

000697

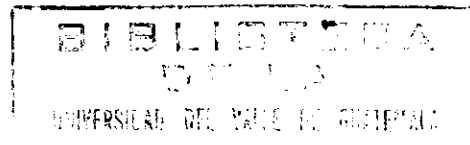
Universidad del Valle de Guatemala
Facultad de Ciencias y Humanidades

Trabajo de Graduación

EVALUACION DEL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO, TIAMINA Y DE LAS
CARACTERISTICAS MICROBIOLOGICAS DE UNA FORMULA LACTEA

María Isabel Matta Azpuru

Licenciatura en Nutrición



Guatemala, septiembre de 1995

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	2
A. Generalidades	2
1. La leche	2
2. Diferentes tipos de leche	3
a) En el comercio	3
i. Estándares químicos de las fórmulas	4
ii. Composición química de las fórmulas de la leche maternizada	5
iii. Características de la leche maternizada comercial	6
b) Preparadas en el laboratorio de leche	6
3. Tecnología de la leche	8
4. Microbiología de la leche	8
B. Importancia de las vitaminas C y B-1 en la infancia	9
1. Tiamina	9
2. Acido ascórbico	10

	pág.
C. Enfermedades transmitidas por los alimentos	11
1. Enfermedades transmitidas por gérmenes patógenos	11
2. Envenenamiento e infecciones alimenticias causadas por bacterias	13
3. Envenenamientos alimenticios producidos por agentes distintos de los microorganismos	14
D. Nutrición y crecimiento de los microorganismos	13
1. Factores que influyen en el crecimiento	13
a) Humedad	13
b) Nutrientes	14
c) Temperatura	15
d) pH	15
e) oxígeno	15
f) Sustancias inhibitorias	16
2. Inhibición y destrucción de los microorganismos	16
a) Definiciones	16
i. Esterilización terminal	16
ii. Germicida o desinfectante	17
iii. Antiséptico	17
E. Procedimiento para el manejo y tratamiento de las fórmulas	17

1.	Esterilización terminal	19
2.	Ventajas y desventajas que presentan los métodos de esterilización terminal	21
a)	El método sin presión a ebullición por 25 minutos	21
b)	El método con presión a 110 C por 10 minutos	21
—	F. Efecto del calentamiento terminal en las vitaminas	22
III.	JUSTIFICACION	24
IV.	HIPOTESIS	25
V.	OBJETIVOS	26
A.	General	26
B.	Específicos	26
VI.	DISEÑO METODOLOGICO	27
A.	Universo	27
B.	Muestras	27
C.	Tipo de estudio	27
D.	Materiales	27
1.	Instrumentos	27
2.	Recursos humanos	27
3.	Recursos materiales	28

	pág.
4. Reactivos	28
E. Metodología	29
1. Para la determinación del número de muestras	29
2. Para la selección de las muestras	29
3. Para la determinación de tiamina, ácido ascórbico y calidad microbiológica	30
a) Determinación de tiamina	30
b) Estimación de ácido ascórbico	32
c) Determinación de la cantidad de microorganismos en la leche en la fórmula F3	32
4. Tabulación de datos	33
5. Análisis de datos	33
VII. RESULTADOS	34
A. Determinación de la cantidad de tiamina	34
1. Solución estándar	34
2. Cantidad de tiamina en las muestras	35
3. Cálculos estadísticos	35
E. Determinación de la cantidad de ácido ascórbico	37
1. Cantidad de ácido ascórbico	37
2. Cálculos estadísticos	37
C. Determinación de la calidad microbiológica	39

	pág.
1. Cantidad de microorganismos antes y después de esterizar	39
2. Cálculos estadísticos	39
VIII. DISCUSIONES	40
IX. CONCLUSIONES	45
X. RECOMENDACIONES	47
XI. BIBLIOGRAFIA	49
XII. ANEXOS	52

I. INTRODUCCION

Actualmente, el Hospital General San Juan de Dios se encuentra en época de crisis económica situación que limita el abastecimiento de equipo adecuado dentro del laboratorio de leches. Además, existe falta de personal operativo, sobre todo de limpieza, que impide trabajar en condiciones totalmente higiénicas.

Debido a que las fórmulas para lactantes son sometidas a un proceso de esterilización final por medio de vapor, se debe evaluar periódicamente, tanto su calidad microbiológica como vitamínica, especialmente tiamina y ácido ascórbico, ya que son susceptibles de ser destruidas por el calor.

El presente trabajo tuvo como fin principal, evaluar el contenido de ácido ascórbico y tiamina y el grado de contaminación de una fórmula suministrada a los lactantes encontrando como resultados una adecuada calidad microbiológica en perjuicio de una pérdida de las vitaminas anteriormente consideradas.

II. ANTECEDENTES

A. Generalidades

1. La leche

En condiciones naturales, la leche materna pasa directamente de la madre al niño, sin que presente problema alguno de manipulación y conservación. Es considerada el alimento ideal para el crecimiento del niño (1).

Su importancia se basa en que es una fuente excepcionalmente buena de:

- proteína de alto valor biológico para el crecimiento
- calcio, para el desarrollo de huesos y dientes, zinc, fósforo y fluoruro.

- vitaminas A, D, tiamina, riboflavina, piridoxina, biotina, niacina, ácido pantoténico, etc.

Su grasa es muy apreciada en forma de crema o mantequilla (1).

Las cualidades nutritivas de la leche y los productos lácteos, los convierten en alimentos deseables para los seres humanos. Estos mismos valores nutritivos permiten también el crecimiento de muchos microorganismos, algunos de los cuales pueden ocasionar cambios indeseables. La leche es un producto de secreción de origen animal y sus cualidades sanitarias están influidas por factores que intervienen en el curso de su producción, elaboración y

entrega al consumidor (2).

Expuesta al medio ambiente, la leche resulta muy perecedera, pues su estado líquido y su composición nutritiva la hace propensa a alterarse, por la acción de los microorganismos que originalmente tiene, o que se introducen al manipularla. La descomposición rápida de la leche no elaborada, ha inducido al hombre desde tiempos muy antiguos a idear medios para preservar algunos o la mayor parte de sus nutrientes. La bacteriología y tecnología modernas han descubierto muchos métodos para hacerla inocua y estable (1).

2. Diferentes tipos de leche

a) En el comercio

Cuando la lactancia materna no es posible o cuando existen condiciones patológicas que demandan la utilización de sustitutos, las fórmulas comerciales son una alternativa para llenar los requerimientos nutricionales del niño.

La composición de las fórmulas comerciales se aproxima al máximo a lo que es la leche materna. No se pueden considerar iguales ya que no son bioquímicamente idénticas, sin olvidar que las fórmulas comerciales no tienen las propiedades inmunológicas de la leche materna.

i. Estándares químicos de las fórmulas:

Existen estándares químicos que deben seguir las casas comerciales al producir las fórmulas; estos datos se deben utilizar en la producción de fórmulas para infantes menores de un año de edad.

-la densidad debe ser de 0.67 kcal/ml

-la osmolalidad debe estar comprendida entre 300 y 400 mOsm/L

-debe tener un contenido proteínico de 1.8 g/100 kcal.

Se considera aceptable un contenido máximo de 4.5 g/100 kcal

-la grasa debe proporcionar el 30% de la energía total. Se recomienda un máximo de seis g/100 kcal o 57% de las kilocalorías

-los carbohidratos deben proporcionar entre 40 y 50% de la energía

-los niveles de vitaminas recomendados son: niacina 250 μ g/100 kcal, vitamina B-6 35 μ g/100 kcal, vitamina A 750 μ g/100 kcal, vitamina D 62 UI/100 kcal, vitamina K 4-8 μ g/100 kcal, vitamina E 0.3 UI/100 kcal, biotina 1.5 μ g/100 kcal, colina siete mg/100 kcal, inositol cuatro mg/100 kcal, tiamina 0.05 mg/100 kcal y 2.1 mg/100 kcal de vitamina C (24, 25, 28).

-deben ser suplementadas con sodio, potasio y cloro en una relación de 1.1:1.5, respectivamente. El calcio y el

fósforo deben estar en una relación de 1.2:2.0. El hierro cuando está incluido, debe ser en cantidad de un mg/100 kcal. El zinc debe llenar el requerimiento mínimo de 0.5 mg/100 kcal y el magnesio, cinco μ g/100 kcal (28).

ii. Composición química de las fórmulas de leche maternizada

La mayoría de las fórmulas contienen una concentración de proteína de 1.5 g/dl. Estas últimas consisten en caseína, que es una proteína que contiene fósforo y se encuentra sólo en la leche, lactoalbúmina y globulinas.

Los carbohidratos presentes en las fórmulas, consisten principalmente en lactosa. Cabe mencionar que las fórmulas a base de soya, poseen sacarosa o polímeros de glucosa.

La grasa de las fórmulas, proviene de una combinación química de muchos ácidos grasos diferentes con la glicerina. Usualmente el 50% de la energía que no proviene de las proteínas es proporcionado por la materia grasa (1, 25).

iii. Características de la leche maternizada comercial

Este tipo de leche es un sustituto de la leche materna. Son preparadas en dos formas: una es a base de leche descremada de vaca, aceites

vegetales y carbohidrato adicionado. La otra se prepara utilizando leche descremada, caseinato de sodio, suero desmineralizado, una mezcla de aceites y carbohidrato adicionado. El suero se agrega a la fórmula, para llegar a una relación suero/caseína de 60:40, la cual se aproxima a la relación contenida en la leche materna (80:20).

Algunas vienen suplementadas con hierro, mientras que otras no. Cuando se utiliza este tipo de alimentación, no es necesaria la suplementación adicional de vitaminas (28).

b) Preparadas en el laboratorio de leche

La leche que se prepara en el laboratorio de leche, es un tipo de alimentación artificial ya que prescinde de la leche materna (18).

Se encontró, que en el laboratorio de leche del Hospital General San Juan de Dios, se preparan dos tipos de fórmulas; las fórmulas estandarizadas y las fórmulas con instructivo que son calculadas por el nutricionista, de acuerdo a las necesidades del paciente.

Las fórmulas estandarizadas se diferencian entre sí, por el aporte calórico, uso y composición. Estas fórmulas se dividen en fórmulas de recuperación nutricional y fórmulas corrientes usadas por todos los servicios de pediatría.

Una fórmula que se prepara, es la de leche maternizada

o F3 según el esquema e ingredientes que se muestran en los anexos 8 y 9.

Los productos utilizados en la preparación de las fórmulas estandarizadas son:

a) Leche maternizada(F3): es de uso exclusivo para infantes menores de seis meses de vida la cual se reconstituye, pudiéndosele agregar en casos necesarios azúcar y aceite con el objeto de lograr el balance nutritivo y aporte energético adecuado al estado nutricional del paciente.

b) Leche entera(F1): se emplea generalmente en la alimentación de niños mayores de seis meses de vida y que no presentan problemas de intolerancia. Esta, lo mismo que la leche maternizada, puede mezclarse con azúcar y aceite según se necesite (22).

c) Leche de soya(F4): es utilizada exclusivamente cuando se tienen pacientes que presentan intolerancia a la lactosa.

d) Incaparina: es otro tipo de fórmula que se utiliza para pacientes mayores de seis meses de vida. El valor energético de la misma, puede ser aumentado al adicionar azúcar y aceite (27).

e) Otras leches especiales: son utilizadas para tratar anomalías metabólicas específicas y niños

prematuros (19,20).

