

Manual teórico práctico de Microbiología de Alimentos

Marisela Yadira Soto Padilla
María Teresa Arceo Martínez
Héctor Avalos Flores



Índice

Primera edición, 2015.

D.R. © Universidad de la Ciénega
del Estado de Michoacán de Ocampo
Avenida Universidad 3000, Col. Lomas de la Universidad
Sahuayo, Michoacán, CP 59103
Teléfonos. 353-532-0762 / 353-532-0575 / 353-532-0913
<http://www.ucienegam.edu.mx/>

ISBN 978-607-96738-3-3

Arlequín Editorial y Servicios, SA de CV
Morelos 1742, colonia Americana,
CP 44860, Guadalajara, Jalisco.
Tels.: 52 (33) 3657-3786 y 3657-5045

Impreso y hecho en México / Printed and made in Mexico

Prólogo	5
Sección práctica	
Práctica 1: Seguridad en el laboratorio	9
Práctica 2: Transferencia de microorganismos de un medio a otro	15
Práctica 3: Siembra en medios líquidos	19
Práctica 4: Aislamiento bacteriano y morfología colonial	26
Práctica 5: Microscopía y tinción de Gram	32
Práctica 6: Recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA)	39
Práctica 7: Determinación de coliformes totales por cuenta en placa	45
Práctica 8: Identificación de levaduras	51
Sección teórica	
Aspectos generales y microbiología de los principales grupos alimentarios	57
Leche	58
Carne	63

Prólogo

Frutas y hortalizas	69
Aves y huevo	74
Pescado y mariscos	79
Alimentos procesados	84
Agua	90

*Pulcherrimum stella auroram usque diem.
Deoc gratia!*

El presente material es una herramienta que pretende facilitar y complementar el proceso de enseñanza aprendizaje del curso de Microbiología de alimentos. Su objetivo se centra en el estudio de la relación que los microorganismos tienen con los alimentos. Para esto, se sabe que diversos microbios participan directamente en la producción y obtención de alimentos (como ejemplo, en los productos fermentados o la proteína de origen unicelular).

Por otra parte, los microorganismos también participan de manera relevante en el deterioro y la descomposición alimentaria, puesto que algunas de las enfermedades e infecciones comunes (enfermedades transmitidas por alimentos) ocurren debido a la presencia de microorganismos nocivos en los alimentos.

De esta manera, el manual está dirigido a los estudiantes que tendrán un primer acercamiento con el área microbiológica, por lo que se considera relevante el desarrollo de prácticas de laboratorio con las cuales el alumno podrá adquirir la destreza y el conocimiento básico para estudiar algunas de las principales entidades microbianas presentes en los alimentos. Dichas prácticas se localizan en la primera sección del material. Por ello, en el primer capítulo se eligieron algunas de las prácticas básicas que se desempeñan en el laboratorio de Microbiología de los alimentos.

Finalmente, en la segunda sección, se incluye un apartado teórico que recaba de manera general los aspectos básicos de los principales grupos alimentarios con importancia en la salud y nutrición humana, abarcando: composición, proceso de obtención, propiedades nutricionales y demás. Todo esto con el fin de promover aspectos básicos en el desarrollo de cursos posteriores como Tecnología de alimentos y que en algún momento,

con estas bases, se permita lograr el objetivo del perfil de egreso de la trayectoria, el cual es contribuir a abatir el rezago alimentario por medio de procesos biotecnológicos en los alimentos.

Sección práctica



Práctica 1: Seguridad en el laboratorio

Nombre:

Grupo:

Introducción

Normas de seguridad en el laboratorio de microbiología

Todas las personas que trabajan en el área de microbiología deben estar conscientes de los peligros potenciales que algunos géneros pueden representar. Además, es importante conocer las principales técnicas requeridas para manejar microorganismos de una manera segura, tomando en cuenta las normas o medidas de seguridad que deben seguirse en el laboratorio, las cuales se muestran a continuación:

- Entrar al laboratorio en forma ordenada, y dejar los objetos personales en el lugar que se les indique para tal fin.
- Llevar puesta la bata de laboratorio en todo momento; esta debe permanecer completamente cerrada.
- Limpiar y descontaminar las superficies de trabajo, antes de comenzar y al finalizar la sesión práctica.
- Lavarse las manos con agua y jabón antes de realizar las actividades programadas, antes de salir del laboratorio y después de manejar materiales que se sabe o se sospecha que son contaminantes.
- Trabajar sobre la superficie de la mesa y no en otras áreas.
- Mantener el área de trabajo ordenada, limpia y desinfectada, antes, durante y después de realizar sus actividades.
- Llevar calzado apropiado, preferiblemente cerrado y de suela antideslizante en las áreas de laboratorio.
- Evitar accesorios que podrían ser fuente de contaminación (por ejemplo joyas).
- Recoger el cabello largo.

- Evitar desplazamientos innecesarios, movimientos bruscos.
- Evitar hablar mientras se manipulan cajas Petri abiertas, especialmente si se trata de cultivos puros o axénicos.
- No comer, beber, fumar, almacenar comida, objetos personales o utensilios, aplicarse cosméticos ni ponerse o quitarse lentes de contacto en ningún área del laboratorio.
- Conocer el manejo de todos los equipos y reactivos a emplear antes de iniciar las actividades indicadas en la práctica. Si se tiene alguna duda, acudir con el profesor.
- Mantener las mesas de trabajo, libres de cuadernos u objetos personales, excepto aquellos equipos y materiales necesarios para la realización del trabajo práctico.
- Cuando el mechero se encuentre encendido, evitar manipular alcohol cerca de la llama del mechero.
- Regresar los reactivos y equipos empleados (microscopio, mechero, etc.), limpios y de manera ordenada a su respectivo lugar una vez finalizada la actividad e igualmente reportar cualquier daño de los mismos al profesor.
- Colocar los materiales de vidrio empleados en los recipientes dispuestos para tal fin.
- No usar ningún reactivo que no esté debidamente identificado; verificar las etiquetas de los mismos y estar seguro de cómo emplearlo.
- No devolver sustancias a sus envases originales.
- No pipetear con la boca.
- Realizar solamente aquellas actividades indicadas por el profesor, no llevar a cabo experimentos no autorizados.
- Reportar inmediatamente cualquier accidente al profesor (derrame de material, heridas, quemaduras, etc.), ninguno será catalogado como menor.
- Extremar las precauciones cuando se utilice material punzocortante para evitar la inoculación accidental.
- Emplear técnicas asépticas para el manejo de cultivos de microorganismos.

Manejo de desechos

En el laboratorio, todo el material que ya no se utiliza, debe desecharse de forma correcta, ya que en ocasiones, si no se le da un tratamiento adecuado, puede representar un riesgo para las personas o el ambiente. En el caso concreto del laboratorio de microbiología, si se trabaja con microorganismos patógenos como *Salmonella*, los residuos del cultivo o de los experimentos que se realizaron no pueden desecharse simplemente en el bote de basura, ya que esto representa un peligro para las personas que manipulan o tienen contacto con esta basura. Es por ello que la siguiente tabla reúne algunos de los materiales más usuales y su forma de desecharlo correctamente; en caso de otro tipo de desechos que no aparezcan en la tabla, es necesario consultar al profesor o encargado.

Tabla 1. Correcta manipulación de algunos de los tipos de desechos que se pueden generar en un laboratorio de microbiología general.

Desecho	Manejo inicial	Manejo final
Aplicadores: <ul style="list-style-type: none"> • Abate lenguas • Palillos contaminados 	<ul style="list-style-type: none"> • Desinfectar en frasco con Hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos mínimo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Decantar el hipoclorito en el vertedero. • Dejar correr bastante agua. • Desechar los elementos en bolsa roja.
Secreciones: <ul style="list-style-type: none"> • Espujo • Pus • Escamas, pelos, uñas 	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilizar en el Autoclave 121°C por 15 minutos. • Inactivar en Hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Desechar en bolsa roja.
<ul style="list-style-type: none"> • Cuchilla de bisturí contaminada 	<ul style="list-style-type: none"> • Sumergir en Hipoclorito de sodio al 1%, por 30 minutos. • Esterilizar en autoclave. 	<ul style="list-style-type: none"> • Desechar en bolsa roja.
<ul style="list-style-type: none"> • Orina • Materia fecal 	<ul style="list-style-type: none"> • Inactivar en Hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos y colocar en un molde que selle herméticamente. 	<ul style="list-style-type: none"> • Colocar en bolsas de desechos.
<ul style="list-style-type: none"> • Tubos, pipetas y frascos 	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar con solución jabonosa. • Enjuagar

<ul style="list-style-type: none"> Laminas, laminillas 	<ul style="list-style-type: none"> Desinfectar en frasco de boca ancha con Hipoclorito de sodio al 1% por 30 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> Lavar con solución jabonosa. Enjuagar.
Productos biológicos: <ul style="list-style-type: none"> Cultivos vivos Cepas de hongos y bacterias Células, tejidos, proteínas, ADN, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> Esterilizar en autoclave a 121°C por 15-20 minutos. 	<ul style="list-style-type: none"> Inactivarlo con Hipoclorito de sodio al 1%. Desechar en bolsa roja.
Restos alimenticios: <ul style="list-style-type: none"> Líquidos Sólidos 	<ul style="list-style-type: none"> Desecharse en el bote de basura. 	<ul style="list-style-type: none"> Dejar correr bastante agua en el caso de líquidos. Desechar en bolsa de basura.
Elementos de barrera: <ul style="list-style-type: none"> Gorro, guante, cubre bocas. 		<ul style="list-style-type: none"> Desechar en bolsa roja.

Objetivos

- Observar las condiciones y equipos de seguridad en el laboratorio de microbiología de la trayectoria.
- Analizar las medidas de prevención para evitar riesgos potenciales que pueden provocar un accidente de trabajo.
- Comprender la organización general de un laboratorio.

Materiales y equipo

- Medios de cultivo diversos
- Autoclave
- Asa bacteriológica
- Incubadora
- Mecheros Bunsen y Fischer
- Cajas Petri desechables o de vidrio

Procedimiento

1. La práctica se divide en dos tiempos, en el primero se formarán equipos de trabajo en cada una de las mesas y el profesor entregará algu-

nas indicaciones para que se analicen y discutan algunos de los puntos comentados en la introducción.

2. En la segunda parte de la sesión, se tendrá un tiempo para conocer algunos de los instrumentos y equipos que se utilizan con mayor frecuencia en el laboratorio microbiológico.

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

1. ¿Qué tipo de riesgos pueden presentarse en un laboratorio de microbiología? Menciona cinco ejemplos.

2. ¿Cuál de los riesgos consideras el más peligroso y por qué?

3. ¿Cuáles son las claves para la prevención de riesgos? Menciona tres ejemplos.

4. ¿En qué casos es importante el lavado de manos?

5. ¿Qué es lo primero que se debe de hacer antes de trabajar con algún medio de cultivo y por qué?

6. ¿Por qué no se debe pipetear con la boca?

7. ¿Qué se debe realizar en caso de derramar un producto o material que contenga un posible agente infeccioso?



Práctica 2: Transferencia de microorganismos de un medio a otro

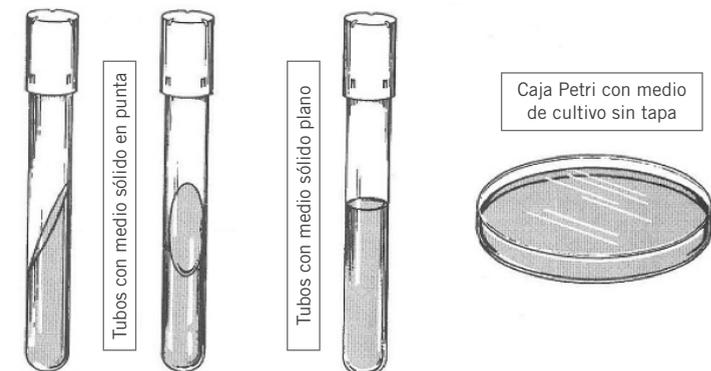
Nombre:

Grupo:

Introducción

Los microorganismos son transferidos de un medio a otro por subcultivo, es decir, mediante la resiembra constante de un medio a otro. Esta técnica es de importancia básica y se utiliza rutinariamente para preparar y mantener cultivos puros y en procedimientos de pruebas microbiológicas. Como los microorganismos están en todos los lugares y en todas las superficies, éstas pueden ser fuente de contaminación externa y podrían interferir con los resultados experimentales a menos que se utilicen las técnicas adecuadas durante el subcultivo. Para lograr esto se utilizan tubos de vidrio y cajas Petri de vidrio o plástico (fig. 1), con medio de cultivo. Los tubos de deben estar provistos de un cierre adecuado, como los tapones de metal o plástico que son de uso común. Las cajas Petri proveen mayor área de cultivo y permiten

Figura 1. Tubos y cajas Petri utilizados para el cultivo de microorganismos



el desarrollo de los microorganismos, facilitando la interpretación de la morfología colonial. Éstas normalmente contienen de 15 a 25 ml de medio, el cual se añade derretido y se deja solidificar antes de su uso. La caja consiste en dos partes, la parte inferior contiene el medio y la superior sirve de tapa.

Luego de ser inoculadas (sembradas con microorganismos), las cajas Petri se incuban en posición invertida, para evitar que la condensación que se forma en la tapa gotee en la superficie del agar solidificado.

Objetivos

- Transferir correctamente un microorganismo cultivado en caja Petri a un tubo con medio de cultivo sólido y viceversa.
- Practicar el manejo adecuado del asa bacteriológica, así como trabajar en área de esterilidad.

Materiales y equipo

Material y utensilios: asa bacteriológica en caja Petri, tubo con medio de cultivo sólido, incubadora, mecheros Bunsen y Fischer.

Material biológico: Cultivo bacteriano no patógeno

Procedimiento

1. El asa bacteriológica debe ser esterilizada manteniéndola en la porción más caliente de la llama de un mechero (la parte azul interna) hasta que se torna “al rojo vivo”, esto es cuando luce incandescente. Luego, la parte superior se pasa rápidamente por la flama. El asa se mantiene en la mano sin tocar superficies, y se deja enfriar por 10 a 20 segundos. En la otra mano se mantiene el tubo que será inoculado.
2. Se remueve la tapa del tubo con los dedos meñique y anular de la mano que sostiene el asa y el cuello del tubo se pasa suavemente por la llama del mechero; el asa se flamea de nuevo y se deja enfriar.
3. Se toma una muestra del inóculo de la caja Petri, tocando suavemente con el asa la superficie del medio en una parte que muestre crecimiento, sin penetrar en el medio.

4. El asa, llena de células, se introduce en el tubo que contiene medio de cultivo y se pasa suavemente por la superficie en línea recta o zig-zag.
5. Luego de la inoculación, se flamea de nuevo la boca del tubo y se le coloca de nuevo la tapa.
6. El asa bacteriológica es flameada de nuevo para destruir organismos restantes.
7. Este procedimiento se puede seguir de la misma manera para realizar una inoculación de tubo a caja. Es importante recordar que durante todo el proceso, ni el asa ni los tubos o cajas Petri deben salir del área de esterilidad proporcionada por los mecheros.
8. Ya sean tubos o cajas inoculados, se incuban en una estufa a 37°C durante 24 horas para verificar crecimiento microbiano.

Resultados

Observaciones

Conclusiones

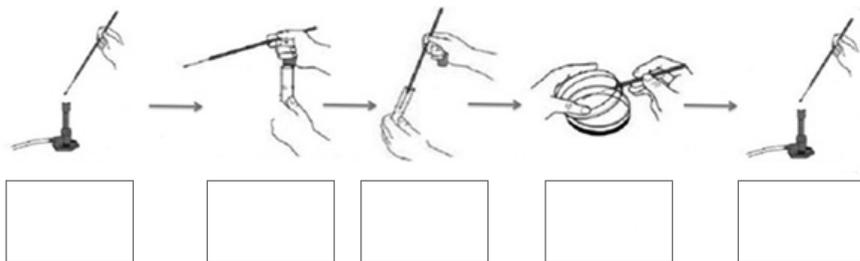
Cuestionario

1. ¿Cuál es la relevancia de tomar el inóculo microbiano dentro de una atmósfera estéril?

