

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA



## FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

### ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA

#### TRABAJO FINAL DE CARRERA

#### TITULO

**DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS  
ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN LOS PRINCIPALES MERCADOS  
DEL DISTRITO DE VENTANILLA, CALLAO – 2016.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADO EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

#### PRESENTADO POR:

Br. MELISSA DEL PILAR BARDALES TAMANI

Br. ANTONY BILL ROJAS MOLANO

#### ASESORADO POR:

Dr. Fernando Tello Célis

Dra. Sara León Marín

**IQUITOS, PERÚ**

**2016**

## MIEMBROS DEL JURADO

Tesis aprobada en sustentación pública en la ciudad de Iquitos en las instalaciones del Auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Amazonía Peruana, llevado a cabo el día miércoles 19 de Octubre del 2016, siendo los miembros del jurado calificador los abajo firmantes:



Dr. Alenguer G. Alva Arévalo  
CIP: 45187

**Dr. Alenguer G. Alva Arévalo**

**Presidente**



Ing. Daniela L. Reátegui Sibina  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 51576

**Ing. Daniela L. Reátegui Sibina**

**Miembro**



Ing. Pedro R. Paredes Mori  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 85947

**Ing. Pedro R. Paredes Mori**

**Miembro**



Ing. Félix H. Cabrera Sánchez  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 77142

**Ing. Félix H. Cabrera Sánchez**

**Miembro suplente**



**UNAP**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Escuela de Formación Profesional de  
Bromatología y Nutrición Humana

**ACTA DE SUSTENTACIÓN**

En la ciudad de Iquitos, siendo las 11:05 horas del día Miércoles 19 de octubre 2016, en las instalaciones del Auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNAP, ubicado en la calle Nauta cuadra 5 de esta ciudad, se dio inicio a la sustentación pública del Trabajo de Final de Carrera intitulado **"DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE REFRESCOS ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN LOS PRINCIPALES MERCADOS DEL DISTRITO DE VENTANILLA, CALLAO-2016"**, presentado por los bachilleres: **ANTONY BILL ROJAS MOLANO** y **MELISSA DEL PILAR BARDALES TAMANI**, con el asesoramiento de don **Fernando Tello Celis** y **Sara León Marín**.



Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal Nº 204-FIA-UNAP-2016.

- |                                      |   |                  |
|--------------------------------------|---|------------------|
| Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo  | - | Presidente       |
| Ing. Daniela Leonora Reategui Sibina | - | Miembro          |
| Ing. Pedro Roberto Paredes Mori      | - | Miembro          |
| Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez  | - | Miembro Suplente |

Siendo las 12:10 horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido APROBADO con la nota de 1.6 y el calificativo de MUY BUENO, estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Licenciado en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a las sustentantes, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.

  
 Alenguer Gerónimo Alva Arévalo  
 Ingeniero en Industrias Alimentarias  
 CIP: 65847  
**Presidente**

  
 Daniela Leonora Reategui Sibina  
 Ingeniera en Industrias Alimentarias  
 CIP: 65822  
**Miembro Titular**

  
 Pedro Roberto Paredes Mori  
 Ingeniero en Industrias Alimentarias  
 CIP: 65847  
**Miembro Titular**

  
 Félix Humberto Cabrera Sánchez  
 Ingeniero en Industrias Alimentarias  
 CIP: 77142  
**Miembro Suplente**



## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi Mamita Rosa Tamani Cueva, porque eres una mujer que simplemente me hace llenar de orgullo, te amo y no va haber manera de devolverte tanto que me has ofrecido. Esta tesis es un logro más que llevo a cabo, y sin lugar a dudas ha sido en gran parte gracias a ti; no sé en donde me encontraría de no ser por tu ayuda, tu compañía, y tu amor. Te doy mis sinceras gracias, amada madre.

A mi Abuelita Rosa Cueva Manihuari, puedo decir plenamente que eres además de mi abuelita, mi segunda madre, y los valores y los aportes que ha realizado para mi vida son simplemente invaluables.

A mis familiares mi hermana Mitzy Gonzales, Papá Jhonny Gonzales, por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.

A mi novio Olimpo Acosta Herrera, quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

## **MELISSA BARDALES**

El presente trabajo está dedicado a mi abuelita Nora Luz Luque Castañeda, quien se encargó de brindarme su cuidado y amor incondicional toda su vida, y que ahora desde el cielo vela por cada uno de los integrantes de nuestra familia.

A mí Mamá Jessica Molano Luque a quien le debo todo lo que soy y lo que logre durante mi vida.

A mí Papá Ebler Rojas Casternoque por su apoyo incesable y por compartirme sus sueños e ideales.

A mis Tías y Tíos: Loyda, Luz, Melisa, Tony, Jorge, Max, Erick, Gregorio, Enoc por sus ánimos y consideración.

## **ANTONY BILL**

## **AGRADECIMIENTO**

Antes que todo quiero agradecerle a Dios, por darme las fuerzas necesarias y salud, además de toda su bondad y su infinito amor, para continuar mi recorrido, superando todos los obstáculos que se me presentaron a lo largo de esta trayectoria,

    Mi sincero agradecimiento a Certificadora y Laboratorios AP S.A.C por haberme dado la oportunidad de trabajar en sus instalaciones, pues me ha permitido crecer como persona y profesional.

    A mis maestros, mis compañeros, y a la universidad en general, por todos los conocimientos que me ha otorgado.

**MELISSA BARDALES**

    Agradezco a la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana y a cada uno de los docentes por contribuir con mi formación académica.

    A Certificadora y Laboratorios AP S.A.C por acogerme y brindarme el espacio necesario para superarme profesionalmente, así como también por permitirme realizar la parte experimental de este trabajo en sus instalaciones.

