



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**TESIS**

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS FRUTOS DE *Mauritia flexuosa*  
(AGUAJE) QUE SE COMERCIALIZAN EN LA VÍA PÚBLICA, ZONA URBANA  
DEL DISTRITO DE PUNCHANA, LORETO 2012”.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

**Bach. Oscar William Orosco Pacheres.**

**Bach. Baltasar Sergio Vílchez La Torre.**

**ASESORES:**

**Blga. Jessy Vásquez Chumbe.**

**Q.F. Brenda Urday Ruiz.**

**IQUITOS – PERÚ**

**2013**

## RESUMEN

---

### **“Calidad Microbiológica de los Frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se Comercializan en la Vía Pública, Zona Urbana del Distrito de Punchana, Loreto 2012”**

*Orosco Pachares, Oscar; Vílchez La Torre, Sergio B. \**

---

En el Perú, las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) representaron hasta hace algunos años, el 35% del total de enfermedades transmisibles notificadas. En nuestra región, el fruto de *Mauritia flexuosa* (aguaje) es un alimento de venta ambulatoria de gran demanda. Sin embargo, los comerciantes no hacen uso de una buena práctica de higiene en toda la cadena de consumo, por lo que ya existen antecedentes de análisis de calidad microbiológica realizados a productos derivados del fruto de aguaje, donde la mayoría de estos han arrojado resultados de contaminación. El presente estudio tuvo como fin principal, presentar un aporte significativo a las entidades competentes, tales como municipios, DIGESA sede Iquitos, DISA - Loreto, respecto a la calidad microbiológica de este fruto consumido en nuestra región. La muestra poblacional se tomó de los 24 puntos de venta de la zona urbana del distrito de Punchana, previa pesquisa para reconocer los puntos de venta. Se determinó aerobios mesófilos, siguiendo el Método de Recuento Estándar en Placa por Siembra en Todo el Medio; *Escherichia coli*, por el método del Número Más Probable NMP, ambos procedimientos descritos según la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos ICMSF y presencia o ausencia de *Salmonella sp*, procedimiento descrito según la Food And Drug Administration FDA - 2007. De acuerdo a los resultados obtenidos, en la determinación de aerobios mesófilos, de los 24 puntos de venta, 22 superaron el valor límite permitido ( $10^4$  UFC por gramo de muestra). En el análisis de *Escherichia coli*, todos consiguieron valores menores que 3 NMP por gramo de muestra de aguaje con excepción del grupo F que resultó con un valor de 3.6 NMP por gramo de muestra de aguaje. En el análisis de *Salmonella sp*. se notó la ausencia total de este microorganismo. Visto lo anterior se concluye que, de los 24 puestos de venta en todo el distrito de Punchana, de acuerdo a las normas vigentes, 22 resultaron no aptas para el consumo humano.

**Palabras claves:** *Mauritia flexuosa* L.f., *Calidad Microbiológica*, *Aguaje*

---

\* Bachilleres en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana- UNAP.

## SUMMARY

---

### **Microbiological Quality of *Mauritia flexuosa* (aguaje) Sold in Streets, Urban Zone of Punchana District, Loreto 2012.**

*Orosco Pacheres, Oscar; Vélchez La Torre, Sergio B. \**

---

The (ETA) transmitted illness for food in Perú shows 35% of the total transmitted illness for food consumption. The principal goal of this research study was to contribute significantly about the microbiological quality of *Mauritia flexuosa* L.f. (aguaje) a very consumed fruit of our region for town council and DIGESA.

The population simple was taken from 24 urban zones of Punchana district. We have determined mesophile aerobic using the standard recuent method in tray for all environments. *Scherichia coli*, by number method more probable (NMP), procedure described according food microbiological specification of international comisión and absence or present of *Salmonella sp* procedure described according Food And Drug Administration FDA – 2007, according the reuslts 24 points of sales in mesophile aerobic, 22 get over the permitted limit ( $10^4$  UFC by gram of sample). In *Scherichia coli*, the analysis all samples were of minor values that 3 NMP by gram of sample of *Mauritia flexuosa* except the F group that showed a value of 3.6 NMP by gram. The *Salmonella sp* analysis showed total absence of this microorganism.

We conclude that of the of the 24 points of sell of Punchana district according to the rules 22 showed no fit for human consumption.

**Key words:** *Mauritia flexuosa* L.f., microbiological quality.

---

\* Bachillers in Pharmacy and Biochemistry of Peruvian Amazonia National University – UNAP.

## DEDICATORIA

*El presente trabajo lo dedico especialmente a mis padres quienes con impecable paciencia y esfuerzo dan todo de sí para dar a sus hijos el mejor regalo: La educación y/o una buena formación en muchísimos ámbitos. Son ellos el mejor regalo que pude recibir de la Deidad; por sus paciencia, por sus arenga, por sus buenos ejemplos, por sus constantes consejos, confianza y por todo lo bueno, es decir por todo aquello que alimenta mi mente y espíritu.*

*Igualmente dedico este esfuerzo a mis hermanos, hombres con quienes crecí, compartí, aprendí; y aunque cada cierto tiempo la ley de la vida se encarga de separarnos un poquito más haciendo que les extrañe mucho, deseo que sepan que cada logro obtenido es fruto de inspiración que de ustedes obtengo.*

LOS AMO

***Oscar William Orosco Pacheres***

*El presente trabajo lo dedico a mis adorados padres: Henocho e Inés quienes me brindaron en todo momento su incondicional ayuda haciendo que logre dar un paso importantísimo en esta etapa de mi vida: La de ser Profesional. Los adoro!.*

*Así mismo se lo dedico a mis amados hermanos Néstor, Werner, Roger, Úrsula, Doris, Josué, Diego y Karla quienes compartieron conmigo momentos de tristeza y felicidad.*

*Y por último dedico este logro a quienes fueron mi más grande inspiración para culminar este proyecto: A mis pequeñas y adoradas hijitas Ariana Valentina y Mildren Yaritza y a mi señora Mildren*

***Baltasar Sergio Vélchez la torre***

## **AGRADECIMIENTO.**

*A la Deidad por todas sus bendiciones, enseñanzas y/o experiencias dadas.*

*A nuestras asesoras Blga. Jessy Vásquez Chumbe y Q.F. Brenda Urday Ruiz por ser nuestras constantes, valiosas y grandiosas guías en el desarrollo de la presente Tesis.*

*A la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana – UNAP, por facilitarnos sus instalaciones en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos, así mismo por permitirnos el uso de sus equipos y materiales necesarios para así desarrollar nuestro Proyecto de Tesis.*

*A la Bachiller en Industrias Alimentarias Tany López Ruiz por su ayuda en el desarrollo del análisis microbiológico de nuestras muestras.*

*A las ingenieras Lastenia y Leonor por su valioso apoyo y su orientación en muchos aspectos para el desarrollo del presente trabajo.*

*A nuestros amigos Jean Pierre, Walter Pozo, Andrés Ravarocci, Astrid, María Alejandra por ayudarnos durante el desarrollo de todo nuestro Proceso de elaboración de Tesis.*

*A todo el personal docente de la universidad que de una u otra forma contribuyeron en nuestra formación profesional.*

*Y por último a nuestro honorable equipo profesional con función de jurado calificador de la presente tesis.*

*Q.F. Luis Nonato Remires Mgr.*

*Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay Mgr.*

*Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong Mgr.*

*Quienes con experiencia profesional y acertados comentarios colaboraron más de lo esperado en el realización de nuestro Proyecto de Tesis.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>N° de Página</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>01</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>03</b>
2.1 <b>Objetivo general</b>	<b>03</b>
2.2 <b>Objetivos específicos</b>	<b>03</b>
<b><u>CAPÍTULO I</u></b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>04</b>
1.1 <b>Marco referencial</b>	<b>04</b>
1.2 <b>Antecedentes</b>	<b>04</b>
1.3 <b>Marco conceptual</b>	<b>07</b>
1.3.1 <i>Mauritia flexuosa (Aguaje).</i>	<b>07</b>
1.3.2 <b>Calidad microbiológica</b>	<b>11</b>
1.3.2.1 <b>Aerobios mesófilos</b>	<b>13</b>
1.3.2.2 <i>Escherichia coli</i>	<b>15</b>
1.3.2.3 <i>Salmonella sp.</i>	<b>17</b>
<b>2. DEFINICIONES OPERACIONALES</b>	<b>21</b>
2.1 <b>Variable de estudio</b>	<b>21</b>
<b>3. HIPÓTESIS ESTADÍSTICA</b>	<b>22</b>

## **CAPÍTULO II**

<b>1. MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>23</b>
1.1 Tipos de Estudio	23
<b>2. POBLACIÓN Y MUESTRA</b>	<b>24</b>
2.1 Población	24
2.2 Muestra	24
2.2.1 Tamaño de la muestra	25
2.2.2 Tipo de muestreo	25
2.2.3 Criterios de inclusión y exclusión de la muestra	25
<b>3. CRITERIOS DE BIOSEGURIDAD</b>	<b>26</b>
<b>4. INSTRUMENTOS</b>	<b>26</b>
4.1 Procedimiento analítico	27
4.1.1 Recolección de las muestras vegetales	27
4.1.2 Descripción de las técnicas empleadas	27
4.1.2.1 Recuento de aerobios mesófilos.	27
4.1.2.2 Detección de presencia de <i>Escherichia coli</i> .	29
4.1.2.3 Detección de <i>Salmonella sp.</i>	33
<b>5. ANÁLISIS DE DATOS</b>	<b>34</b>

### **CAPÍTULO III**

<b>1.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>1.1</b>	<b>Análisis de aerobios mesófilos</b>	<b>35</b>
<b>1.2</b>	<b>Análisis de <i>Escherichia coli</i>.</b>	<b>36</b>
<b>1.3</b>	<b>Análisis de <i>Salmonella sp.</i></b>	<b>37</b>
<b>2.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>38</b>
<b>3.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>40</b>
<b>4.</b>	<b>RECOMENDACIÓN</b>	<b>41</b>
<b>5.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>42</b>
<b>6.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>51</b>



## 1. INTRODUCCIÓN

Las dificultades económicas que enfrentan los países en vías de desarrollo conllevan a un deterioro de las condiciones socioeconómicas en las poblaciones de bajos ingresos y de las que habitan en las áreas rurales, promoviendo un creciente movimiento migratorio hacia los centros urbanos. La limitada oferta de trabajo lleva a estas poblaciones a buscar alternativas para la obtención de ingresos económicos, una de las cuales, encuentran en el comercio informal, incluido la venta de alimentos, sin sujetarse a ninguna normativa y vigilancia sanitaria.<sup>1</sup>

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 70% de los casos de diarreas se deben al consumo de alimentos contaminados.<sup>5</sup> El control y prevención de las enfermedades transmitidas mediante el consumo de alimentos de mala calidad higiénico-sanitaria es un desafío actual a nivel mundial, dado que no se conoce su real incidencia por los sub registros con que se cuentan, ya que todos los casos no llegan a los establecimientos competentes (MINSA en nuestro país), además las EDAS dependiendo del agente causal será o no de notificación obligada.

Algunas enfermedades transmitidas por los alimentos se consideran emergentes porque están ocurriendo con mayor frecuencia y han ocasionado, en los últimos 10 años brotes epidémicos en varios países desarrollados y en vía de desarrollo, y han puesto en evidencia la fragilidad de los programas de prevención y control de las enfermedades transmitidas por los alimentos<sup>6</sup>.

En el Perú, las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) representaron hasta 1990 el 35% del total de enfermedades transmisibles notificadas; debido a la presencia del brote de cólera, en 1991, el porcentaje de ETA se incrementó a 56%<sup>2</sup>. En 1998, se reportaron una serie de brotes de ETAs en diferentes zonas de Lima. Además, en los primeros meses de 1999 se notificaron 11 brotes de ETA que comprometieron a 142 personas.<sup>2, 3,7</sup>

En la ciudad de Iquitos, entre los años 2012 y 2013 el área de epidemiología de la Dirección Regional de Salud - Loreto, registró más de 4 casos de ETAs contraídos entre

restaurantes y chifas de la ciudad que comprometieron a más de catorce personas. Del total de muestras tomadas, en cuatro de estas, se llegó a determinar la presencia de *Salmonella* como causante de la enfermedad, mientras que en otros resultados se encontró microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Estafilococos*, coliformes totales.

En nuestra región, el fruto de *Mauritia flexuosa* (aguaje) es un alimento de gran consumo, por lo que tiene gran demanda. Sin embargo, los comerciantes no hacen uso de una buena práctica de higiene en toda la cadena de consumo desde la cosecha del fruto hasta que llega al consumidor final. El ente regulador DIGESA, no se da abasto para la vigilancia sanitaria de los alimentos que se expenden de manera informal, por otro lado ya existen antecedentes de análisis realizados a productos derivados del fruto de aguaje, donde la mayoría de estos han arrojado resultados de contaminación por coliformes fecales.<sup>4</sup>

Además, lo mencionado anteriormente tiene relación con la falta agua y/o de infraestructura sanitaria, la alta densidad poblacional, la falta de educación sanitaria y/o negligencia de los vendedores del fruto de aguaje y de los consumidores que están habituados a las comidas al paso. Por todo lo mencionado, el presente estudio tuvo como fin principal, representar un aporte significativo a las entidades competentes, tales como municipios, DIGESA sede Iquitos, DIRESA- Loreto, respecto a la calidad microbiológica de este fruto que se vende y es altamente consumido en nuestra región; así mismo, sugerir a las referidas entidades a tomar ciertas medidas preventivas y correctivas relacionados a la manipulación e higiene de los vendedores de este fruto a fin de contribuir a la salud pública en el distrito de Punchana.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Determinar la calidad microbiológica de los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se comercializan en la vía pública de la zona urbana del distrito de Punchana, Loreto - 2012.