3. Tecnología de la leche

La leche es un medio excelente para el desarrollo de microorganismos. Se facilita por el pH (7.0) y la temperatura de su producción. Por tanto, puede ser uno de los vehículos más peligrosos de infecciones. Al mismo tiempo, es un alimento de sabor delicado y fácilmente alterable, por lo que muchos métodos de conservación, no son aplicables sin que efectúen una modificación desfavorable (se puede mencionar la ebullición o cocción) o sin convertirla a un alimento distinto (1).

4. Microbiología de la leche

La importancia que tiene la presencia de microorganismos en la leche, es muy variada. Algunas de ellas son:

a) La información sobre su contenido microbiano es utilizado para juzgar su calidad sanitaria y las condiciones en que fue producida.

b) Si hay ocasión de que las bacterias se multipliquen en la leche, producen cambios químicos como la degradación en las grasas, proteínas y carbohidratos, haciéndola de mal sabor.

c) La leche es susceptible de contaminarse con

microorganismos patógenos, por eso se deben tomar precauciones para reducir esa posibilidad y destruirlos (4).

B. Importancia de las vitaminas C y B-1 en la infancia

Durante el primer año de vida del niño, se observan crecimiento y desarrollo acelerados, por lo que las necesidades nutricionales por kilogramo de peso, son elevadas. De la satisfacción de estas necesidades dependen el buen estado de nutrición y salud del lactante (17).

1. Tiamina

La tiamina es una vitamina soluble en alcohol y agua que actúa en varios procesos de descarboxilación oxidativa, incluyendo la del ácido pirúvico. Es un compuesto pirimidina-tiazol y se encuentra en cantidades suficientes en los alimentos de origen animal y vegetal. Además, cumple una función importante en la transquetolación y en el sistema nervioso (25).

Se absorbe fácilmente en los intestinos delgado y grueso. En las células, se combina para formar pirofosfato de tiamina. Se almacena en el organismo en forma limitada, eliminándose el exceso por la orina. La tiamina tiene una importante participación en el metabolismo de los carbohidratos y en la descarboxilación de los ácidos pirúvico y cetoglutárico, ya que entran en el ciclo de

Krebs (21, 22, 23, 24).

Los requerimientos diarios de tiamina se muestran en el anexo 2.

Una deficiencia de esta vitamina, provoca falla en las funciones anteriormente mencionadas.

2. Acido ascórbico

El ácido ascórbico interviene en un considerable número de reacciones bioquímicas, sobre todo de oxidación. Es un potente reductivo y desempeña un papel importante en el desarrollo normal de los fibroblastos, osteoblastos y osteoclastos. Es activa en la conversión de hidroxiprolina a prolina en la síntesis de colágeno, en la formación de hidroxilina e hidroxitriptófano. En la reducción del ácido fólico a ácido tetrahidrofólico y en la síntesis de neurotransmisores. La vitamina C interviene en el metabolismo de la tirosina. En el recién nacido que recibe altas cantidades de proteína, se han observado niveles elevados de tirosina a menos que reciba suplemento de vitamina C (21, 22).

En el anexo 1 se muestran las recomendaciones dietéticas de vitaminas para niños menores de seis meses de edad.

C. Enfermedades transmitidas por los alimentos

Las enfermedades causadas por los alimentos se dividen

en tres:

1. Enfermedades transmitidas por gérmenes patógenos

El alimento puede transmitir gérmenes patógenos de una persona a otra, en gran parte porque pasan de una a otra por medio de objetos sucios, tales como monedas, perillas de puertas, pasamanos, tazas comunes para beber, y otros semejantes. El alimento sirve de vehículo de transmisión. También es posible la transmisión de los gérmenes patógenos de los animales al hombre, por medio del alimento.

La mayor parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos, son las de los aparatos respiratorio e intestinal. Males transmisibles importantes, son el resfriado común, escarlatina, infección de las amígdalas, gastroenteritis, difteria, tuberculosis, gripe, fiebres tifoidea y paratifoidea, disenterías, cólera y hepatitis infecciosa. Los organismos causantes de esas enfermedades son las bacterias, los protozoarios y los virus. En el anexo 3 se muestra la forma de transmisión de los gérmenes a los comestibles (5).

La mosca ordinaria está asociada comúnmente a los sitios donde el hombre vive y come, pero también a los excusados, establos, estiércol, desperdicios y otras inmundicias. Este traslado de la suciedad a los comestibles, hace de ella una amenaza para los

establecimientos de servicio de alimentación. Mientras se nutre de un comestible, periódicamente regurgita líquido producido por ella, con objeto de disolver el comestible y tomarlo con mayor facilidad. El líquido regurgitado puede contener gérmenes patógenos. Estos también los lleva la mosca en sus patas.

Las cucarachas son una plaga común en cocinas y panaderías. Como las moscas, contaminan los comestibles con su región bucal, sus patas y excremento. También ellas regurgitan material contaminado sobre los comestibles limpios mientras se nutren de éstos.

Los organismos patógenos pueden ser transmitidos por equipo y utensilios, si éstos han sido tocados por manipuladores y clientes enfermos o transmisores, o si han sido visitados por moscas y cucarachas, o expuestos al goteo de aguas sucias o a la acumulación de éstas en fregaderos o en otros desagües por defectos en las cañerías, o puestos en contacto con agua contaminada (5).

2. Envenenamiento e infecciones alimenticios causados por bacterias

Estas expresiones, se refieren a la gastroenteritis que resulta de la ingestión del comestible dañino.

Este contiene, por lo general, un alto número de

bacterias que son capaces de producir la gastroenteritis que aqueje a la víctima. Algunos de esos gérmenes patógenos pueden descargar toxinas en los alimentos. Esas toxinas son la causa directa de la enfermedad. Otros gérmenes, no obran hasta que son engullidos, después de lo cual originan una infección del aparato intestinal (5).

3. Envenenamientos alimenticios producidos por agentes distintos de los microorganismos

El comestible dañino contiene productos químicos venenosos que pueden causar daños irremediables (5).

D. Nutrición y crecimiento de los microorganismos

Cualquier alimento, es capaz de tener alguna contaminación microbiana. Si es patógeno o no, no tiene importancia. Su presencia, denota un problema potencial de descomposición, o un peligro de salud pública. Aún las precauciones mínimas tomadas para asegurar al producto del crecimiento de los contaminantes presentes o la promoción del crecimiento de microorganismos deseables, será de valor económico, así como un factor de seguridad.

1. Factores que influyen en el crecimiento

a) Humedad

Todos los organismos requieren humedad y todos crecen en presencia de un abundante abastecimiento. Debe enfatizarse en que con los microorganismos, los

nutrientes deben estar en solución (7).

b) Nutrientes

Los carbohidratos, especialmente los azúcares, pero otros compuestos de carbono pueden servir como ésteres, alcoholes, péptidos, aminoácidos, ácidos orgánicos y sus sales.

Un número limitado de clases de organismos pueden obtener su energía de grasas pero sólo si otra fuente más disponible como los azúcares no están presentes. En general, los organismos aeróbicos están usualmente envueltos en la descomposición de las grasas.

Los subproductos de las proteínas, péptidos y aminoácidos sirven como fuentes de energía para muchos organismos proteolíticos, cuando está presente una mejor fuente de energía.

Los microorganismos, creciendo en un medio pueden abastecer de vitaminas a otros organismos o competir con ellos por las vitaminas presentes.

c) Temperatura

Juega un papel importante en el crecimiento. Los microorganismos, son más susceptibles a altas temperaturas. Su reacción a la temperatura, permite clasificarlos en grupos. Estos grupos no tienen límites,

y se traslapan. En el anexo 4 se muestran los diferentes grupos de microorganismos (7).

d) pH

La concentración de iones hidrógeno, o pH y el poder buffer del medio, son importantes por su influencia en las clases de microorganismos aptos para crecer (7).

e) Oxígeno

i. Bacterias

En base a su respiración se clasifican en:

-aerobias

-anaerobias

-facultativas (si crecen con o sin oxígeno libre)

-microaerofílicas (requieren una pequeña pero definida cantidad de oxígeno libre)

ii. Levaduras

Son aerobias o facultativas

iii. Mohos

Los mohos son aerobios y necesitan oxígeno libre para crecer.

f. Sustancias inhibitorias

El calentamiento de los alimentos, puede producir sustancias inhibitorias: autoxidación de lípidos, oscurecimiento de azúcar, con la producción de furfural e hidroximetil furfural (7).

2. Inhibición y destrucción de microorganismos

a) Definiciones

i. Esterilización terminal

Significa la completa destrucción de microorganismos (7).

La esterilización terminal, es un proceso por medio el cual, la unidad de biberón completo (botella llena, tetilla y tapadera) es expuesta a un grado de calor suficiente para hacerla bacteriológicamente segura. El procedimiento sirve a dos necesidades esenciales:

-representa el método más cercano a la eliminación de la contaminación humana, cuyos resultados pueden ser la transmisión de infecciones al lactante. Este objetivo, puede ser cumplido en los hospitales por el uso de la esterilización terminal o final.

-el método ahorra tiempo y trabajo y reduce las operaciones de una cocina dietética de lactantes. Hace innecesaria la esterilización de las fórmulas, utensilios y botellas antes del llenado. Sin

embargo, es esencial el uso de una limpieza escrupulosa por medio de todo el proceso de preparación (8).

ii. Germicida o desinfectante

Un desinfectante, es un agente usualmente químico que evita la infección, destruye el microorganismo patógeno (exceptuando las esporas bacterianas) e inactiva los virus (15).

iii. Antiséptico

Un antiséptico es una sustancia que evita o contrarresta el crecimiento o la acción de los microorganismos, ya sea inhibiendo su actividad o destruyéndolos (15).

E. Procedimiento recomendado para el manejo y tratamiento de las fórmulas lácteas

Una buena organización y un adecuado manejo del laboratorio de leche, es de vital importancia para un hospital, ya que de esa forma se pueden controlar los desórdenes diarreícos de los niños.

Una operación eficiente reúne los siguientes requisitos (8):

-una fórmula sometida a un proceso de calentamiento terminal, se considera aceptable si cuenta con menos de 25 microorganismos por mililitro (cc).

-el laboratorio de leche debe utilizarse solamente para

la preparación de fórmulas lácteas.

-la preparación de las fórmulas debe separarse del lavado de equipo.

-utilizar detergente en lugar de jabón; los mamones deben preesterilizarse.

-las fórmulas que se enfrían, deben refrigerarse inmediatamente a 40 grados F (4-5 grados C), para evitar una incubación prolongada de cualquier microorganismo que haya sobrevivido al proceso de calentamiento terminal.

-realizar periódicamente un chequeo médico al personal relacionado con la preparación de las fórmulas.

-el laboratorio de leche, debe estar próximo al área de trabajo del personal responsable de su funcionamiento, para facilitar una adecuada y frecuente supervisión (anexo 7).

-la esterilización terminal de la unidad completa de alimentación (botella llena con tetilla y tapadera correspondiente) produce una fórmula láctea bacteriológicamente aceptable.