2. ¿Por qué es importante utilizar guantes y manejar adecuadamente la caja Petri?

3. Explica con tus palabras el cual es la finalidad de estriar un cultivo en la caja Petri.

4. Observa la figura 2 que aparece a continuación y completa los cuadros con los pasos que hagan falta en la técnica de siembra de un microorganismo.



Práctica 3: Siembra en medios líquidos

Nombre: _____ Grupo: _____

Introducción

En los laboratorios de microbiología se pueden encontrar medios de cultivo líquidos y sólidos. La principal diferencia entre un medio de cultivo sólido y uno líquido es que el medio de cultivo sólido contiene entre un 1.5 y un 2 % de agar, mientras que el medio líquido no contiene agar, por ello comúnmente son llamados caldos (tabla 2); los medios de cultivo semisólidos (como el Agar de Hugh-Leiffson) contienen el agente solidificante en menor concentración que los medios sólidos.

Los medios de cultivo son mezclas preparadas a base de sustancias que satisfagan los requisitos nutritivos de los microorganismos; a grandes rasgos, se dividen en sintéticos, que son aquellos que tienen ingredientes de una composición perfectamente definida (sales, azúcares, aminoácidos, etc.) cuya estructura química está claramente determinada, y los no sintéticos, que incluyen compuestos de origen natural (peptonas, extractos de carne, de levadura, de malta, etc.). Al preparar medios para probar la actividad de los gérmenes, se procura que estén bien balanceados, o sea, que incluyan sustancias que posean carbono y nitrógeno asimilables, sales minerales, vitaminas y otros factores de crecimiento necesarios en cada caso con el objetivo de obtener un elevado número de microorganismos.

Se emplean fundamentalmente para cultivar los microorganismos y obtener grandes cantidades de los mismos o bien, para la producción de metabolitos específicos.

Existen medios selectivos cuya diferencia a un medio normal radica en que tienen componentes que estimulan y promueven la selección de algún o algunos microorganismos e impiden que otros se multipliquen, aunque para identificar correctamente al microorganismo se deben realizar prue-

bas bioquímicas y en casos muy estrictos, pruebas de ADN, también conocidas como pruebas de identificación molecular.

Cada medio de cultivo posee una ficha técnica en la cual se explica la forma de prepararlo, los componentes que lo formulan, su uso y una guía para interpretar los resultados en base a la apariencia general del medio después de la inoculación. Esta información resulta sumamente útil, por lo cual en la tabla 3 se ilustra un ejemplo de una ficha técnica de un medio de cultivo líquido.

Tabla 2. Ejemplos de medio de cultivo líquidos

Caldo	Uso
Caldo selenito	Enriquecimiento selectivo de <i>Salmonella</i> .
Agua de peptona	Medio de recuperación no selectivo.
Caldo nutritivo	Enriquecimiento de la mayoría de microorganismos.
Caldo Rappaport-Vassiliadis	Enriquecimiento selectivo de <i>Salmonella</i> .
Caldo de tioglicolato	Crecimiento de anaerobios estrictos.
Caldo lactosado	Identificación de coliformes en agua y leche.

Tabla 3. Ejemplos de la ficha técnica de un medio de cultivo líquido

Caldo Rappaport-Vassiliadis

Es un medio líquido para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* a partir de carne vacuna y productos lácteos, heces y agua contaminada.

Principios y explicación del procedimiento

Rappaport formuló un medio de enriquecimiento para *Salmonella*, que fue modificado por Vassiliadis. La modificación de Vassiliadis presentaba un menor nivel de verde malaquita y recomendaba la incubación a 43 °C. La labor posterior de Peterz demostró que la incubación a 41,5 ± 0,5 °C durante 24 h mejoraba la recuperación de *Salmonella*. El caldo Rappaport-Vassiliadis es un medio de enriquecimiento selectivo utilizado después de un enriquecimiento previo adecuado. Su uso se ha aprobado para el análisis

de leche y productos lácteos, productos con carne vacuna cruda, alimentos con alto nivel de contaminación y alimentos para animales. En el caldo Rappaport-Vassiliadis, la triptona es una fuente de carbono y nitrógeno para los requisitos generales de crecimiento. El verde malaquita inhibe los organismos diferentes de *Salmonella*. El pH bajo del medio (5,1 ± 0,2), combinado con la presencia de verde malaquita y la alta concentración de cloruro de magnesio, que incrementa la presión osmótica, tiene carácter selectivo para *Salmonella* spp.

Fórmula

Caldo	Uso
Triptona	4,54 g
Cloruro sódico	7,2 g
Fosfato monopotásico	1,45 g
Cloruro de magnesio, anhidro	13,4 g
Verde de malaquita	0,036 g

pH 5,1 ± 0,2

Fórmula ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento por litro de agua purificada

Resultados de crecimiento

Después de la incubación, se puede detectar crecimiento por el aspecto lechoso del medio o por la turbidez. Dado que un medio transparente no siempre es un resultado negativo de crecimiento bacteriano, se debe realizar siempre un cultivo en medios sólidos. Las colonias presuntivas obtenidas en medios sólidos deben someterse a pruebas bioquímicas y serológicas adicionales para su identificación.

Cepa de prueba	Turbidez	Resultados de crecimiento en Agar Verde Brillante (subcultivo)
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Fuerte	De bueno a excelente
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Fuerte	De bueno a excelente
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	De nulo a escaso	Inhibición parcial (a completa)
Sin inocular	Azul, transparente	

Objetivos

- Aprender cómo se cultiva en medios líquidos, de tubo a tubo con medio líquido.
- Aprender cómo se cultiva en medios líquidos, de tubo a tubo con medio sólido en pico de flauta.

Materiales y equipo

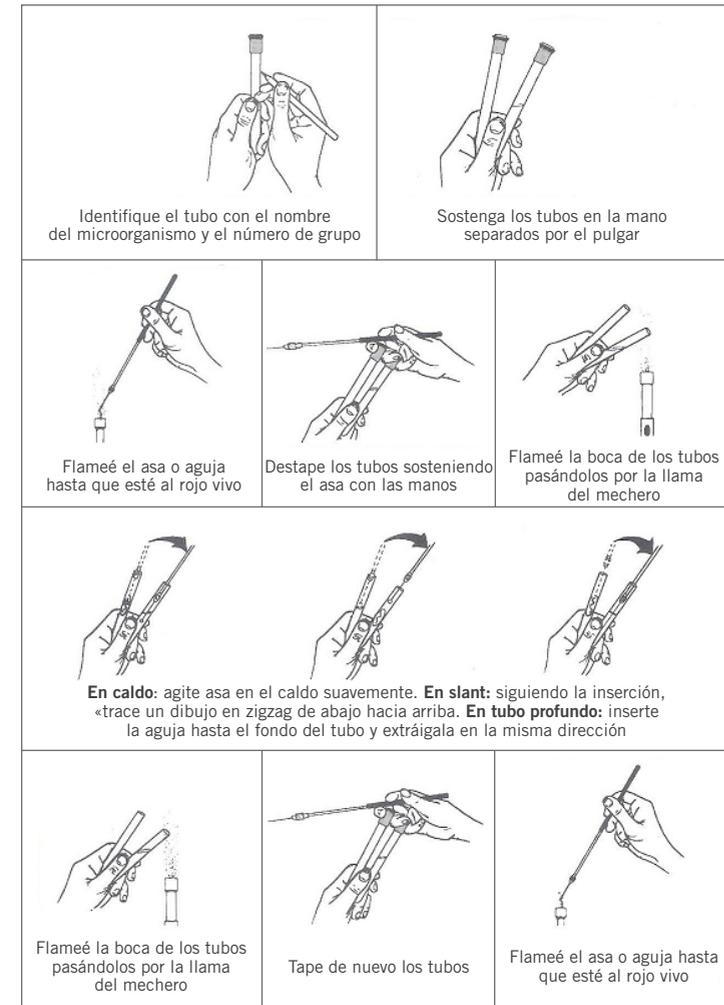
Tubos con caldo nutritivo, tubos con medio de cultivo en pico de flauta, asa bacteriológica, incubadora, mecheros Bunsen y Fischer

Procedimiento

1. El asa bacteriológica debe ser esterilizada manteniéndola en la porción más caliente de la llama de un mechero (la parte azul interna) hasta que se torne roja. Luego la parte superior se pasa rápidamente por la flama. El asa se mantiene en la mano, sin tocar superficies, y se deja enfriar de 10 a 20 segundos. En la mano se sostienen el tubo con cultivo y el tubo que será inoculado, asegurados con el pulgar. Los dos tubos se separan para formar una V en la mano (fig. 3).
2. Se remueven las tapas de los tubos con los dedos meñique y anular de la mano que sostiene el asa. Se sostienen en la mano mientras dure el procedimiento, sin colocarlos en la mesa, para no comprometer el procedimiento estéril. Los cuellos de los tubos se pasan suavemente por la llama del mechero y el inoculador se enfría tocando la superficie interna del tubo de cultivo antes de remover parte del inóculo.
3. Se toma una muestra del inóculo tocando suavemente la superficie del medio en una parte que muestre crecimiento, sin penetrar en el medio con el asa.
4. El asa, llena de células, se introduce en el medio líquido y se agita ligeramente. En un medio sólido, el asa bacteriológica se pasa suavemente por la superficie en línea recta o zig-zag.
5. Luego de la inoculación, se extrae el instrumento, se flamean de nuevo las bocas de los tubos y se les coloca la misma tapa a cada tubo.

6. El asa bacteriológica es flameada de nuevo para destruir organismos restantes. El diagrama mostrado abajo ilustra el proceso completo.

Figura 3. Técnica de siembra en tubos con medio de cultivo líquido



Resultados

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

- 1.** Menciona qué medios se utilizaron durante la siembra y con qué microorganismo se trabajó.

- 2.** ¿Por qué crees tú que el asa se necesita dejar enfriar aproximadamente de 10-20 segundos, antes de tomar el inóculo microbiano?

- 3.** ¿A partir de qué principio físico se adhiere la suspensión de microorganismos y en qué parte del asa ocurre esto?

- 4.** Una vez que se toma el inóculo, ¿por qué crees tú que es importante mantener el asa dentro del ambiente de esterilidad?

- 5.** ¿Qué función tiene el dejar no tan cerrada la tapa del medio en donde se sembró?

- 6.** ¿Qué condiciones de cultivo se utilizaron para esta práctica?



Práctica 4: Aislamiento bacteriano y morfología colonial

Nombre: _____

Grupo: _____

Introducción

Técnica de siembra por estría

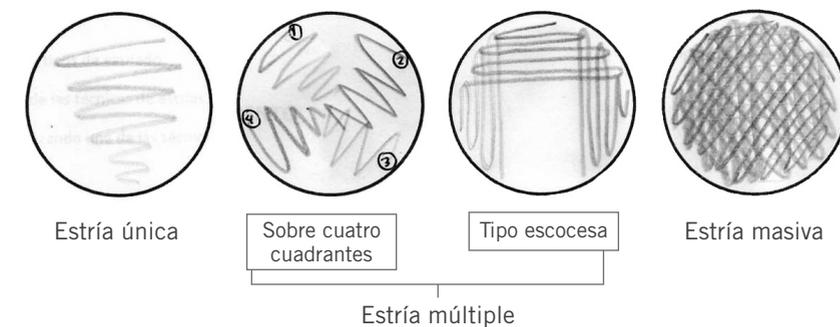
En la naturaleza, los microorganismos se encuentran formando poblaciones mixtas con otros tipos de microorganismos. El aislamiento bacteriano consiste en obtener colonias separadas y así poder obtener una presunta identificación del tipo de microorganismo presente en la muestra para posteriores análisis bioquímicos o moleculares. El método más usual es la siembra por estría sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una caja Petri. Para ello se toma una pequeña cantidad de muestra con un asa de platino y se reparte sobre la superficie del medio de cultivo. Sobre el medio quedan separadas e inmovilizadas las células bacterianas. Existen diferentes tipos de estriado, los cuales van acorde al objetivo de la siembra. Entre los más usuales se tienen los siguientes.

- **Estría única:** la siembra se realiza en forma de zig-zag para descargar la muestra del asa. Es importante no volver a repasar el medio de cultivo que ya se ha sembrado para conseguir que al final de la estría se obtengan colonias aisladas; asimismo, es importante que la estría se vaya separando conforme se avanza a lo largo de la caja Petri y que la cantidad de muestra tomada en el asa sea la adecuada.
- **Estría múltiple:** en esta técnica de aislamiento por agotamiento se realizan varias estrías. Esto se puede llevar a cabo flameando de estría en estría, o sin flamear el asa. Además, dependiendo de la forma en la que se hagan las estrías, existen varios tipos de estriados:
 - **Estriado sobre cuatro cuadrantes:** se utiliza cuando se pretende conservar algún microorganismo de interés. Consiste en sembrar

uno a uno los cuadrantes, sin flamear el asa entre estría y estría, de tal forma que en el cuarto cuadrante, al ir agotando la muestra del asa, se tengan los microorganismos aislados (fig. 4).

- **Estría escocesa:** consiste en realizar un primer estriado en uno de los extremos de la placa, esterilizar el asa, girar un poco la placa y realizar otro estriado introduciendo el asa en el primer estriado para ir arrastrando la muestra y volver a repetir esta operación con un tercer estriado (fig. 4).
- **Estría masiva:** con este procedimiento se efectúan pruebas como el antibiograma y otras pruebas de susceptibilidad microbiana (fig. 4).

Figura 4. Tipos de formación de estrías usadas en microbiología



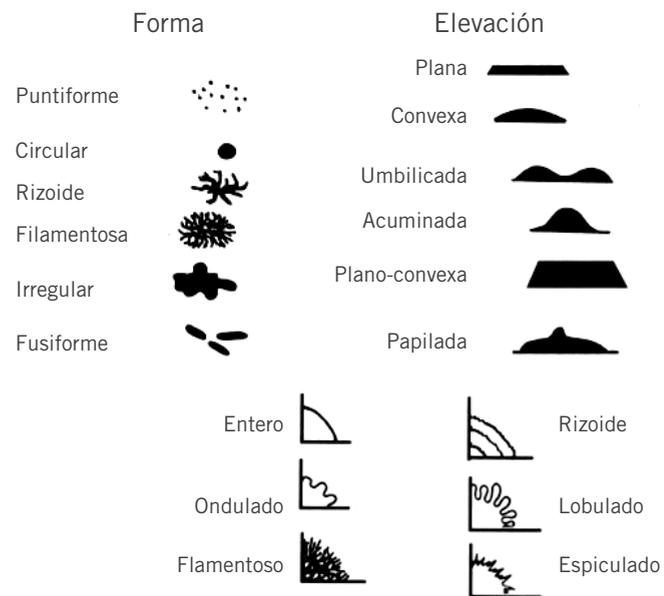
Morfología colonial

Tras el período de incubación estimado en el medio de cultivo adecuado donde se ha realizado la siembra, deberán aparecer pequeñas masas visibles a simple vista que han sido formadas por la multiplicación en ese punto de una célula bacteriana. La reproducción de esa bacteria en ese punto del medio sólido origina lo que se conoce como colonia de bacterias. Estas colonias presentarán una morfología macroscópica fácilmente reconocible y variable; un mismo microorganismo puede dar lugar a distintos tipos de colonias según el tipo de medio de cultivo e igualmente distintos tipos bacterianos pueden crecer formando colonias similares. El tamaño y el aspecto de cada colonia pueden presentar algunas características pa-

ra determinados géneros bacterianos, lo cual se puede tomar como ventaja selectiva. Para esto se deben considerar los siguientes aspectos (fig. 5):

- Tamaño de la colonia
- Forma de la colonia
- Superficie de la colonia
- Consistencia de la colonia

Figura 5. Estudio macroscópico de colonias. Forma, elevación y borde.