    A mis asesores por la paciencia y dedicación durante todo el proyecto de tesis.

**ANTONY BILL**

## Índice de Contenidos

Presentación	.....i
Miembros de jurado	.....ii
Dedicatoria	.....iii
Agradecimiento	.....iv
Contenido	.....v
Lista de Tablas	.....vii
Lista de Figuras	.....x
Resumen	...xiii
Abstract	...xiv
I. INTRODUCCIÓN	.....1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	.....5
2.1 Enfermedades Transmitidas por Alimentos	.....6
2.1.1 Intoxicaciones Alimentarias	.....6
2.1.2 Infecciones Alimentarias	.....6
2.2 Prevención de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos	.....8
2.3 La Inocuidad de los Alimentos	.....10
2.4 Bebidas	.....11
2.4.1 Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol (Refrescos)	.....11
2.4.2 Bebida de Frutas	.....11
2.4.3 Bebida Artesanal	.....11
2.4.3.1 Refresco Casero	.....12
2.4.3.2 Refresco Hervido	.....12
2.4.3.3 Refrescos Diluidos con Agua Fría o Caliente	.....12
2.5 Materias Primas	.....12
2.5.1 Maíz Morado	.....12
2.5.2 Maracuyá	.....14
2.5.2.1 Clasificación Taxonómica	.....14
2.5.2.2 Propiedades Nutricionales y Usos	.....14
2.6 Criterio Microbiológico	.....15
2.7 La Microflora de los Alimentos	.....17
2.8 Microorganismos Indicadores	.....19
2.8.1 <i>Aerobios mesófilos</i>	.....20
2.8.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	.....21
2.8.3 <i>Coliformes totales</i>	.....23
2.8.4 <i>Escherichia coli</i>	.....24
III. METODOLOGÍA	.....26
3.1 Tipo y Diseño de Estudio	.....27
3.2 Criterios de Inclusión y Exclusión	.....28
3.3 Muestra	.....29
3.4 Definiciones Operacionales de las Variables, Indicadores e Índices	.....29
3.4.1 Variable Independiente (X) e Indicador	.....29
3.4.2 Variable Dependiente (Y) e Indicador	.....29
3.5 Procedimiento para la Recolección de la Información	.....29
3.5.1 Técnicas de Muestreo	.....29
3.5.2 Procedimiento para la Selección de la Muestra	.....30
3.5.3 Conservación y Transporte de la Muestra	.....31
3.5.4 Lugar de Muestreo	.....31

3.5.5	Procedimiento de Muestreo	.....36
3.6	Métodos de Análisis	.....37
3.6.1	Recuento de <i>Aerobios</i>	.....37
3.6.2	Recuento de <i>E. coli/Coliformes</i>	.....39
3.6.3	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	.....44
3.7	Infraestructura/Equipos y Medios Físicos a Utilizar en el Proyecto	.....46
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	.....47
4.1	Evaluación del Mercado “Juan Pablo II”	.....48
4.1.1	Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i>	.....48
4.1.2	Recuento de <i>Coliformes totales</i>	.....51
4.1.3	Recuento de <i>E. coli</i>	.....54
4.1.4	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	.....55
4.2	Evaluación del Mercado “MILAGRO”	.....60
4.2.1	Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i>	.....60
4.2.2	Recuento de <i>Coliformes totales</i>	.....63
4.2.3	Recuento de <i>E. coli</i>	.....66
4.2.4	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	.....67
4.3	Evaluación del Mercado “PACHACUTEC”	.....73
4.3.1	Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i>	.....73
4.3.2	Recuento de <i>Coliformes totales</i>	.....76
4.3.3	Recuento de <i>E. Coli</i>	.....79
4.3.4	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	.....81
4.4	Evaluación General de los Mercado	.....87
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	.....92
5.1	Conclusiones	.....93
5.2	Recomendaciones	.....94
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	.....95
	ANEXOS	....103

## Lista de Tablas

TABLA N°1. Criterios para el Transporte de Muestra en Ensayos Microbiológicos	.....31
TABLA N°2. Determinación no Probabilístico de Muestreo	.....33
TABLA N°3. Criterios Microbiológicos para Alimentos Elaborados	.....37
TABLA N°4. Resultados de Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....48
TABLA N°5. Resultados de Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Juan Pablo II	.....49
TABLA N°6. Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma en <i>Aerobios mesófilos</i> para el Mercado Juan Pablo II	.....50
TABLA N°7. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá	.....51
TABLA N°8. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maíz Morado	.....51
TABLA N°9. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>Coliformes totales</i> para el Mercado Juan Pablo II	.....53
TABLA N°10. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....54
TABLA N°11. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refresco de Maíz Morado	.....54
TABLA N°12. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>E. coli</i> para el Mercado Juan Pablo II	.....55
TABLA N°13. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maracuyá	.....55
TABLA N°14. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado	.....56



TABLA N°15. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>Staphylococcus aureus</i> para el Mercado Juan Pablo II	.....57
TABLA N°16. Resultados de Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maracuyá	.....60
TABLA N°17. Resultados de Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maíz Morado	.....60
TABLA N°18. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma en <i>Aerobios mesófilos</i> para el Mercado Milagro	.....63
TABLA N°19. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá	.....63
TABLA N°20. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maíz Morado	.....64
TABLA N°21. Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en Coliformes totales para el Mercado Milagro	.....66
TABLA N°22. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refresco de Maracuyá...	79
TABLA N°23. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refresco de Maíz Morado	.....67
TABLA N°24. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>E. coli</i> para el Mercado Milagro	.....67
TABLA N°25. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de maracuyá	.....68
TABLA N°26. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado	.....68
TABLA N° 27. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>Staphylococcus aureus</i> para el Mercado Milagro	.....70
TABLA N°28. Resultados de Recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maracuyá	.....73