-si se pone en práctica una rigurosa técnica de limpieza del equipo, además de la esterilización terminal, se hace innecesario el uso de la pre-esterilización de botellas y la técnica estéril, para mayor eficiencia de operación.

1. Esterilización terminal

Como se definió anteriormente, la esterilización es un proceso mediante el cual se destruye todo tipo de microorganismos existentes en las fórmulas.

En los hospitales, las leches presentan varios defectos que son generalmente el resultado de una sobre-exposición por calentamiento, o bien por las fallas del equipo. Por otra parte, el insuficiente calentamiento da recuentos bacteriológicos altos de la fórmula y aun puede agriar la leche. Estas dificultades se previenen usando adecuadamente la técnica de esterilización terminal.

La deficiencia en limpieza no puede compensarse, aunque se combine una esterilización previa de las botellas y del equipo con la esterilización terminal. Un residuo de leche en el biberón, contribuye a que se creen microorganismos resistentes al calor y que en consecuencia, no sean destruidos por el proceso de calentamiento. Se ha probado en forma experimental, que las botellas que se han usado todos los días sin haberse lavado totalmente, han permitido el desarrollo de microorganismos resistentes al calor. Tal extremo de que sometidos a una esterilización terminal a presión de 110°C, durante 10 minutos no se les ha eliminado, y en consecuencia las fórmulas resultaron contaminadas.

No se considera necesaria la pre-esterilización de las

botellas y utensilios. Lo importante es la limpieza que según los investigadores, es el paso previo a la esterilización terminal de la fórmula. Si se hacen hervir las tetillas, es solamente como precaución extra, ya que existen ciertas dificultades mecánicas al limpiarlas.

Al lavar las botellas y utensilios, se recomienda usar detergentes y no jabón, porque éste forma al combinarse con la caseína de la leche, un residuo gomoso difícil de eliminar. Con el uso de detergentes, se evita esta dificultad.

Las tapaderas para las tetillas son fundamentales si se usa el sistema de esterilización terminal. De esta manera, las tetillas se mantienen libres de bacterias durante 24 horas por lo menos. La tapadera de la tetilla, no debe cerrarse como sello alrededor de su base, ni sobre el cuello de la botella, mientras se somete la fórmula a la esterilización terminal. Hay necesidad de dar salida al aire y reemplazarlo con vapor de agua para desinfectar la tetilla y poder extraer la tapadera después (8).

La esterilización terminal de la fórmula, puede obtenerse por cualquiera de estos métodos: 1. el calor sin presión a la temperatura de 100°C, durante 25 minutos, usando sólo vapor o agua hirviendo (técnica del baño de agua) o 2. autoclave (presión producida por el calor) a 100°C durante 10 minutos (8).

2. Ventajas y desventajas que presentan los métodos de esterilización terminal

a) El método sin presión a ebullición por 25 minutos

-la operación es tan sencilla, que no requiere personal especializado.

-bajo costo

-no se sabe que haya peligro de cambios químicos o físicos

-se puede usar el mismo aparato para enfriar las fórmulas, haciendo salir el agua si la hay y reemplazándola con agua fría circulante.

Aunque desde el punto de vista bacteriológico, se trata de un método seguro, no siempre esteriliza las fórmulas. Los recuentos bacteriológicos, dan menos de 10 colonias por cm cúbico de leche y más de un 50% son estériles (8).

b) El método con presión a 110°C por 10 minutos

-la única ventaja de la autoclave, es que produce un porcentaje más alto de esterilidad, ya que este grado de calor mata algunas variedades de esporas.

-su manejo, requiere de un personal especializado.

-el costo inicial es más alto.

-existe el riesgo de que se produzcan cambios químicos y físicos, a menos de que el autoclave se use exclusivamente para la preparación de las fórmulas, colocándosele un dispositivo de control que impida la elevación de la temperatura sobre 110°C (8).

F. Efecto del calentamiento terminal en las vitaminas

La leche es una sustancia frágil y para la conservación de su valor nutritivo el calentamiento debe ser controlado para evitar daños químicos. Los elementos nutritivos más fácilmente dañados por un calor excesivo, son dos vitaminas: ácido ascórbico y tiamina y la lisina como aminoácido. Hodgson (8) estudió los efectos de los diferentes métodos de esterilización terminal de las fórmulas, usando la estabilidad de estos tres elementos respectivamente, como criterio de apreciación del valor nutritivo. Encontró que la esterilización terminal por el método sin presión a 100°C por 10 minutos, no daña en forma significativa a estos elementos. La conservación de estos tres elementos, se encontró como sigue: el ácido ascórbico se conserva al 95%, la tiamina 91%, la lisina 10%. Holt(8), en estudios de balance líquido en niños, descubrió que la lisina no sufría daño cuando la fórmula se colocaba en el autoclave con una presión de 15 libras y durante 30 minutos.

En general, la temperatura excesiva o el tiempo demasiado largo, producen daños en la constitución física de la fórmula, tales como la caramelización de los carbohidratos y la coagulación de las proteínas. También pueden producirse cambios físicos por la variedad de sales minerales que en algunos casos aceleran la coagulación de la leche. La caramelización y la coagulación dejan de ser problemas si se controla el calor terminal (8).

III. JUSTIFICACION

En el laboratorio de leches, se preparan las fórmulas lácteas que se distribuyen a los pacientes de la sección de pediatría del Hospital General San Juan de Dios, por lo que la evaluación periódica de las fórmulas, resulta ser de suma importancia.

Es necesario conocer y evaluar la calidad nutricional y microbiológica de las fórmulas lácteas, para ayudar a la recuperación de los pacientes que las reciben.

El Hospital General San Juan de Dios carece del equipo adecuado para la esterilización de las fórmulas, por lo que la evaluación tanto nutricional como microbiológica se impone.

El presente trabajo, pretende determinar la calidad microbiológica y el contenido de ácido ascórbico y tiamina de la fórmula F3 después de ser sometida al proceso de esterilización final.

IV. HIPOTESIS

1. Existe pérdida de tiamina mayor a la considerada aceptable en la fórmula F3, después de ser sometida al proceso de esterilización terminal.

Ha : la pérdida de tiamina en la fórmula F3 después de la esterilización terminal es mayor del 9%.

Ho : la pérdida de tiamina en la fórmula F3 después de la esterilización terminal es menor o igual a 9%.

2. Existe pérdida de ácido ascórbico en una cantidad mayor a la aceptable en la fórmula F3 después de ser sometida al proceso de esterilización terminal.

Ha : la pérdida de ácido ascórbico en la fórmula F3 después de la esterilización terminal es mayor del 5%.

Ho : la pérdida de ácido ascórbico en la fórmula F3 después de la esterilización terminal es menor o igual al 5%.

3. La calidad microbiológica de la fórmula F3 producida en el laboratorio de leche del Hospital General San Juan de Dios, es la adecuada.

Ha : El número de microorganismos en la fórmula F3

producida en el Hospital General San Juan de Dios, es menor
de 25 por ml.

Ho : El número de microorganismos en la fórmula F3
producida en el Hospital General San Juan de Dios, es mayor
o igual a 25 por ml.

V. OBJETIVOS

A. General

Evaluar el contenido de ácido ascórbico y tiamina y el grado de contaminación de la fórmula estándar F3 que se prepara en el laboratorio de leches del Hospital General San Juan de Dios, después del proceso de esterilización final.

B. Específicos

1. Determinar el contenido de ácido ascórbico y tiamina de la fórmula estándar F3 después de la esterilización.

2. Determinar el contenido de ácido ascórbico y tiamina de la fórmula estándar F3 después de ser sometida al proceso de esterilización.

3. Determinar el grado de contaminación de la fórmula estándar F3 después de ser sometida al proceso de esterilización final.

VI. DISEÑO METODOLÓGICO

A. Universo

Lo constituyó el total de las fórmulas F3 (anexo No.9) producidas en un día (89 unidades) durante un año en el laboratorio de leches del Hospital General San Juan de Dios.

B. Muestras

Se consideraron 11 muestras como representativas para realizar el estudio (ver anexo 5).

C. Tipo de estudio

El estudio que se realizó fue prospectivo debido a que se registró información, según fueron ocurriendo los fenómenos, longitudinal y pre-experimental.

D. Materiales

1. Instrumentos

Se recolectaron los datos en una hoja de registro que incluye: número de la muestra, cantidad de microorganismos, lecturas realizadas en el espectofluorómetro en la estimación de la cantidad de tiamina y volumen utilizado en la titulación de ácido ascórbico (ver anexo 6).

2. Recursos humanos

El estudiante investigador, dos asesores y un

revisor.

3. Recursos materiales

- balanza analítica
- probeta 50 ml pyrex
- probeta 10 ml pyrex
- ampollas de decantación de 100 ml pyrex
- balón aforado de 10 ml
- balón aforado 50 ml pyrex
- balón aforado 500 ml pyrex
- espectofluorómetro
- celdas de cuarzo
- mezclador eléctrico
- erlenmeyer de 250 ml pyrex
- cajas Petri pyrex
- autoclave
- microscopio
- refrigeradora
- pipeta de 5 ml pyrex
- beaker de 50 ml pyrex
- espátula
- campana de flujo laminar

4. Reactivos

- triptona

- extracto de levadura
- glucosa
- agar
- yodo 0.1 N
- almidón 1%
- ácido sulfúrico 10%
- tiamina
- ferricianuro de potasio
- isobutanol
- sulfato de sodio anhidro

E. Metodología

1. Para la determinación del número de muestras

Para determinar el número de muestras que fuera representativo para el estudio que se realizó, se hizo una prueba piloto con 10 muestras para la determinación del número de microorganismos (13). Se obtuvo una desviación estándar con la que fue posible establecer n.

Se encontró que $n = 11$ (ver anexo 5).

2. Para la selección de las muestras

Se siguió el procedimiento de un muestreo aleatorio simple para que cada unidad tuviera la probabilidad equitativa de ser incluida en la muestra. Las muestras se tomaron durante diferentes días y no se le hizo

a cada muestra las 3 pruebas, debido a que se realizaron en varios días.

3. Para la determinación de tiamina, ácido ascórbico y calidad microbiológica

a) Determinación de tiamina

i. Solución estándar

Esta solución se preparó para poder determinar el dato teórico leído en el espectrofluorómetro utilizando diferentes concentraciones de tiamina conocidas. Se realizó una curva (anexo 12) por medio de la cual fue posible determinar el dato que se debía leer en el espectrofluorómetro según la concentración teórica de tiamina de la fórmula.

-se prepararon seis soluciones de tiamina cada una de diferente concentración, empezando de 0.1 a 0.6 microgramos por cc. y se colocaron en seis ampollas de decantación respectivamente marcadas.

-se agregaron cinco ml de ferricianuro de potasio en las ampollas de decantación.

-se agregaron en cada ampolla 25 ml de isobutanol.

-se esperó a que se separaran las dos capas y se descartó la capa amarilla (anexo 10, foto 3).

-se agregó en cada ampolla sulfato de

sodio anhidro (anexo 11, foto 4).

-se extrajo la capa inferior.

-se colocó un blanco de isobutanol en el espectofluorómetro, se calibró y se determinó el rango de lectura.