### **2.2 Objetivos específicos**

- 2.2.1 Determinar el grado de contaminación por aerobios mesófilos en los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto – 2012, usando el “Método de Recuento en Placa”, procedimiento descrito según la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos ICMSF.
- 2.2.2 Determinar el grado de contaminación por *Escherichia coli* en los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto – 2012, usando la “Técnica del Número Más Probable”, procedimiento descrito según la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos ICMSF.
- 2.2.3 Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* sp, en los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto – 2012, procedimiento según la Food And Drug Administration FDA-2007.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Marco referencial

La venta de alimentos y su control sanitario en el Perú está reglamentado por el MINSA/DIGESA, quienes manejan la “Norma Técnica Sanitaria 071 MINSA/DIGESA V° 01 que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”, según resolución ministerial número 591- 2008, del 27 de agosto del 2008.

Se valió de la referida norma técnica sanitaria para conocer los microorganismos a buscar y los límites máximos permisibles de microorganismos.

Para la determinación de *Escherichia coli* se siguió el procedimiento según la farmacopea europea.

Para determinar aerobios mesófilos y *Salmonella sp.* se siguió el procedimiento según la farmacopea norteamericana, procedimiento descrito por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos ICMSF.

#### 1.2 Antecedentes

Existen estudios agronómicos, químicos, biológicos, farmacológicos y toxicológicos realizados en pulpas y aceites de *Mauritia flexuosa* (aguaje); sin embargo, hay poca información respecto a estudios microbiológicos en donde se busque determinar el grado de contaminación de este fruto antes de su consumo por una determinada población<sup>8</sup>. A continuación mencionamos algunos estudios realizados con este fruto:

**Carmela López Taboada (2009)**, concluyó tras observación que las características morfológicas del pericarpio, hace que sea un buen medio para la acumulación de suciedad y por consiguiente un buen reservorio para el transporte de contaminantes. Menciona que son pocas las precauciones que se toman en cuanto a la eliminación de la suciedad adherida al fruto, pues resalta que este fruto aparte de estar muchas veces en contacto con animales y

excrementos de estos en su transporte, también se suelen vender a la intemperie, quedando expuestos al polvo que también trae consigo contaminantes de diversas índoles. Así resalta que lo peligroso de todo esto es que muchas veces las cascarillas entran en contacto con la boca. El fruto al ser vendido a un cliente no sufre mayores tratamientos que un simple enjuagado<sup>4</sup>. En los resultados de este estudio, se encontró presencia de *Escherichia coli* en la masa, derivado del fruto.

**Zanatta, C. et al. (2008)**, evaluó la citotoxicidad de cremas tópicas y lociones a base de aceite de *Mauritia flexuosa* (Buriti), los estudios de toxicidad se realizaron en queratinocitos humanos y fibroblastos 3T3 de ratón. Los resultados obtenidos fueron favorables, demostrando la baja citotoxicidad de estos aceites debido especialmente a la presencia de la vitamina E.

**Vásquez Ocmín Pedro, (2008)**, determinó que los tres morfotipos de aguaje presentan en pulpa importantes micronutrientes, resaltando la presencia de cantidades altas de  $\beta$ -carotenos y  $\alpha$ -tocoferol, así como minerales, calcio, potasio y también proteínas.

**El Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana en convenio con INAGRO (2006)** analizando la composición física y química de los frutos de aguaje, llegó a la conclusión que la pulpa contiene 14.91 % de lípidos, 64.02 % de humedad, 2.73 % de proteína, 4.6 mg/100g de beta caroteno y 74.14 mg/100. Calcio.

**Albuquerque M, et al. (2003)**, identificó principales ácidos grasos (esteárico y oleico), carotinoides y tocoferoles en los frutos de *Mauritia flexuosa* y a su vez comparándolo con la identificación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.

**García R. y Reátegui M. (2002)**, realizaron el estudio de la conservación de pulpa de *Mauritia flexuosa* L. (aguaje), analizando la estabilidad fisicoquímica sensorial y microbiológica durante el almacenamiento a temperatura ambiente de pulpa de aguaje, llegando a la conclusión desde el punto de vista sensorial y como característica fundamental de calidad, que el color de la pulpa denota variación notable del color natural a

partir de los 42 días de almacenamiento aproximadamente y la evolución de sólidos solubles, la humedad, el pH no mostraron diferencias significativas durante los 90 días del almacenamiento.

**García A. y Pinto J. (2002)**, investigaron la demanda del aguaje en el consumidor final, además de concluir que el sabor es la principal razón para consumir este fruto con un 71.02% de los encuestados, los lugares acostumbrados de compra son los vendedores ambulantes (76.73%), y los consumidores recomendaron a los vendedores que para incrementar sus ventas es importante tener mayor higiene (69.80%). El estudio infirió además que la comercialización de este fruto mueve un mercado de aproximadamente 358 145.00 dólares americanos mensuales, revistiendo de importancia a esta actividad económica.

**Rojas R. et al. (2001)**, manifiestan que la comercialización de frutos de aguaje en forma de masa y “fruto verde” en la ciudad de Iquitos representa una actividad que proporciona beneficios económicos para las personas que se dedican a esta actividad, dichos beneficios son mayores en las épocas de escasez del aguaje.

**Hernández M. et al. (2001)**, analizó los frutos de *Mauritia flexuosa* de la región de Araracuara en Colombia y llegando a la conclusión que el fruto de esta especie posee un alto valor nutricional, representado en los contenidos de aceite (38%), fibras (30%) y carbohidratos (28%). El contenido de proteínas tiene un valor cercano al 5%. El fruto, además, aporta potasio, calcio, hierro y magnesio.

**De Camargo M. (1974)**, estudiando diferentes partes del fruto del aguaje clasificados como endocarpo pétreo, mesocarpo fibroso, mesocarpo oleífero y exocarpo pétreo, concluyendo que la parte más rica en proteínas, grasas y azúcares es el mesocarpo oleífero (pulpa) y la más rica en calcio, hierro y magnesio es el mesocarpo fibroso. Además identificó la presencia de ácidos grasos importantes, especialmente el ácido linoleico.

### 1.3 Marco conceptual

#### 1.3.1 *Mauritia flexuosa* (Aguaje).

##### a) Clasificación taxonómica:

Reino	: Vegetal
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Liliopsida</i>
Sub clase	: <i>Arecidae</i>
Orden	: <i>Arecales</i>
Familia	: <i>Arecaceae</i>
Sub familia	: <i>Calamaoideae</i>
Tribu	: <i>Lepidocaryeae</i>
Género	: <i>Mauritia</i>
Especie	: <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.

Clasificación taxonómica según Cronquist, 1978. <sup>52</sup>

##### b) Descripción botánica.

*Mauritia flexuosa* (aguaje), es una de las palmeras representativas de la región Amazónica. Presenta estúpido solitario, erecto, glabro, raramente cespitoso y/o inclinado. Es una palmera monocotiledónea, dioica (plantas con flores femeninas, masculinas o bisexuales), tienen una copa esférica, y en condiciones naturales puede alcanzar una altura de 35 m. Las raíces primarias profundizan hasta 60 cm. y luego desarrollan horizontalmente hasta 40 m. Las hojas son compuestas, de 5 – 6 m. de longitud, agrupadas en número de 10 – 20 en la parte terminal del tallo formando la copa, la cual se prolonga en el peciolo <sup>8, 31</sup>.

El fruto es una drupa globosa u oblonga-elipsoidea, mide de 5 – 7 cm de longitud y 4 – 5 cm de diámetro, el peso varia de 40 – 85 gr; el pericarpio es escamoso de color pardo a rojo

oscuro; el mesocarpo suave, amiláceo, de color amarillo, anaranjado o anaranjado rojizo, tiene un espesor de 4 – 6 mm y constituye entre el 10 – 21 % del fruto <sup>8, 31</sup>.

La pulpa del *Mauritia flexuosa* es el alimento más nutritivo de los frutos del trópico, es de sabor agridulce, agradable. El potencial del *Mauritia flexuosa* se da también como fuente de aceites y grasas <sup>8</sup>. El análisis químico y de valor nutritivo de 100 gr de pulpa muestra contenidos de lípidos (21.1 gr), calcio (74 mg), fósforo (27 mg) y retinol o vitamina A (1.062 mg) <sup>8, 31</sup>

Probablemente originaria de las cuencas de los ríos Huallaga, Marañón y Ucayali en el Perú. En la cuenca amazónica tiene amplia distribución en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y Venezuela <sup>8, 31</sup>.

### **c) Usos e importancia económica.**

El uso principal del fruto es en alimentación directa. El fruto maduro se ablanda en agua, las escamas se eliminan y se extrae el mesocarpo. Las bebidas de *Mauritia flexuosa* se preparan diluyendo el mesocarpo en agua con azúcar o sometiéndolo a fermentación; el mesocarpo también puede deshidratarse y reconstruirse para bebidas.

En Iquitos, la industria de la fruta ha sido orientada a la producción de chupetes, helados y bebidas refrescantes, néctares, mermeladas y en menor escala a la producción de artesanías a partir de la semilla <sup>8, 31</sup>.

El Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana IIAP, determinó que en la ciudad de Iquitos, para satisfacer el consumo de aguaje en sus diferentes productos, se necesitan aproximadamente 957,9 toneladas al mes (21.9 toneladas diarias), y utilizando las equivalencias encontradas sobre producción podemos afirmar que para satisfacer esta demanda se necesita cosechar 13.827 árboles al mes (461 árboles diarios). El movimiento económico que produce esta actividad es de aproximadamente 358.145 dólares mensuales <sup>8, 31</sup>.



Otros usos no menos importantes de esta palmera son: Las semillas inmaduras son comestibles; de los peciolo se fabrican esteras; asimismo, de la médula del tallo se desarrollan los “suris” que son larvas blanquecinas de un coleóptero, estos se comen fritos y guisados y son una gran fuente de proteínas y muy agradable al paladar. La raíz se utiliza en el crecimiento del pelo, se prepara en infusión y se aplica sobre la cabeza; la savia del tronco es utilizada como vino por los indígenas, pues contiene principalmente agua y sucrosa.<sup>53</sup>

La fruta de *Mauritia flexuosa* es de gran importancia en el mercado formal e informal. Muchas mujeres trabajan en las esquinas de las calles de Iquitos, en mercados y en ferias vendiendo el fruto en bandejas; es una fruta muy popular en la localidad, en diversos casos es el sustento económico de muchas comunidades ribereñas que se dedican a su cosecha y comercialización. Este producto después de ser cosechada es envasado en sacos grandes de aproximadamente 40 kg cada uno para luego ser transportados sea por vía fluvial o terrestre hacia la ciudad de Iquitos donde es comercializado en los distintos puertos, mercados, calles, empresas industriales que lo transforman en helados, chupetes, aguajina, néctares, jugos, aceites, etc.<sup>25</sup>

La venta de este fruto tiene cierta rentabilidad, se estima que en 1985 los vendedores de aguaje ganaron cerca de 11 dólares por día y al final del mes el salario era ocho veces mayor que el salario mínimo. En el año de 1995, el kilogramo de aguaje llegó a costar entre 1 y 2 dólares. Entre 1997 y 1998, por unidades, 15 a 30 aguajes costaron aproximadamente 1 dólar, sin contar el peso<sup>8, 31</sup>.

**d) Aspectos higiénico-sanitarios en la comercialización del aguaje.**

A parte de todas las condiciones deficientes en cuanto a higiene por la naturaleza de la comercialización del fruto, tenemos que mencionar que la mayoría de personas que están dedicadas a la comercialización minorista del fruto de aguaje, padecen de serias afecciones por hongos en los dedos y en las manos, constituyendo así otro posible factor de contaminación tanto del fruto como cuando esta convertido en masa.

La pulpa tiene una duración de 24 horas en el ambiente y de 4 días en refrigeración (5 – 6 °C) a partir del cual su deterioro es muy pronunciado. El deterioro de las pulpas está asociado generalmente con mohos y levaduras, pues su pH y actividad de agua reducida, limitan el crecimiento de un gran número de bacterias, principalmente patógenas.<sup>54</sup>

Por otra parte existen antecedentes de análisis realizados a productos a base de aguaje, donde la mayoría de los análisis han arrojado resultados de contaminación por coliformes fecales, resultados que indican que estos productos han sido contaminados por una mala higiene de quien los elabora. Según lo analizado las causas de contaminación del fruto y de la masa se pueden resumir en:<sup>4</sup>

Canales de comercialización deficientes, uso de envases contaminados, transporte con escasas condiciones higiénico-sanitarias, malas prácticas de manipulación, malas prácticas de manejo agrícola, deficiencias higiénicas sanitarias de los centros de abastos.

**e) Composición química y valor nutricional.**

Dentro de su composición química, el mesocarpio del fruto contiene 283 Cal como valor energético, 53.6% de humedad, 2.3 g de proteína, 25,1 g de grasas, 10.4 g de fibra, 74 mg de Calcio, 27 mg de Fosforo, 0.7 mg de Hierro, 4.6 mg de Vitamina A, 0.17 mg de riboflavina, 0.3mg de Niacina y aproximadamente 50.5 mg de Vitamina C.<sup>4, 53, 54, 55, 56</sup>

Dentro de sus nutrientes más importantes y por cada 100g de mesocarpio, tiene Proteínas con 8.20 g, 31 g de Lípidos y grasas, 18.70 g de Glúcidos o Carbohidratos, Sales Minerales como Calcio (74 mg), Fosforo (27 mg) y Hierro (0.7 mg); y Vitaminas como Vitamina A

(4.58 mg), Vitamina B<sub>1</sub> (0.12 mg), Vitamina B<sub>2</sub> (0.17mg) y Vitamina C (50.5 mg).<sup>4, 53, 54, 55, 56</sup>

### 1.3.2 Calidad microbiológica

Desde la antigüedad se sabe que los alimentos son un excelente transmisor de enfermedades infecciosas. Incluso hoy en día, a pesar de que existe mayor información acerca de los microorganismos y las modalidades de infectarnos con ellos, aun así, la transmisión de estos, mediante alimentos es un gran problema<sup>18</sup>.