TABLA N°29. Resultados de Recuento de Aerobios mesófilos en Refresco de Maíz Morado	.....73
TABLA N°30. Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma en <i>Aerobios mesófilos</i> para el Mercado Pachacutec	.....76
TABLA N°31. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá	.....76
TABLA N°32. Resultados de Recuento de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maíz Morado	.....77
TABLA N°33. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>Coliformes totales</i> para el Mercado Pachacutec	.....79
TABLA N°34. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....79
TABLA N°35. Resultados de Recuento de <i>E. coli</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec	.....80
TABLA N°36. Puestos que cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>E. coli</i> para el Mercado Pachacutec	.....81
TABLA N°37. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maracuyá	.....81
TABLA N°38. Resultados de Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado	.....82
TABLA N°39. Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en <i>Staphylococcus aureus</i> para el Mercado Pachacutec	.....85

## Lista de Figuras

FIGURA N° 1. Ubicación de los Tres Mercados en el Área del Distrito	.....32
FIGURA N° 2. Ubicación de los Puestos en el Mercado “El Milagro”	.....34
FIGURA N° 3. Ubicación de los Puestos en el Mercado “Juan Pablo II”	.....34
FIGURA N°4. Ubicación de los Puestos en el Mercado “Pachacutec”	.....35
FIGURA N°5. Lectura de Resultados de la Muestra para <i>Aerobios mesófilos</i> ..	39
FIGURA N° 6. Procedimiento del Pesado de la Muestra	.....40
FIGURA N° 7. Inoculación de la Muestra	.....41
FIGURA N° 8. Incubación de las Placas Petrifilm	.....42
FIGURA N° 9. Lectura de Resultados de la Muestra para <i>Coliformes</i> y <i>E. coli</i> .	43
FIGURA N° 10. Lectura de Resultados de la Muestra para <i>Staphylococcus aureus</i>	.....45
FIGURA N° 11. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....49
FIGURA N° 12. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Juan Pablo II	.....50
FIGURA N° 13. Incidencia de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....52
FIGURA N° 14. Incidencia de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Juan Pablo II	.....53
FIGURA N° 15. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....56
FIGURA N° 16. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Juan Pablo II	.....57
FIGURA N° 17. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refresco de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II	.....58
FIGURA N° 18. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refresco de Maíz Morado en el mercado Juan Pablo II	.....59
FIGURA N° 19. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maracuyá...	61

FIGURA N° 20. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Milagro - Ventanilla – Callao	.....62
FIGURA N° 21. Incidencia de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Milagro	.....64
FIGURA N° 22. Incidencia de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Milagro	.....65
FIGURA N° 23. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Milagro	.....69
FIGURA N° 24. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Milagro	.....70
FIGURA N° 25. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica de Refresco de Maracuyá en el mercado Milagro	.....71
FIGURA N° 26. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refresco de Maíz morado en el mercado Milagro	.....72
FIGURA N° 27. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....74
FIGURA N° 28. Incidencia de <i>Aerobios mesófilos</i> en Refresco de Maíz Morado en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao	.....75
FIGURA N° 29. Incidencia de <i>Coliformes totales</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....77
FIGURA N° 30. Incidencia de Coliformes totales en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec	.....78
FIGURA N° 31. Incidencia de <i>E. coli</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....80
FIGURA N° 32. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....83
FIGURA N° 33. Incidencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec	.....84
FIGURA N° 34. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica de Refresco de Maracuyá en el Mercado Pachacutec	.....85

FIGURA N° 35. Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refresco de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec	.....86
FIGURA N° 36. Incidencia en Relación al Refresco de Maracuyá	.....87
FIGURA N° 37. Incidencia en los Mercados en Relación al Refresco de Maíz Morado	.....88

## Resumen

Los refrescos elaborados artesanalmente a base de maíz morado y maracuyá son consumidos por la mayoría de la población por su sabor refrescante, ya que estas materias primas poseen propiedades antioxidantes de importancia. Este tipo de alimento por no ser pasteurizado constituye una fuente de riesgo para la salud de la población consumidora, debido a la calidad de los insumos y a la manipulación del producto durante su elaboración, por lo que conocer su calidad es de importancia.

Se llevó a cabo un muestreo no probabilístico por conveniencia para determinar el número de muestras a tomar de cada puesto de refrescos ubicados en cada mercado, para lo cual se realizó la evaluación de un total de 90 muestras de refrescos a base de maíz morado y maracuyá. La evaluación se realizó mediante los métodos validados por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) por placas Petrifilm para cuantificar la presencia de Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Aerobios mesófilos* y *Staphylococcus aureus*, en las muestras previamente seleccionadas en el estudio.

De acuerdo a los resultados, la evaluación reporta que el 93.3% y 86.6% de puestos analizados para refrescos de maracuyá y maíz morado respectivamente presenta recuentos de Coliformes totales que exceden los límites de la norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos, también nos muestra que el mercado Juan Pablo II tiene más índice de contaminación en Aerobios mesófilos, a su vez el mercado Pachacutec tiene más índice de contaminación en Coliformes totales, mientras que el mercado Milagro tiene más índice de contaminación en *Staphylococcus aureus*. También se apreció el crecimiento por encima de los límites máximos permitido para *Escherichia coli* en un 6.6% del total de puestos para refrescos de maracuyá. Se concluyó que la calidad microbiológica de los refrescos que son comercializados no son aptos para el consumo humano según lo establecido por la Norma Sanitaria Peruana NTS 071 591-2008.