-se colocaron en la celda de cuarzo dos ml de cada una de las concentraciones (una por una) y se leyó en el espectofluorómetro (anexo 10, fotos 1 y 2).

-se graficaron los resultados poniendo en el eje de las abcisas las concentraciones y en el eje de las ordenadas las lecturas realizadas (anexo 11, gráfica 1).

ii. Muestras

-se determinó la concentración a la que se debía llevar cada muestra de leche, según su contenido teórico de tiamina (la muestra contenía 0.4 mg/1000 cc y se tomaron cinco cc de muestra que se diluyeron a 10 cc de solución); el valor encontrado fue de 0.2 microgramos por cc..

-Se agregaron cinco ml de leche en un balón aforado de 10 ml y se llevó a 10 ml con agua destilada.

-Se realizó el mismo procedimiento que se llevó a cabo para las soluciones estándares (26).

b) Estimación del ácido ascórbico

-se midieron 50 ml de muestra en un erlenmeyer de 250 ml.

-se adicionaron 25 ml de ácido sulfúrico al 10%.

-se agregaron dos ml de solución de almidón.

-se tituló con yodo 0.1 N hasta el cambio de coloración (anexo 13) (26).

c) Determinación de la cantidad de microorganismos en la fórmula F3

Se utilizó el Bacto Plate Count Agar que es un método usado para la enumeración de bacterias en agua, aguas residuales, productos lácteos y alimentos.

-se preparó un medio de cultivo estándar de agar con triptona, glucosa y levadura (ver anexo 7) (16).

-se colocó 0.1 ml de muestra de leche en las cajas Petri.

-se incubó hasta que las colonias fueron visibles a simple vista.

-se infirió que cada colonia se originó de una sola célula, y contando el número de colonias, se pudo calcular el número de células viables en la muestra (anexo 13).

4. Tabulación de datos

Para determinar el grado de contaminación de la fórmula F3 se utilizó la t de student debido a que sólo interesaba conocer el contenido de microorganismos después y no antes de la esterilización. Para la determinación del contenido de ácido ascórbico y tiamina, se utilizó la prueba de las diferencias pareadas.

5. Análisis de datos

Para la determinación de la cantidad de tiamina y de ácido ascórbico de cada muestra, se utilizaron las fórmulas que se muestran en los anexos 15 y 16 respectivamente.

Para poder determinar si la cantidad de tiamina es adecuada, se calculó el 9% del valor teórico (0.4 microgramos por cc) y se obtuvo un valor de 0.036. Con el dato anterior, se realizaron las pruebas estadísticas.

La cantidad de ácido ascórbico, se determinó utilizando un valor de 0.57 (el cual corresponde al 5% del contenido teórico 11.6 mg/cc).

VII. RESULTADOS

A. Determinación de la cantidad de tiamina

1. Solución estándar

Cuadro No.1

Dato leído en el espectofluorómetro para cada solución estándar de tiamina a diferente concentración
Guatemala, mayo de 1995

Concentración ($\mu\text{g}/\text{cd}$)	Lectura
0.1	1
0.2	24
0.3	22
0.4	25
0.5	41
0.6	24

2. Cantidad de tiamina en las muestras

Cuadro No.2

Cantidad de tiamina en cada muestra de fórmula F3
producida en el HGSJDD y analizada según dato del
espectofluorómetro
Guatemala, mayo de 1995

No. muestra	Lectura	Cantidad B1
1	4	0.07
2	17	0.28
3	23	0.38
4	22	0.37
5	11	0.18
6	13	0.22
7	23.5	0.39
8	19	0.32
9	15	0.25
10	22	0.37
11	18	0.3
12	24	0.4
13	16	0.27
14	22.5	0.37
15	10.5	0.17
16	12.5	0.21
17	24	0.4
18	24	0.4
19	23	0.38
20	20	0.33

3. Cálculos estadísticos

Para la aprobación o rechazo de la hipótesis planteada, se establece la diferencia entre el contenido experimental de tiamina de cada muestra estéril y el contenido de vitamina antes de la esterilización(0.4 μ g/cc).

Se realiza entonces un estudio estadístico por medio de las diferencias pareadas.

Cuadro No.3

Diferencia entre el contenido experimental de tiamina en cada muestra estéril del HGSJDD y el contenido de vitamina antes de la esterilización
Guatemala, mayo 1995

No. muestra	diferencia ($\mu\text{g}/\text{cc}$)
1	0.33
2	0.12
3	0.02
4	0.03
5	0.22
6	0.18
7	0.01
8	0.08
9	0.15
10	0.03
11	0.1
12	0
13	0.13
14	0.03
15	0.23
16	0.19
17	0
18	0
19	0.02
20	0.07

$n = 20$ $H_0 : d < 0.036$
 $\sigma = 0.094$ $H_a : d > 0.036$
 $d = 0.097$
 g.l. = 19 $t = 1.7291$
 $\alpha = 0.05$

$$t = \frac{0.097 - 0.036}{0.094 / 20} = 2.902$$

2.902 > 1.7291 por lo que se rechaza H_0 .

B. Determinación de la cantidad de ácido ascórbico

1. Cantidad de vitamina C en las muestras

Cuadro No.4

Determinación de la cantidad de vitamina C en cada muestra analizada del HGSJDD según el volumen de yodo utilizado para la titulación
Guatemala, mayo de 1995

No. muestra	V yodo (ml)	Vit.C (mg/ml)
1	0.65	5.72
2	0.78	6.34
3	0.65	5.72
4	0.67	5.90
5	0.65	5.72
6	0.66	5.81
7	0.65	5.72
8	0.65	5.72
9	0.66	5.81
10	0.66	5.81
11	0.68	5.99
12	0.68	5.99
13	0.66	5.81
14	0.66	5.81
15	0.65	5.72

2. Cálculos estadísticos

Para realizar los cálculos, se encontró la diferencia entre la cantidad de vitamina C de cada muestra estéril y la cantidad de ácido ascórbico en un mismo volumen de muestra sin esterilizar (11.43 mg).

C. Determinación de la calidad microbiológica

1. Cantidad de microorganismos antes y después de esterilizar

Cuadro No. 6

Cantidad de microorganismos observados en cada muestra antes y después de la esterilización en el HGSJDD Guatemala, abril de 1995

No. muestra	m.o. antes	m.o. después
1	26	0
2	26 (foto 2)	0
3	28 (foto 1)	hongo
4	30	1
5	46 (foto 6)	5 (foto 7)
6	32 + hongo	1
7	hongo (foto 5)	hongo (foto 4)
8	24	1
9	18 + hongo (foto 3)	0
10	27 + hongo	8
11	60	3

Nota: las fotos corresponden al anexo 13

2. Cálculos estadísticos

$$\begin{array}{ll}
 n = 11 & H_0: x \geq 25 \\
 \bar{x} = 2 & H_a: x < 25 \\
 s = 2.62 &
 \end{array}$$

$$5\% \quad t = -1.8125$$

$$t = \frac{2 - 25}{2.62 / \sqrt{11}} = -29.11$$

-29.11 < -1.8125 de lo cual se concluye que el número de microorganismos es menor de 25 por ml.

VIII. DISCUSIONES

Según los resultados obtenidos, se observa que se pierde una mayor cantidad de tiamina que la que se considera normal (menor del 9%). Resulta interesante mencionar que se tomaron 20 muestras y no 11 como se había estipulado en la metodología, debido a que normalmente, en análisis de laboratorio suelen ocurrir errores. Sobretudo en las mediciones de reactivos o en las reacciones a realizar. Se decidió obtener más muestras de las establecidas, para no repetir el proceso por algún error cometido al momento de determinar el contenido de tiamina en alguna muestra. El haber tomado un número mayor de muestras, en lugar de afectar la prueba estadística, la beneficia ya que la varianza disminuye en su valor, ayudando a obtener valores más cercanos a la realidad.

Es importante mencionar que el método de esterilización utilizado, es el de baño de vapor dentro de una marmita cuya temperatura es de 91° C durante una hora con 30 minutos. La leche es una sustancia frágil y para la conservación de su valor nutritivo, el calentamiento debe ser controlado para evitar daños químicos. De acuerdo a la literatura revisada, los elementos nutritivos más fácilmente dañados por un calor excesivo, son dos vitaminas: ácido ascórbico y tiamina. La tiamina es una

vitamina cuya carencia en la dieta presenta problemas. Los requerimientos diarios de vitamina B1 durante el primer año de vida, que son los niños que reciben la fórmula F3, es de 0.4 a 0.6 mg. El requerimiento mencionado, se podría llenar con la fórmula, lactancia materna, siempre y cuando sea posible, y suplemento. Si al lactante no se le proporciona la cantidad adecuada de este micronutriente, puede presentar problemas, ya que a esta deficiencia se le agrega el cuadro patológico particular de cada paciente. La deficiencia de tiamina, produce una enfermedad hereditaria: enfermedad de leighs, pelagra, síndrome de strachan's entre otras. Para ayudar a la pronta recuperación del paciente, es aconsejable proporcionarle todos los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo.

La segunda parte de la investigación, consistió en la determinación de la pérdida de la vitamina C. Esta determinación, se realizó con el método de titulación con yodo, utilizando el almidón como indicador. El método anteriormente mencionado, que se muestra en la metodología, es usado industrialmente a nivel nacional.

En este caso, se tomaron más muestras de las estipuladas (15 en lugar de 11) lo que se explica de la misma forma anteriormente descrita.

Como se observó con la tiamina, la pérdida de ácido

ascórbico resulta ser mayor a la considerada adecuada después del proceso de esterilización. Según la literatura, este micronutriente se debería conservar en un 95%.

En el recién nacido que recibe altas cantidades de proteína, se han observado altos niveles de tirosina, a menos que reciba suplemento de vitamina C (24). Además, en el Hospital General San Juan de Dios, se tratan varios pacientes que se encuentran en mal estado nutricional, además de padecer alguna otra enfermedad. Es importante mencionar que los requerimientos de vitamina C aumentan con las enfermedades febriles, la diarrea, la exposición al frío y la deficiencia de hierro.

Debido a que la pérdida de ácido ascórbico, resulta ser mayor que la recomendada aceptable (5%), es necesario brindar al paciente, un suplemento para ayudarlo a recuperarse con mayor facilidad y rapidez.

Estos resultados eran de esperarse, debido a que por el largo tiempo del proceso de esterilización (una hora con 30 minutos) una vitamina termolábil se pierde con mayor facilidad.

Por último, se realizó la prueba para determinar la calidad microbiológica de las fórmulas que se les preparaban a los lactantes. La eliminación de patógenos es esencial en cualquier técnica de esterilización. Es deseable la esterilidad de la fórmula. Desde el momento en

que existe un límite más allá del cual el calor no puede ser aplicado dado el frágil carácter de la leche, no hay ningún método de esterilización terminal que pueda asegurar la continua esterilidad de cada pacha de fórmula. Según la Asociación Americana de Hospitales, el valor que se considera adecuado es de 25 microorganismos por ml de fórmula (8). Las muestras se tomaron dentro del servicio de alimentación, al momento que los biberones fueron extraídos de la marmita y se prepararon para ser trasladados al laboratorio de leches. Se trabajó con un mechero para evitar alguna contaminación que pudiera alterar los datos. Como se puede observar en el cuadro No.6, el número de microorganismos es menor de 25 por mililitro. Era de esperarse que debido al largo tiempo de esterilización al cual son sometidas las fórmulas, el número de microorganismos resulta ser menor de 25 por ml.