Tomado de Adams y Moos (1997) Ed. Acribia, Zaragoza, España.

Objetivos

- Aprender a realizar los diferentes tipos de estriado.
- Aislar colonias bacterianas utilizando una de las técnicas de estriado.

Materiales y equipo

Material y utensilios: cajas Petri, mechero Fisher, lámpara de alcohol, medios de cultivo: agar nutritivo, Mc Conkey o agar EMB (Eosina azul de metileno), asa bacteriológica, incubadora a 37°C, lupa.

Material biológico: Cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Procedimiento

1. Esterilizar el asa bacteriológica utilizando la flama del mechero o la lámpara de alcohol. El asa se posiciona verticalmente.
2. Dentro del área de esterilidad y con la punta del asa, tomar una colonia bacteriana.
3. Poner la punta del asa sobre el agar, y con cuidado de no romperlo, realizar un recorrido en zig-zag, procurando terminar con una línea delgada. Después de realizar el zig-zag (estriado) se flamea el asa.
4. Una vez logrado lo anterior, cerrar la caja Petri e incubar a 37°C.
5. Practicar este tipo de maniobra con las otras cajas. Se considera que el procedimiento anteriormente citado, constituye el movimiento básico con el cual se pueden conseguir las otras técnicas de estriado.

Resultados

Características de las colonias

Agar McConkey

Se logró aislar una colonia bacteriana:

- Color o transparencia:
- Tamaño:
- Consistencia:
- Elevación:
- Bordes:
- Forma:

Agar nutritivo

Se logró aislar una colonia bacteriana:

- Color o transparencia:
- Tamaño:
- Consistencia:
- Elevación:
- Bordes:
- Forma:

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

2. Investiga y menciona otras técnicas de siembra en medio de cultivo sólido.

3. Describe la importancia de conocer la morfología colonial en un cultivo.

4. ¿Cuáles son los agentes selectivos del agar McConkey?

5. Investiga cómo se deben de ver las colonias de *Escherichia coli* en los medios EMB y McConkey. Explica a qué se debe el brillo metálico de las colonias de *Escherichia coli* en EMB.



Práctica 5: Microscopía y tinción de Gram

Nombre: _____

Grupo: _____

Introducción

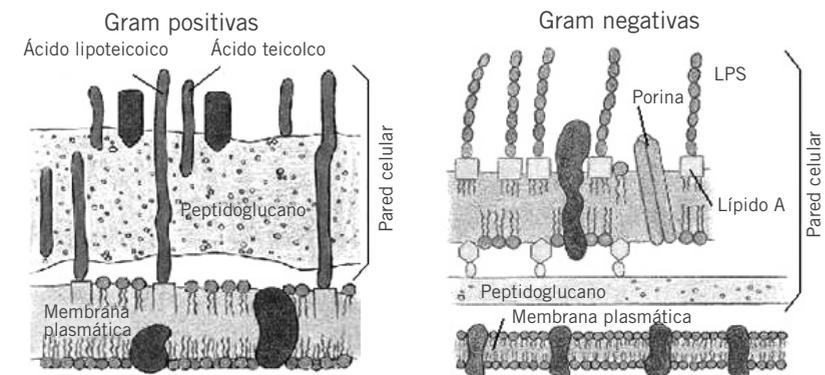
La tinción de Gram fue desarrollada en 1884 por el bacteriólogo danés Hans Christian Gram. Es una técnica diferencial para distinguir entre dos tipos de bacterias con diferencias fundamentales en su estructura celular. En base a estas diferencias, la tinción de Gram se fundamenta en lo siguiente: ambos tipos de bacterias se tiñen con el colorante cristal violeta al actuar sobre el peptidoglicano (glucoproteína) de la pared. Los colorantes actúan al reaccionar químicamente con la célula, debido a la presencia de aniones (moléculas con carga negativa) o cationes (moléculas con carga positiva). El colorante entra al microorganismo, donde forma con el yodo una laca insoluble en agua. En este primer grupo (Gram positivas) el yodo no es permeable por lo que se acumula dentro de la célula, formando una capa resistente a la decoloración. Los componentes de la membrana externa de las Gram negativas son solubles en solventes orgánicos como el alcohol y la acetona, por lo que al aplicarse, el complejo violeta-yodo se escapa, al ser su capa de peptidoglicano muy delgada como para retenerlo. Esto hace que pierda la coloración azulada. Al contrario, las Gram positivas al poseer una capa de peptidoglicano más gruesa, son menos susceptibles a los solventes por lo que se retiene el cristal violeta, al deshidratar éste los poros, lo cual provoca que se cierren manteniendo el colorante y con ello la coloración violeta. Para teñir a las Gram negativas se puede utilizar un colorante de contraste sin decoloración subsecuente. Por lo tanto, las Gram positivas se tiñen de un color azul-violeta, mientras que las Gram negativas se tiñen de un color rosado, al utilizarse safranina como colorante de contraste. La utilidad de la tinción de Gram es amplia al fungir como prueba preliminar

para la identificación básica entre diversas bacterias. Al tener esta noción, se pueden deducir algunas características de dicha bacteria.

Las diferencias en la composición de las paredes de las células Gram positivas radican en que contienen una gruesa capa de peptidoglicano con numerosos enlaces cruzados de ácido teicoico, y las paredes de las células Gram negativas la capa de peptidoglicano es más delgada (fig. 6). El peptidoglicano se polimeriza una gran cantidad de veces, de manera que se forma una malla llamada sáculo de mureína. Las bacterias Gram positivas pueden tener una red de mureína de hasta 40 capas, mientras que en las bacterias Gram negativas se presenta una única capa.

La pared de bacterias Gram negativas presentan una capa externa (a veces llamada membrana externa) de lipopolisacáridos (LPS) conformada por lípidos y carbohidratos. En el lado interno se ubica una lipoproteína. Algunas de esas proteínas, llamadas porinas, sirven de canales para entrada y salida de sustancias.

Figura 6. Membranas y pared celular de Gram positivas y negativas



Objetivos

- Comprender el fundamento de la tinción de Gram y el mecanismo de acción de los colorantes.
- Observar las diferencias que existen entre una muestra de bacteria Gram positiva y una Gram negativa.
- Desarrollar el procedimiento de tinción de una muestra de cultivo.

Materiales y equipo

Material y utensilios: lámpara de alcohol, asa bacteriológica, microscopio óptico, portaobjetos libres de grasa, cristal violeta, yodo, alcohol, safranina.

Material biológico: Muestra de cultivo microbiano.

Procedimiento

Fijación con calor

1. Tener acceso a los siguientes materiales en la mesa de trabajo: Asa bacteriológica, lámpara de alcohol, portaobjetos, marcador.
2. Utilizando el marcador, dividir el portaobjetos en 3 partes iguales. La división que se hace utiliza 2 líneas verticales. Luego, se rotula el portaobjetos según lo indicado en la figura 7.
3. Tomar una asada de la muestra de alimento. Para ello se introduce la punta del asa en la muestra y se agita por unos 4 segundos, luego se saca del alimento.
4. En caso de partir de un medio de cultivo con desarrollo microbiano, obsérvese el procedimiento descrito en la figura 8.
5. Depositar la muestra en la parte central del portaobjetos, realizando movimientos circulares de adentro hacia afuera, abarcando sólo la parte central del portaobjetos.
6. Dejar secar la muestra a temperatura ambiente.
7. Una vez que la muestra se ha secado, se pasa el portaobjetos hacia la flama de la lámpara de alcohol, a una distancia aproximada de 10 cm por arriba de la punta de la flama. Este movimiento se realiza unos segundos solamente.
8. El portaobjetos no debe de quedar tan caliente. La prueba que se hace para valorar este punto consiste en poner el portaobjetos en el dorso de la mano, se debe de sentir que el vidrio no quema la piel.

Tinción de Gram

9. Sobre la muestra, se adicionan 2 gotas de cristal violeta y se dejan así por un minuto (fig. 9).

Figura 7. Membranas y pared celular de Gram positivas y negativas. Se observan las diferencias que fundamentan la tinción de Gram

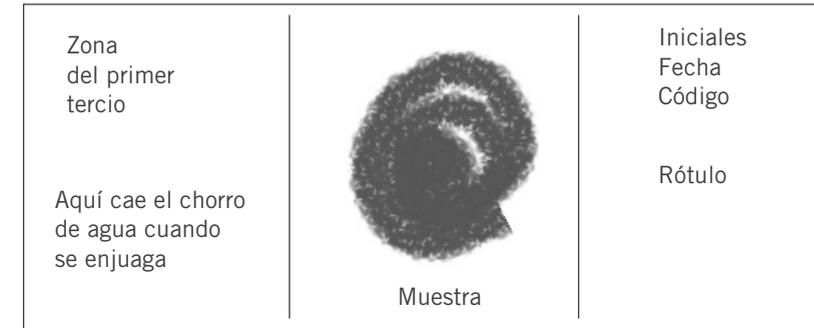
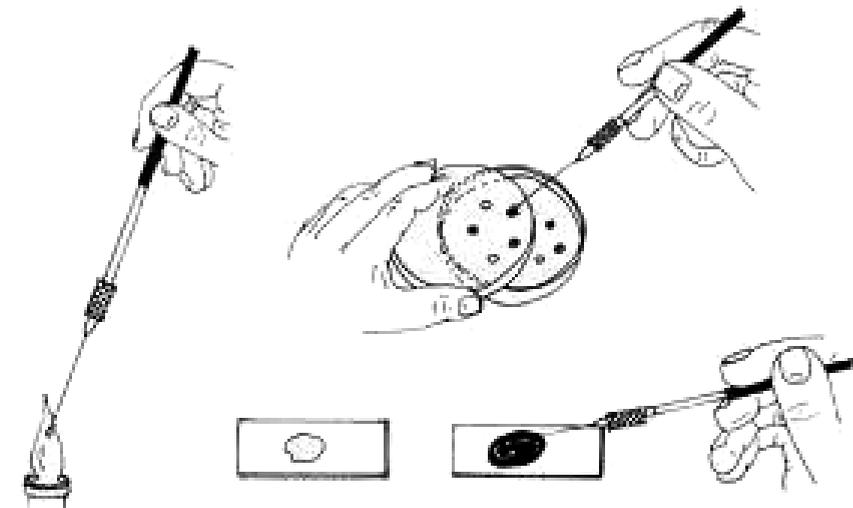


Figura 8. Procedimiento de preparación de muestra proveniente de una caja de cultivo, previo a la fijación con calor



Paso 1: Esterilizar la punta del asa en la flama del mechero. Paso 2: Tomar una colonia del cultivo. Paso 3: Extender la colonia en una gota de agua destilada utilizando movimientos circulares.

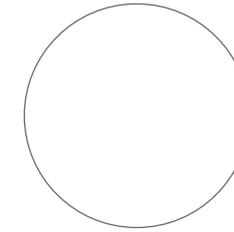
Figura 9. Procedimiento general de la tinción de Gram



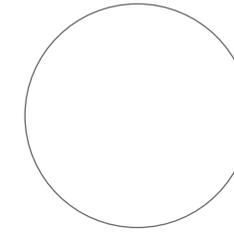
10. Enjuagar con agua destilada. El enjuague se realiza aplicando un chorro ligero de agua sobre el primer tercio del portaobjetos. Nunca directamente sobre la muestra. Se enjuaga hasta que se retira el exceso de cristal violeta (ver zona del primer tercio en la fig. 7). Escurrir los restos de agua.
11. Aplicar 2 gotas de yodo sobre la muestra y dejar así por un minuto (fig. 9).
12. Enjuagar con agua destilada. El enjuague se realiza aplicando un chorro ligero de agua sobre el primer tercio del portaobjetos. Nunca directamente sobre la muestra. Se enjuaga hasta que se retira el exceso de yodo. Escurrir agitando el portaobjetos.
13. Decolorar con alcohol (aplicar gota a gota), por espacio de 10 segundos o hasta que la muestra se torne cristalina (fig. 9).
14. Enjuagar con agua destilada.
15. Aplicar 2 gotas de safranina de Gram y dejar así por un minuto (fig. 9).
16. Enjuagar con agua destilada. El enjuague se realiza aplicando un chorro ligero de agua sobre el primer tercio del portaobjetos. Se enjuaga hasta que se retira el exceso de safranina.
17. Dejar secar completamente.
18. Enfocar y observar en el objetivo X10 y X40 del microscopio.

Resultados

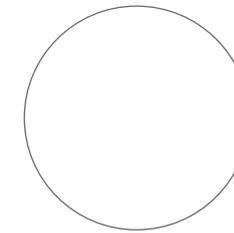
Dibuja las estructuras observadas en los siguientes espacios:



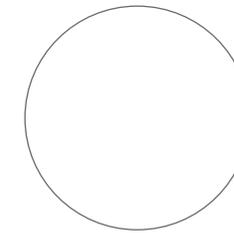
Tinción x10



Tinción x40



Tinción x10



Tinción x40

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

1. ¿Qué significado tiene la palabra *mordiente* y cuál es el mordiente que se utiliza en la tinción de Gram?

2. ¿Qué colorantes pueden reemplazar al cristal violeta en la tinción?

3. ¿Qué utilidad tiene el proceso de fijación como paso previo a la tinción de Gram?

4. ¿Todas las bacterias se pueden teñir con este procedimiento?
¿Por qué?



Práctica 6: Recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA)

Nombre: Grupo:

Introducción

La mayoría de los alimentos son buenos medios de cultivo para el crecimiento de muchas clases de microorganismos, bajo condiciones favorables, especialmente entre 7 y 60°C y en estas condiciones éstos crecen a partir de los compuestos degradados, produciendo cambios en los alimentos en su aspecto, color, olor y otras cualidades.

Los métodos de recuento de microorganismos mediante la enumeración de colonias son procedimientos que asumen que cada célula microbiana viable, formará una colonia visible al multiplicarse en un medio que contiene agar (medio sólido); sin embargo, una colonia puede provenir de una célula individual o un grupo de ellas. Además, sólo formarán colonias aquellos microorganismos que son capaces de desarrollarse en las condiciones en que se realice el recuento. Otros factores que pueden influir en el recuento de colonias son: inadecuada esterilización de los medios y diluyentes empleados, material contaminado, medición inexacta de la muestra o diluciones, inadecuada homogenización de la muestra o diluciones, distribución deficiente de la muestra en el medio, error en la distinción de las colonias o partículas del alimento.

Las bacterias mesófilas son un grupo de microorganismos capaces de desarrollarse de 25 y 38°C en presencia de oxígeno (aerobiosis). La cuantificación de microorganismos por conteo de colonias ha sido ampliamente utilizada para determinar poblaciones microbianas viables en los alimentos. Las bacterias mesófilas reflejan la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la au-

sencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.

Entre las técnicas más comúnmente utilizadas para el conteo de microorganismos mediante la formación de colonias tenemos las siguientes:

- Vaciado en placa
- Siembra por extensión en superficie
- Siembra de gotas en superficie
- Siembra con asa calibrada
- Filtración por membrana
- Instrumentales automatizados

Es necesario remarcar que los recuentos sólo son estimaciones del número total de microorganismos, y que además deberá reportarse como recuento de “Unidades Formadoras de Colonias” (UFC).

Objetivos

- Determinar la presencia y cantidad de bacterias aerobias mesófilas en el material analizado.
- Conocer y ejecutar la técnica de vaciado en placa para el recuento microbiano en alimentos.

Materiales y equipo

Material y utensilios: incubadora a 35°C, balanza con sensibilidad de 0.1 g, termobañó, cajas Petri estériles, pipetas bacteriológicas estériles de 1.5 y 10 ml, frascos para dilución, diluyente de peptona al 0.1%, agar para cuenta en placa, agar bacteriológico o agar nutritivo.