*Palabras Claves: calidad microbiológica, coliformes totales, staphylococcus aureus, escherichia coli y aerobios mesófilos.*

## Abstract

Soft drinks based handmade purple corn and passion fruit are consumed by most people for its refreshing taste, since these raw materials possess antioxidant properties of importance.

This type of food not to be pasteurized is a source of risk to the health of the consumer population because of the quality of inputs and product handling during processing, so knowing its quality is important.

According to the established methodology, corporal a non-probabilistic convenience sampling to determine the number of samples to be taken from each position refresh located in each market, for which evaluation of a total of 90 samples of soft drinks is based purple passion fruit and corn.

The evaluation was performed by the methods validated by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) by Petrifilm plates to quantify the presence of total coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and aerobic mesophilic bacteria in samples previously selected in the study.

According to the results, the evaluation reports that 93.3% of positions analyzed by each of the markets has total coliform exceeding the limits of the health standard that sets microbiological criteria, also shows that the market Juan Pablo II has more pollution index aerobic mesophilic bacteria turn the Pachacutec market has more coliform pollution index and the Milagro market has more pollution index *staphylococcus aureus*. It was concluded that the microbiological quality of soft drinks that are marketed are unacceptable for human consumption as set by the Health International Standard NTS 071 591-2008.

*Keywords: microbiological quality, total coliforms, staphylococcus aureus, Escherichia coli and aerobic mesophilic.*

# **CAPÍTULO I**

# **INTRODUCCIÓN**



## I. INTRODUCCIÓN

En el Perú como resultado de la política económica de los últimos años se evidencia un crecimiento económico que el porcentaje de peruanos que labora en empleos informales es aún elevado con el 74,30% de la PEA<sup>1</sup>. Como resultado de las políticas económicas se incrementa la búsqueda de opciones de subsistencia. Debido al incremento del trabajo informal, un significativo número de personas optan la venta ambulatória de alimentos que incluyen los refrescos de frutas. Siendo que aproximadamente 140 millones de toneladas de más de 3000 tipos de frutas tropicales se producen anualmente en todo el mundo<sup>2</sup>. La venta de refrescos preparados a base de frutas que incluye maíz morado y maracuyá, es una oportunidad de actividad económica que tiene su origen en la necesidad de las familias para generar sus propios recursos. Sin embargo, esta actividad, desde el punto de vista sanitario debe ir acompañada de garantía de calidad con el fin de asegurar la inocuidad para el consumo de alimentos<sup>3</sup>.

La calidad de los refrescos puede ser influenciada por diferentes factores, principalmente enzimáticos, químicos, físicos y microbiológicos. En general, es una práctica común encontrar botes de basura próximo de los lugares en la que se preparan alimento, y adicionalmente se evidencia la falta de agua potable y servicios sanitarios alrededor de estos lugares<sup>4</sup>.

Las condiciones higiénico-sanitarias inadecuadas durante el proceso de elaboración de los refrescos son los principales indicios que comprometen la calidad microbiológica del producto. Diferentes estudios determinaron que la incidencia de intoxicaciones de origen bacteriano transmitidas por alimentos, fueron causadas por refrescos elaborados con agua y frutas contaminadas principalmente con bacterias coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*,<sup>5</sup> además estos refrescos elaborados a nivel artesanal están expuestos al calor, polvo, insectos y humo de vehículos.

La exposición de los refrescos no pasteurizados a temperatura ambiente por un tiempo prolongado, sumado a la existencia de envases inadecuados, expuestos al aire libre y la manipulación de estos materiales sin el uso de guantes son actitudes que promueven la proliferación de organismos patógenos<sup>6</sup>.

Los alimentos son la principal fuente de nutrientes que los seres vivos necesitan para vivir, desarrollarse y llevar a cabo todas las funciones vitales. Sin embargo, los alimentos, incluyendo las bebidas, están expuestos a factores que causan e incrementan su deterioro. También están expuestos a contaminación física, química o biológica como en el caso de microorganismos, parásitos y sustancias tóxicas. Cuando esos organismos son patógenos, la situación aumenta en peligrosidad dado que los alimentos sirven como vectores, provocando graves enfermedades al consumidor<sup>7</sup>.

De manera general, convencionalmente se considera que los alimentos vendidos al aire libre presentan mayor índice de contaminación; debido a esto se debe mantener un control sanitario, con la finalidad de mitigar riesgos para la salud, al mismo tiempo existe la probabilidad de contraer alguna enfermedad que puede causar la muerte, siendo los niños, ancianos los más vulnerables. La mala calidad microbiológica de los alimentos es promovida por factores que contribuyen a brotes de intoxicaciones estos incluyen refrigeración inadecuada, tiempo de preparación, cocción, materia prima, desinfección de equipos, materiales. Por otro lado, la ubicación de lugar de expendio que muchas veces existe la presencia de insectos que genera un escenario adecuado para la contaminación y propagación de microorganismos en alimentos elaborados<sup>8</sup>. Los estafilococos son bacterias Gram-positivas se encuentra ampliamente distribuido en el medio ambiente, que pueden residir en las superficies de la piel y de las mucosas de seres humanos y animales<sup>9</sup>. El género *Staphylococcus* contiene al menos 49 especies, varias de las cuales son clínicamente significativa, pero también son importantes para la industria de la alimentación, la agricultura y la economía<sup>10</sup>. El más patógeno de estas especies es *S. aureus*<sup>11</sup>.

Los estafilococos son un amplio grupo de bacterias Gram-positiva, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1.5 micras<sup>12</sup> crecen en medios químicamente definidos, los cuales contienen glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico<sup>13</sup>. El *Stafilococcus aureus* ocasiona infecciones en diversas partes del organismo humano, también es una de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA); las infecciones ocurren por la ingesta de alimentos contaminados con toxinas<sup>14</sup>.