Para poder llevar a cabo la determinación de la calidad microbiológica de las muestras, se trabajó en una campana de flujo laminar con la cual se evitó cualquier tipo de contaminación que no perteneciera a las pruebas que se iban a realizar. Además, todo el equipo se esterilizó; por lo que se puede entonces pensar que la contaminación provenga principalmente de factores externos y no de la metodología seguida para la validez de la prueba.

Es interesante observar que en algunas muestras en

donde antes de la esterilización no había crecimiento de moho, después de ésta, se observaba crecimiento. Es importante mencionar que los biberones deben ser trasladados del servicio de alimentación al laboratorio de leches, el cual es un trayecto largo y puede ser un factor de riesgo ya que puede surgir la contaminación de las fórmulas antes de que cada paciente reciba su alimentación.

Se podría concluir con el proceso de esterilización utilizado actualmente en el Hospital General San Juan de Dios, es adecuado en lo que se refiere a la calidad microbiológica de la fórmula, pero es deficiente en la calidad nutritiva, refiriéndonos específicamente a tiamina y ácido ascórbico.

IX. CONCLUSIONES

1. Después de la esterilización, la pérdida de tiamina es mayor al valor que se considera aceptado (9%) durante el tiempo en que se realizó el estudio.

2. El ácido ascórbico, se conserva en un porcentaje menor a 95, después de sufrir el proceso de esterilización terminal, lo cual se considera inadecuado, según la Asociación Americana de Hospitales.

3. La pérdida grande de tiamina y de ácido ascórbico en la esterilización, puede afectar negativamente la recuperación rápida del paciente, sobretodo en el alimentado exclusivamente con fórmula.

4. Se considera factor de riesgo en la calidad microbiológica de las muestras, el trayecto recorrido del servicio de alimentación al laboratorio de leches, lugar en el cual son distribuidas los biberones a todos y cada uno de los destinatarios.

5. El proceso de esterilización, da resultados satisfactorios en lo que se refiere a la calidad microbiológica de las fórmulas, contrariamente a lo observado en la calidad nutritiva, refiriéndonos específicamente a tiamina y ácido ascórbico.

X. RECOMENDACIONES

1. Esterilizar los biberones durante 25 minutos a ebullición, para evitar pérdidas grandes de tiamina y de ácido ascórbico.

2. El proceso de colocación de las pajas dentro de la marmita y extracción de éstas, no debe exceder 1 hora para evitar pérdida de nutrientes.

3. Hacer uso del masking tape indicador de la temperatura, para determinar el tiempo adecuado de esterilización.

4. Coordinar con el cuerpo médico para que se le de al lactante suplemento de B1 ya que su excesiva ingesta no conlleva efectos tóxicos.

5. Medir la B1 excretada en la orina, para poder determinar si existe alguna deficiencia de ésta y si es necesario proporcionarle al lactante un suplemento.

6. Dar suplemento de vitamina C a los lactantes y su administración en cantidades mayores de los requerimientos fisiológicos, tiene pocos efectos demostrables, excepto en los pacientes con escorbuto, cuyos síntomas desaparecen rápidamente.

7. Tapar bien todas las pachas durante el traslado del servicio de alimentación al laboratorio de leches para evitar contaminación.

8. La institución debería realizar los trámites para la compra de un esterilizador y/o autoclave de biberones, para el laboratorio de leches, con el fin de garantizar el menor riesgo de contaminación de las fórmulas, pérdidas de vitaminas y mejorar las condiciones de trabajo para los empleados.

9. Realizar un estudio que evalúe la calidad microbiológica de los biberones, después del traslado al laboratorio de leches y antes de ser distribuidas a los lactantes.

XI. BIBLIOGRAFIA

- (1) Kon, S.K. La leche y los productos lácteos en la nutrición humana. 3ra ed. Roma, Organización de Naciones Unidas para la agricultura y Nutrición. 1988.
- (2) Foster, E.M. Microbiología de la leche. 3ra ed., México, Editorial Guerrero, S.A. Traducción Ramón Palozón. 1989.
- (3) INCAP-ICNND. Composición de la leche y los productos lácteos: tabla de composición de la leche en América Latina. Guatemala. 1961
- (4) Pelczar, M.J. et al. Microbiología. 2a ed, México, Editorial Mc Graw-Hill, 1989.
- (5) Longrée, K. y G. Blaker. Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos. Editorial Pax México, México, 1972. 216p(pp. 49-53)
- (6) Harris, R.S. Nutritional evaluation of food processing. 3rd ed, AVI, Nueva York. 1988. 786p (pp. 208-212)
- (7) ICAITI. Higiene en el manejo y procesamiento de alimentos. Honduras. 1973.
- (8) Asociación Americana de Hospitales. Técnicas y planteo de la cocina dietética de lactantes. Washington. 1959. 55p.
- (9) Campos, A.R. y L. Saenz. Manual de administración de servicios de alimentación de hospitales. INCAP, Guatemala, 1977 (pp. 57-62)

- (10) Koch, F.C. y M.E. Manke. Practical methods in Biochemistry. 5th ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 1948. 419p.
- (11) APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, 1976. 702p.
- (12) Brock, T.D. y D.W. Smith y M.T. Madigan. Microbiología. 4ta ed. Prentice Hall Hispanoamericana, México. 906 p (234-236pp)
- (13) Steel, R.G. y J.H. Torrie. Bioestadística: principios y procedimientos. 2 ed, Editorial McGraw-Hill, México. 1989. 622p.
- (14) Canales, F.H. y E.L. de Alvarado y E.E. Pineda. Metodología de la investigación: manual para el desarrollo de personal de salud. OPS. 1986. 327 p.
- (15) Block, S.S. Desinfection, sterilization and preservation. 3rd ed., Lea and Febiger, Philadelphia. 198 . 1053p(877-881pp)
- (16) DIFCO Laboratories. Manual DIFCO: medios de cultivo deshidratados y reactivos para microbiología. Detroit, 1984. 1166p.(679-681pp)
- (17) Lawrence, R. Breast feeding: a guide for the medical profession. Editorial de C.V. Mosby Company, 1980. 367p.
- (18) Undurraga, O. Alimentación del niño. En: Meneghello. Pediatría. Buenos Aires, editorial intermédica, 1972. v.1(pp: 152-157)
- (19) Fomon, S.J. Nutrición infantil. 2a ed. México, editorial interamericana, 1976. 536p.

- (20) Alvarado, M.C. Propuesta de funcionamiento del laboratorio de leches del departamento de alimentación y nutrición del Hospital Roosevelt. Guatemala, USAC, 1993. 137p.
- (21) Vademecum. Productos infantiles y dietéticos. Guatemala, Nestlé, 1990. 8p.
- (22) Alvarado, M.S. y Ramírez Mayans J.A. Síndromes pediátricos: fisiopatología, clínica y terapéutica. 3a ed., México, Interamericana, 1987. 562p.
- (23) Hendler, S.S. The Doctor's vitamin and mineral encyclopedia. New York, Simon and Shuster, 1991. 496p.
- (24) Krause, M.V., L.K. Mahem y M.T. Arlin. Krause Food nutrition and diet therapy. 8th ed., Philadelphia, W.B. Saunders & Company, 1992. 933p.
- (25) Shils, M.E., J.A. Olson y M. Shide. Modern Nutrition in health and disease. 8th ed., PA, Lea and Febiger, 1994. v.2. (pp: 336-444)
- (26) AOAC. Official methods of analysis. 14 ed., Virginia, AOAC, 1994. (pp: 836-847)
- (27) Saiquim, B.M. Diagnóstico de la sección de dietoterapia de pediatría. Guatemala, 1993.
- (28) Kelts, D.G. y E.G. Jones. Manual of pediatric nutrition. Little, Brown and Co., Boston, s.f. 292p.

XII. A N E X O S

ANEXO 1

RECOMENDACIONES DIETETICAS(RDA) PARA NINOS MENORES DE 6 MESES

Nutriente	Recomendación
energía (kcal)	kgx108
proteína (g)	kgx2.2
vit.A (microg RE)	375
vit.D (microg)	7.5
vit.E (mg)	3
vit.K (microg)	5
vit.C (mg)	30
tiamina (mg)	0.3
riboflavina (mg)	0.4
niacina (mg NE)	5
vit.B-6 (mg)	0.3
Folacina (microg)	25
vit.B-12 (microg)	0.3
calcio (mg)	400
fósforo (mg)	300
magnesio (mg)	40
hierro (mg)	6
zinc (mg)	5
yodo (microg)	40
selenio (microg)	10

Fuente: Krause, M.V., L.K. Mahan y M.T. Arlin. Krause's Food Nutrition and diet therapy, 8 th ed., Philadelphia, W.B. Saunders & CO. 1992. 933p.

ANEXO 2

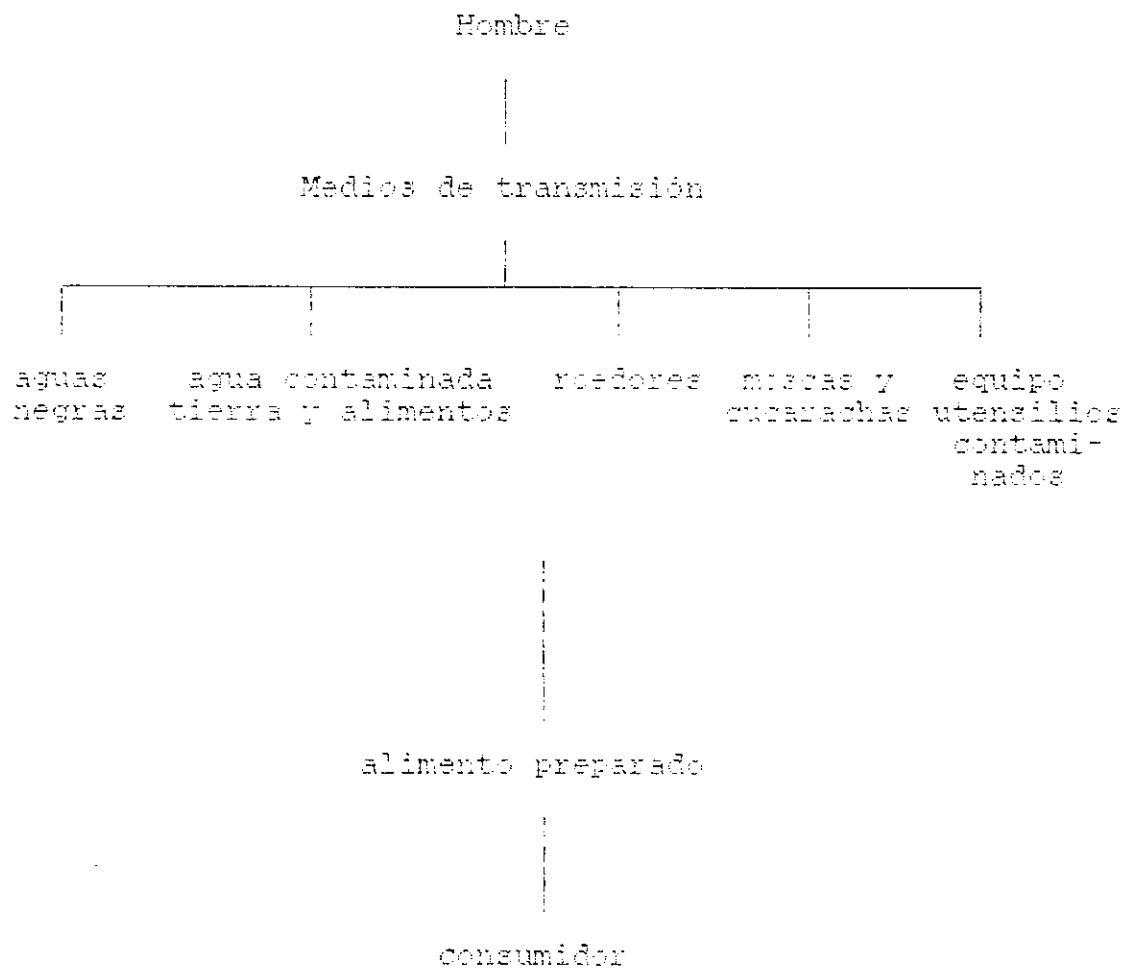
REQUERIMIENTOS DIARIOS DE TIAMINA

EDAD	REQUERIMIENTO
0-1 año	0.4 a 0.6 mg
1-9 años	0.8 a 1.1 mg
9-18 años	1.3 a 1.5 mg (hombres)
	1.1 a 1.2 mg (mujeres)

