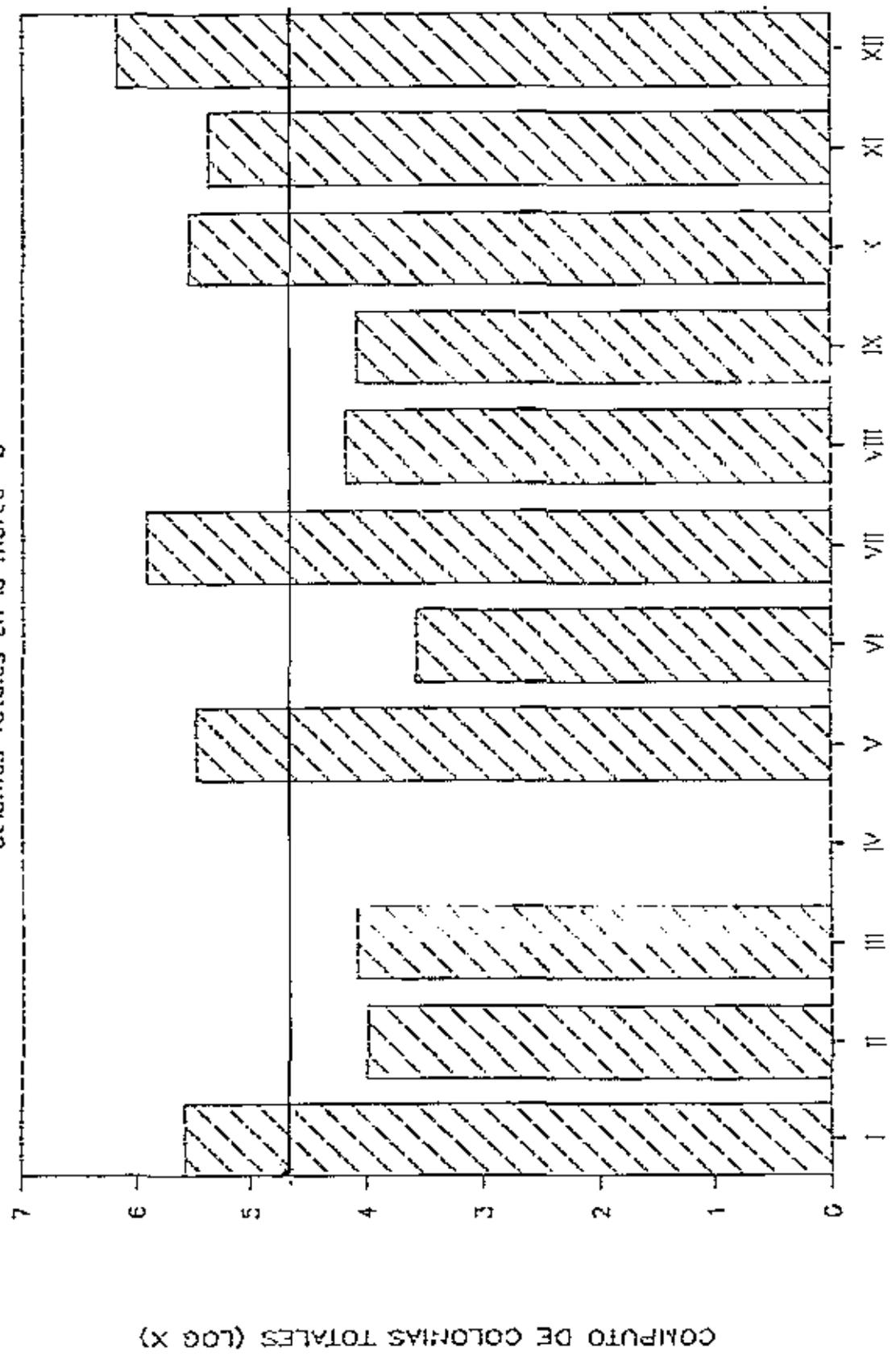
GRAFICA 8.

Colonias Totales en la marca "C"



GRAFICA 9.

Colonias Totales en la marca 'D'



GRAFICA 10.

Colonias Totales en la marca "E"