Los coliformes son un grupo importante de bacterias que habitan en el tracto intestinal de los seres humanos y animales y se utilizan a menudo como indicadores de contaminación del agua, debido a que su presencia puede estar acompañada de otro patógeno fecal<sup>15</sup>.

Delante de esto, la hipótesis del presente estudio, fue que los refrescos preparados a base maíz morado y maracuyá comercializados en los puestos de los mercados de Ventanilla estarían libres de la presencia de microorganismos patógenos (*Coliformes totales*, *Escherichia coli*) y por lo tanto están aptos para el consumo humano.

El objetivo general es determinar la calidad microbiológica de refrescos artesanales comercializados en los principales mercados del distrito de Ventanilla – Callao, 2016. Los objetivos específicos son: Identificar los puestos de venta de refrescos de maíz morado y maracuyá en los principales mercados de distrito de Ventanilla; Realizar análisis microbiológicos (*Coliformes totales* y *Escherichia coli*) en los refrescos de maíz morado y maracuyá; Realizar recuento de microorganismos (*Aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, a los refrescos de maíz morado y maracuyá; Comparar los resultados obtenidos con la norma de productos alimenticios **NTS 071 591 2008 MINSA**.

# **CAPÍTULO II**

## **REVISIÓN DE**

### **BIBLIOGRÁFICA**

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Enfermedades Transmitidas por Alimentos**

Las enfermedades transmitidas a través de los alimentos es cualquier síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios y/o agua que contengan agentes causales en cantidades tales, que afecten la salud del consumidor a escala individual o grupos de población. Estas se clasifican en intoxicaciones e infecciones. El Centro Nacional de Salud Pública del INS, realiza la tipificación y confirmación de Enteropatógenos Bacterianos asociados a ETA, a través de la Red Nacional de Laboratorios<sup>16</sup>.

#### **2.1.1 Intoxicaciones Alimentarias**

Aquellas ocasionadas por la ingestión de productos metabólicos o de toxinas de microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se alojan a ellos de modo accidental, incidental o intencional, desde su producción hasta su consumo.

Ejemplos de intoxicaciones son el botulismo, la intoxicación estafilocócica, toxinas producidas por hongos o por especies marinas como ciguatonina, saxitonina y otras<sup>17</sup>.

#### **2.1.2 Infecciones Alimentarias**

Producida por ciertos microorganismos vivos que pueden ser bacterias, parásitos, protozoos o virus, que previamente, han logrado desarrollarse en un alimento destinado a al consumo. Los microorganismos invaden el cuerpo a nivel del tracto gastrointestinal tanto como a nivel de otros órganos. Ejemplos típicos de las infecciones alimentarias son la salmonelosis, la listeriosis, la triquinosis, la hepatitis A y la toxoplasmosis entre otros<sup>17</sup>.

Dentro de los síntomas más frecuentes de las ETA se encuentran los vómitos, dolores abdominales, diarrea y fiebre, que al mismo tiempo pueden presentarse síntomas neurológicos, ojos hinchados, dificultades renales, visión doble, etc. Los síntomas tienden a variar según la cantidad de bacterias o de toxinas presentes en el alimento, de la cantidad de alimento consumido y del estado de salud de la persona,

entre otros factores. Después de la ingesta de alimentos que contienen enterotoxinas se produce un breve período de incubación de 1-6 h, para que luego de inicio a los síntomas clínicos, que aparecen en forma brusca y normalmente son vómitos, náuseas, dolor abdominal, malestar general, debilidad, postración, calambres y diarrea moderada<sup>18</sup>.

Se sabe que estos problemas mayormente tienen origen en deficiencias en los procesos de elaboración, almacenamiento, distribución y consumo de los alimentos que podrían ser de fácil prevención. La Organización Mundial de la Salud (OMS) informó de 1300 millones de casos al año de diarrea aguda en menores de 5 años, de los cuales mueren de 4 a 5 millones, se estimó que hasta el 70% de los casos es causado por alimentos contaminados<sup>19</sup>.

Dentro de los factores que producen ETA, podemos señalar en orden decreciente los siguientes factores que intervienen en su aparición:

- El 56 % es por temperatura inferior a la necesaria en la cocción.
- El 31 % por ingerir alimentos después de varias horas sin refrigerar.
- El 25 % por mala manipulación.
- El 20 % por mal recalentamiento.
- El 16 % por mala preparación.
- El 9 % por contaminación cruzada.

En la pasada década, la OPS difundió algunas medidas para garantizar la preparación higiénica de los alimentos, a las que se les denomina “Reglas de Oro”:

- Calidad de las materias primas y el agua.
- Mantener todo limpio.
- Cocinar adecuadamente los alimentos.
- Evitar la contaminación cruzada.
- Garantizar temperaturas seguras de conservación.

Alrededor del 70% de la diarrea aguda es producida por agua y alimentos contaminados. La mayoría de casos de enfermedad diarreica

aguda reportados a la Oficina General de Epidemiología (OGE) en el Perú, provienen de la cuenca Amazónica y áreas de la selva del país<sup>20</sup>.

Debido a la alta incidencia de las ETA, motivó que grandes organizaciones del ámbito internacional como la ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) y el Fondo de Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) crearan un plan de acción con el fin de prevenir y controlar las ETA, al que se le ha denominado Sistema de Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA), este sistema forma parte de los programas de inocuidad de los alimentos, que tienen como meta principal, evitar daños a la salud de la población y así garantizar el consumo de alimentos inocuos<sup>21</sup>.