Fuente: Krause, M.V., L.K. Maham y M.T. Arlin. Krause Food nutrition and diet therapy. 8th ed., Philadelphia, W.B. Saunder s Company, 1992. 933p.

ANEXO 3

TRANSMISION DE MICROORGANISMOS



Fuente: Longrée, K. y G. Blaber. Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos. Editorial Pax México, México. 1971. 316 p.

ANEXO 4

TEMPERATURA DE SOBREVIVENCIA DE MICROORGANISMOS

	minimo		máximo
a) Psicrófilicas	-50C(25F)	a	300C(86F)
óptimo	100C(50F)	a	200C(68F)
b) Mesofíticas	100C(50F)	a	450C(113F)
óptimo	200C(68F)	a	400C(104F)
patógenos	370C	la mayoría de mohos y levaduras	
c) Termofílicos	250C(77F)	a	450C(113F)
óptimo	500C(122F)	a	650C(150F)

Fuente: ICAITI. Higiene en el manejo y procesamiento de alimentos. Honduras, 1973.

ANEXO 5

DETERMINACION DE LA MUESTRA

$$B = z_{\alpha} \sqrt{\frac{G^2}{n}} \sqrt{\frac{N-n}{N-1}} \Rightarrow (N-1) \frac{\beta^2}{z_{\alpha}^2} = \frac{G^2}{n} (N-n)$$

$$\Rightarrow \frac{(N-1)\beta^2}{G^2 z_{\alpha}^2} = \frac{N-n}{n} \Rightarrow 1 + \frac{(N-1)\beta^2}{G^2 z_{\alpha}^2} = \frac{N}{n}$$

$$\Rightarrow \frac{N}{1 + \frac{(N-1)\beta^2}{G^2 z_{\alpha}^2}} = n$$

N= 89

B= error permitido (5 microorganismos por ml)

= 10.72

= 0.05

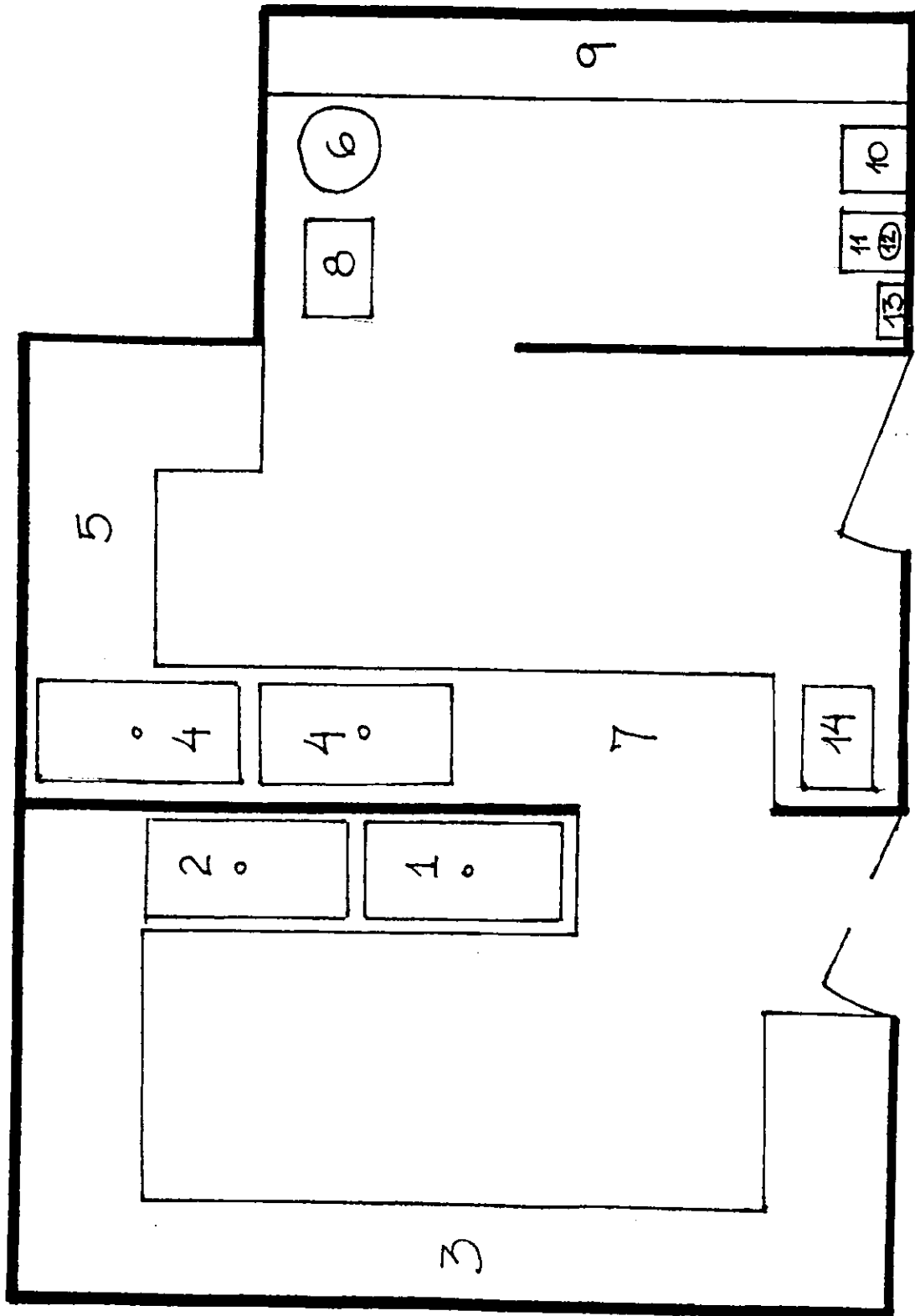
ANEXO 6

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

No. muestra	No. m.o.	lectura (espectofluor.)	volumen (titulación)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			

ANEXO 7

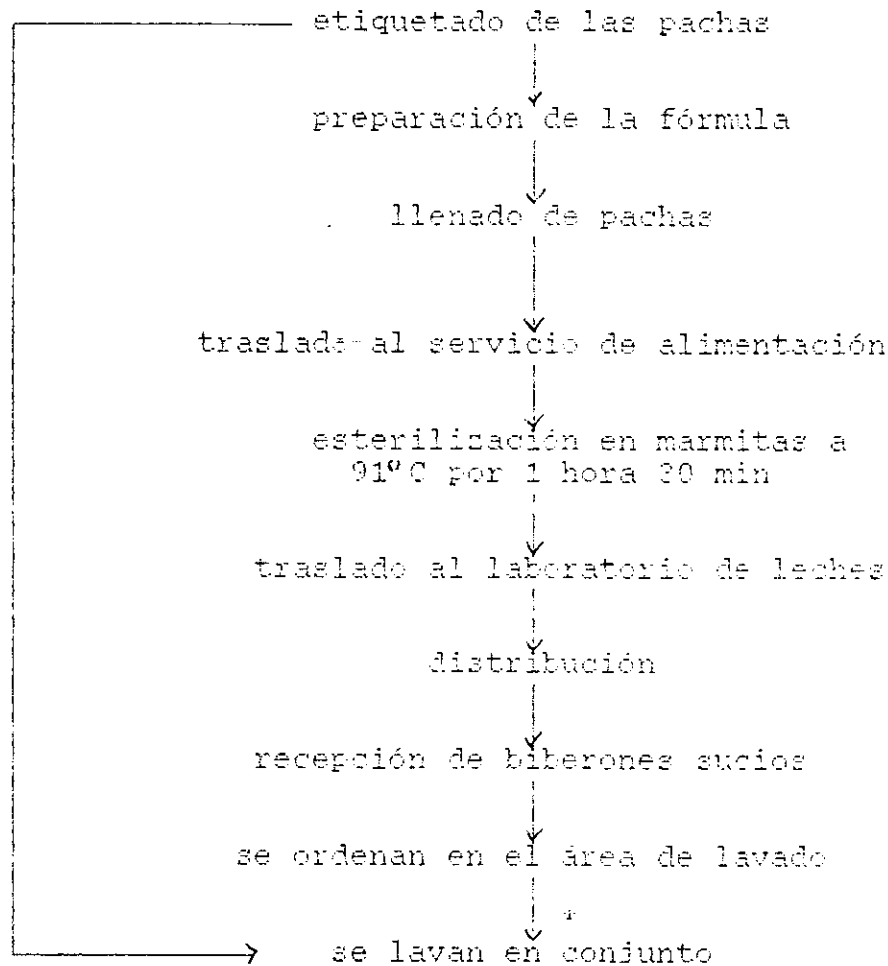
PLANTA FÍSICA DEL LABORATORIO DE LECHE



1. remojo de pachas
2. cepillado de pachas
3. etiquetado de pachas
4. lavado de equipo
5. preparación de fórmulas
6. autoclave para esterilización de agua
7. llenado de pachas
8. mesa de madera
9. mesa metálica
10. contenedor de agua fuera de uso
11. mesa
12. balanza
13. repisa
14. carro con canasta para transporte de pachas

ANEXO 8

DIAGRAMA DE FLUJO DE LA PREPARACION DE LA FORMULA F3



* se utiliza detergente en polvo Fab u Ok. En su defecto se lavan con jabón de olor al no contar con existencia en la institución.

Fuente: Manual de funcionamiento de la Sección de pediatría del Hospital General San Juan de Dios: sistema de lavado y distribución de fórmulas.

ANEXO 9

INGREDIENTES DE LA FORMULA F3
en 1000 ml

Ingredientes	Cantidad
leche maternizada	4 onzas
agua estéril	1 litro

Fuente: Saizquim, B.M. Diagnostico de la sección de dietoterapia de pediatría. Guatemala, 1993.