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. Por tanto, no se puede lograr un aumento de la calidad microbiológica mediante el análisis microbiológico sino que lo que hay que hacer es determinar cuáles son los puntos de riesgo de contaminación o multiplicación microbiana y evitarlos siguiendo un código estricto de Buenas Prácticas de Elaboración y Distribución del Alimento (BPE)<sup>18</sup>.

La calidad es el grado de excelencia que posee un producto. Un producto será de buena calidad cuando cubra los requisitos establecidos por el cliente, reúna las características esperadas por los consumidores, se acoja a la legislación vigente e incorpore a lo largo del tiempo todas las nuevas y cambiantes exigencias<sup>18</sup>.

La calidad puede medirse desde distintos puntos de vista: En términos sensoriales u organolépticos, en términos de su composición química, en términos físicos, en términos de su microbiota, tanto cuantitativa como cualitativa<sup>18</sup>.

Destacan los relacionados con la calidad microbiológica, debido a su relación directa con la garantía en cuanto a salud humana: La protección del consumidor frente a las enfermedades de origen microbiano, transmitidas por estos productos; la prevención de las alteraciones de estos productos debidas a la acción de estos microorganismos<sup>1</sup>

### **Prueba de límite microbiano.**

Se puede definir el análisis microbiológico como el conjunto de operaciones encaminadas a determinar los microorganismos presentes en una muestra problema<sup>19</sup>.

La Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas de los alimentos reevalúa periódicamente sus programas para satisfacer los requisitos internacionales cambiantes de la microbiología de los alimentos y para mantenerse al día de los avances científicos, esta comisión ha realizado progresos considerables en el desarrollo y evaluación de métodos recientes en el modo de acción de organismos que provocan enfermedades a partir de los alimentos<sup>20</sup>. El interés se centra en los microorganismos patógenos, que son los diferentes tipos de bacterias, virus, protozoos y otros organismos, que transmiten enfermedades<sup>19</sup>.

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. En realidad si se exceptúa el reducido número de productos esterilizados, cada bocado de alimento contiene levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos. La mayor parte de los alimentos se convierten en potencialmente peligrosos para el consumidor solo después de que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección.<sup>21</sup>

Un examen microbiológico rutinario de los alimentos para detectar en ellos toda una serie numerosa de microorganismos patógenas y de sus toxinas no es practicable en la mayoría de los laboratorios. Sin embargo, es necesario realizar los análisis microbiológicos de rutina correspondientes, siempre que la información epidemiológica o de otro tipo de que se disponga sugiera o haga pensar en la presencia de un agente patógeno específico en un determinado alimento. El microbiólogo de alimentos no dispone aún de técnicas fiables que le permitan poner de manifiesto la presencia en los alimentos de ciertos agentes de enfermedades transmitidas por esta vía.<sup>22</sup>

Para el caso del análisis microbiológico de *Mauritia flexuosa* se ha tenido en cuenta los indicadores utilizados en el análisis microbiológicos de frutos y hortalizas frescas semiprocesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas), refrigeradas y/o

congeladas, esto, según la norma técnica sanitaria 071 – MINSA/DIGESA Vol. 01 que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano usados por la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Según esta norma, en el análisis microbiológico de frutos tipo *Mauritia flexuosa* se puede encontrar tres indicadores: Aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*<sup>23</sup>.

### **1.3.2.1 Aerobios mesófilos**

Los microorganismos aerobios mesófilos son un grupo de bacterias capaces de vivir en presencia de oxígeno y de crecer a una temperatura óptima de entre 30°C y 37°C. Con este ensayo se estima la flora total sin especificar el tipo de germen. Es un indicador de condiciones sanitarias<sup>24</sup>.

El número de microorganismos aerobios mesófilos (recuento en placa) encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad de los alimentos más comúnmente utilizado. Este índice no es, sin embargo, aplicable en los casos en las que hay un proceso de fermentación, como ocurre en el queso y en ciertos tipos de embutidos, o de “maduración” natural, ya que da lugar a cifras muy elevadas de bacterias. El recuento de la flora aerobia mesófila tiene un valor limitado a la hora de juzgar la seguridad de los alimentos. No obstante, resulta útil, en muchos alimentos por diversos motivos ya que, por ejemplo, indica si la limpieza y la desinfección y el control de la temperatura durante los procesos de tratamiento industrial, transporte y almacenamiento se han realizado de forma adecuada. Esta determinación permite también obtener información sobre la alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada de los alimentos congelados o los fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración en los alimentos refrigerados. Asimismo, resulta adecuada cuando se desea poner de manifiesto el origen de la contaminación durante el proceso de elaboración de los alimentos<sup>25</sup>.

Los recuentos elevados de bacterias mesófilas, por ejemplo en productos crudos o no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor.<sup>26</sup>

❖ **Ventajas y limitaciones de los recuentos mesófilos.**

En el comercio internacional, el importador de alimentos carece a menudo de información sobre las condiciones de sanitización o del tiempo y temperatura relativos a la producción y al transporte. Por supuesto que deberá ser estimulado a obtener la información adecuada. Cuando se hace un recuento de la flora aerobia mesófila puede constituir una referencia valiosa. Si éste es alto, o si varía considerablemente en las muestras de partidas diferentes o dentro de una misma partida, ello quiere decir que con toda probabilidad el control microbiológico fue inadecuado durante la industrialización o tratamiento de los alimentos. El fabricante de alimentos, por su parte, puede utilizar tales recuentos para evaluar en su fábrica la eficacia de la sanitización a lo largo del proceso de industrialización. Esta información permite una concentración de esfuerzos dirigidos a mejorar la limpieza y desinfección en el área en el que se desarrolla las operaciones responsables, evitando así una pérdida de tiempo, esfuerzo y dinero en otras fases u operaciones menos importantes.<sup>21</sup>

Es preciso, sin embargo, advertir que el recuento de la flora aerobia mesófila tiene un valor limitado en algunos casos:

- En determinados tipos de alimentos (por ejemplo, embutidos fermentados, col ácida, queso y otros derivados lácteos) es natural y deseable una gran multiplicación bacteriana, con una “fermentación” o “maduración” paralela del alimento. En estos productos, un recuento elevado, como tal, carece prácticamente de significado, ya que los microorganismos improprios no pueden diferenciarse generalmente de la microflora propia o normal.
- En los alimentos tratados por el calor, la población de microorganismos viables suele ser muy baja, aunque un examen microscópico de estos productos puede a veces poner de

manifiesto la presencia de microorganismos muertos, cuyo número indica que la materia prima estaba muy contaminada.

- Del mismo modo, en los alimentos deshidratados y congelados, siempre se obtienen recuentos de bacteria viables más bajos. Así, un recuento en placa puede no reflejar la calidad bacteriológica de la materia prima antes de los procesos o tratamientos correspondientes y, por ello, es necesario llevar a cabo un examen microscópico directo para comprobar si, efectivamente, en un principio existían o no abundantes gérmenes.<sup>26</sup>

### 1.3.2.2 *Escherichia coli*

Pronunciado “eske'rikia 'koli”, también conocida por la abreviación de su nombre, *Escherichia coli*. Se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore Von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor.<sup>27, 28</sup>

La *Escherichia coli* es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*.

Está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar Mac Conkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59% en su DNA<sup>23, 27, 28</sup>.

Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50%

aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80% de todos los bacilos Gram negativos identificados<sup>29</sup>.

La *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía<sup>30</sup>.

Sus criterios de identificación son: Producción de gas a partir de la glucosa y fermentación de la lactosa con producción de gas cuando se incuban por 48 horas a 44.5 °C<sup>29, 30</sup>.

*Escherichia. coli* coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio.

Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes"<sup>12, 10, 31</sup>. Estas tienen la capacidad de fermentar la lactosa en un lapso no mayor de 48 horas, con producción de ácido y gas. Son gérmenes de gran ubicuidad y capacidad de proliferación, y a la vez de fácil cultivo e identificación, y por lo tanto muy útiles como indicadores de contaminación, pero no son enteropatógenos como grupo, y por lo tanto su presencia en alimentos, ambiente o paciente no certifica la etiología de una infección intestinal o un brote de ETA<sup>30</sup>.

Las cepas de *Escherichia coli* patógeno entérico, y en particular los enteropatógenos clásicos son la causa principal de diarrea en los países en vías de desarrollo, y llevan a la muerte de cerca de un millón de niños por año.

También son en nuestro medio las bacterias más frecuentemente asociadas con diarrea infantil. Ello es así tanto si se examinan los procesos agudos como los persistentes, si se estudia la situación en la comunidad o en niños hospitalizados<sup>30, 32</sup>.

Existe abundante bibliografía sobre los valores de *Escherichia coli* de los coliformes y de la familia completa de los Enterobacteriaceae como indicadores de contaminación de origen fecal<sup>22, 33, 34, 35, 36, 37, 38</sup>. Una práctica común es utilizar las pruebas para coliformes, que



incluyen *Escherichia coli*, en los ensayos de “screening” o preliminares. Si de estas pruebas iniciales se deduce la posibilidad de contaminación fecal, los coliformes u otros *Enterobacteriaceae* se someten a posteriores estudios para determinar si entre ellos está presente *Escherichia coli* <sup>34</sup>.

El termino coliformes fecales ha surgido como un intento de encontrar métodos rápidos y fiables para establecer la presencia de *Escherichia coli* y variantes estrechamente relacionados sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos en las pruebas de coliformes o de aplicar relativamente costosas pruebas confirmatorias.<sup>22</sup>

En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de *Enterobacteriaceae* o de coliformes indica:<sup>39</sup>

- Tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento; más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico.
- Multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos. Con todo lo valioso que es esta información puede ser, nunca deberá interpretarse como indicación cierta de que ha tenido lugar una contaminación de origen fecal de tales alimentos.

### 1.3.2.3 *Salmonella sp.*

*Salmonella* es un grupo de bacterias que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, formado por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula (excepto la especie *Salmonella typhi*) ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa.<sup>40, 41.</sup>

Hasta el momento, existen más de 1.600 serotipos y constantemente se están añadiendo a la lista serotipos nuevos. No obstante, únicamente se observan de modo regular unos 100 serotipos.<sup>42</sup>

La presencia de cualquiera de los serotipos de *Salmonella* en un alimento deberá ser considerado como peligro potencial. Existen datos recogidos sobre brotes epidemiológicos producidos por tales salmonellas resistentes a los antibióticos en salas hospitalarias infantiles con porcentajes de mortalidad mayores al 30%.<sup>43</sup>

Algunos serotipos de *Salmonella* son más virulentos que otros, el número real de estos que pueden producir enfermedad en el hombre no es conocido, pero se han aislado numerosas cepas en procesos gastroentéricos y la lista sigue creciendo. Por ello, se acepta de forma general que todos los serotipos de salmonella son potencialmente peligrosos para el hombre<sup>44</sup>. Estudios de administración con los alimentos de cultivos puros han demostrado que se requieren comúnmente grandes dosis de microorganismos para producir la enfermedad en los adultos<sup>45, 46, 47</sup>. No obstante, en los niños, ancianos y personas debilitadas, números reducidos de microorganismos son suficientes para determinar la enfermedad. Por esta razón, la presencia de salmonellas cualquiera que sea su número en un alimento preparado ya para el consumo se considera siempre como un peligro grave para la salud<sup>44</sup>.

La mayoría de las bacterias incluidas en la subespecie *entérica* presentan un conjunto de características metabólicas comunes. Fermentan glucosa con producción de gas y también manitol, sorbitol y otros carbohidratos, pero no lactosa ni sacarosa. Utilizan habitualmente citrato como única fuente de carbono pero no malonato, lo que las diferencia de otras subespecies como *arizonae*. Su fermentación es de tipo ácido mixta, con reacción negativa de Voges-Proskauer. Son en general productoras de ácido sulfhídrico, y son ureasa y fenilalanina 20 desaminasa negativas; descarboxilan la ornitina y lisina. Son capaces de sobrevivir durante muchos años en substratos simples manteniéndolas en lugar oscuro a temperatura ambiente, y en recipiente cerrado.

Dentro de la misma subespecie existen diferencias bioquímicas, por ejemplo, *Salmonella typhi* que no utiliza citrato ni descarboxila ornitina y es débil productor de ácido sulfhídrico<sup>48</sup>.

Es un agente productor de zoonosis de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual<sup>49</sup>.

Algunas salmonellas son comunes en la piel de tortugas y de muchos reptiles, lo cual puede ser importante cuando se manipulan a la vez este tipo de mascotas y alimentos<sup>49, 50</sup>

### ❖ Cuadro clínico y epidemiología

Con respecto a los síntomas clínicos, modo de difusión y patogenia, las salmonelosis pueden ser convenientemente divididas en dos grupos principales:<sup>45</sup>

- Las fiebres tifoideas y paratifoideas, producidas por *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* A, B, y C.
- Las infecciones entéricas producidas por otras *Salmonellas*.