Evitar la multiplicación, contaminación o supervivencia de los causantes de ETA se hace posible con el cumplimiento de las normas básicas de saneamiento en el hogar y en la comunidad. A nivel Internacional estas medidas tienen el nombre de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Para el adecuado cumplimiento de estas prácticas se debe tener en cuenta las condiciones de las áreas de almacenamiento, conservación y procesamiento de los alimentos, la cantidad y calidad del agua, los residuos sólidos, los residuales líquidos, los controles de las operaciones, el saneamiento, así como la higiene y salud de las personas que manipulan los alimentos<sup>22</sup>.

## **2.2 Prevención de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos.**

El proceso de intercambio de bienes y servicios entre países incentiva la propagación y armonización de conceptos, así como de medidas básicas que permiten producir, preparar y consumir alimentos libres de causantes de las ETA. El primer artículo de los Estatutos de la Comisión del *Codex Alimentarius*, estableció que le corresponde a dicha Comisión formular propuestas a los Directores Generales de la FAO y de la OMS y ser consultados por estos en todas las cuestiones en relación a la ejecución del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Tienen como fin, entre otras, salvaguardar la salud de los consumidores, asegurar prácticas igualitarias en el comercio de alimentos y

promocionar el desarrollo de todas las normas alimentarias acordadas por las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales<sup>17</sup>.

Estas medidas están dirigidas a cuidar la calidad de los alimentos durante la producción agrícola. Estas prácticas crean conciencia entre los agricultores sobre la necesidad de ponerlas en práctica en razón de los beneficios que se obtiene en la calidad nutricional y sanitaria, en el rendimiento y el control de plagas de los productos finalmente cosechados. Un ejemplo son las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), las BPA permiten tener como ventaja un historial para el seguimiento del producto lo cual significa que se destina al mercado algo de origen conocido y de forma transparente para satisfacer la demanda de los consumidores. La FAO incentiva el uso de dichas prácticas en los proyectos y programas agrícolas que implementa. La OMS ha respondido en cuanto a prevención con una estrategia mundial dirigida a reducir el índice de ETA. La OMS diseñó el mensaje de las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. Esas cinco claves y el material didáctico respectivo proporcionan a las naciones elementos fáciles de usar, reproducir y adaptarlos a los distintos destinatarios<sup>23</sup>.

También existen guías prácticas que la FAO promueve por medio del Codex Alimentarius y que pone a disposición de todos los que lo consideren necesario, entre ellos tenemos las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) enfocada a controlar la higiene y sanidad durante todos los diversos procesos sometidos a los alimentos tales como refrigeración, congelación, envasado y cocción, deshidratado, azucarado, etc.

Las BPM proveen los conocimientos técnicos básicos que son necesarias adoptar y aplicar a las materias primas en las distintas operaciones a las que se someten durante la transformación industrial o preparación a nivel artesanal de los alimentos para lograr una calidad e inocuidad aceptable para el consumo. Sin embargo los estándares internacionales están modificándose constantemente, imponiéndose nuevos requerimientos en el marco de las BPA y BPM<sup>24</sup>.



Las guías, tanto para las BPA como para las BPM, proveen normas y recomendaciones técnicas a seguir para obtener alimentos sanos y seguros. Estas normas y recomendaciones de las BPA y BPM deberían ser un material obligatorio de lectura y de consulta para quienes se dedican tanto a la producción como a la transformación o procesamiento de materias primas alimenticias.

### **2.3 La Inocuidad de los Alimentos**

La inocuidad de los alimentos abarca acciones dirigidas a garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos. Las políticas y actividades que persiguen dicho objetivo deberán englobar toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo<sup>25</sup>.

Como ejemplo de fuentes de contaminación tenemos el aire, el suelo o los animales entre otros, debido a que los microorganismos pueden encontrarse en ellos o ya estar instalados en los alimentos para consumo. Por ejemplo, comer en un puesto situado en la calle puede provocarnos alguna infección debido a que la contaminación está próxima al alimento. Por esto se estima la importancia de la conservación y cocción de los alimentos; estos microorganismos necesitan ciertas condiciones favorables para su crecimiento como, temperatura, humedad, acidez, el agua, que le van a permitir un crecimiento y desarrollo adecuado<sup>21</sup>.

El aseguramiento de la calidad surge como respuesta a la aplicación de un Control de Calidad, que resultaba limitado y poco eficaz para prevenir la aparición de defectos. Esto hizo necesaria la creación de un sistema que incorpore la prevención y que, en todo caso, sirviera para anticipar los errores antes de que estos se produjeran. Ese principio de los SGC, fue la base para que el mismo se adaptara al sector alimentario, forzando la redefinición del control en alimentos. El aseguramiento de la calidad, comprende “una serie de actividades que han demostrado ser necesarias para proporcionar confianza interna y externa de que los objetivos de la calidad serán alcanzados y mantenidos”. Es decir, son sistemas creados con el objetivo de garantizar que los productos que ofrece una empresa cumplan con los requerimientos planteados por los clientes y deben proveer evidencias de que son capaces de lograrlo<sup>26</sup>.

## **2.4 Bebidas**

### **2.4.1 Bebidas no Carbonatadas sin Alcohol (Refrescos)**

Es una bebida que no contiene alcohol ni dióxido de carbono (CO<sup>2</sup>) disuelto en su composición, elaborada a partir de agua, con azúcar y otros edulcorantes, saborizantes, colorantes y acidificantes, con la adición o no de sustancias preservantes, vitaminas y otros aditivos alimentarios que han sido sometidos a un proceso tecnológico<sup>27</sup>.