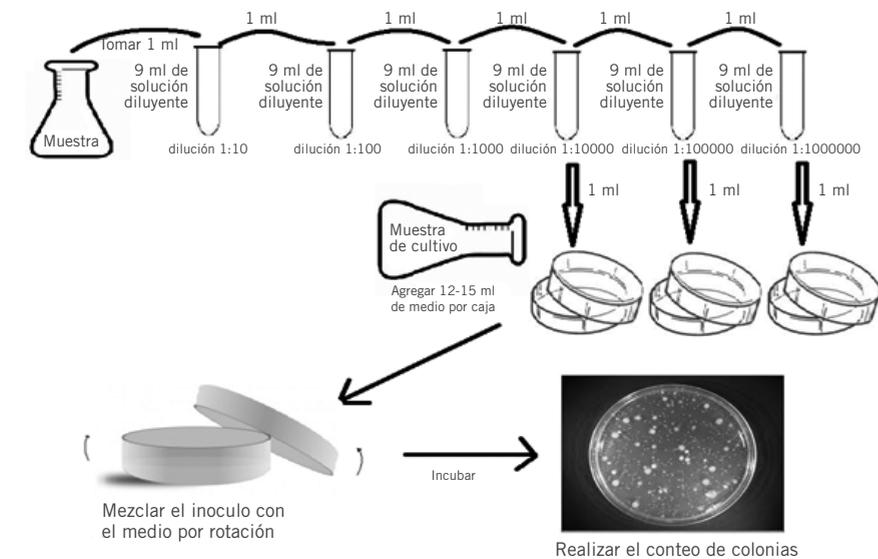
Material biológico: Muestra de alimento sólido o líquido (puede ser queso, un trozo de fruta, leche, jugo, etc).

Procedimiento

Preparación e inoculación del medio

1. Una vez pesada y homogenizada la muestra (10 ml en muestras líquidas o 10 g en muestras semisólidas) realizar las diluciones correspondientes (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) como lo explica la figura 10, de acuerdo al grado de contaminación bacteriana que se presume tiene el alimento.
2. Colocar 1 ml de las diluciones seleccionadas para la siembra (fig. 10), en el fondo de las cajas Petri estériles previamente marcadas con la información necesaria para su identificación, destapándolas solo lo suficiente para introducir la pipeta con una inclinación de 45°. Vaciar el contenido de la pipeta. Realizar por triplicado.

Figura 10. Técnica de vaciado en placa para conteo de microorganismos



3. Adicionar 12-15 ml de medio fundido en baño María a 45°C. Inmediatamente mezclar uniformemente el inóculo en el medio mediante seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al

de las manecillas del reloj y seis de arriba a abajo sobre una superficie lisa y nivelada (fig. 10). Luego se deja enfriar la mezcla, dejando las cajas Petri sobre una superficie horizontal fría. El tiempo transcurrido desde la preparación de la primera dilución hasta la incorporación del medio de cultivo a todas las cajas no deberá exceder de 20 minutos.

4. Preparar una o varias cajas conteniendo medio de cultivo y diluyente sin inocular, con el fin de confirmar su esterilidad.
5. Una vez solidificado el agar, invertir las placas e incubarlas a la temperatura y tiempo de acuerdo al grupo de microorganismos estudiado.

Recuento de colonias

1. Seleccionar las placas que contengan entre 25 y 250 colonias y contarlas totalmente.
2. Sacar promedio de las placas con la misma muestra (triplicado).
3. Multiplicar por el factor de dilución (tabla 4).

Tabla 4. Ejemplo de conteo de colonias

Muestra	Colonias contadas 1:1000	Colonias contadas (UFC/g o ml)	Expresión de resultados (UFC/g o ml)
A	23	23000	2.3×10^4
B	31	31000	3.1×10^4
C	42	42000	4.2×10^4

Muestra	Colonias contadas 1:1000	Colonias contadas (UFC/g o ml)	Expresión de resultados

Resultados

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

1. Menciona el nombre de dos Normas Oficiales Mexicanas que empleen la técnica de vaciado en placa en sus procedimientos.

2. Menciona tres géneros de bacterias mesófilas aerobias.

3. ¿En qué otro tipo de muestras, se puede investigar la presencia de mesófilas aerobias? Escribe cuatro ejemplos.

4. ¿Qué ventaja presenta la técnica de vaciado en placa?



Práctica 7: Determinación de coliformes totales por cuenta en placa

Nombre:

Grupo:

Introducción

La definición generalmente aceptada para el término “coliformes” describe a estos microorganismos como bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas, aunque algunos pueden ser fermentadores tardíos o no fermentadores, como *Citrobacter* y *Serratia*, respectivamente. La mayoría de los coliformes pueden encontrarse en la flora normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces, por ejemplo *Escherichia coli*. Debido a su presencia constante en la materia fecal, los coliformes son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas.

Como los coliformes también pueden vivir en otros ambientes, se distingue entre coliformes totales y coliformes fecales. Esta práctica se refiere a coliformes totales.

El uso de los coliformes como indicador sanitario puede aplicarse para:

- La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos.
- La evaluación de la calidad microbiológica de un producto, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario, cuando los coliformes son de origen no-fecal.
- Evaluación de la eficiencia de prácticas sanitarias e higiénicas en el equipo.
- La calidad sanitaria del hielo y los distintos tipos de agua utilizados en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos.

La demostración y la cuenta de microorganismos coliformes puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivos líquidos o sólidos con características selectivas y diferenciales. Para el conteo por vaciado en placa se utiliza agar-lactosa-bilis-rojo violeta (ABRV).

Respecto del fundamento de esta técnica, se sabe que los coliformes resisten la presencia de bilis en el medio de cultivo; cuando se desarrollan en ABRV, el ácido producido por la fermentación de la lactosa, ocasiona el vire del indicador rojo neutro y la precipitación de las sales biliares por lo que las colonias son color rojo oscuro y generalmente están rodeadas de un halo de sales biliares precipitadas, de color rojo claro o rosa.

Objetivos

- Comprender y realizar adecuadamente la determinación de coliformes totales en un alimento, mediante el método de vaciado en placa.
- Interpretar los resultados obtenidos, de acuerdo con las normas aplicables.

Materiales y equipo

Material y utensilios:

- Matraz Erlenmeyer de 250 ml con 90.0 ml de solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.0 ± 0.2 o agua peptonada estéril.
- Dos a cuatro tubos de ensayo de 13 x 100 mm con tapón de rosca, con 9.0 ml de solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.0 ± 0.2 o agua peptonada estéril.
- Matraz Erlenmeyer con 125 ml de agar bilis rojo violeta
- Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1.0^\circ\text{C}$, provista con termómetro calibrado.
- Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal y lente amplificador.
- Baño de agua con termómetro calibrado, que mantenga la temperatura a $45 \pm 1.0^\circ\text{C}$.
- Utensilios estériles (cuchillo, tenedor, cuchara, pinzas) para tomar muestra.

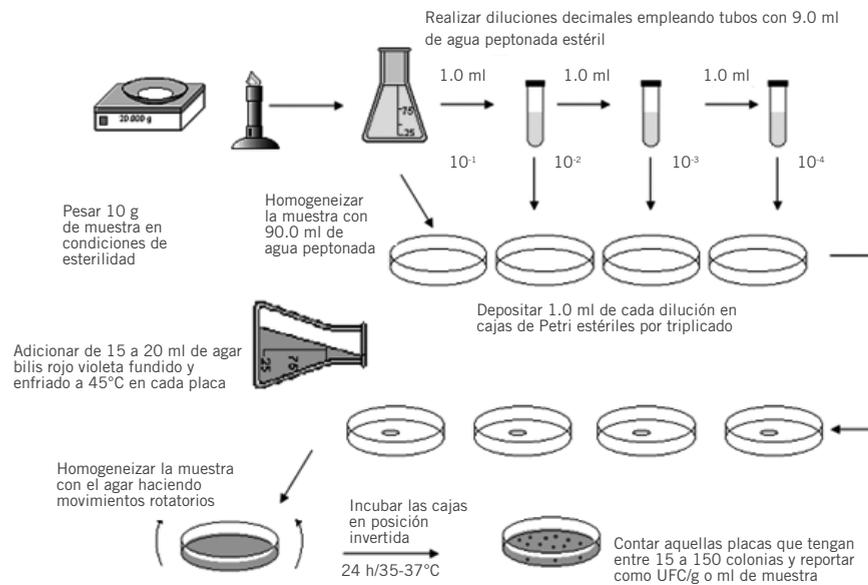
- Propipeta.
- Pipetas bacteriológicas de 10 ml, estériles, con algodón en el extremo superior (las necesarias de acuerdo con el número de diluciones).
- Pipetas Pasteur estériles.
- 4 a 8 cajas Petri estériles, de 15 x 100 mm.
- Homogenizador peristáltico y bolsas estériles.

Procedimiento

1. Pesar la muestra y preparar las diluciones para el análisis microbiológico.
2. Recordar que el rango de sensibilidad del método es de 15 a 150 colonias por placa.
3. Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación y la adición de medio de cultivo se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las bases de las cajas con los datos pertinentes antes de colocar el inóculo.
4. Inocular por duplicado, 1.0 ml de la dilución correspondiente en cada caja, mediante pipeta estéril y verter de 18.0 a 20.0 ml del medio ABRV fundido y mantenido a $45 \pm 1.0^\circ\text{C}$ en baño de agua (fig. 1.1). El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.
5. Adicionar 12-15 ml de medio fundido en baño María a 45°C . Inmediatamente mezclar uniformemente el inóculo en el mediante la técnica de vaciado en placa descrita en la práctica anterior.
6. En cuanto el medio solidifique, agregar a cada caja, una sobrecapa de 4 ó 5 ml del mismo medio fundido y mantenido a 45°C , no permitir que se mojen las tapas de las cajas. La sobrecapa de agar se coloca para favorecer el crecimiento de los coliformes, que son facultativos. Dejar que solidifique.
7. Preparar una caja control con 18.0 a 20.0 ml de medio para verificar la esterilidad.
8. Solidificado el medio, invertir las placas y colocarlas en la incubadora a 35°C , durante 24 ± 2 h.

9. Después de este periodo, contar las colonias con el contador de colonias. Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0.5 a 2.0 mm.
10. Si hay desarrollo extendido o un número de colonias superior al del rango de sensibilidad del método, aplicar una dilución más y hacer uso del microscopio para resolver los casos en los que no se pueden distinguir las colonias de las pequeñas partículas de alimento.

Figura 11. Determinación de coliformes totales por conteo en placa



Resultados

Cálculos y expresión de resultados

Reportar como se indica a continuación, con dos cifras significativas y potencias de 10.

Coliformes totales en placas de agar bilis rojo violeta:
 Cuento: UFC /g (o ml) de muestra.

Ejemplo	Cálculos
45 colonias por el número de la dilución	
Número de colonias × Factor de dilución =	
45 colonias X 100 = 4 500	

Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

1. Define que son los coliformes totales y menciona 5 ejemplos.

2. ¿A qué temperatura se incuban las muestras para el estudio de coliformes fecales?

3. ¿Cuál es la diferencia entre coliformes totales y coliformes fecales?

4. ¿Qué significado tiene encontrar coliformes totales en un alimento?

Notas:

Cuando se utiliza el medio de agar bilis rojo violeta (ABRV) para la cuenta en placa de coliformes, debe considerarse lo siguiente:

- Si el alimento contiene mono o disacáridos en altas concentraciones, éstos pueden ser fermentados por otro grupo de microorganismos, generando colonias semejantes a las de coliformes.
- El medio no debe esterilizarse ni sobrecalentarse por lo que se debe utilizar antes de 3 h. a partir de su preparación; en cuanto se disuelva el agar se debe colocar en baño de agua a 45°C para mantenerlo fundido, hasta el momento de utilizarlo.
- Debe ponerse una sobrecapa de medio una vez que las placas vertidas han solidificado, para favorecer las condiciones de microaerobiosis, más adecuadas para los coliformes.
- El sobrecalentamiento del medio y las variaciones en las condiciones de incubación, especialmente la incubación prolongada, pueden ocasionar la formación de colonias rojas de cocos Gram positivos.
- El rango estadístico para tener confiabilidad en el aspecto cuantitativo (de sensibilidad del método) es de 15 a 150 UFC por placa.
- El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se vierten los medios de cultivo en las cajas con las muestras de diluciones, no debe exceder de 20 minutos.



Práctica 8: Identificación de levaduras

Nombre:

Grupo:

Introducción

Las levaduras son un grupo de diversos hongos microscópicos unicelulares capaces de realizar descomposición mediante la fermentación de varias moléculas orgánicas, principalmente azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

La mayoría de ellas pertenecen a la clase Ascomycota, pero desde una perspectiva microbiológica se ha denominado levadura a todos los hongos con predominio de una fase unicelular en su ciclo de vida. A veces suelen estar unidos entre sí formando cadenas.

En otro aspecto, las levaduras son capaces de reproducirse asexualmente por gemación o fisión. La mayoría se reproducen asexualmente por gemación polar o multilateral, proceso durante el cual se forma en la periferia de la célula, una protuberancia (yema) que aumenta de tamaño hasta que finalmente se desprende de la pared celular, constituyendo una nueva levadura. Unas pocas especies se multiplican por escisión (separación). Algunas especies pueden formar micelio, y la mayoría de ellas fermentan uno o varios azúcares. Intervienen en fermentaciones beneficiosas como la fabricación del pan, vino, cerveza y quesos. También pueden intervenir en alteraciones de zumos y frutas, miel, almíbares, jaleas, carnes, vino, cerveza y otros alimentos. Su identificación se basa en criterios morfológicos y fisiológicos.

Objetivos

- Observar colonias macroscópicas de una especie de levadura.

- Poner de manifiesto las principales características microscópicas de las levaduras, tales como presencia de micelio, blastosporas y clamidosporas.

Materiales y equipo

Material y utensilios: microscopio óptico, portaobjetos y cubreobjetos, incubadora, mecheros Bunsen y Fischer, asa bacteriológica, azul de lactofenol o azul de metileno.

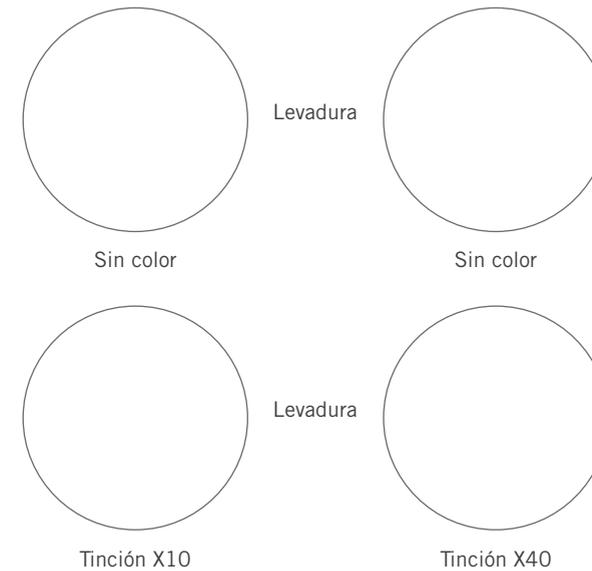
Material biológico: Cultivo puro de *Saccharomyces cerevisiae* en agar Sabouraud (puede emplearse otra levadura también).

Procedimiento

1. Observar el aspecto de las colonias de las dos especies de levaduras.
2. Inocular las placas de agar Sabouraud. A partir de los cultivos puros se inoculan las dos levaduras en una misma placa de Sabouraud. Para ello se toma una pequeña parte de una colonia aislada y se realizan estrías en una porción de la placa.
3. Se incuban las placas durante tres días a temperatura ambiente.
4. Después de la incubación, colocar dos gotas de agua en dos portaobjetos limpios.
5. Con el asa de siembra previamente flameada transferir una pequeña cantidad del cultivo en medio sólido a cada una de las gotas. Remover hasta formar una suspensión homogénea.
6. Adicionar a uno de los portaobjetos una gota de azul de lactofenol, o de azul de metileno, si no se cuenta con el colorante anterior.
7. Colocar un cubreobjetos en cada uno de los portaobjetos.
8. Observar al microscopio cada uno de los preparados, empleando los objetivos de x10 y X40.