Los dos grupos señalados difieren en aspectos importantes. Las fiebres tifo-paratíficas afectan a los primates (hombre y chimpancé) prácticamente de modo exclusivo. Su contagio se realiza por los alimentos y agua, así como por contacto directo. El cuadro clínico de la fiebre tifoidea se caracteriza por septicemia, aunque, como regla, no por enteritis.

La salmonelosis producida por el otro grupo, es una infección gastrointestinal, a veces complicada por una extensión septicémica a localizaciones fuera del tracto intestinal. Los síntomas gastrointestinales se caracterizan por fiebre, diarrea, dolores intestinales y vómito.

La vía de entrada de las *Salmonellas* es casi exclusivamente la vía oral. La infección se transmite por las excretas, principalmente por las heces, pero también por la orina. La epidemiología de la salmonelosis es extremadamente compleja. Algunas fases no se conocen todavía bien y precisan de más estudios.

Por lo general, los animales son solo portadores que eliminan *Salmonellas* de forma regular aunque en pequeña cantidad. El medio ambiente humano y animal se contamina por

excretorios humanos y animales. A través de las aguas superficiales, de los insectos, las aves y los roedores, pueden contaminarse tanto los alimentos como las comidas, estableciéndose así ciclos de infección.

Una serie de factores, tales como la practicas de cría de animales, los sistemas de reproducción animal, la producción centralizada de alimentos y comidas y el comercio internacional de alimentos contribuyen a crear ciclos de perpetuación entre hombre y animales. Los principales eslabones de las cadenas de circulación son animales-alimentos-animales, animales-alimentos-hombre y hombre-alimentos-animales. El contagio directo entre persona y persona es comparativamente raro.<sup>51</sup>

## 2. DEFINICIONES OPERACIONALES

### 2.1 Variable de estudio

Cantidad de frutos.

Calidad Microbiológica.

- **Análisis para Aerobios mesófilos:** Límite por gramo:  $10^4$  Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de muestra.
- **Análisis para *Escherichia coli*:** Límite por gramo: 10 Número Más Probable (NMP) por gramo de muestra.
- **Análisis para *Salmonella sp.*:**  
Presencia de *Salmonella sp.* por 25 gr. (+)  
Ausencia de *Salmonella sp.* por 25 gr. (-)

### 3. HIPÓTESIS ESTADÍSTICAS

**Ho:** Los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se venden en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto 2012 cumplen los requisitos de calidad microbiológica estipulados por MINSA/DIGESA.

**Ha:** Los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se venden en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto 2012 no cumplen los requisitos de calidad microbiológica estipulados por MINSA/DIGESA.

## CAPÍTULO II

### **1. MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

#### **1.1 Tipo de estudio:**

Es un estudio de enfoque cuantitativo, de tipo descriptivo no experimental, porque solo se analizó la pulpa del aguaje para describir los microorganismos presentes. Se determinó las unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos aeróbicos mesófilos totales, el número más probable (NMP) de *Escherichia coli*, y presencia o ausencia de *Salmonella sp.*

De acuerdo a la *Norma Técnica Sanitaria 071 - MINSA/DIGESA Vol. 1*<sup>23</sup> que *Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano*” aprobado el 27 de agosto del 2008 según resolución ministerial número 591-2008, el fruto escogido, *Mauritia flexuosa*, se encuentra en la clasificación de Frutas y Hortalizas Frescas, Semiprocesadas (lavado, desinfectado, peladas, cortadas y/o precocidas, refrigeradas y congeladas), en donde corresponde analizar la magnitud presente de los indicadores siguientes: aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*<sup>23</sup>.

## 2. POBLACIÓN Y MUESTRA

### 2.1 Población

La población objeto de estudio estuvo conformada por los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que se expenden en todos los puntos de venta de la zona urbana del distrito de Punchana, donde se venden un promedio de 8500 frutos de aguaje diarios. Este último dato se obtuvo de acuerdo a pesquisa hecha a cada vendedor de aguaje en toda nuestra área de estudio.

### 2.2 Muestra

La muestra estuvo conformada por 367 frutos de aguaje distribuidos en los 24 estratos (puntos de venta) del distrito de Punchana, esto se determinó por el método probabilísticas de afijación proporcional al tamaño de cada estrato. Por tanto, de cada estrato correspondió tomar 15 frutos de *Mauritia flexuosa* para su respectivo análisis.

El tamaño de la muestra fue calculada por el método referido anteriormente utilizando la siguiente fórmula para poblaciones finitas:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2} P \cdot Q}{E^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2}$  = Punto crítico bajo la curva normal para un nivel de significancia ( $\alpha$ ) establecido 1.96

$p$  = Proporción de agujajes contaminados con *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y aerobios mesófilos: 0.5.

$E$  = Error debido al muestreo fijado por el investigador: 0.05

$n$  = Muestra del estudio.

$N$  = Tamaño de la población: 8500 agujajes.



2.2.1 El tamaño final de la muestra:  $n_f = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}}$

*Reemplazando en la formula se tiene:*

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.5)(0.5)}{(0.05)^2} = 384$$

$$n_f = \frac{384}{1 + \frac{384}{8500}} = 367$$

## 2.2.2 Tipo de muestreo.

Se empleó el muestreo probabilístico estratificado con afijación proporcional al tamaño de cada estrato (puntos de venta) ya que nos permitió obtener por cada punto de venta los frutos de aguaje que formaron parte de la muestra definitiva del estudio. La selección de los frutos fue aleatoria simple, al azar.

## 2.2.3 Criterios de inclusión y exclusión de la muestra.

### Criterios de inclusión de la muestra.

Se tomaron todos los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje), que se venden en la vía pública, zona urbana del distrito del Punchana, Loreto – 2012 tal y como son vendidos al público en general.

### Criterios de exclusión de la muestra.

Los frutos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) que no se venden ni en la vía pública, ni en la zona urbana del distrito de Punchana Loreto – 2012.

### **3. CRITERIOS DE BIOSEGURIDAD.**

Se tomó como estándares a seguir, procedimientos operacionales y prácticas establecidas y promulgadas por determinados organismos como la Organization for Economic Cooperation and Development (OCDE), o la Food and Drug Administration (FDA), que se consideran de obligado cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en determinados tipos de investigaciones o estudios<sup>66</sup>.

Se cumplió con los tipos de requerimientos para trabajar con sustancias potencialmente peligrosas y agentes infecciosos los cuales se mencionan a continuación:

Limpieza y facilidad de limpieza; restricción de acceso de personal; uso de equipos de protección personal (EPP), ej.: guantes, máscaras faciales, botas, aparatos de respiración, gorros; ventilación; tomar en cuenta las practicas estándar de laboratorio como: lavarse las manos antes y después de empezar el trabajo en el laboratorio, no comida, no bebida, no fumar en los laboratorios; no pipetear con la boca; minimizar los aerosoles; apropiada provisión de desinfectantes; forma segura de disposición de desechos químicos y físicos; reporte y registro de accidentes; apropiada disponibilidad de equipo de seguridad; prácticas personales de higiene; entrenamiento de personal y asignación de oficiales de seguridad; registro sobre el uso de materiales y químicos peligrosos, además deben existir procedimientos de control de emergencias que comprendan primeros auxilios, derrames, anti incendios, y evacuación de las instalaciones. El establecimiento de elevados estándares de seguridad y su mantenimiento en el laboratorio, proporcionaran condiciones de trabajo saludables para todo el personal.<sup>67, 68, 69</sup>.

### **4. INSTRUMENTOS**

Hoja de reporte analítico microbiológico

Se utilizó la observación directa, medición y registro del conteo de colonias que se forman en las placas, las reacciones de coloración en la identificación del crecimiento o no de los microorganismos y la identificación de los tubos que presentan o no gas.

## **4.1 Procedimiento analítico**

### **4.1.1 Recolección de las muestras vegetales**

Fueron recolectados de cada uno de los 24 puntos de venta considerados en el estudio que se encuentran en el distrito de Punchana, que está ubicado en Iquitos, capital del departamento de Loreto, a orillas del río Amazonas en la Selva Baja, a una altura de 116 msnm, latitud sur de 03° 45' 180'' y longitud oeste de 73° 14' 00'' aproximadamente, en una zona de vida considerada bosque tropical húmedo, de terreno arenoso, ligeramente ácido y con buen contenido de materia orgánica; con una temperatura media anual de 26°C y una precipitación pluvial de 2,727 mm al año.

### **4.1.2 Descripción de las técnicas empleadas**

El análisis microbiológico de las muestras en estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

#### **4.1.2.1 Recuento de aerobios mesófilos**

Este análisis se realizó de acuerdo al Método de Recuento Estándar en Placa por Siembra en Todo el Medio o método de recuento en placa de microorganismos aerobios<sup>50, 57, 25, 58, 59, 60, 61, 62</sup>. Método descrito por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos UCMSF, la cual se describe a continuación<sup>25</sup>: (*ver Esquema N°01 en Anexos*).

La técnica empieza su desarrollo con la dilución de la muestra a trabajar. Se comenzó a trabajar tan pronto se obtuvo las muestras. Se pesó en una bolsa de polietileno previamente tarada, 10 gr. de la muestra. Añadiendo luego un volumen de diluyente (agua peptonada tamponada) igual a 9 veces la muestra. Obteniendo así una dilución de  $10^{-1}$ . Se agito enérgicamente con las manos y se pasó 1 ml a un tubo conteniendo 9 ml de diluyente. De este modo se obtuvo la dilución  $10^{-2}$ . Se pipeteo 1 ml en un nuevo blanco de dilución de 9

ml obteniéndose de esta forma la dilución  $10^{-3}$ , de igual manera se procede para obtener la dilución  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  respectivamente.

- Se pipeteó por duplicado, en placas de petri, alícuotas de 1 ml de todas las diluciones, excepto la dilución  $10^{-1}$ .
- Se fundió el agar para recuento en placa (agar plate count) utilizando vapor o agua hirviendo y procurando que este tratamiento térmico no sea excesivamente prolongado. Se templó el medio a  $44-46\text{ }^{\circ}\text{C}$  y controló cuidadosamente su temperatura para que al mezclarlo con la dilución del alimento no sean inactivados los gérmenes. Se vierte inmediatamente en las placas de petri 10 ml de medio fundido y templado. El periodo de tiempo transcurrido entre la realización de las diluciones y el vertido del medio no debe superar los 20 minutos y es preferible que sea inferior a 10 minutos.
- Acto seguido, se mezcló el inóculo con el medio fundido, inclinándolo y girando las placas.
- Una vez solidificado el agar, se invirtió las placas y se incubó a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante  $48 \pm 3$  horas.
- Se calculó el recuento estándar en placa o el recuento estándar en placa estimado, teniendo en consideración todas las instrucciones relativas al cálculo, a la presencia de inhibidores y de colonias de crecimientos difusivos en superficie, a los informes e interpretación y a la reproductibilidad y error personal.

#### **Cálculo de recuento estándar en placa.**

Se eligió dos placas, correspondientes a una dilución que presenten entre 30 y 300 colonias. Se contó todas las colonias de cada placa utilizando el contador de colonias y el dispositivo de registro automático. Se halló la media aritmética de los dos valores y lo multiplicamos

por el factor de dilución (la inversa de la dilución cuyas placas han sido seleccionadas). Se dio el valor obtenido como el recuento estándar en placa.

#### 4.1.2.2 Detección de presencia de *Escherichia Coli*.

Este análisis se realizó mediante la técnica del Número Más Probable (NMP)<sup>25, 58, 59, 60, 61, 63</sup> (Ver esquema N°02 en anexos). Método descrito por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos UCMSF,

- La técnica empieza su desarrollo con la dilución de la muestra a trabajar: 10 g de muestra se agregaron en 90 ml de agua peptonada, obteniendo la dilución  $10^{-1}$ , de ésta se transfirió 1 ml a otro tubo y se agregó 9 ml de agua peptonada, obteniendo la dilución  $10^{-2}$  y de ésta se obtuvo la dilución  $10^{-3}$  respectivamente. Una vez hechas las diluciones del alimento, se procuró que transcurriera el menor tiempo posible hasta que se realizaran las siembras, pues así se evitó la multiplicación o la muerte de los microorganismos suspendidos en el diluyente.
- Se pipeteó 1 ml de cada una de las diluciones del homogeneizado del alimento en tubos de caldo lauril sulfato, utilizando tres tubos por cada dilución.
- Se incubó los tubos a 35-37 °C durante 24 y 48 horas.
- Pasadas las 24 primeras horas, anotamos los tubos que mostraron producción de gas. Se volvió a la estufa los tubos negativos para su incubación durante 24 horas más.
- Pasadas las 48 horas, se anotaron los tubos que mostraron producción de gas.
- Se anotaron los resultados.

## ❖ **Determinación de organismos coliformes de origen fecal**

- Se tomaron los tubos de caldo lauril sulfato gas positivo del procedimiento anterior.
- Se inocularon un asa de caldo de cada uno de los cultivos seleccionados en tubos de caldo *Escherichia coli*.
- Incubando los tubos de caldo *Escherichia coli* a 44,5 más o menos 0,2 °C y viendo si son positivos de formación de gas a las 24 y a las 48 horas.
- Se presume que los tubos de caldo *Escherichia coli*. que presenten gas son también positivos de organismos coliformes de origen fecal.
- Se sembró por estría un asa de cada tubo de caldo positivo de gas del caldo *Escherichia coli*, en placas de agar eosina azul de metileno o de agar Endo, utilizando una placa para cada tubo. Se incubo las placas invertidas durante 24 horas a 35-37 °C.
- Se tomó una colonia representativa (nucleada, con o sin brillo metálico) de cada placa y se resembró en estría en una placa de agar nutritiva. Se incubó la placa invertida durante 24 horas a 35-37 °C.
- Se seleccionó colonias individuales y se sembró cada una en agar nutritiva inclinado y en caldo lactosa. Se incubó los cultivos durante 24 horas a 35-37 °C.
- A partir de los cultivos gas positivo en cada lactosa, se hizo una extensión y se tiñó por el método de Gram para confirmar la presencia de bacilos Gram negativos no esporulados.