### **2.4.2 Bebida de Frutas**

El zumo de frutas es un producto susceptible a la fermentación, pero no fermentado, a base de frutas sanas y maduras, frescas o conservadas mediante frío, de una o más especies, con el color, el aroma y el sabor característicos de los zumos de la fruta de la que procede. Se obtienen exprimiendo o triturando las frutas y añadiendo agua y azúcar<sup>28</sup>, el valor nutritivo de las bebidas de frutas depende del tipo de fruta utilizado, de los métodos de procesamiento y del grado de dilución. El contenido de vitaminas es inferior al de la fruta en estado natural y estas pérdidas dependen también del tipo de fruta. Las bebidas a base de frutas pueden clasificarse como jugos, néctares y refrescos, entre otros, y se diferencian entre sí básicamente por el contenido de fruta en el producto final; así, un jugo es más concentrado que un néctar y un néctar, a su vez, es más concentrado que un refresco<sup>28</sup>.

### **2.4.3 Bebida Artesanal**

Una bebida artesanal es producida previa manipulación directa o con la ayuda de herramientas manuales e incluso medios mecánicos, siempre que la contribución manual directa de la persona siga siendo el componente más importante del producto acabado utilizando materias primas, procedentes de recursos sostenibles como la naturaleza. Cuando las materias primas son transformadas para su consumo, pero con predominio de la actividad manual y dentro del ámbito familiar, existe un proceso de producción de tipo artesanal<sup>29</sup>.

La inocuidad es el principal atributo en lo que respecta a la calidad por su libre comercialización e imposición en el mercado. Brindar garantías

al consumidor de la seguridad del alimento por medio de la incorporación de normas y procedimientos de calidad en el campo de la inocuidad, es sin duda el objetivo más importante de la industria alimentaria, incluyendo la artesanal<sup>30</sup>.

#### **2.4.3.1 Refresco Casero**

Bebida elaborada artesanalmente en base a frutas, cereales u otras materias primas, mediante cocción, trituración o dilución, y mezcla posterior con agua.

#### **2.4.3.2 Refresco Hervido**

Bebida elaborada mediante cocción de frutas, cereales u otros en agua con o sin añadido de azúcar y especias.

Los clasificados son: refresco de ciruela, refresco de linaza, refresco de cebada, refresco de durazno, refresco de canela, entre otros.

#### **2.4.3.3 Refrescos Diluidos con Agua Fría o Caliente**

Bebida elaborada mediante dilución de pulpa y/o jugo de frutas o harina de cereales y leguminosas en agua fría o caliente.

Los clasificados son: refresco de tamarindo, refresco de soya, limonada, horchata de coco.

### **2.5 Materias Primas**

#### **2.5.1 Maíz Morado**

El maíz morado es un amiláceo de la especie *Zea Mays L.*, se cultiva principalmente en países andinos, los que reúnen las condiciones geográficas y climáticas propicias para su desarrollo, siendo Perú el que cumple el papel protagónico por ser prácticamente el único país que cuenta con sembríos comerciales<sup>31</sup>.

El maíz morado es una mazorca (tusa y grano) que contiene el pigmento denominado antocianina – cianidina – 3b – glucosa, que se encuentra en mayor cantidad en la coronta (tusa) y en menor proporción en el pericarpio (cáscara) del grano. Este fruto está constituido en un 85% por grano y 15% por coronta<sup>32</sup>.

El maíz morado es una variedad pigmentada del *Zea mays L.*, cuyos granos y coronta presentan el color morado. Investigaciones recientes han revelado la presencia de compuestos tales como: un dímero de cianidina, derivados mono y di-glicosidados de cianidina, pelargonina, peonidina y otros fenólicos<sup>33</sup>. Los compuestos fenólicos y las antocianinas son antioxidantes que protegen las membranas celulares y el ADN de los efectos de los radicales libres<sup>34</sup>.

### **Características**

El maíz morado es una planta gramínea originaria del Perú y Bolivia, corresponde a:

Género : ZEA

Especie : MAYZ, L.

Grupo : AMLIACEAE<sup>31</sup>

Características más importantes son:

- Mide de 1.80 a 2.50 m. de altura. Presenta planta con tallos, hojas y panojas de color púrpura o morado. Florecen entre 110 y 130 días.
- Se le cultiva entre los 500 a 2,500 m.s.n.m. en la Costa Central.
- Las mazorcas son cilindrocónicas con 8 a 12 hileras regulares y 15 cm. de longitud y 5 cm. de diámetro. Granos planos con endospermo amiláceo de color blanco y pericarpio morado.
- La coloración se puede mantener de generación en generación, si se siembra en lotes aislados, semillas provenientes de plantas que presentan el color morado o púrpura, así como la mazorca con las glumas y en especial el interior de las tuzas y los granos morado intenso.
- El Maíz Morado es un producto 100 % natural, reconocido por la Unión Europea con el Código E-163 y también con el mismo Código por la Legislación Japonesa<sup>31</sup>.

## 2.5.2 Maracuyá

### 2.5.2.1 Clasificación Taxonómica

Orden : *Passiflorales*

Familia : *Passifloraceae*

Género : *Passiflora*

Especie : *Passiflora edulis forma flavicarpa*<sup>35</sup>

El maracuyá es el fruto de una planta tropical que crece en forma de enredadera, ésta pertenece a la familia de las Passifloras, de las cuales se conoce más de 400 variedades. El Perú es uno de sus centro de origen que presenta dos variedades: la púrpura o morada (*Passiflora edulis* Sims.) y la amarilla (*Passiflora edulis* Sims). La primera variedad se consume fresco y crece en lugares semi cálidos y a mayor altura sobre el nivel del mar, la segunda prospera en climas cálidos, desde el nivel del mar hasta 1000 metros de altitud. La variedad amarilla es más apreciada por la industria debido a su mayor acidez. En el Perú se han cultivado los dos tipos de maracuyá, pero la más amplia ha sido la amarilla. Su jugo es ácido y aromático; se obtiene del arilo, que es un tejido que rodea a toda la semilla, es una muy buena fuente de vitamina A, niacina, riboflavina y ácido ascórbico<sup>36</sup>.