Resultados

Dibuja las estructuras observadas en los siguientes espacios:



Observaciones

Conclusiones

Cuestionario

1. Menciona algunas características macro y microscópicas de las levaduras.

2. Menciona 4 ejemplos de géneros de levaduras responsables de la descomposición de alimentos y a partir de que alimentos se podrían aislar.

3. ¿De qué manera se reproducen las levaduras?

4. Menciona 4 diferencias entre hongos y levaduras.

Sección teórica



Aspectos generales y microbiología de los principales grupos alimentarios

A diferencia de la microbiología general, la microbiología de alimentos se basa en pruebas características diseñadas para el análisis de cada grupo alimentario, con el fin de asegurar la calidad microbiológica y sanitaria de los mismos. Sin embargo, la amplia gama de alimentos y preparados para consumo humano, dificulta la estandarización de las pruebas microbiológicas debido a que diferentes factores como la composición, origen, procesamiento previo, microorganismos colonizadores, etc., pueden ser muy diferentes y específicos para cada grupo. Es por ello que en este manual se presenta un resumen de los principales grupos alimentarios, el cual contiene información básica sobre su composición, origen, procesamiento, microorganismos patógenos asociados y pruebas de laboratorio, con el objetivo de brindar una visión general para su análisis y tratamiento. Los grupos descritos son:

1. Leche
2. Carne
3. Frutas y hortalizas
4. Aves y huevo
5. Pescado y mariscos
6. Alimentos procesados
7. Agua

Leche



Figura 12. Ejemplos de productos lácteos

Definición

La leche y los lácteos han fungido desde la antigüedad como signo cultural y nutrimental en la dieta humana, desempeñándose actualmente como todo un arte, tanto desde el punto de vista científico como gastronómico.

Se entiende como leche al producto resultante de la excreción mamaria de mamíferos lecheros, destinada al consumo humano. Por producto lácteo se entiende como aquel producto obtenido a partir de leche, mediante la adición de ciertas sustancias y la manufactura en un proceso específico (FAO, 1996).

La leche contiene un 88% de agua, y un 12% de materia sólida, de la cual el 4.5% son hidratos de carbono (lactosa), el 3.3% proteínas de alto valor nutritivo, siendo la principal la caseína y, un 3% de grasas saturadas. El resto está formado por vitaminas: vitamina A, vitamina B2 (riboflavina), vitamina B1 (tiamina) y minerales: sobre todo calcio, magnesio y potasio. Por el contrario, es pobre en vitamina C, vitamina D y hierro (Gómez, 2006).

La importancia de la leche y los lácteos radica en la posesión varios grupos de biomoléculas, tales como carbohidratos, proteínas y lípidos; además la leche es el primer alimento que consumen los humanos y demás mamíferos al nacer ya que los lácteos tienen una contribución considerable en la formación de flora saprófita del organismo.

Proceso de obtención

La obtención de los productos lácteos comienza con la ordeña para después pasar a la industria que brindará los tratamientos necesarios para la con-

servación y venta de leche, así como para la manufactura de otros derivados lácteos. Cada paso de dicho proceso puede resumirse en la figura 13.

1. Ordeña
2. Almacenamiento en granja
3. Transporte a la industria
4. Recepción y medición de parámetros de calidad
5. Manufactura del producto lácteo
6. Almacenamiento en industria
7. Distribución y consumo

Figura 13. Proceso de obtención y manufactura de leche y lácteos.



Tomado de <http://legislacteos.over-blog.com/article-27363508.html>

Análisis empleados

- **Prueba de lactosa en leche.** Contenido de lactosa con base en una valoración redox, debido a que la lactosa es un azúcar reductor.
- **Prueba de acidez.** Permite obtener el grado de fermentación y por ende de actividades microbianas.
- **Proteína de leche.** Cuantifica la cantidad de proteínas (principalmente caseína) mediante la identificación de nitrógeno.
- **Determinación de grasa.** Se realiza en leche, quesos y mantequillas.
- **Determinación de contenido de agua.** Se realiza en leche, quesos y mantequillas, mediante destilación.

- **Identificación de leche de vaca en quesos de cabra.** Se realiza mediante electroforesis de caseínas encontradas en la leche de vaca.
- **Determinación de coliformes totales y coliformes fecales.** Se realiza mediante diluciones en tubo (Soluciones de Química Analítica Pan-reac, s.f.).

Fuentes y mecanismos de contaminación

En la ordeña

La contaminación de la leche puede ser de origen, al proceder de animales con infecciones en el tracto digestivo o en el sistema urinario. Sin embargo, la principal contaminación se da cuando al ser ordeñada, tiene contacto con las ubres y la superficie de la vaca. Ello por medio de materia como el estiércol, suelo y el agua, de hecho los animales podrían estar en un establo sucio donde podría existir contacto con el estiércol de otros animales -el cual puede estar contaminado- o bien con el suelo y el agua estancada, dentro de los cuales se puede almacenar una gran cantidad de microorganismos.

Los utensilios para ordeñar, ya sea mediante ordeñadora o de forma manual en cubeta, así como la maquinaria donde se almacena y refrigera la leche para su posterior transporte, constituyen otro factor potencial en la contaminación de la misma. Otras fuentes de contaminación son los brazos y manos del ordeñador, así como el aire de la sala de ordeño y las moscas e insectos que tengan contacto con el producto o con los utensilios que se utilizarán (Frazier & Westhoff, 2000).

En el transporte y manufactura

Durante el transporte y manufactura del producto existen otras fuentes de contaminación, las que incluyen el camión para transportarla, las tuberías por las cuales circula la leche durante todo el proceso de manufactura, los cubos y tanques de almacenamiento, los filtros, agitadores, refrigeradores, desnatadoras y embotelladoras. También es importante mencionar el contacto con las manos y brazos del operador, el aire de la planta, así como el material empleado para el envasado del producto (Frazier & Westhoff, 2000).

Bacterias patógenas asociadas

Al igual que la mayoría de los alimentos, los lácteos también sufren de deterioro microbiano que demerita su calidad sanitaria, físico-química y sensorial; ello a su vez, auspicia que el propio alimento represente un vehículo para los microorganismos que propiciaron su descomposición, o bien que surgieron de manera secundaria a consecuencia del daño ocasionado por los primeros. No obstante, muchos agentes microbianos pueden ser patógenos, siendo algunos de éstos de vital importancia debido a su alto grado de patogenicidad así como a la agresividad de las infecciones que provocan. Algunas de las bacterias patógenas que frecuentemente se han asociado a los lácteos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Principales bacterias asociadas a los lácteos.

Bacteria	Alimento
<i>Listeria monocytogenes</i>	Leche y quesos
<i>Coxiella burnetii</i>	Leche
<i>Salmonella</i>	Leche
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Leche pasteurizada
<i>Bacillus cereus</i>	Leche pasteurizada
<i>Clostridium sporogenes</i>	Leche agria
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Mantequilla y quesos

Adaptado de Frazier & Westhoff en Microbiología de los alimentos (2000).

Métodos de conservación

Los métodos de conservación de leche y lácteos tienen 2 objetivos:

1. Reducir la carga microbiana.
2. Por ende, alargar el periodo de conservación.
 - **Pasteurización.** Tratamiento HTST (alta temperatura en un tiempo corto); la leche se trata a 72 oC durante 20-25 segundos.
 - **Ultrasteurización.** Tratamiento UHT (temperatura ultra elevada); el producto se trata a 137.8 oC por 2 segundos. Las técnicas de UHT empleadas para evitar la alteración de componentes y características del

producto a tan altas temperaturas son, la inyección de vapor de agua y la infusión en vapor de agua (Frazier & Westhoff, 2000).

- **Refrigeración.** Se aplica en el almacenamiento de todos los lácteos, excepto en leches en polvo y enlatadas. Utiliza temperaturas de 4.5-30°C. Se debe aplicar inmediatamente después de la ordeña, durante todo el proceso de manufactura y durante la distribución y consumo final.
- **Congelación.** Se aplica para leche, nata y mantequilla, las cuales se almacenan a -4°C (Frazier & Westhoff, 2000).
- **Desecación.** Reduce la aw, basado en el principio de evaporación del agua. El caso más común de desecación de lácteos son las leches en polvo, aunque también se utiliza en los quesos secos.
- **Adición de solutos.** Al igual que en el método anterior, su objetivo es reducir la aw, sin embargo, esto se logra mediante el agregado de solutos que reduzcan al máximo las moléculas de agua libre que puedan ser utilizadas por los microorganismos. Algunos ejemplos son la leche condensada y evaporada.
- **Adición de conservadores.** En la leche fresca no se tienen permitidos ningún tipo de conservador, no obstante, en yogurt y algunos quesos se permite el empleo de ácido sórbico o propiónico para evitar la formación de mohos en la superficie.
- **Envasado al vacío.** Se utiliza en leches enlatadas y ultrapasteurizadas en envase de cartón.
- **Irradiación.** Se aplica sólo en los locales de manufactura de lácteos, y no en el producto mismo.

Bibliografía

- FAO (1996). Código de principios referentes a la leche y productos lácteos. Depósito de documentos de la FAO: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/w2198s/W2198S11.htm>
- Frazier & Westhoff (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Gómez, L. Decreto 2006 para la legislación de lácteos. Legislación de lácteos: <http://legislacteos.over-blog.com/article-27363508.html>
- Panreac s.f. Métodos analíticos en alimentaria. Panreac QUÍMICA S. A.

Carne



Figura 14.
Productos cárnicos

Definición

Desde los primeros indicios de la humanidad, la carne ha fungido como un alimento esencial para el consumo, manifestando su importancia en la realización de actividades económicas como la caza en las épocas primitivas, hasta las grandes industrias cárnicas de la actualidad.

La carne se define como la estructura compuesta por fibra muscular acompañada o no de tejido conjuntivo, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas por las Normas Oficiales Mexicanas (Astiasarán y Martínez, 2003).

La carne contiene macromoléculas esenciales para la dieta básica, además de elementos minerales; sus componentes varían entre las diferentes especies animales de las que provienen. En México, las carnes rojas más comunes pertenecen a la vaca y al cerdo, consumiéndose en menor proporción la de cabra, oveja y conejo.

En la tabla 6 se muestra la composición de la carne de ganado vacuno y porcino.

Tabla 6. Componentes nutricionales de carne vacuna y porcina

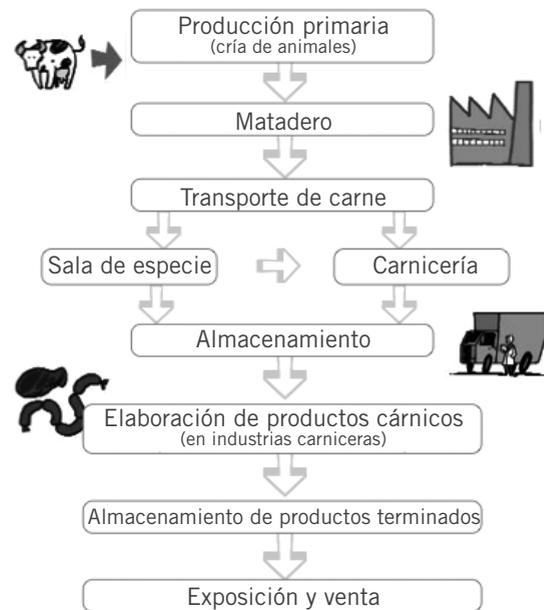
Animal	Agua	Proteínas	Grasa	Minerales
Vaca	76.4 %	21.8 %	0.7 %	1.2 %
Cerdo	75 %	21.9 %	1.9 %	1.2%

Tomado de Astiasarán y Martínez (2003).

Proceso de obtención

La línea de producción de carnes se basa en dos ejes principales; el primero consiste en la venta de la carne sin procesar proveniente de la granja, es decir, parte del matadero a las carnicerías para llegar al consumidor final. Por otro lado, en el segundo eje, las piezas de los animales sufren un proceso de manufactura para transformarlos en productos cárnicos como jamones, salamis, salchichas, etc., los cuales tienen un valor agregado mayor que la carne fresca (fig. 15).

Figura 15. Diagrama de flujo del proceso de obtención y manufactura de carne y productos cárnicos



Tomado de <http://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-documentos/carnes.pdf>

Análisis empleados

- **Prueba de cenizas.** Determina la presencia de contaminantes inorgánicos al exceder la cantidad de minerales sobrantes de la incineración, presentes en la carne.

- **Prueba de nitritos y nitratos.** Dichos compuestos son utilizados como conservantes o para darle una apariencia más rosada a la carne, sin embargo, las concentraciones en las que se usan deben ser cuidadosas, ya que algunos estudios los asocian con cáncer de estómago y otras afecciones crónicas (Morales & Tejerizo, 1995).
- **Prueba de pH.** Mide el pH, lo cual es un rubro para determinar actividad microbiana (García, 2008).
- **Identificación de clenbuterol.** Identifica la presencia de un promotor de crecimiento muscular, el cual es dañino para la salud. Se identifica con un kit rápido que indica la presencia de residuos de clenbuterol (COFEPRIS, 2012)
- **Requisitos microbiológicos.** Se realiza la identificación de indicadores mesófilos aerobios y *Salmonella*, de acuerdo a los límites establecidos por parámetros internacionales y Normas Oficiales Mexicanas (García, 2008).
- **Análisis organoléptico.** Toma en cuenta el color (rojo cereza), aroma y sabor (agradable y exento de olores extraños), y la apariencia (uniforme).

Fuentes y mecanismos de contaminación

La contaminación de la carne puede ser de origen, cuando ésta proviene de animales que tienen infecciones, principalmente en el sistema digestivo. Sin embargo, esta forma de contaminación tiene poca incidencia, siendo la primera causa de contaminación, la forma cruzada, la cual se da en el momento del sacrificio, cuando los tejidos musculares tienen contacto con los ganglios linfáticos, el tracto digestivo y las partes externas como son piel, pezuñas y pelo (Frazier & Westhoff, 2000).

Durante la formación de la canal, la carne también puede tener contacto con la flora del suelo, aire, agua y estiércol. De igual forma, el cuchillo y los utensilios utilizados para los procesos mencionados pueden desempeñarse como vehículos de microorganismos de otros animales anteriormente destazados con ellos.

Las manos, ropas y paños de los operarios funcionan como también como fuente de contaminación. Las siguientes fuentes contaminantes ra-

dicen en las carretillas transportadoras y los recipientes contenedores de la carne. Los refrigeradores para el almacenamiento no están exentos de bacterias, ya que se ha encontrado evidencia de psicrófilos en carnes refrigeradas.

En el caso de carne fresca, la venta en carnicerías y la contaminación que se da allí a causa de las sierras, picadoras, aserrín y empleados, así como la refrigeración en las mismas casas particulares pueden poseer microbios capaces de alterar la carne

En la elaboración de productos cárnicos, los contenedores, maquinaria y empleados pueden fungir como fuentes contaminantes (Frazier & Westhoff, 2000).

Microorganismos contaminantes asociados

La carne y los productos cárnicos representan una succulenta fuente de nutrientes para los microorganismos, además de una elevada actividad acuosa en la mayoría de ellos, por lo cual, este grupo alimenticio ha sido protagonista de numerosos casos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos, de los cuales los géneros bacterianos que más sobresalen se aprecian en la siguiente tabla.