## ❖ **Pruebas bioquímicas de identificación de organismos coliformes: IMViC**

Se llevó a cabo la diferenciación del grupo coliformes en especies y variedades sobre la base de los resultados de cuatro pruebas (indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico), denominadas colectivamente como “pruebas IMViC”. (Ver tabla N° 02 en anexos).

- Para inocular los medios IMViC que se mencionan a continuación, utilizamos un asa de platino e hicimos las siembras a partir de cultivos de 24 horas en agar nutritivo inclinado.

### a) **Técnica para la prueba de indol**

- Se inoculó tubos de caldo triptosa o de agua de peptona a partir de cultivos puros y se incubó los tubos sembrados a 35-37 °C durante 24 horas.
- Se añadió a cada tubo 0,2-0,3 ml del reactivo KOVACS para el indol y se agito.
- Se observaron los resultados, un color rojo oscuro en la superficie de la capa de alcohol amílico, la prueba es positiva. Un color naranja indica la presencia posible de escatol y puede ser anotado como reacción más o menos.

### b) **Técnica para la prueba del rojo de metilo**

- Se inocularon tubos de caldo glucosa tamponado a partir de cultivos puros y se incubaron los tubos sembrados a 35-37 °C durante 5 días.
- Se pipeteó 5 ml de cada cultivo en tubos vacíos y se añadió a cada tubo 5 gotas de la solución de rojo de metilo.
- Se anotó como positivo la aparición de un color rojo bien definido y como negativo si el color era amarillo. Colores intermedios indicaron reacción dudosa.

**c) Técnica para la prueba de voges-proskauer**

- Se inoculó tubos de caldo glucosa tamponado a partir de cultivos puros y se incubó a 35-37 °C durante 48 horas.
- Se pipeteó 1 ml de cada cultivo en tubos vacíos y se añadió a cada uno de ellos 0,6 ml de la solución de naftol y 0,2 ml de la solución de hidróxido potásico.
- Se agitaron los tubos y luego dejarlos en reposo durante 2-4 horas. La aparición en la mezcla de un color rosa a carmesí se anotó como prueba positiva.

**d) Técnica para la prueba del citrato sódico.**

- Se inocularon tubos de agar citrato de simmons a partir de cultivos puros. Se utilizó para ello un alambre recto, a fin de sembrar un inculo pequeño, ya que de otro modo la transferencia de nutrientes con el inculo pudo invalidar la reacción. Se sembró por picadura en la columna de agar y por estría en la superficie inclinada.
- Se incubó el agar citrato de simmons a 35-37 °C durante 48 horas.
- Se anotó como reacción positiva si el crecimiento es visible y como negativo cuando no lo es. El crecimiento se manifiesta, generalmente, por el cambio del color verde claro del medio al azul.



#### 4.1.2.3 Detección de la presencia *Salmonella sp.*

Procedimiento descrito según la Food And Drug Administration FDA - 2007<sup>64</sup>. (ver el esquema N°03 en anexos).

- A 25g de la muestra fueron añadidos a 225 ml de caldo lactosa y mezclados por 2 minutos, cumpliendo una dilución de 1:9, se dejó reposar durante 60 min a temperatura ambiente con la tapa bien ajustada. Se aflojó la tapa del recipiente a 1/4 de vuelta y se incubó a  $18 \pm 2$  horas a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- Se transfirió 1 ml del caldo de enriquecimiento a 10ml de caldo rappaport-vassiliadis (RV) y se incubó por  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $42^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ .
- Se transfirió 1 ml del caldo de enriquecimiento a 10 ml de caldo tetracionato (TT) y se incubó por  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $43^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ .
- A partir de los caldos TT y RV se estiraron un ansa llena (10 ul) en agar bismuto sulfito (BS), en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y en agar hektoen entérico (HE).
- Con las placas que mostraron crecimiento de colonias, se realizó la siembra de estas por estría en Agar Nutritivo por 24 horas.
- Las placas que mostraron crecimiento en Agar Nutritivo fueron sembrados en agar triple sugar iron (TSI) y agar lisina hierro (LIA) a  $35^\circ\text{C}$  durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ .
- Se interpretaron los resultados: agar triple sugar iron (TSI): pico de flauta alcalino (rojo) y fondo ácido (amarillo) con o sin producción de  $\text{H}_2\text{S}$  (ennegrecimiento del agar). Y agar lisina hierro (LIA): todo alcalino (violeta). Se consideró sólo amarillo definido en el fondo del tubo como ácido (reacción negativa). No se descartó los cultivos que produjeron decoloración en el fondo del tubo basándose solo en esta reacción. La mayoría de los cultivos de *Salmonella* producen  $\text{H}_2\text{S}$  en agar lisina hierro. Algunos cultivos que no son *Salmonella* producen un color rojo ladrillo en agar lisina hierro.

- Se realizaron las pruebas de identificación bioquímica y serológica a: tres agar triple sugar iron presuntivos provenientes de placas sembradas a partir del caldo RV y tres agar triple sugar iron TSI presuntivos proveniente de placas sembradas a partir del caldo tetracionato.
- Se sembró a partir del agar triple sugar iron TSI presuntivo en tubos con caldo urea. Incubando 24 h  $\pm$  2 h a 35°C.
- En una placa porta objetos se homogenizó una gota de solución salina con una gota de antisuero O y H. Se consideró cualquier grado de aglutinación como positivo.

## 5. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados obtenidos en los ensayos, se expresaron en términos de valores resultantes y se expresaron de la siguiente manera:

- Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de alimento para el análisis de Aerobios Mesófilos.
- Número Más Probable (NMP), tubos gas positivo y reacciones de coloración en las pruebas bioquímicas dentro del análisis de *Escherichia coli*.
- Presencia o ausencia a través de reacciones de aglutinación o precipitación en el análisis de *Salmonella sp.*

## CAPÍTULO III

### 1. RESULTADOS

#### 1.1 Análisis de aerobios mesófilos

**Tabla 01. Resultados obtenidos en el análisis de *Aerobios mesófilos***

Puntos de venta	UFC/gr. de aguaje
A	$2.8 \times 10^5$
B	$1.3 \times 10^4$
C	$5.0 \times 10^4$
D	$2.1 \times 10^4$
E	$1.7 \times 10^5$
F	$2.8 \times 10^5$
G	$1.8 \times 10^4$
H	$4.7 \times 10^3$
I	$1.8 \times 10^4$
J	$1.0 \times 10^4$
K	$1.5 \times 10^4$
L	$8.3 \times 10^4$
M	$9.9 \times 10^3$
N	$1.2 \times 10^6$
O	$2.3 \times 10^5$
P	$2.2 \times 10^5$
Q	$1.4 \times 10^5$
R	$6.4 \times 10^4$
S	$2.3 \times 10^4$
T	$5.3 \times 10^4$
U	$7.7 \times 10^5$
V	$1.2 \times 10^6$
W	$2.5 \times 10^4$
X	$3.6 \times 10^5$

En el cuadro N° 01 se presenta el análisis de Aerobios mesófilos de las muestras de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) en cada uno de los 24 puntos de venta tomados para el estudio. Las imágenes del 6 al 7, muestran las placas que contienen las colonias según el método de recuento estándar. (*Ver anexo*).

## 1.2 Análisis de *Escherichia coli*

Tabla N° 02. Resultados obtenidos en el análisis de *Escherichia coli*.

Puntos de venta	NMP/grde aguaje
A	< 3
B	< 3
C	< 3
D	< 3
E	< 3
F	3.6
G	< 3
H	< 3
I	< 3
J	< 3
K	< 3
L	< 3
M	< 3
N	< 3
O	< 3
P	< 3
Q	< 3
R	< 3
S	< 3
T	< 3
U	< 3
V	< 3
W	< 3
X	< 3

En la tabla 02, se presenta el análisis de *Escherichia coli* de las muestras de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) en cada uno de los 24 puntos de venta tomados para el estudio. La imagen 8 muestran los tubos gas positivo según el método del Número Más Probable y las reacciones de coloración producidas en las pruebas bioquímicas (*Ver anexo*) vemos en las imágenes del 9 al 12.

### 1.3 Análisis de *Salmonella sp.*

**CUADRO N° 03. Resultados obtenidos en el Análisis de *Salmonella sp.***

PUNTOS DE VENTA	Salmonella en 25g de Aguaje
A	Ausencia
B	Ausencia
C	Ausencia
D	Ausencia
E	Ausencia
F	Ausencia
G	Ausencia
H	Ausencia
I	Ausencia
J	Ausencia
K	Ausencia
L	Ausencia
M	Ausencia
N	Ausencia
O	Ausencia
P	Ausencia
Q	Ausencia
R	Ausencia
S	Ausencia
T	Ausencia
U	Ausencia
V	Ausencia
W	Ausencia
X	Ausencia

En el cuadro N° 03 se presenta el análisis de *Salmonella sp.* de las muestras de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) en cada uno de los 24 puntos de venta tomados para el estudio. Las imágenes del 13 al 14, muestran el proceso de los ensayos. (*Ver anexo*)

## 2. DISCUSIÓN

Según López, J. (2009) refiere que, la mayor parte de los alimentos se convierten en potencialmente peligrosos para el consumidor, solo después de que se han violado principios de higiene, limpieza y desinfección. Por lo que, la presencia de microorganismos en el aguaje no significa necesariamente un peligro para el consumidor ni una calidad inferior de estos frutos. Para López el número de microorganismos aerobios mesófilos, tienen un valor límite de  $10^3$  UFC/g de muestra (según cuadro 1). Al comparar con los resultados obtenidos en el presente estudio, se encontró que en 22 puntos de venta se supero el valor límite, lo que indicaría que la manipulación de los frutos se pudo haber realizado de forma inadecuada. Solo dos puntos de venta, “H” y “M” se encuentran por debajo del límite permitido, estando aptos para el consumo.

Para Yousef, A (2006) *Escherichia coli* es un microorganismo cuyo hábitad natural es el tracto entérico del hombre y de los animales y que la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal, además el investigador afirma que el valor límite de este microorganismo es de 10 NMP. Como se aprecia en el cuadro N° 02, los resultados obtenidos en el presente estudio, revelaron la presencia en forma mínima de este microorganismo en casi todos los 24 establecimientos en estudio, con valores menores que 3 NMP por gramo de muestra de aguaje, teniendo en cuenta los valores de la Tabla N° 01 (*Ver anexos*), la presencia de este microorganismo en una sola muestra sugiere que no hay contaminación por E. coli.

Para Pascual todas las *Salmonellas* deberían ser consideradas como potencialmente patógenas para el hombre, la única vía de entrada de estos microorganismos en el cuerpo humano es el oral, por lo que es de suma importancia el análisis para detectar su presencia. De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio (cuadro N° 03) la presencia de este patógeno fue nula.

Cabe indicar que la presencia de *Escherichia coli* no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo que pudiera estar

presente; además, la presencia de *Escherichia Coli* no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de *Salmonellas*.

A pesar de haber obtenido resultados negativos para los indicadores *Escherichia coli* y *Salmonella sp*, se encontró la presencia de coliformes fecales y totales, lo que hace suponer que *Mauritia flexuosa* en todo el proceso desde su cosecha hasta su expendio al público consumidor no sufre mayores cuidados de desinfección y/o higiene.

### 3. CONCLUSIÓN

- En el análisis de aerobios mesófilos, todos los puntos de venta superaron el valor límite de  $10^4$  UFC/g por muestra de aguaje y solo dos se encuentran por debajo de dicho valor, el punto de venta “H” con  $4.7 \times 10^3$  UFC/g de muestra de aguaje y el punto de venta “M” con  $9.9 \times 10^3$  UFC/g de muestra de aguaje.
- En el análisis de *Escherichia coli*, todos consiguieron valores de menores de 3 NMP por gramo de muestra de aguaje, excepto el punto de venta F. Este resultado indica la ausencia de *Escherichia coli* en los frutos de *Mauritia flexuosa* comercializados en la zona urbana del distrito de Punchana.
- En el análisis de *Salmonella sp.* se notó la ausencia total de este microorganismo.
- Visto lo anterior se concluye que de los 24 puestos de venta en todo el distrito de Punchana, 22 puestos no son aptos para el consumo humano de acuerdo a los criterios microbiológicos establecidos en la norma técnica sanitaria 071 – MINSA/DIGESA Vol. 01 que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.