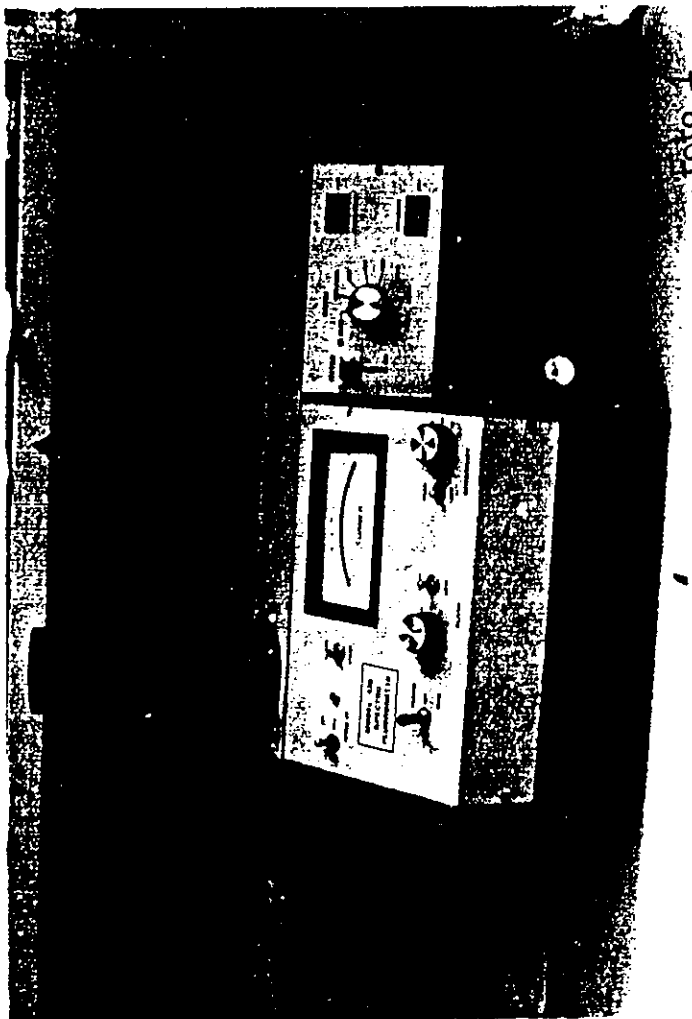


Foto 1



Foto 2

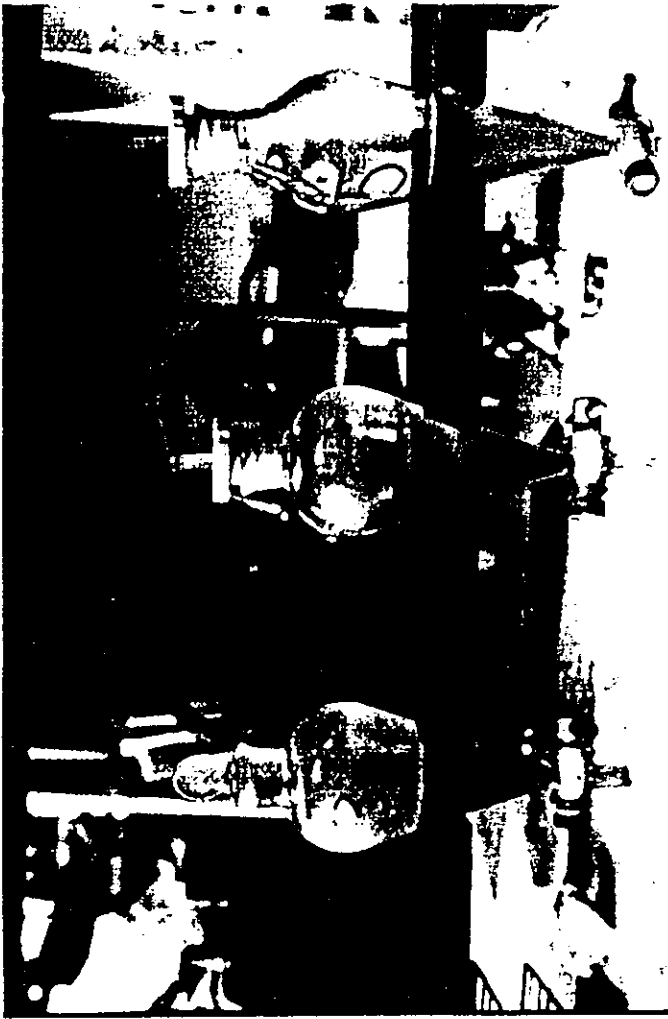


Foto 3

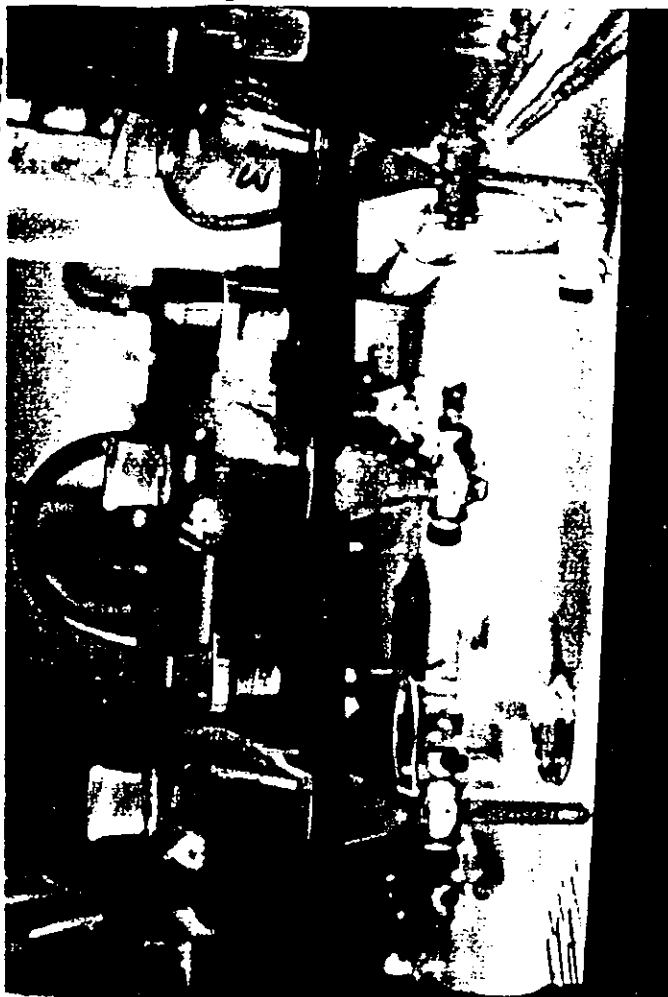
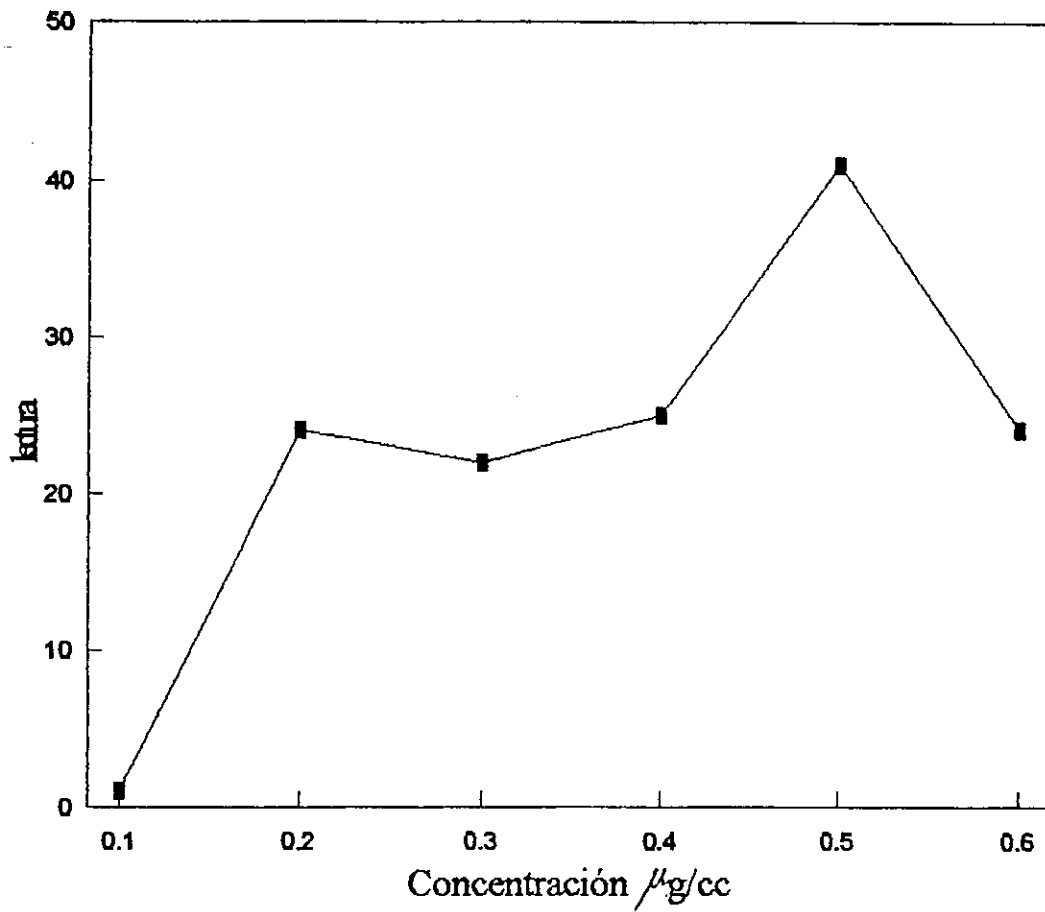