Tabla 7. Principales grupos bacterianos asociados a las carnes

Género	Tipo de carne
<i>Salmonella</i>	Carne fresca
<i>Bacillus</i>	Carne curada
<i>Clostridium</i>	Carne refrigerada y congelada
<i>Escherichia</i>	Carne fresca
<i>Campylobacter</i>	Carne fresca
<i>Taenia solium/Cysticercus cellulosae</i>	Carne fresca (principalmente de cerdo)
<i>Staphylococcus</i>	Carne curada
<i>Pseudomonas</i>	Carne refrigerada

Adaptado de Frazier & Westhoff en Microbiología de los alimentos (2000).

Métodos de conservación empleados

La carne fresca posee condiciones muy codiciadas por los microorganismos, tales como humedad, pH, aw, además de una amplia gama de nutrientes, por lo que es un blanco muy común, que necesita emplear métodos especiales para su conservación.

- **Apertización.** Este método se fundamenta en el uso de alta temperatura y alta humedad para provocar un shock térmico en los microorganismos. Se emplea sólo para carne enlatada, sometiéndose a temperaturas de 65°C.
- **Refrigeración.** Se debe realizar lo más pronto posible para evitar el crecimiento de mesófilos; la refrigeración no puede sobrepasar los 30 días. Utiliza temperaturas de 2 a -1.4°C.
- **Congelación.** Se debe aplicar para todas las carnes, las cuales se almacenan desde -22 hasta -28.9°C. Este método reduce la actividad microbiana a la mitad, pero se puede renovar en el descongelamiento, por lo cual éste último debe realizarse justo antes de utilizar el producto.
- **Desecación.** Se ha utilizado desde hace siglos, secando la carne al sol. Actualmente se utiliza para embutidos. En general se combina con tratamientos con sal y compuestos nitrato-nitrito, y técnicas de ahumado.
- **Adición de conservadores.** Se realiza mediante técnicas de curado. Los conservantes pueden ser:
 - **Cloruro de sodio.** Se utiliza en forma de salmuera y su función es reducir la aw.
 - **Azúcar común.** Proporciona sabor y reduce los nitratos.
 - **Nitrato de sodio.** Es bacteriostático en solución ácida.
 - **Nitrito de sodio.** Es bacteriostático en solución ácida y fija el color al oxidar la hemoglobina y mioglobina del músculo.
 - **Especias.** Tienen un efecto conservador muy leve, pero al agregarse incentivan el efecto conservador del ahumado, cocción y refrigeración.
 - **Antibióticos.** Se utilizan para aumentar la masa muscular de los animales, sin embargo, su uso está muy restringido. Su administración puede ser en el ganado antes de sacrificarlo, o se puedan

aplicar en la canal o partes de ésta. Los más frecuentes son la nisin y el cloranfenicol. En México su utilización está estrictamente prohibida (Frazier & Westhoff, 2000).

Bibliografía

- Astiasarán, I. y Martínez, J. (2003). Alimentos. Composición y propiedades. México, D.F. McGraw-Interamericana.
- ASTURIAS. (s.f.). Carnes y derivados. Seguridad alimentaria: <http://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-documentos/carnes.pdf>
- COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios). 2012
- Frazier, W., & Westhoff, D. C. (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- García, Paz (13 de diciembre de 2008). Prácticas de laboratorio: control de calidad de productos cárnicos. Innovación y experiencias educativas: http://www.csi-csif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_13/M_PAZ_GARCIA_1.pdf
- Morales, Llopis & Tejerizo (1995). Impact of nitrites in drinking water on cancer mortality in Valencia, Spain. *European Journal of Epidemiology*. Pp. 15-21.

Frutas y hortalizas



Figura 16. Frutas y hortalizas frescas

Definición

La recolección de frutos ha fungido como la primera actividad de la raza humana, en el transcurso de la historia así como en la actualidad gracias a nuevas e innovadoras técnicas de cultivo que permiten optimizar la producción y con ello satisfacer la enorme demanda de la población. Las frutas se consideran como el grupo de órganos aéreos comestibles resultantes de la fecundación entre los gametos masculinos y femeninos en vegetales angiospermas, que contienen las semillas y fungen como factor principal para la diseminación de éstas. Por su parte, las verduras y hortalizas engloban a las plantas cuya parte comestible puede ser cualquier órgano de la misma exceptuando el fruto, y se incluyen raíces, rizomas, bulbos, tubérculos, tallos, flores y hojas. También se consideran como verduras a los champiñones y algunas setas, aunque no pertenezcan al reino vegetal (Vázquez *et al.*, 2005).

Las frutas y verduras contienen principalmente agua (75-96 %). Contienen pocos carbohidratos, que ocupan de 1-9 % en verduras, y del 5-20 % en frutas. La cantidad de proteínas es muy baja, con un 1-2 %, mientras que la proporción de lípidos es casi nula, conteniendo solamente algunas trazas. Sin embargo, el aguacate, el olivo y el coco contienen porcentajes de ácidos grasos mayores al 65 %. En la tabla 8 se muestra la composición de algunas frutas y verduras de importancia en la región de La Ciénega.

Tabla 8. Componentes nutricionales de algunas frutas y verduras por cada 100 g de porción comestible

Fruto	Proteínas (g)	CH (g)	Fibra (g)	Vit. C (mg)	Vit. B1 (mg)	Vit. B2 (mg)	Vit. E (mg)
Naranja	1.1	9	2	50	0.1	0.03	-
Manzana	0.3	12	2	3	0.04	0.02	-
Plátano	1.4	20	3	7	0.16	0.08	0.5
Aguacate	2.1	4.7	2	20	0.1	0.18	3
Jitomate	1.0	4	1.5	38	0.09	0.04	0.8
Zanahoria	1.2	9	3	9	0.06	0.06	0.6
Lechuga	1.2	2.9	1.5	10	0.08	0.12	0.4
Cebolla	1.4	10	1	28	0.05	0.07	0.1

Tomado de Vázquez *et al.*, (2005). CH:Carbohidratos, Vit.:Vitamina.

Proceso de obtención

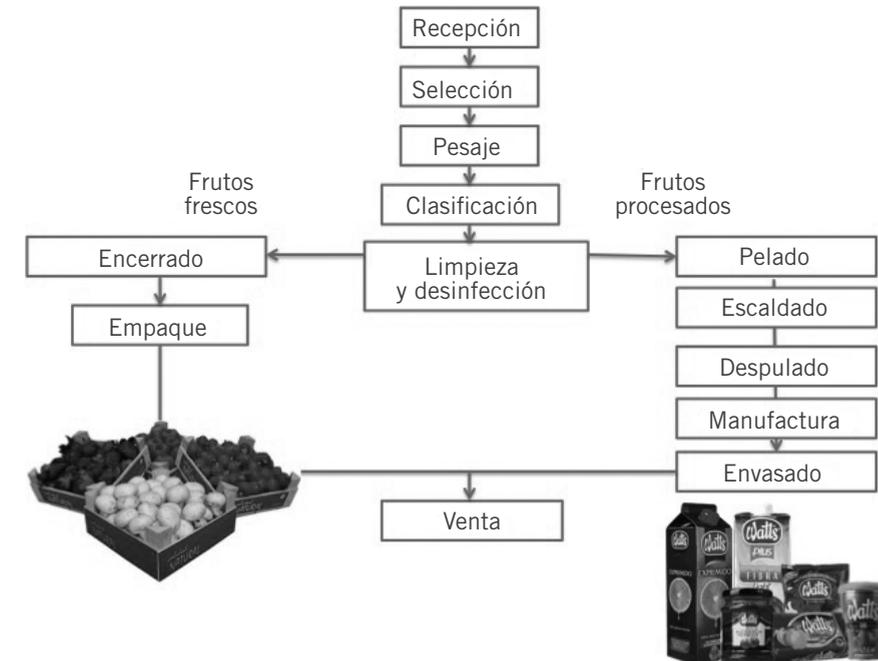
El procesamiento de frutas y verduras es de los más amplios, ya que los vegetales representan la base de la dieta diaria. Por dicha razón, como se muestra en la figura 17, además de su consumo en fresco, las frutas y verduras pueden sufrir un proceso de manufactura para dar origen a derivados como salsas, mermeladas, jugos y vegetales en escabeche.

Análisis empleados

- **Prueba de dureza.** Indica un estado general del fruto a través de su consistencia. No atraviesa la cáscara (Panreac, s.f.).
- **Características organolépticas.** Principalmente el color, se utiliza como parámetro en el proceso de selección.
- **Análisis de sólidos solubles.** Determina el porcentaje de azúcares y con ello el estado de maduración, a través de refractometría.
- **Prueba de pH.** Mide el pH como indicador de madurez (Frazier & Westhoff, 2000).
- **Identificación de agroquímicos y plaguicidas.** Identifica la presencia excesiva de dichos productos químicos, para que no sobrepasen los límites permitidos (FAO/OMS).

- **Identificación de coliformes.** Se buscan indicadores que ayuden a la identificación de coliformes, principalmente de origen fecal. Se realiza principalmente en los zumos de fruta (Frazier & Westhoff, 2000).

Figura 17. Procesamiento de frutas y verduras



Fuentes y mecanismos de contaminación

Los frutos se consideran estériles hasta que la integridad de la cáscara que los protege se altera, conllevando a la contaminación de los mismos, que puede proceder de la recolección, principalmente al tener contacto con suelo y agua contaminados; al ponerse en contenedores como cajas, canastos y carretillas, y por el contacto mutuo con otros frutos contaminados. Durante el transporte pueden sufrir lesiones que incentiven la proliferación de flora microbiana, o durante el mantenimiento si se remojan o se rocían con agua que pueda estar contaminada. Si los frutos son para venta, los contenedores donde se exhiben o mantienen pueden albergar microorganismos, aunado a la fuente de contaminación que sugiere el hielo donde se almace-

nan y el agua con la que los rosean. Sin embargo, la mayor contaminación ocurre por el manoseo tanto por vendedores como por clientes. Si el destino es la elaboración de productos industriales como jugos, mermeladas o conservas, las fuentes de contaminación las representan el equipo y maquinaria, las transportadoras, contenedores, envasadoras, prensadoras, etc. Por contaminación cruzada, las fuentes contaminantes pueden ser los demás ingredientes, tales como azúcar y almidón (Frazier & Westhoff, 2000).

Microorganismos patógenos asociados

Las frutas, debido a su acidez, generalmente se contaminan con hongos como *Fusarium* y *Penicillium*; sin embargo, se han aislado algunas bacterias como las citadas a continuación (tabla 9):

Tabla 9. Principales bacterias asociadas a las frutas y hortalizas

Patógeno	Vehículo	Fruto
<i>Salmonella sp.</i>	Suelo, agua	Lechuga, col, apio
<i>Listeria monocytogenes</i>	Suelo, agua	Lechuga, col
<i>Shigella sp.</i>	Estiércol, agua	Hortalizas en general
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Agua	Hortalizas en general
<i>Clostridium botulinum</i>	Suelo	Verduras enlatadas

Adaptado de Adams y Moss, en Microbiología de los alimentos (1997).

Métodos de conservación empleados

- **Lavado.** Elimina en gran cantidad los microorganismos presentes en la cáscara; se debe utilizar con cloro o detergentes para evitar que al aumentar la humedad, aumente el número de microorganismos, especialmente mohos.
- **Temperaturas altas.** Se lleva a cabo el proceso conocido como escaldado, en el cual se someten a vapor de agua para su posterior manufactura.
- **Refrigeración.** Se logra empleando agua fría, hielo o mediante un refrigerador, ya que algunas pueden cambiar su sabor a bajas temperaturas, como es el caso de las papas y cebollas.

- **Congelación.** Inhibe la multiplicación bacteriana; sin embargo, se debe tener especial cuidado al descongelarse porque las esporas pueden volver a su estado vegetativo.
- **Desecación.** Se realiza mediante el método de esponjamiento explosivo, que le confiere una porosidad que en conjunto con la resequedad, disminuyen la carga microbiana.
- **Empleo de conservadores.** Sólo está permitido el cloruro de sodio, en grano o salmuera, el cual inhibe cualquier fermentación por bacteria.
- **Atmósferas modificadas (MAP) y controladas (CAP).** Las diferentes proporciones entre los gases que conforman la atmósfera están íntimamente relacionadas con los procesos físico-químicos del fruto por lo cual permiten controlar el proceso de respiración, retardando así la maduración y permitiendo con ello prolongar la vida de anaquel. Algunos ejemplos de dichas modificaciones se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Condiciones de almacenamiento de una fruta y dos hortalizas.

Hortaliza	% CO ₂	% O ₂
Manzana	1.5 – 10	2.5
Lechuga	2.5	2.5
Cebolla	5 - 10	3

Adaptado de Frazier y Westhoff, en Microbiología de los alimentos (2000).

Bibliografía

- Adams & Moss. (1997). Microbiología de los alimentos. Madrid, España: Editorial Acribia, S. A.
- FAO/OMS. (s. f.). Informe conjunto para la identificación de residuos de plaguicidas e alimentos. Roma.
- Frazier, W., & Westhoff, D. C. (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Vázquez, C, Cos, A. & López, C. (2005). Alimentación y nutrición. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Panreac, s.f.. Métodos analíticos en alimentaria. Panreac QUÍMICA S. A.

Aves y huevo



Figura 18. Productos y derivados de las aves

Definición

Dentro del reino animal, las aves representan un elemento crucial en la cadena alimenticia gracias a su papel en la transferencia de proteínas, por lo que desde tiempos remotos la humanidad se ha valido de ellas para su alimento, ya sea a través de su carne o de sus huevos.

Los principales componentes de la carne de ave son agua (70-75%), proteína (20-22%) y grasa (3-10%), cuyas proporciones pueden variar dependiendo de la zona anatómica analizada. Es también una rica fuente de vitaminas principalmente niacina, riboflavina y tiamina; además proporciona minerales como fósforo y magnesio (Pascual y Calderón, 2000).

Por su parte, el huevo se define como el óvulo de las aves hembras, que es comestible para los humanos, y posee forma ovalada y color de blanco a rojo. Se le considera como la proteína ideal, por ser de las fuentes más abundantes de albúmina y ovoalbúmina, Respecto a sus características nutricionales, éstas se resumen en la tabla 11:

Tabla 11. Componentes nutricionales del huevo y sus componentes.

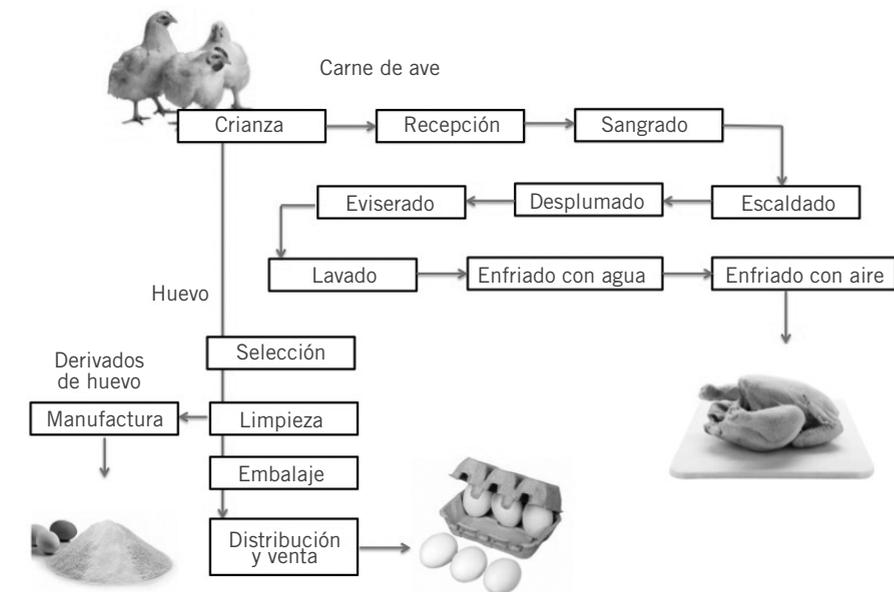
Alimento	Agua %	Proteínas %	Grasas %	Carbohidratos %	Minerales %
Huevo entero	73.7	12.9	11.5	0.9	1
Yema	51.1	16	30.6	0.6	1.7
Clara	87.6	10.9	Trazas	0.8	0.7

Tomado de Pascual y Calderón en *Microbiología alimentaria* (2000).