#### **4. RECOMENDACIÓN**

- Viendo la importancia que tiene la realización de los exámenes microbiológicos en los diferentes tipos de alimentos, se sugiere su práctica en la mayoría de los laboratorios de la ciudad.
- En el análisis microbiológico para determinar microorganismos específicos, es recomendable realizar diversos métodos de análisis y comparar los resultados de uno con los otros.
- Buscar mecanismos y realizar estrategias que involucren la educación a la población que trabaja en la comercialización de este fruto, en el manejo, limpieza y manipulación de este fruto en la ciudad de Iquitos.
- Ser estrictamente cuidadoso a la hora de manipular las muestras y reactivos de trabajo para evitar contaminación y la influencia de esta en los resultados, asimismo evitar accidentes.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. OPS (1997) Contaminación Microbiana de los Alimentos Vendidos en la Vía Pública en Ciudades de América Latina y Características Socio-Económicas de sus Vendedores y Consumidores. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Subregional de la Organización Mundial de la Salud. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis. Programa de Salud Pública Veterinaria.
2. YUPANQUI, I. B. (2008). Laboratorio de Salud Ambiental. “Evaluación de la Calidad Microbiológica de los Alimentos en la Región Moquegua – 2008”.
3. QUISPE M; SÁNCHEZ P.(2001). Evaluación Microbiológica y Sanitaria de Puestos de Venta Ambulatoria de Alimentos del Distrito de Comas, Lima – Perú. División de Microbiología, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Instituto Nacional de Salud.
4. CARMELA LÓPEZ TABOADA. (2009). Contaminación Microbiológica del Aguaje Como Fruto y Masa.
5. INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ INCAP/OPS (2006). “Adaptación del manual 5 claves de la OMS para la inocuidad de los alimentos en escuelas primarias de Guatemala” julio 2005 – julio 2006.
6. OPS/OMS (1994). Evaluación del riesgo microbiológico de los alimentos vendidos en la vía pública en ciudades de América Latina. Abril 1994.
7. REVISTA PERUANA DE MEDICINA EXPERIMENTAL Y SALUD PÚBLICA. (2001).Evaluación Microbiológica y Sanitaria de Puestos de Venta Ambulatoria de Alimentos del Distrito de Comas. Lima – Perú.

8. AGUSTÍN GONZALES CORAL. (2007). Frutales Nativos Amazónicos. Patrimonio Alimenticio de la Humanidad. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. Iquitos.
9. ZANATTA C. (2008). Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (13):pp. 5062 – 5072.
10. PEDRO GILBERTO VÁSQUEZ OCMÍN. (2008). Caracterización de Ácidos grasos, Beta-carotenos, alfa-tocoferol y estabilidad oxidativa de los aceites de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa L. F.* mediante cromatografía de gases, HPLC Y RANCIMAT. Iquitos 2008.
11. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUANA – IIAP, (2006). Domesticación y Servicios Ambientales del Aguaje (*Mauritia flexuosa L.f.*) en la Amazonia Peruana. *FOLIA AMAZONICA* VOL. 18: 7-8.
12. ALBUQUERQUE M.L.S.; GUEDES, I.; ALCANTARA, JR.; MOREIRA, S.G.C (2003), Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa L.*) oil. *Vibrational spectroscopy*, 33:pp. 127-131.
13. GARCÍA R.; REÁTEGUI M. (2002). Conservación de Pulpa de *Mauritia flexuosa L.f* (Aguaje) con aplicación de métodos de factores combinados. Agroindustrias Amazónicas. Perú. 17 pp.
14. GARCÍA MAURICIO, ALBERTO.; PINTO ARÉVALO, JUAN JOSÉ. (2002). Diagnóstico de la demanda de *Mauritia flexuosa L.f.* “Aguaje” en la ciudad de Iquitos, Perú. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, IIAP. 22pp.

15. ROJAS R.; RUIZ, G.; RAMÍREZ, P.; SALAZAR, C.; RENGIFO, C.; LLERENA, C.; MARÍN, C.; TORRES, D.; OJANAMA, J.; SILVANO, W.; MUÑOZ, V.; LUQUE, H.; VELA, N.; DEL CASTILLO, N.; SOLIGNAC, J.; LÓPEZ, V., (2001). Comercialización de masa y “fruto verde” de aguaje (*Mauritia flexuosa L.f*) en Iquitos, Perú. *Folia Amazónica* VOL. 12: 1-2.
16. HERNÁNDEZ M, *et al* (2001). Aspectos biológicos y conservación de frutas promisorias de la amazonia colombiana.
17. DE CAMARGO, E. (1974). Estudio químico del fruto de *Mauritia flexuosa* (Palma de moriche). *Revista colombiana de ciencias químico farmacéuticas*, 2: pp. 77-91.
18. Google.com. Control Microbiológico de Calidad. Microbiología. Desarrollo histórico. Microorganismos. Productos de consumo. Importancia patológica. Enfermedades. Criterios. Muestreo. Variables. Métodos de examen. Procesado de las muestras. Indicadores. *Salmonella. Vibrio. Streptococcus. Listeria*. 2001.
19. JOSÉ MARÍA OBÓN DE CASTRO. (2002). Dpto. Ingeniería Química y Ambiental. Universidad Politécnica de Cartagena. Análisis microbiológico del agua. Colombia.
20. COMISIÓN INTERNACIONAL PARA ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS. (1996). *Microorganismos de los Alimentos*, Volumen 1. Toronto, Canadá. Segunda Edición. 430p.
21. COMISIÓN INTERNACIONAL PARA ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS. (1997). *Microorganismos de los Alimentos*, Volumen 2. Muestreo para el análisis microbiológico: principios y aplicaciones específicas. Toronto, Canadá. Segunda Edición. 430p.

22. ASOCIACIÓN AMERICANA DE SALUD PÚBLICA. (1966). Métodos Recomendados para el Examen Microbiológico en los Alimentos. Segunda edición, New York, USA.
23. Norma Técnica Sanitaria N° 071 según RM N° 591-2008. MINSA, PERU. Vol. 1.
24. PROGRAMA PRUEBAS DE DESEMPEÑO DE PRODUCTOS (PDP). (2011) Ministerio de Industria. Secretaria de Industria y Comercio. República de Argentina.
25. COMISIÓN INTERNACIONAL DE ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA ALIMENTOS UCMSF. (200). Microorganismos de los Alimentos. Tomo 1. Su significado y Métodos de Enumeración. 2° Edición.
26. LENNETTE, E.H., SPAULDING, E.H., TRUANT, J.P. (1974). Manual de Microbiología Clínica. Segunda Edición. Washington, D.C. sociedad Americana de Microbiología.
27. Spanish organic cucumber *E. coli* o 104:h4 outbreak by the numbers - 600 ill, 214 with Hus and 5 deaths. Consultado el 26 de mayo de 2011.
28. A case of hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* o104:h4. 30 de Junio de 2006.
29. Breuer t, Benkel dh, Shepiro rl, hall wn, winnett mm, linn mj, neimann j,barrett tj, dietrich s, downes fp, toney dm, pearson jl, rolka h, slusker l, (2001). Alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. Emerg. Infect. Dis. 7: 977-982.
30. Devinney R, Puente JL, Gauthier A, Goosney D, Finlay BB. (2001). Enterohemorrhagic and enteropathogenic *E. coli* use a different Tir-based mechanism for pedestal formation. Mol. Microbiol. 41: 1445-1458.

31. Cesar Delgado. (2004). *Mauritia flexuosa*. Recursos filogenéticos de la Amazonia rico en vitamina A con magníficas potencialidades de explotación. IIAP.
32. Elliott EJ, Robins-Browne RM, O'Loughlin EV, Bennett-Wood V, Bourke J, Henning P, Hogg GG, Knight J, Powell H, Redmond D. (2001). Nationwide study of hemolytic uremic syndrome: clinical, microbiological, and epidemiological features. *Arch. Dis. Child.* 85:125-131.
33. BUTTIAUX, R., Y MOSSEL, D.A.A. (1961). El Significado de Organismos diversos de Origen Fecal en Comidas y Agua de beber. *Journal de Aplicaciones Bacteriológicas.* 24:353 pp.
34. HALL, H.E. (1964). Métodos de aislamiento y enumeración de organismos coliformes. Washington D.C. Departamento de Bienestar y Educación en Salud del Servicio de Salud Pública de U.S.A. Publ. N° 1142.
35. HAUSLER, W.J. (1972). Métodos estándar para el examen de productos lácteos. 13era edición. Washington, D.C, Asociación Americana de Salud Pública.
36. WILSON, G.S.; MILES, A.A. (1975). Los Principios de Topley y Wilson de Bacteriología, Virología e Inmunidad, Volumen II. 6ta Edición. Londres.
37. GELDREICH, E.E. (1966). Significado Sanitario de Coliformes Fecales en el Ambiente. Washington, D.C. Dpto. del Interior U.S.A. Publ. W.P-20-3,
38. MOSSEL, D.A. (1975). Principios Ecológicos y Aspectos Metodológicos en la Examinación de Microorganismos Indicadores en Alimentos. *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists* 50:91.

39. ALLEN, L.A., PASLEY, S.M. AND PIERCE, M.S.F. (1992). Condiciones que afectan el crecimiento de la Bacteria *E. coli* en medio de sales biliares. *Journal de Microbiología Genética*. 7:257.
  
40. Le Minor L, Popoff MY: Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. Nov. nom., rev. as the type and only species of the genus *Salmonella*. *Int J Syst. Bacteriol.* 1987; 37: 465 – 468.
  
41. Reeves M.W, Evins G., Heiba A.A, Plikaytis B.D Farmer JJ (1989). 3rd. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *Salmonella* as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella*. *Clin. Microbiol;* 27(2): 313 – 320.
  
42. Joint FAO/WHO Expert Committee on Microbiological Aspects of Food Hygiene. (1998). Organización Mundial de la Salud OMS. *Series de Reportes Técnicos*. N° 399.
  
43. WORLD HEALTH ORGANIZATION. (1994). Vigilancia de Salmonella, reporte a la OMS. *Semanario de Microbiología*. 48:80-214.
  
44. ANDREWS, W.H., WILSON, C.R. (1996). Contaminación de Salmonella en el Régimen Alimentario Suplementario de Proteínas. U.S.A. *Administración de Drogas y Alimentos FDA*. 6:219-20.
  
45. McCullough, N.B., Eisele, C.W. (2001). Experimental Human Salmonellosis. *J. infect.Dis.* 88:279.
  
46. Kime, J.A., Lowe, E.P. (1991). Human Oral dose for ten Select.Food-and water-borne diseases. *Misc. Publ.* 39. U.S.A.

47. Hornick. R.A., Dupont, H.L., Dawkins, A.T. Snyder, M.J. (1971). Evaluation of typhoid fever vaccines in man. *Vaccines*, Berne. 15:143.
48. Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae. 4th. ed. El sevier, 1986.
49. Peanut-borne *Salmonella* outbreak. 2008 – 2009.
50. United States. Salmonellosis outbreak 2008.
51. Lee, J.A. (1999). Salmonella en las Aves de Corral en Gran Bretaña. La seguridad Microbiológica en la comida. 8va Edición. New York. p. 197.
52. Cronquist, A. (1978). The evolution and classification of flowering plants, the New York Botanical Garden, 2da Edición. New York, USA.
53. Castro, A. (2000). Buriti, *Mauritia flexuosa* In: Biodiversidad Amazónica; exemplos e estratégias de utilização. Instituto Nacional de Pesquisada da Amazonía (INPA). Co. Edição SEBRAE; Manaus, Brasil.
54. Del Castillo, D., Otárola, E., Freitas, L. (2006). Aguaje, la maravillosa palmera de la Amazonía. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Ediciones Wust. 51 p.
55. Chuquival, G. (2003). Caracterización Morfológica del Estado de Plántula de cuatro especies de Frutales Nativos: Aguaje, Metahuayo, Macambo y Uvilla. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Facultad de Agronomía.
56. Case, C., Lares, M., Palma, A., Brito, S., Pérez, E. (2007). Blood glucose and serum lipid levels in the Venezuelan Warao tribe: Possible relationship with moriche fruit