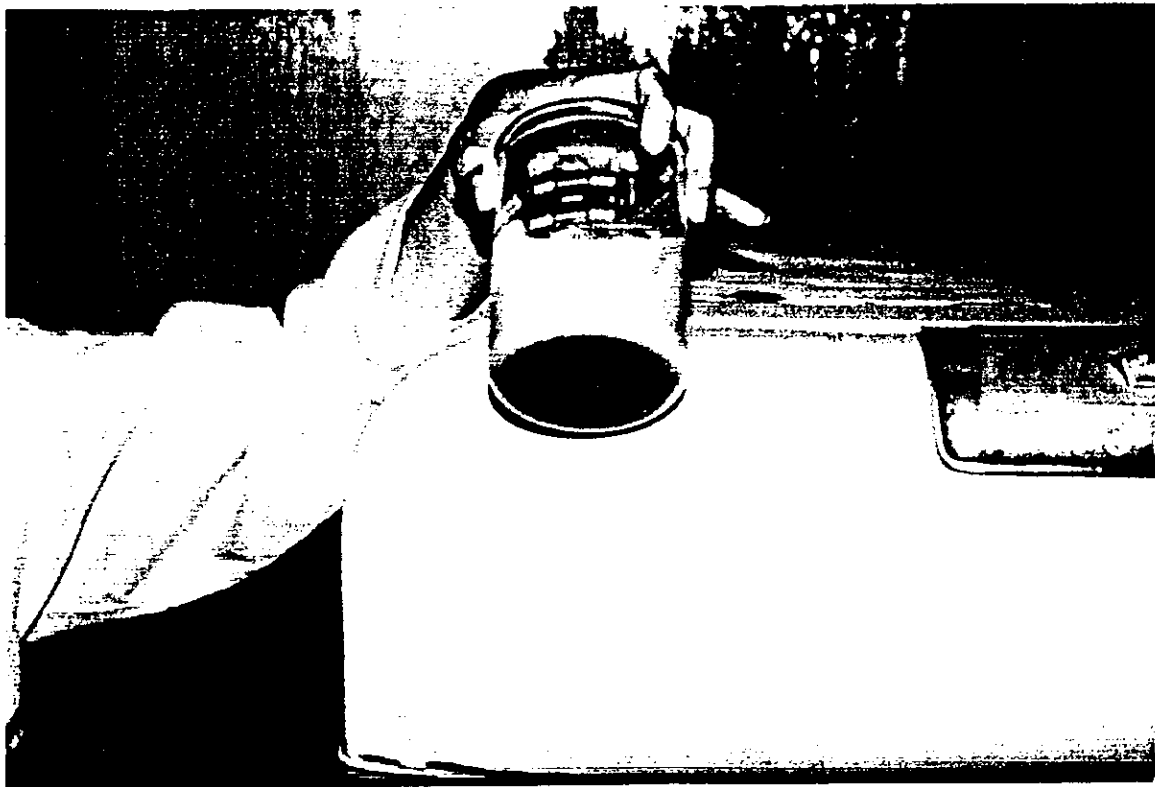
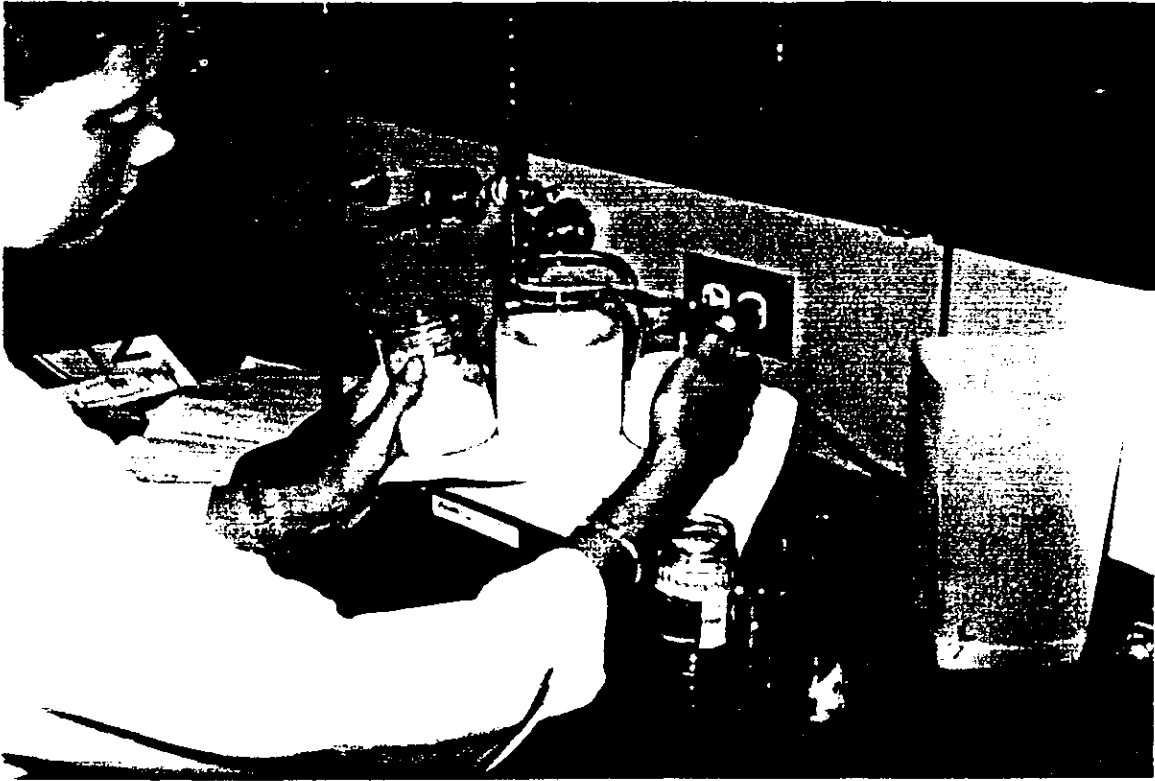
Foto 4

Anexo 12

GRAFICA No 1

Determinación de la cantidad de tiamina
Solución estándar





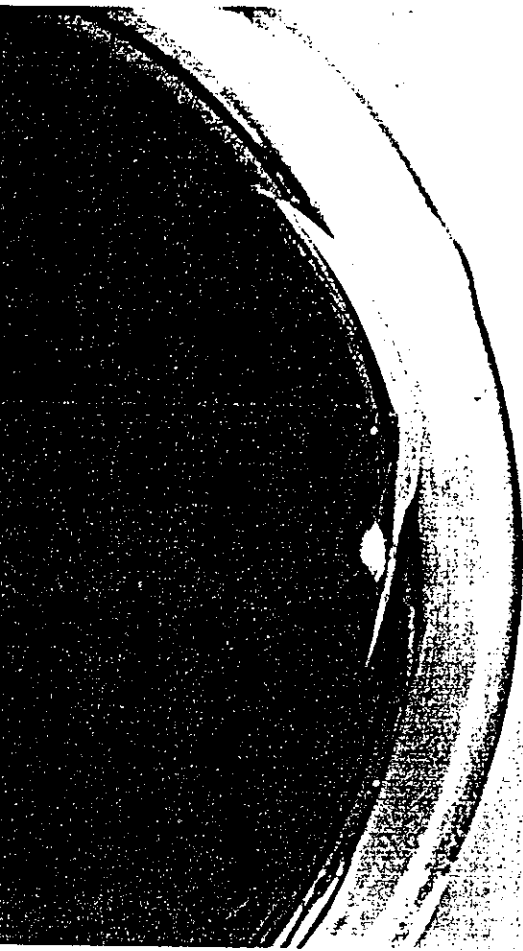


Foto 1



Foto 2

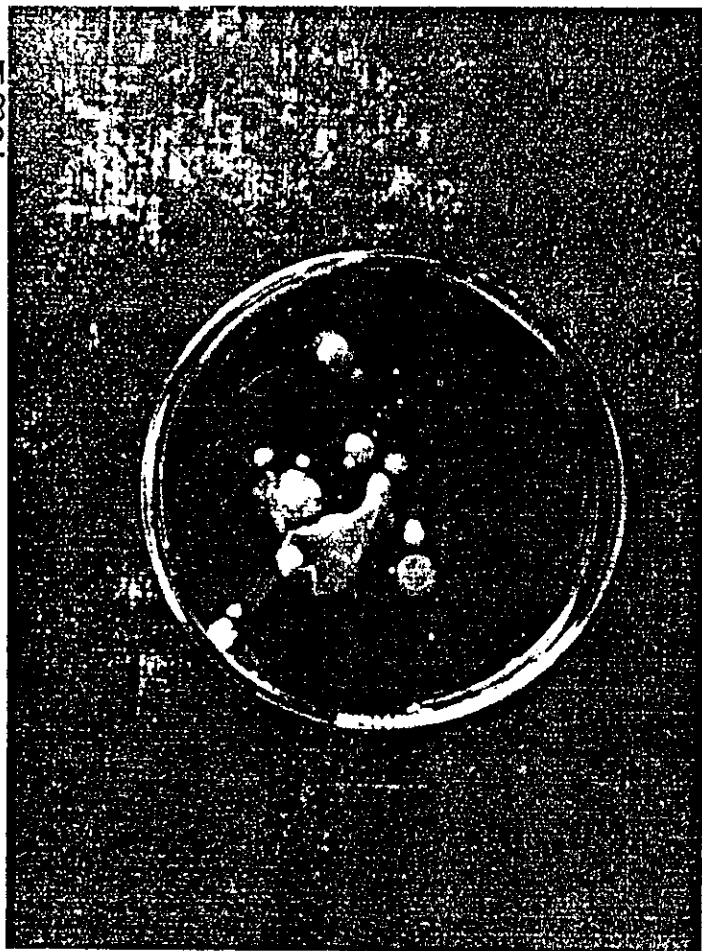


Foto 3



Foto 4



Foto 6



Foto 6



Foto 7

ANEXO 15

FORMULA PARA EL CALCULO DE LA TIAMINA EN
CADA UNA DE LAS MUESTRAS

$$\begin{aligned}
 x \text{ mg B1/l} &= 10 \text{ cc solución} \times \frac{0.2 \text{ P1}}{5 \text{ cc soln}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000} \times \\
 &\frac{1000 \text{ cc}}{1 \text{ l}} \times \frac{\text{lectura experimental}}{\text{lectura teórica}} \\
 &= 0.4 \times \frac{\text{lectura experimental}}{\text{lectura teórica}}
 \end{aligned}$$

ANEXO 16

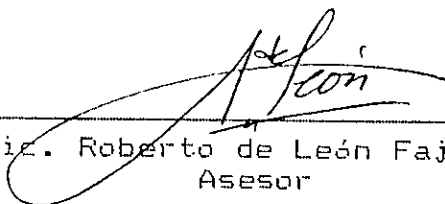
FORMULA PARA LA DETERMINACION DE ACIDO ASCORBICO

$$\text{mg ácido ascórbico} = \text{ml yodo} \times \frac{1 \text{ l}}{1000 \text{ ml}} \times \frac{0.1 \text{ eq}}{1 \text{ l}} \times$$

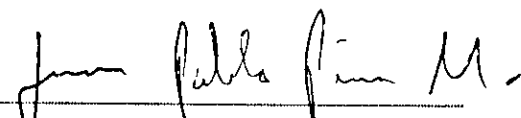
$$\frac{88.07 \text{ g}}{1 \text{ eq}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

$$= \text{x ml yodo } 0.1 \text{ N} \cdot 88.07 \text{ g} \cdot 0.1$$

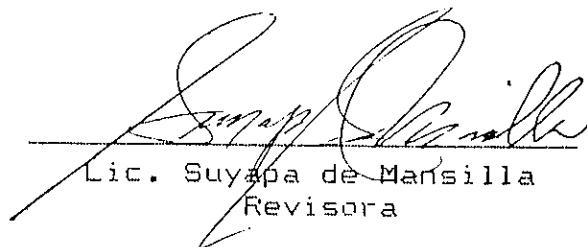
$$= \text{x ml yodo } 0.1 \text{ N} \cdot 8.807$$



Lic. Roberto de León Fajardo
Asesor



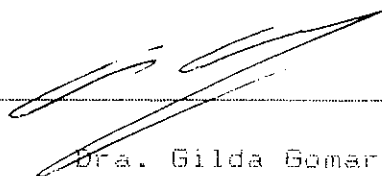
Lic. Juan Pablo Pira
Asesor estadístico



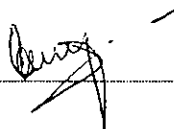
Lic. Suyapa de Mansilla
Revisora



Lic. María Antonieta González



Dra. Gilda Gomar



Dra. Carola Cruz