Proceso de obtención

Además de la carne, el huevo representa una industria muy activa en la comercialización de productos de aves, por lo cual el proceso de obtención engloba los tratamientos a la carne en fresco, así como también la manufactura del huevo y sus derivados (fig. 19).

Figura 19. Procesamiento de aves para la obtención de carne, huevo y derivados



Análisis empleados

- **Prueba organoléptica.** Indica un estado general de la frescura del huevo, a través de características como color y textura. En la carne de ave se busca el color adecuado, así como el olor y sabor característico (Panreac, s.f.).
- **Prueba de iluminación.** Indica la descomposición de un huevo mediante la presencia de manchas oscuras, al ponerlo a contraluz.
- **Prueba de densidad.** Consiste en la inmersión del huevo en agua; los huevos viejos flotan al perder agua por la cáscara.

- **Análisis de hormonas.** Identifica el exceso de hormonas utilizadas para aumentar la masa muscular de las aves, las cuales pueden llegar a causar alteraciones a los consumidores (Panreac, s.f.).
- **Identificación de *Salmonella*.** *Salmonella* es el principal patógeno contenido en la cáscara de huevo, pero es el único que puede estar dentro de él, por ello es necesaria su identificación; los valores obtenidos deben de ser bajos o nulos. También se puede encontrar en carne de ave contaminada (Pascual y Calderón, 2000).
- **Identificación de coliformes.** Busca identificar patógenos como *Escherichia coli* en la cáscara del huevo y la carne de aves (Frazier & Westhoff, 2000).

Fuentes y mecanismos de contaminación

La carne de ave se contamina durante el lavado, que pudo haberse realizado con agua contaminada. Durante el desplumado, cuando al quitarle las plumas los poros quedan abiertos, lo cual significa un riesgo potencial para la entrada de bacterias.

Sin embargo, la principal contaminación se da durante la evisceración, al quedar expuesta la carne a la contaminación por viento y superficies. También se puede contaminar entre la misma carne al tener contacto con la piel, intestinos o ano del ave. Otro riesgo lo constituye el propio operador, y la maquinaria de procesado y empaque. Respecto al huevo, éste se considera estéril por dentro, pero en algunos casos puede estar contaminado de origen, si el ave está infectada y la contaminación ocurre en el proceso de formación, quedando atrapadas las bacterias dentro del huevo, principalmente del género *Salmonella*. Al salir, también se puede contaminar por materia fecal del ave y los nidos o jaulas. Durante el lavado el agua puede estar contaminada, pasando los microorganismos a la cáscara del huevo. La flora microbiana puede aumentar en la recolección y el proceso de manufactura, debido a las manos del operador y los empaques (Frazier & Westhoff, 2000).

Microorganismos patógenos asociados

En la actualidad, las aves han sido un blanco frecuente de numerosas enfermedades que han afectado tanto a las poblaciones animales como humanas, por lo cual ha de prestarse mucha atención en los exámenes microbiológicos realizados en las inspecciones sanitarias tanto de la carne de ave como de sus derivados. Algunos de los patógenos que han representado señales de alerta en los alimentos de origen aviar se resumen en la tabla 12.

Tabla 12. Principales bacterias asociadas a aves, huevos y derivados. Adaptado de Pascual & Calderón, en Microbiología alimentaria (2000).

Patógeno	Alimento
<i>Salmonella sp.</i>	Huevo y carne de ave
<i>Shigella dysenteriae</i>	Huevo
<i>Escherichia coli</i>	Huevos rotos
<i>Pseudomonas sp.</i>	Huevos rotos
<i>Campylobacter jejuni</i>	Carne de ave
<i>Bacillus cereus</i>	Huevo en polvo

Métodos de conservación empleados

- **Lavado con temperaturas altas.** Comúnmente se realiza con agua caliente tanto para aves, y para huevo, cuidando que la clara de este último no se coagule al sobrepasar los 57.5°C. En el caso de aves, se aplica durante el escaldado. La carne de ave enlatada también requiere tratamientos con altas temperaturas.
- **Refrigeración.** Una vez que la carne de ave ha sido cortada en canal, se debe de refrigerar inmediatamente durante un corto tiempo (14 días a 0°C). Los huevos con cáscara se refrigeran después del lavado.
- **Congelación.** Puede conservar la carne de ave durante meses; en el huevo, se utiliza para conservar el contenido del mismo para su posterior manufactura.
- **Desecación.** Se realiza sólo en los derivados de huevo, obteniéndose productos como huevo en polvo, clara en polvo y yema en polvo, los

cuales son mayormente destinados como ingredientes para otros productos manufacturados.

- **Empleo de conservadores.** En los canales de pavo, se utiliza una solución de sal, azúcar y nitrato sódico. En el huevo, se incorporan a la atmósfera o al empaque, protegiendo la cáscara.
- **Atmósferas modificadas (MAP) y controladas (CAP).** Generalmente en los frigoríficos que almacenan canales de pollos, se aumenta la cantidad de CO₂, para evitar la proliferación de microorganismos psicrófilos.
- **Irradiación.** Se utiliza para eliminar gran parte de la flora microbiana de la cáscara del huevo.

Bibliografía

- Adams & Moss. (1997). Microbiología de los alimentos. Madrid, España: Editorial Acribia, S. A.
- Frazier, W., & Westhoff, D. C. (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Pascual, M. & Calderón, Vicente. (2000). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Panreac, s.f.. Métodos analíticos en alimentaria. Panreac QUÍMICA S. A.

Pescado y mariscos



Figura 20. Pescados y mariscos

Definición

Los pescados y mariscos han sido siempre un alimento básico en la dieta humana, representando la fuente de ingreso de millones de personas que viven cerca de los cuerpos acuíferos y más recientemente, dedicadas a la producción de pescados y mariscos en viveros. También representan un símbolo gastronómico característico en las diversas culturas.

Un marisco se define como un animal marino invertebrado comestible, por lo cual se incluyen algunos grupos como los crustáceos (camarón, langostino, cangrejo, etc.), moluscos (mejillones, almejas, ostras, etc.) y algunos equinodermos (erizo de mar). En lo que respecta al pescado, éste puede ser de mar o de vivero.

Este grupo alimentario ha sido muy reconocido debido a sus características organolépticas y nutricionales, por lo cual en la tabla 13 se muestra la composición de algunos de los pescados y mariscos más consumidos a nivel nacional.

Tabla 13. Composición porcentual de algunos pescados y mariscos. Adaptado de Pascual y Calderón, en Microbiología alimentaria (2000).

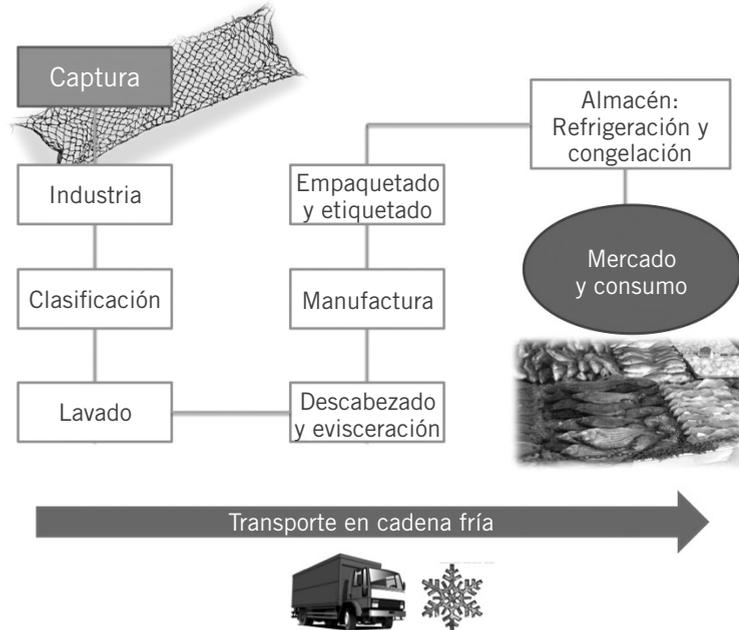
Grupo de alimento		Agua %	Proteína %	Grasa Total %	Carbohidratos %
Pescados	Atún	68.1	23.3	4.9	-
	Tiburón	73.6	21	4.5	-
	Bacalao	76.4	19.9	3.5	-
	Salmón	81.2	17.8	0.7	-
Crustáceos	Langosta	74.1	20.6	2.4	-

	Cangrejo	75.9	20.3	0.9	-
	Camarón	79.6	18.3	0.6	-
Moluscos	Almeja	81.8	12.8	1	2.6
	Ostra	85.2	7.1	2.5	3.9

Proceso de obtención

El proceso en el que se procesan los pescados y mariscos engloba desde la pesca hasta la obtención de derivados y la venta al público (fig. 21). Dentro de éstos se incluyen pescados y mariscos desecados, fermentados, enlatados, curados y harinas de pescado. Por otro lado, si es producto es para consumo en fresco, la manufactura consiste en darle los tratamientos de conservación adecuados para lograr que el producto cumpla con las características esperadas por el consumidor final, por lo cual igualmente que para otros productos perecederos, la cadena de frío es indispensable durante todo el proceso.

Figura 21. Procesamiento general de los pescados, mariscos y derivados



Análisis empleados

- **Sensorial.** Se basa meramente en las propiedades organolépticas para identificar puntos clave sobre la frescura y el estado general del alimento. Ej. olor, color, textura.
- **pH.** El pH brinda un indicio de frescura debido a la actividad de microorganismos asociados a la putrefacción.
- **Microbiológicos.** El pescado y los mariscos son un vehículo altamente asociado a organismos patógenos, por lo que deben identificarse organismos indicadores así como garantizar que se encuentran libres de microorganismos, sobretodo de los géneros: *Vibrio*, *Clostridium* y *Listeria*.

Fuentes y mecanismos de contaminación

La contaminación en productos marinos puede ser de origen, o puede deberse al manejo durante la pesca o almacenamiento, en el cual, los utensilios como cestas, redes, ganchos y las propias manos del pescador pueden contener microbiota nociva. El agua de los cuerpos acuíferos o viveros también puede representar una fuente importante de contaminación, si los productos no se tratan y lavan correctamente durante su manufactura. Dentro de la industria, la maquinaria, el agua de lavado y las manos de los obreros pueden asociarse a la contaminación cruzada, sobre todo en el proceso de evisceración. Ya una vez en el mercado, el hielo o el agua que sirve para mantener la cadena fría pudiese representar un reservorio de microorganismos contaminantes (Frazier & Westhoff, 2000).

Microorganismos contaminantes asociados

Los pescados y mariscos son conocidos debido a la peligrosidad de algunas bacterias originadas en el fondo de los cuerpos de agua. En el caso de los crustáceos, éstos deben ser tomados con mucha atención, ya que se han encontrado algunos géneros bacterianos anaeróbicos procedentes de suelos de agua dulce, lo cual ha puesto alerta sanitaria en el consumo generalizado de alimentos marinos (tabla 14).

Tabla 14. Principales patógenos aislados de pescados y mariscos

Alimento		Patógenos aislados
Pescados	Entero	<i>Clostridium botulinum B, E y F</i>
	Después del proceso inicial	<i>Vibrio, Salmonella, S. aureus, B. cereus, E. coli, C. perfringens, L. monocytogenes, Shigella</i>
Crustáceos	Crudos	<i>Vibrio</i>
	Sin caparazón	<i>Vibrio, Aeromonas</i>
	Por manipulación	<i>S. aureus</i>
	Envasados	<i>Salmonella</i>
Moluscos	Crudos	<i>Vibrio</i>
	Desconchado	<i>S. aureus</i>

Adaptado de Pascual y Calderón, en Microbiología alimentaria (2000).

Métodos de conservación empleados

- Bajas temperaturas. Desde la pesca hasta su preparación antes del consumo es necesario la congelación y/o refrigeración de los productos marinos frescos para evitar en lo posible la proliferación de microorganismos.
- Enlatado. Es un método muy usual en pescados como atún, salmón y arenque.
- Envasado al vacío. Resulta un método eficaz para conservar pescados y mariscos sin necesidad de emplear temperaturas bajas.
- Ahumado. En algunos pescados, el ahumado reduce la microbiota contaminante y a su vez hace algunas aportaciones para mejorar la calidad sensorial.
- Deshidratación. Es muy común en crustáceos y derivados como la harina de pescado.
- Escabeche. Consiste en la adición de agentes ácidos que limitan el crecimiento microbiológico y por tanto aumentan la vida de anaquel. En dicha fase, se agregan condimentos y especias como complemento y potenciadores de sabor (Adams & Moss, 1997).

Bibliografía

- Adams & Moss. (1997). Microbiología de los alimentos. Madrid, España: Editorial Acribia, S. A.
- Frazier, W., & Westhoff, D. C. (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Pascual, M. & Calderón, Vicente. (2000). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. España: Ediciones Díaz de Santos.

Alimentos procesados



Figura 22. Ejemplos de algunos productos procesados

Definición

El mercado de alimentos procesados se conforma a partir de comida deshidratada, congelada y refrigerada, enlatados, cereales, helados, pasta, salsas y aderezos, botanas y otros productos empaquetados como carne, pescado, pan, lácteos, confitería, entre otros. (Secretaría de Economía, 2012).

La industria mexicana de alimentos procesados ha crecido constantemente en los últimos años, principalmente por su capacidad de producción y recursos agrícolas, el crecimiento de la economía, la competitividad para atraer empresas extranjeras y las capacidades del país para fungir como plataforma de exportación hacia los más de 40 países con los que tiene acuerdos comerciales. Las ventajas de los alimentos procesados radican en el consumo atemporal de cualquier alimento, esto es, que los alimentos que sólo se producen en una temporada, se pueden consumir durante cualquier época del año, gracias a los procedimientos de conservación. De hecho, la finalidad última de estos alimentos consiste en la preservación y procesamiento de un alimento, de forma segura para el consumidor (Danigon, s.f.).

Respecto a la integridad nutricional, algunos alimentos pueden perder pequeñas cantidades de nutrientes; sin embargo, si se aplican adecuadamente los procesos de conservación, la pérdida será mínima. A pesar de ello, algunos componentes de los alimentos procesados pueden resultar nocivos para la salud. Los principales son:

Ácidos grasos trans: se encuentran en productos con altos niveles de grasas y que han sido sometidos a procesos de calentamiento, tales como pastelillos, galletas, palomitas para microondas y papas a la francesa. Su consumo se relaciona con la elevación de LDL o colesterol malo, que tapo-

nea las arterias, aumentando la probabilidad de padecer problemas cardiovasculares.

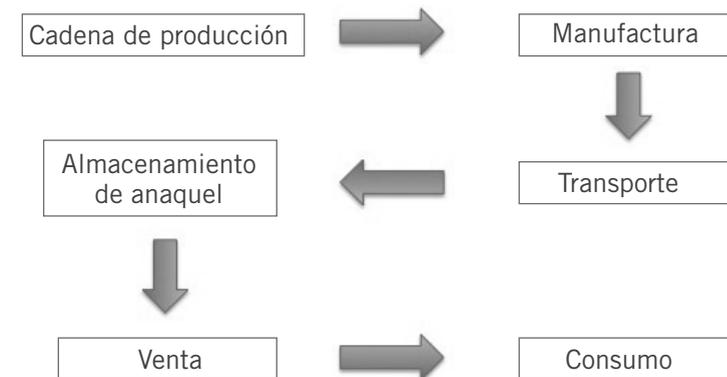
Aditivos y conservadores: se encuentran en la mayoría de productos procesados, tales como panes, carnes, salsas, sopas instantáneas, jugos, etc.

Los más utilizados son colorantes como tartrazina y conservadores como benzoatos y sorbatos. Dichos compuestos a largo plazo pueden provocar reacciones alérgicas, asma e incluso cáncer en el caso de los nitritos y nitratos (Ibañez *et al.*, 2003).