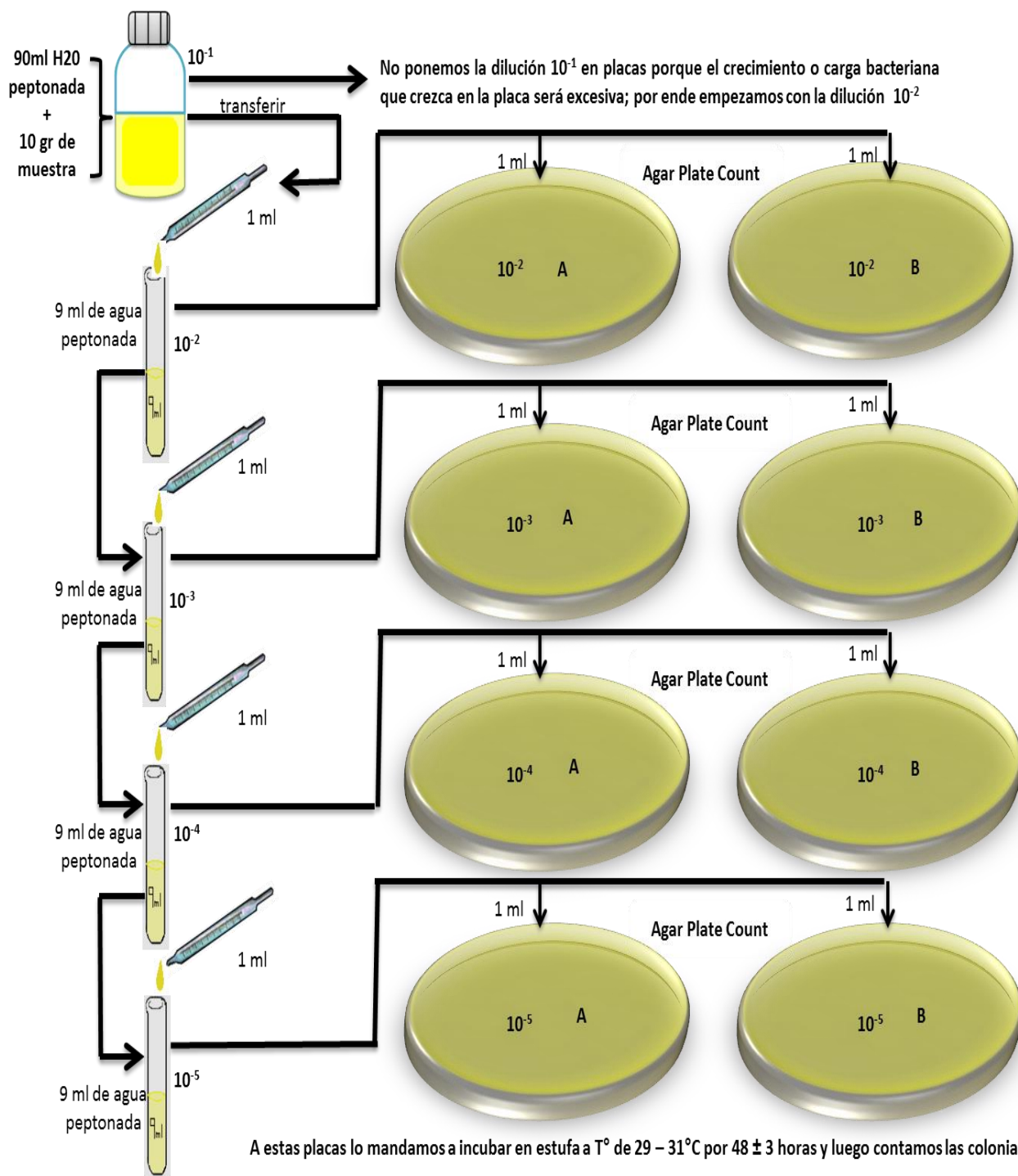


- (*Mauritia flexuosa L.*) intake. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease, 17 (1-2).
57. Manual de Análisis Microbiológico de alimentos. Dirección General de Salud Loreto - DIGESA. Lima – 2001.
  58. COLLINS. C. H.; LYNE. P. M. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza-España
  59. HAYES, P. R. Microbiología e Higiene de los alimentos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza-España.
  60. RATTO, M. A. ET AL. 1982. Curso Internacional de Microbiología e Higiene de los Alimentos. Guía de Trabajo Práctico. U. N. M. S. M. Lima-Perú.
  61. PASCUAL ANDERSON M. 1989. Microbiología Alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. AGISA. Madrid-España.
  62. YOUSEF, A ET AL. 2006 Microbiología de los Alimentos: Manual de laboratorio. Editorial Acribia S. A.
  63. ROBERTS, D. ET AL. Microbiología Practica de los Alimentos. 1995. Editorial Acribia S. A. Zaragoza-España.
  64. Detección, aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. en muestras de Alimentos. Procedimiento según Bacteriological Analytical Manual – FDA: 2007. Cap. 5.
  65. Reglamento Sanitario de Alimentos. Capitulo III. Alimentos de Origen Vegetal. 5° punto: De las Frutas y Verduras. Artículo 555.

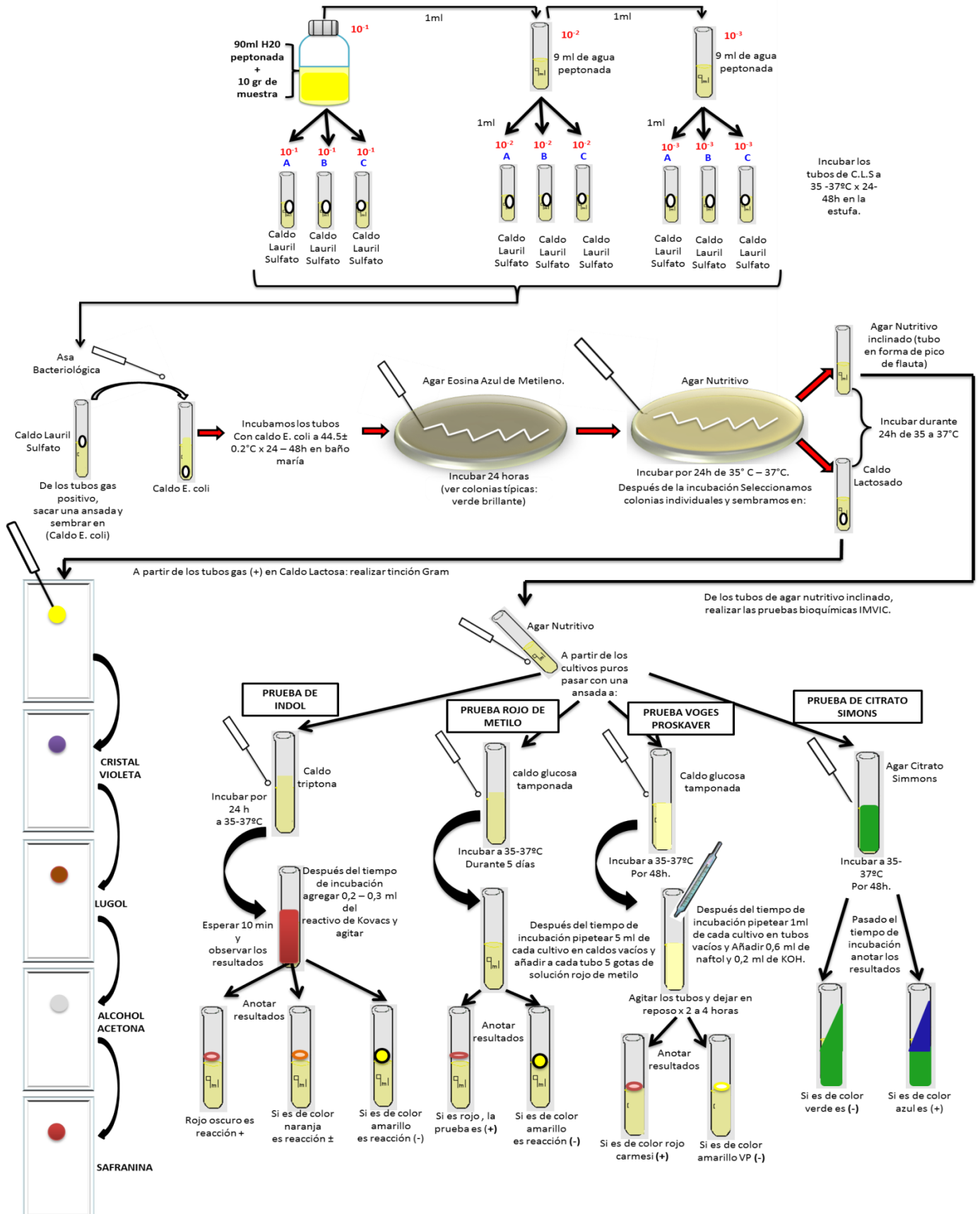
66. MORRIS, C.R., Good Laboratory Practices; An Agrochemical Perspective, Garner, W. Y. (Ed) at the Meeting of the American Chemical Society, New Orleans, Louisiana, Good Laboratory Practices: Birth of a New Profession, PAG. 1-6.
67. Guías para el Establecimiento del Sistemas de Calidad en Laboratorios de Diagnóstico Veterinario. Reporte de una Reunión/Taller de consultores organizada por la División Conjunta de Técnicas Nucleares en Alimentación y Agricultura, FAO/IAEA, el Laboratorio de Agricultura y Biotecnología de FAO/IAEA, y el Departamento de Cooperación Técnica. Centro Internacional, Viena. Septiembre 4-8 de 2000. (Versión 1.2, 17 de Mayo, 2002).
68. Adachi JA, Jiang ZD, Mathewson JJ, Verenkar MP, Thompson S, Martínez-Sandoval F, Steffen R, Ericsson CD, DuPont HL. Enteroaggregative *Escherichia coli* as a major etiologic agent in traveler's diarrhea in 3 regions of the world. Clin. Infect. Dis. 32: 1706-1709, 2001.
69. Microorganismos de los Alimentos I. Su significado y métodos de enumeración. 2º Edición. 2000. Dirección General de Salud Loreto - DIGESA. Lima.
70. PASCUAL ANDERSON M.2000. Microbiología Alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. Segunda Edición. Editorial AGISA. Madrid-España.

## 6. ANEXOS

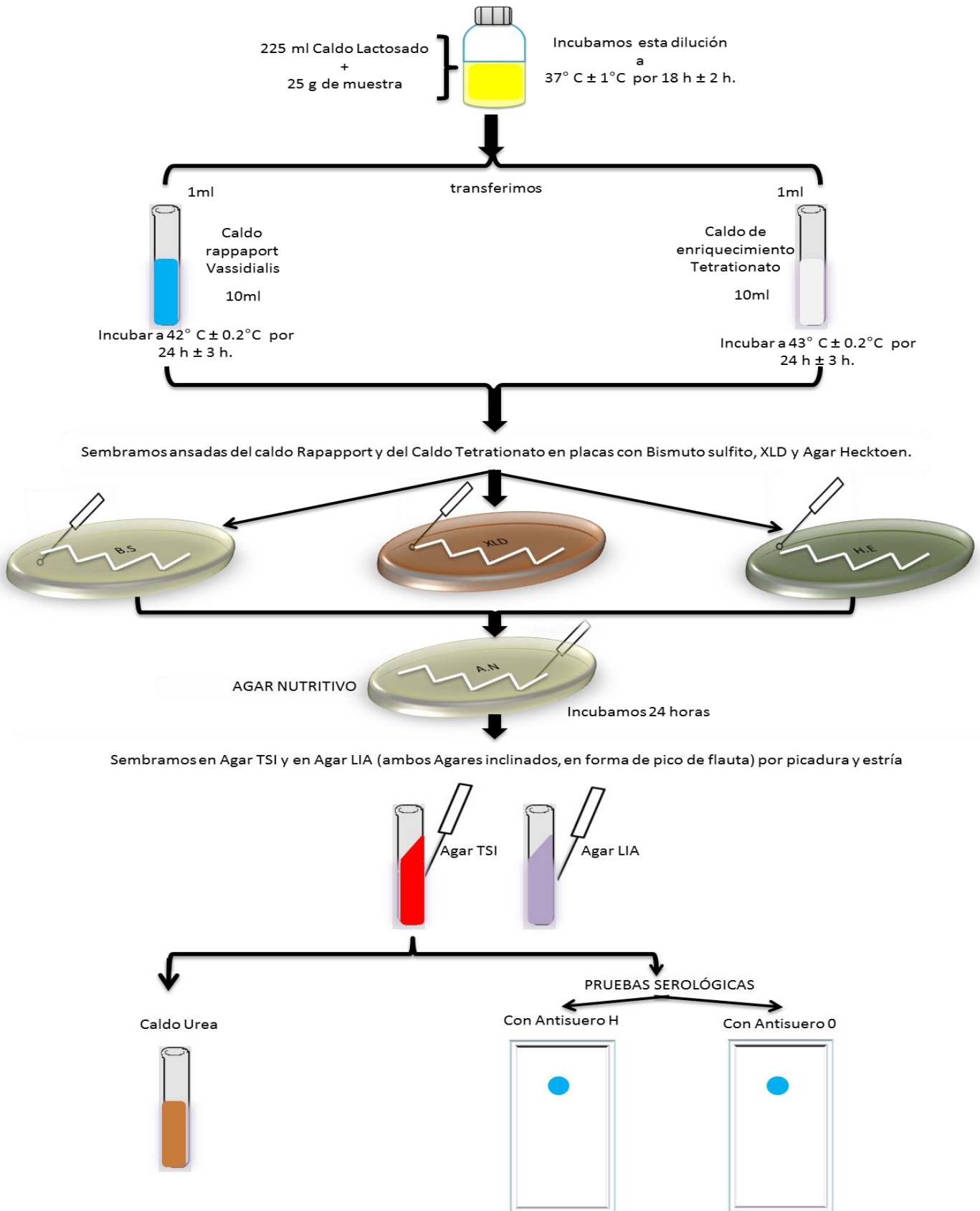
### ESQUEMA N° 01. ANÁLISIS PARA DETERMINAR AEROBIOS MESÓFILOS



## ESQUEMA N° 02. ANALISIS PARA DETERMINAR ESCHERICHIA COLI



# ESQUEMA N° 03. ANALISIS PARA DETERMINAR SALMONELLA SP.



**TABLA N° 01. NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) DE BACTERIAS;**

**TRES TUBOS POR CADA DILUCIÓN.**

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

**TABLA N° 02. DIFERENCIACIÓN DE COLIFORMES (TODOS ESTOS MICROORGANISMOS SON CAPACES DE PRODUCIR ACIDO Y GAS A PARTIR DE LA LACTOSA EN 48 HORAS A 35-37 °C).**

	<i>Gas en caldo lactosado- biliado a 44- 45,5 °C</i>	<i>Prueba del indol</i>	<i>Prueba del rojo metilo</i>	<i>Prueba de Voges- ProsKauer</i>	<i>Crecimiento en citrato</i>
<i>Escherichia Coli</i>					
Tipo I (típico)	+	+	+	-	-
Tipo II	-	-	+	-	-
<i>Intermedios</i>					
Tipo I	-	-	+	-	+
Tipo II	-	+	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>					
Tipo I	-	-	-	+	+
Tipo II	-	+		+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>					
	-	-	-	+	+
<i>Irregulares</i>					
Tipo I	-	+	+	-	-
Tipo II	+	-	+	-	-
Tipo VI	+	-	-	+	+
<i>Irregulares</i>					
Otros tipos	<i>Reacciones variables</i>				

**TABLA N° 03: RELACIÓN DE ESTRATOS O PUESTOS DE VENTA DE FRUTOS DE *Mauritia flexuosa* EN EL DISTRITO DE PUNCHANA – LORETO 2012.**

Estratos por códigos	Estratos según ubicación
A	Pasaje lagunas S/N (Mercado Bellavista – Nanay).
B	Pasaje lagunas S/N (Mercado Bellavista – Nanay).
C	Pasaje lagunas S/N (Mercado Bellavista – Nanay).
D	Esquina de Avenida la Marina C/ Pasaje Grau.
E	Esquina de Avenida la Marina C/ Pasaje Las Gardenias.
F	Esquina de Avenida la Marina C/ Pasaje 16 de Febrero.
G	Esquina de Avenida la Marina C/ Calle Luz Marina.
H	Esquina de Avenida la Marina C/ Calle las Malvinas.
I	Esquina de Avenida la Marina C/ Calle las Malvinas.
J	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Piura.
K	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Huánuco.
L	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Iquitos.
M	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Independencia.
N	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Periodistas.
O	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Huáscar.
P	Esquina de Avenida 28 de Julio C/ Calle Navarro Cauper.
Q	Esquina de calle Navarro Cauper C/ Prolongación Trujillo.
R	Esquina de calle Trujillo C/ calle Huáscar.
S	Esquina de calle Trujillo C/ calle Pantoja.
T	Esquina de calle Cuzco C/ calle Borja.
U	Esquina de calle Nauta C/ calle Amazonas.
V	Esquina de calle Panamá C/ calle Periodistas.
W	Esquina de calle Amazonas C/ Calle 28 de Julio.
X	Esquina de calle 23 de Septiembre C/ Circunvalación.