Proceso de obtención

El proceso de obtención y manufactura es específico para cada tipo de alimento, ya que algunos de ellos requieren de tratamientos y acondicionamiento determinado como: enlatado, envasado al vacío, desecación, etc. No obstante, de manera general los alimentos procesados engloban una serie de pasos, que se muestran en la figura 23.

Figura 23. Diagrama general de los procesos que engloban a los alimentos procesados



Análisis empleados

Pruebas organolépticas. Incluyen pruebas de color, sabor, consistencia, textura y apariencia. Antes de iniciar la manufactura para cualquier alimento procesado es necesaria una revisión sensorial de la materia prima, ya sea

fruta, carne, grano, etc. Después del procesado, en el producto terminado, también se verifica textura, color, olor y sabor del producto, el cual debe de estar en los parámetros aceptados para cada alimento (Panreac, s.f.).

Identificación de coliformes. Mediante un muestreo, periódicamente se localiza la presencia de indicadores tanto en la materia prima, como en el producto terminado, para garantizar que éste tenga la calidad requerida (Frazier & Westhoff, 2000).

Medición de magnitudes físicas. Periódicamente mediante muestreos, se mide el contenido neto del producto, ya sea en peso o en volumen. Con ello se pretende que el producto contenga lo que dice en el etiquetado.

Verificación de etiqueta. Garantiza que el producto contenga los ingredientes mencionados en la etiqueta, así como leyendas que prevengan al consumidor sobre el contenido de ciertas sustancias que pueden provocar alergias (FAO).

Fuentes y mecanismos de contaminación

La contaminación de los alimentos procesados se da esencialmente en el proceso de manufactura, tanto por el equipo e instrumentos utilizados, maquinaria, recipientes, tuberías, etc., como por parte de los operarios. También se puede dar contaminación cruzada, al mezclar ingredientes infectados con ingredientes ya tratados; también la contaminación puede provenir de materia prima contaminada, cuya flora microbiana sobrevivió a los métodos de conservación, si éstos no se aplicaron correctamente.

Durante el envasado, si los envases no se encuentran estériles pueden contaminar al producto terminado. Otro factor de riesgo lo constituye el aire de la planta industrial (Frazier & Westhoff, 2000).

Microorganismos patógenos asociados

Los alimentos procesados son sometidos a varios procesos de conservación que tienen el objetivo de disminuir la carga microbiana para representar un alimento seguro, y a la vez prolongar la vida de anaquel; sin embargo, a pesar de dichos procesos se han aislado patógenos aún en el producto terminado, ya sea porque se contaminó de forma cruzada como en el caso de

Salmonella sp. en mayonesas, o porque sobrevivió al proceso de conservación gracias a la producción de esporas, las cuales resisten temperaturas y condiciones altamente adversas, como sucede con los géneros *Clostridium* y *Bacillus*. Cabe recordar que los patógenos encontrados en estos alimentos son menos frecuentes en comparación con alimentos crudos (Pascual y Calderón, 2000). En la tabla 15 se pueden observar algunos de los microorganismos mencionados.

Tabla 15. Principales bacterias patógenas aisladas en alimentos procesados

Patógeno	Alimento
<i>Salmonella sp.</i>	Por contaminación cruzada de huevos crudos en mayonesa y sopas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Salsas y pastelería
<i>Clostridium perfringens</i>	Salsas
<i>Clostridium botulinum</i>	Enlatados y vegetales en conserva
<i>Bacillus cereus</i>	Huevo en polvo, leche en polvo, sopas

Adaptado de Pascual y Calderón, en *Microbiología alimentaria* (2000).

Métodos de conservación empleados

- **Temperaturas altas.** Incluye tratamientos como pasteurización y ultrapasteurización. De manera general, se aplican temperaturas de 60-80°C en la primera, mientras que en la UHT, llegan incluso a los 100°C, durante pocos segundos. Algunos alimentos procesados con altas temperaturas son los jugos, salsas, cremas para comer, refrescos, aderezos, cerveza y vinos (Frazier & Westhoff, 2000).
- **Cocción.** Es la operación culinaria que se sirve del calor para que un alimento sea más rico, apetecible y digerible, favoreciendo también su conservación. La mayoría de las frutas y muchas verduras pueden comerse crudas, así como en determinados casos la carne, el pescado y los huevos; sin embargo la mayoría de los productos se cuecen.
- **Irradiación.** Se emplea para el proceso de pasteurización de algunos jugos, pero su aplicación más común, se da en especias y frutos secos,

tales como nueces y almendras. También se utiliza para esterilizar los envases (Sendra *et al.*, 2001).

- **Temperaturas frías.** Más que un método propiamente de procesado, funge como un requisito de almacenamiento para los productos terminados, y como un eslabón de la cadena de manufactura durante el procesamiento. Algunos alimentos procesados que se deben mantener a bajas temperaturas son las carnes, embutidos, derivados lácteos, refrescos y jugos, pasteles congelados, vegetales, entre otros. Algunos otros se deben mantener en refrigeración después de abierto el envase, tales como latas, frascos, tetra packs, etc.
- **Desecación.** Se utiliza para obtener leche en polvo, huevo en polvo, cebolla en polvo, especias, cereales, chocolates, esencias de frutas, harina de pescado, frutas secas, quesos, entre otros.
- **Empleo de conservadores.** Es la forma más utilizada para conservar alimentos procesados y se utiliza en casi todos los alimentos incluyendo quesos, embutidos, refrescos, panes y galletas, mermeladas, frutas y hortalizas en conserva, salsas, harinas, sopas desecadas, condimentos, etc.
- **Atmósferas modificadas.** El envasado al vacío se utiliza ampliamente en carnes procesadas, quesos empacados, jamones ahumados, y alimentos en bolsas selladas al vacío, tales como aceitunas, frijoles fritos, sopas, etc. Se utiliza también para sellar frascos de papillas, frutas y hortalizas en conserva, aceitunas, mermeladas, etc.
- **Enlatado.** Surgió en el ejército francés para conservar alimentos. Después del proceso de pasteurización y cocción, el alimento se introduce en una lata que se sella herméticamente, y pasa nuevamente por un proceso de esterilización. Los enlatados más comunes son: atún, leches condensadas y evaporadas, hortalizas y frutillas, carne, granos cocidos, salsas, cremas, frijoles cocidos y refrescos.

Bibliografía

FAO/OMS. (s. f.). Informe conjunto para la identificación de residuos de plaguicidas e alimentos. Roma.

- Frazier, W., y Westhoff, D. C. (2000). Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Pascual, M. y Calderón, Vicente. (2000). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Panreac (s.f.). Métodos analíticos en alimentaria. Panreac QUÍMICA S. A.
- Sendra, E., Capellas, M., Guamis, B. (2001). Alimentos irradiados. España: Revista ARBOR.
- Ibañez, F., Torre, P. E Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/Funcionales/aditivos.pdf
- Danigon. (s.f.). ¿Qué son los alimentos procesados?. Productos alimenticios: http://es.over-blog.com/Que_son_los_alimentos_procesados-1228321775-art379987.html
- Secretaría de Economía. (2012). Sector de alimentos procesados en México. Mapa de Inversión en México: http://mim.promexico.gob.mx/wb/mim/agroalimentaria_perfil_del_sector

Agua



Definición

El agua es una sustancia cuya molécula está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno (H₂O). Es esencial para la supervivencia de todas las formas conocidas de vida. El término agua generalmente se refiere a la sustancia en su estado líquido, aunque la misma puede hallarse en su forma sólida llamada hielo, y en su forma gaseosa denominada vapor. El agua cubre el 71 % de la superficie de la corteza terrestre. Se localiza principalmente en los océanos donde se concentra el 96.5 % del agua total, los glaciares y casquetes polares poseen el 1.74 %, los depósitos subterráneos (acuíferos), los permafrost y los glaciares continentales suponen el 1.72 % y el restante 0.04 % se reparte en orden decreciente entre lagos, humedad del suelo, atmósfera, embalses, ríos y seres vivos.

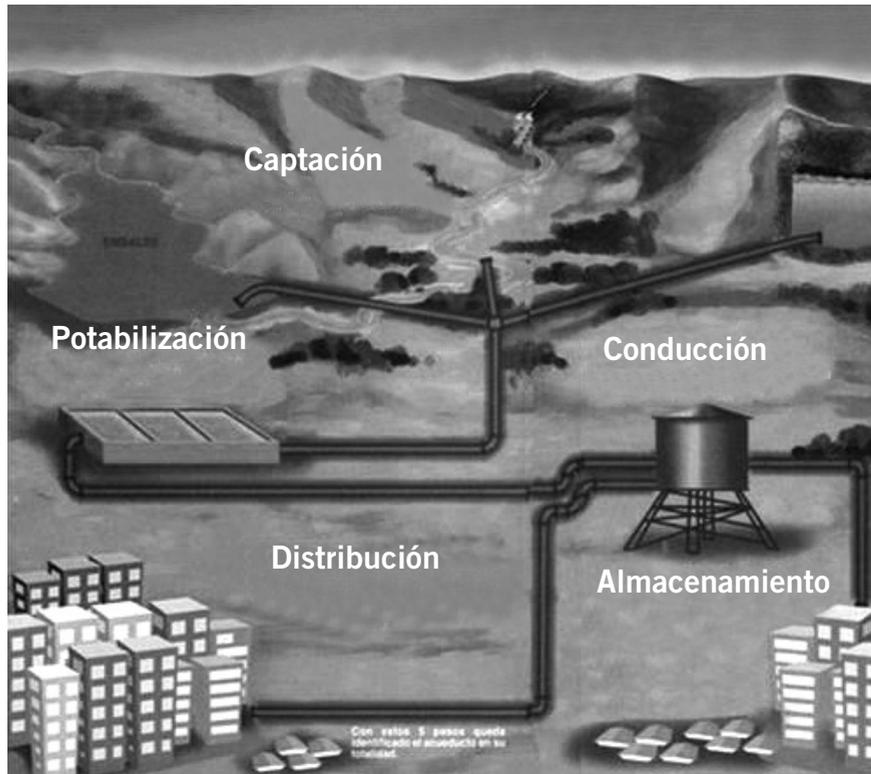
El agua constituye un alimento esencial, puesto que es indispensable para la vida. Interviene en nuestra alimentación y en la preparación de alimentos. En ese mismo sentido, el agua es un elemento esencial en la industria alimentaria y se utiliza con distintos fines como: el lavado y tratamiento de alimentos, la preparación de hielo para conservación de alimentos, lavado de material, esterilización de productos o material, para enfriamiento de conservas y otros alimentos y las utilizadas en acuicultura (agua de mar o agua dulce), y puede ser, además, un vector de gérmenes peligrosos. En todos los casos, las industrias que utilizan estas aguas tienen la responsabilidad de que posean una calidad bacteriológica satisfactoria y por lo tanto, reducir los riesgos de transmisión de enfermedades a la población por su consumo, como las de tipo gastrointestinal y las producidas por contaminantes tóxicos. Esta vigilancia se ejerce a través del cumplimiento de los límites permisibles de calidad del agua y complementariamente, inspeccionando que las características de las construccio-

nes, instalaciones y equipos de las obras hidráulicas de captación, plantas cloradoras, plantas de potabilización, tanques de almacenamiento o regulación, líneas de conducción, redes de distribución, cisternas de vehículos para el transporte y distribución y tomas domiciliarias protejan el agua de contaminación. El resultado de la verificación e inspección de las características mencionadas, se evalúa comparando las condiciones que presentan los sistemas de abastecimiento, con los requisitos sanitarios que permiten preservar la calidad del agua.

Proceso de obtención de agua potable

La potabilización del agua proveniente de una fuente en particular, debe fundamentarse en estudios de calidad y pruebas de trazabilidad a nivel de laboratorio para asegurar su efectividad. Se puede producir agua potable a partir de cualquier fuente natural de agua como por ejemplo agua subterránea, lagos y ríos (agua superficial) o agua de mar. Si la fuente del agua es superficial, agua de un río arroyo o de un lago, ya sea natural o artificial, el tratamiento suele consistir en un stripping de compuestos volátiles seguido de la precipitación de impurezas con floculantes, filtración y desinfección con cloro u ozono. El caso extremo se presenta cuando el agua en las fuentes disponibles tiene presencia de sales y/o metales pesados. Los procesos para eliminar este tipo de impurezas son generalmente complicados y costosos. En zonas con pocas precipitaciones y zonas de disponibilidad de aguas marinas se puede producir agua potable por desalinización. Este se lleva a cabo a menudo por ósmosis inversa o destilación (fig. 24).

Figura 24. Diagrama general de los procesos de potabilización del agua



Análisis empleados

- 1. Contaminación biológica:** Bacterias, helmintos, protozoarios y virus.
- 2. Características físicas y organolépticas:** Color, olor, sabor y turbiedad.
- 3. Constituyentes químicos:** Dureza, materia orgánica, sólidos disueltos totales, arsénico, aluminio, bario, cadmio, cianuros, cobre, cromo total, plomo, cloruros, fenoles o compuestos fenólicos, fierro, manganeso, fluoruros, mercurio, nitratos, nitritos, nitrógeno amoniacal, pH, plaguicidas, sodio, azufre, sulfatos, sustancias activas al azul de metileno, trihalometanos y zinc.
- 4. Características radiactivas:** Son aquellas resultantes de la presencia de elementos radiactivo.

Métodos para el tratamiento de agua

Desinfección con cloro, compuestos de cloro, ozono, luz ultravioleta, Coagulación-floculación-precipitación-filtración, intercambio iónico, ósmosis inversa, destilación, ablandamiento químico, intercambio iónico, adsorción en carbón activado, oxidación con ozono, oxidación-filtración, coagulación química, desgasificación, desorción en columna y neutralización.

Fuentes y mecanismos de contaminación

El origen de la contaminación del agua es muy variado pero se pueden citar como causantes a los desechos urbanos e industriales, los drenados de la agricultura y las minas, la erosión, los derrames de sustancias tóxicas (accidentales o intencionales), los efluentes de plantas depuradoras, los subproductos de los procesos de depuración, la ruptura de drenajes y el lavado de la atmósfera, entre otros.

Organismos patógenos transmitidos por el agua

Tabla 16. Principales organismos patógenos transmitidos por el agua

Bacterias	Virus	Parásitos
<i>Salmonella typhi</i>	Enterovirus (Poliovirus 1, 2, 3, Coxsackie A y B, Echovirus)	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Salmonella sp.</i>	Astrovirus	<i>Cryptosporidium parvum</i>
<i>Shigella sp.</i>	Virus de la Hepatitis A (VHA)	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	Virus de la Hepatitis E (VHE)	<i>Cyclospora var. Cayetanensis</i>
<i>Eschericia enterohemorrágica O157:H7</i>	Rotavirus (Grupo A)	<i>Balantidium coli</i>
<i>Eschericia coli entoroínasiva</i>	Rotavirus (Grupo B)	<i>Dracunculus medinensis</i>
<i>Eschericia enteropatógena</i>	Calicivirus	

<i>Campylobacter jejuni</i>	Virus tipo Norwalk	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		
<i>Aeromonas sp.</i>		

Bibliografía

Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”.

Jiménez Cisneros B. E. 2005. La Contaminación Ambiental en México: causas, efectos y tecnología aplicada. México. Editorial Limusa

<http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/contenido/capitulo13.html>

Manual teórico práctico de Microbiología de Alimentos

se terminó de imprimir en marzo de 2015

en Editorial Página Seis, S.A. de C.V.

Morelos 1742, Col. Americana, CP 44160

Guadalajara, Jalisco, México

Tels. (33) 3657-3786 y 3657-5045

www.pagina6.com.mx • p6@pagina6.com.mx

Se tiraron 500 ejemplares.

Coordinación editorial Felipe Ponce

Diseño David Pérez

Corrección Mónica Millán / Mónica Lafaire