**IMAGEN 01.** Muestras del fruto de *Mauritia flexuosa* recolectadas.



**IMAGEN 02.** Muestras del fruto de *Mauritia flexuosa* en el laboratorio.



**IMAGEN 03.** Muestras del fruto de *Mauritia flexuosa* diluido en agua peptonada.



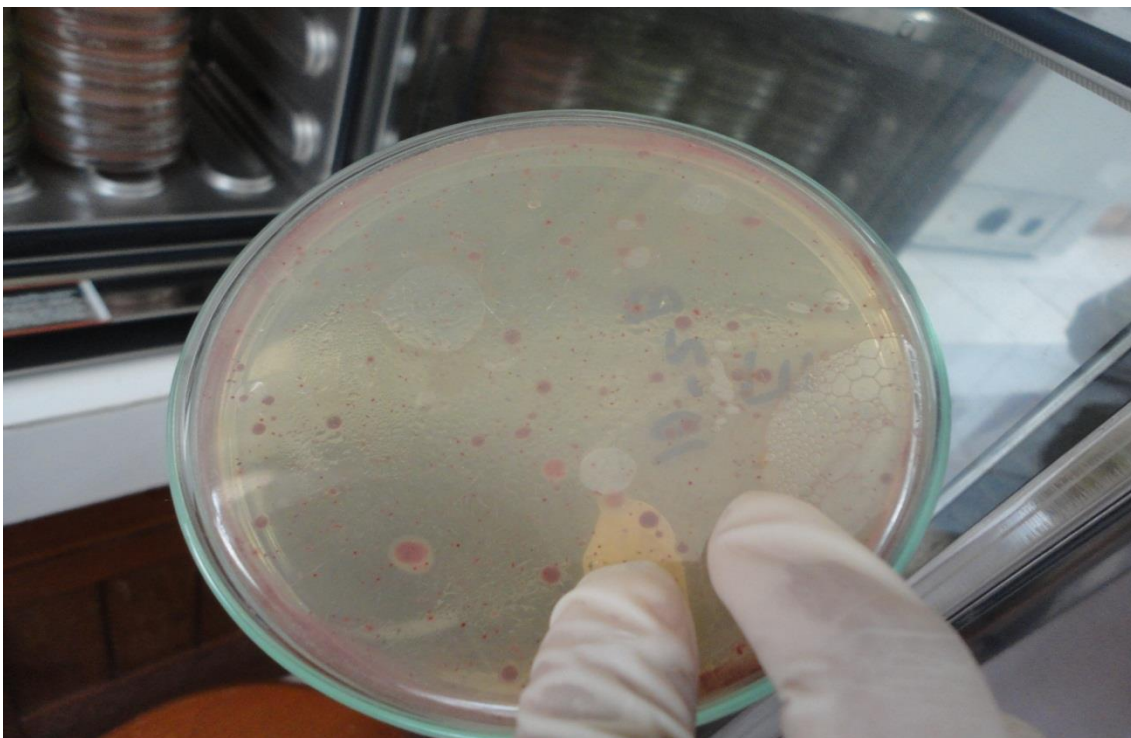
**IMAGEN 04.** Muestras del fruto de *Mauritia flexuosa* diluido en Caldo lactosado.



**IMAGEN 05.** Tubos con agua peptonada y caldo Lauril Sulfato.

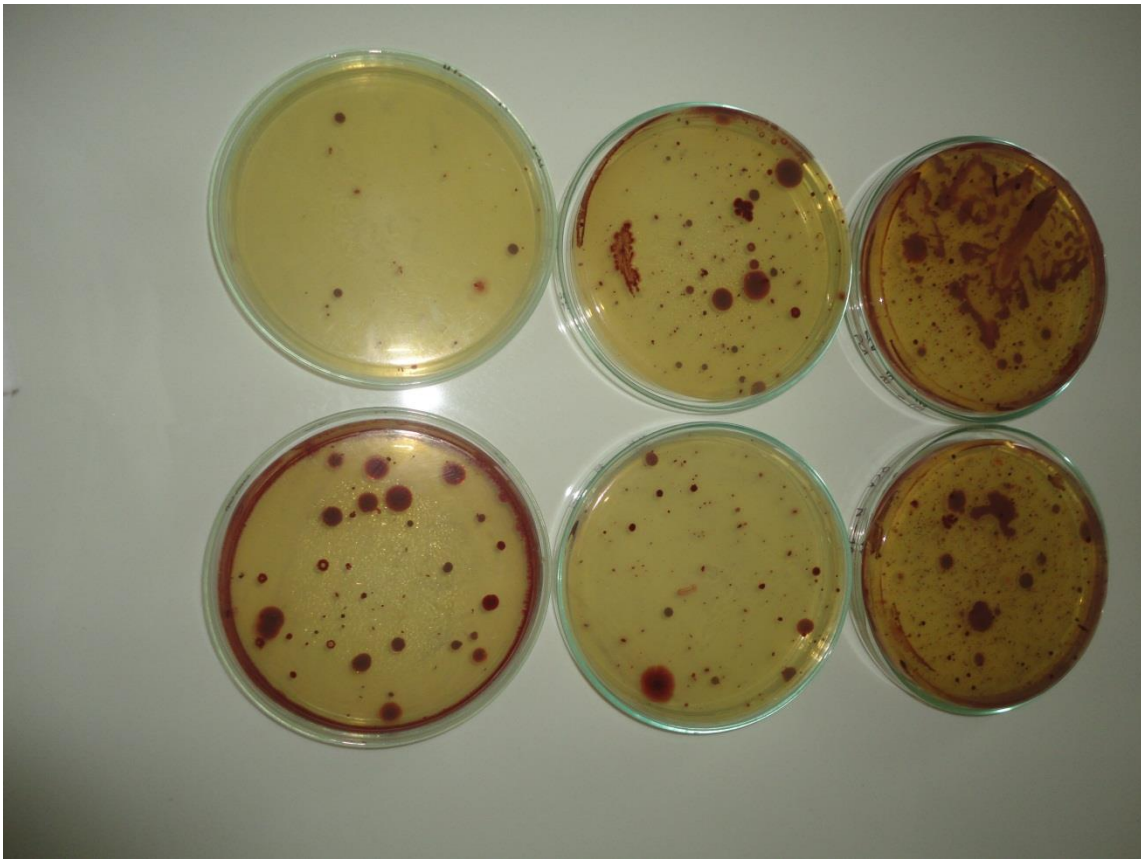


**IMAGEN 06.** Placa conteniendo colonias de Aerobios mesófilos

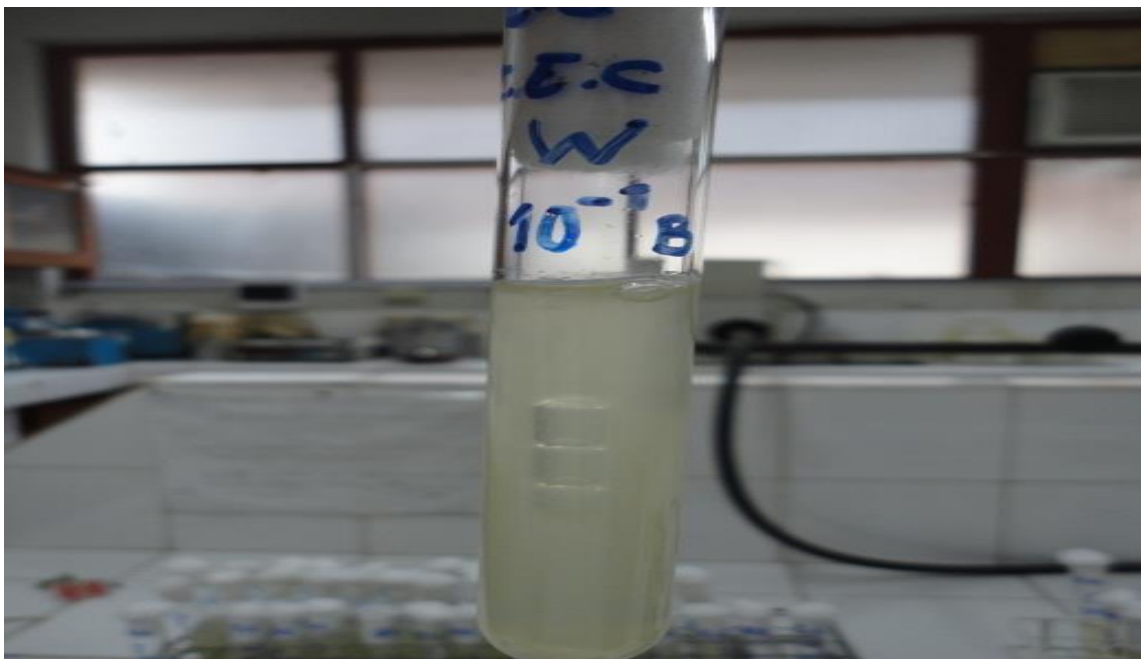




**IMAGEN 07.** Placa conteniendo colonias de Aerobios mesófilos



**IMAGEN 08.** Tubo gas positivo en análisis para determinar *Escherichia coli*



**IMAGEN 09.** Prueba bioquímica Indol para determinar *Escherichia coli*



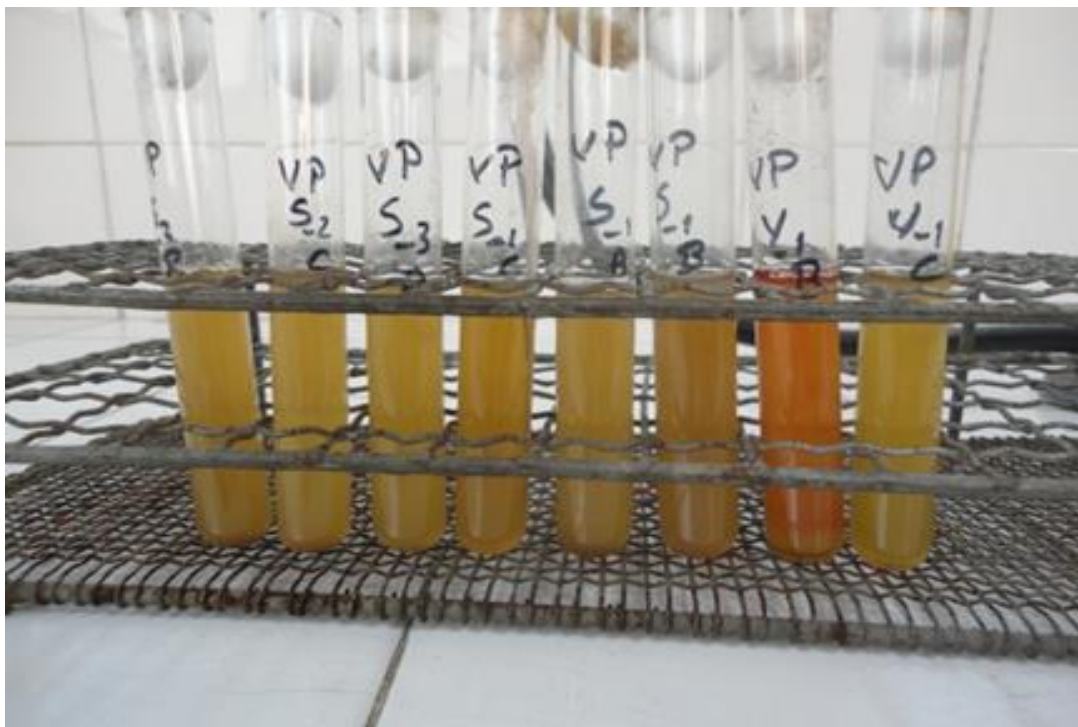
**IMAGEN 10.** Prueba bioquímica Rojo de Metilo para determinar *Escherichia coli*.



**IMAGEN 11.** Prueba bioquímica Citrato Simons para determinar *Escherichia coli*



**IMAGEN 12.** Prueba bioquímica Vogues proskauer para determinar *Escherichia coli*





**IMAGEN 13.** Preparación de los Agares Bismuto sulfito, Hektoen, XLD para determinar presencia o ausencia de *Salmonella sp.*



**IMAGEN 14.** Siembra en placa en los Agares Bismuto sulfito, Hektoen, XLD para determinar presencia o ausencia de *Salmonella sp.*