### 2.5.2. Propiedades Nutricionales y Usos

El maracuyá contiene proteínas, minerales, vitaminas, carbohidratos grasa y se consume fresco o en jugo. Se usa para preparar mermeladas, refrescos, néctares, pudines, helados, conservas, etc. El aceite que se extrae de sus semillas podría ser utilizado en la fabricación de jabones, tintas y barnices según el Instituto de Tecnología de Alimentos del Brasil. La composición del maracuyá es la siguiente: cáscara 50-60%, jugo 30-40%, semilla 10-15%. La concentración de ácido ascórbico en maracuyá se encuentra entre 17 a 35 mg/100g de fruto para el maracuyá rojo y entre 10 y 14 mg/100g de fruto para el maracuyá amarillo. El color amarillo anaranjado del jugo es por la presencia de un pigmento llamado caroteno. Ofrece al organismo una buena cantidad de vitamina A y C,

así como también de sales minerales, como calcio, fierro y fibras. Cada 100 ml de jugo contiene un promedio de 53 cal, variando de acuerdo con la especie<sup>37</sup>.

## 2.6 Criterio Microbiológico

Un criterio microbiológico define la aceptabilidad de un proceso, producto o lote de alimentos en base a la ausencia o presencia o el número de microorganismos y/o la investigación de sus toxinas por unidad de masa, volumen o área<sup>38</sup>.

Un criterio microbiológico, según los “Principios para el Diseño y la Aplicación de Criterios Microbiológicos Para Alimentos” del Codex *Alimentarius*, consiste en:

- Señalar el alimento al que se aplicará el criterio,
- Elección de microorganismos y/o sus toxinas/ metabolitos a identificar y la razón de la elección para el producto.
- Un plan de muestreo indicando el número de muestras a tomar, el tamaño de la misma y las características de la unidad analítica,
- Los métodos para su detección y/o cuantificación.
- Los límites microbiológicos considerados apropiados para el alimento en el punto indicado de la cadena alimentaria
- El número de unidades analíticas donde se debe verificar el cumplimiento de dichos límites.

Al establecer un criterio microbiológico se tienen que tener en cuenta los siguientes factores:

- Evidencia epidemiológica de que el alimento en cuestión es un vehículo significativo de enfermedad.
- Susceptibilidad del alimento a ser contaminado por patógenos.
- Probabilidad de crecimiento microbiano en el alimento durante su manufactura, almacenamiento, distribución y preparación.
- Tratamiento que recibe el alimento antes de ser consumido (proceso de cocción, etc.).

- La susceptibilidad de los probables consumidores a agentes patógenos y toxinas.

Para establecer un criterio microbiológico se debe definir previamente cual será el propósito del mismo, éste puede comprender la evaluación de:

- La inocuidad del alimento: para este propósito se requiere la determinación de microorganismos patógenos y/o toxinas y en algunos casos la utilización de microorganismos indicadores (relacionados con la presencia de un patógeno).
- El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).
- La utilidad de un alimento como ingrediente para un propósito determinado.
- La vida útil de un alimento a fin de determinar su fecha de vencimiento.

Una comparación entre los resultados de laboratorio y los criterios microbiológicos puede proporcionar información importante tanto para el productor/ elaborador como para los servicios de inspección en lo que respecta a la aceptabilidad del producto y/o proceso. La obtención de resultados es satisfactorio o aceptable, al efectuar pruebas comparando con los valores fijados para los criterios, mediante la toma de muestras, la realización de análisis y la aplicación de acciones correctoras, de conformidad con la legislación alimentaria y las instrucciones de la autoridad competente<sup>39</sup>.

Sin embargo, no basta con los criterios microbiológicos para lograr este objetivo, siendo de importancia verificar la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura u otros sistemas (por ejemplo, HACCP) para asegurar que los microorganismos patógenos sean eliminados o minimizados a un nivel tal que no puedan ocasionar daño a los seres humanos<sup>40</sup>.

## 2.7 La Microflora de los Alimentos

Una gran variedad de microorganismos contamina los alimentos en los lugares de producción y durante el transporte a las fábricas de elaboración. El que estos microorganismos crezcan, sobrevivan o mueran, dependerá de la clase de alimento, del medio ambiente y del procedimiento de elaboración. Debido a que estos factores son únicos para cada tipo de alimento, los microorganismos presentes en cada alimento son igualmente peculiares. Aunque en diverso grado, los microbiólogos han acumulado suficientes datos sobre estos factores como para saber lo que es normal y lo que no es normal, según los tipos de alimentos.

Entre los factores que contribuyen a los posibles riesgos de los alimentos se incluyen las prácticas agrícolas inadecuadas, la falta de higiene en todas las fases de la cadena alimentaria, la ausencia de controles preventivos en las operaciones de elaboración y preparación de los alimentos, la utilización inadecuada de productos químicos, la contaminación de las materias primas, los ingredientes y el agua, el almacenamiento insuficiente o inadecuado, etc<sup>41</sup>.

Un alimento es perecedero o no en función del crecimiento o no de los microorganismos durante su almacenamiento. La alteración microbiana es el destino corriente de un alimento perecedero. El consumidor decide que un alimento está alterado cuando las bacterias, levaduras o mohos han cambiado el olor, el sabor, el aspecto o la textura en un grado inaceptable. La leche agriada es un ejemplo.

La vida útil de un alimento comprende el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento en que se presentan cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final. Puede variar según el proceso de producción, la naturaleza del producto y el tiempo de almacenamiento, obteniéndose cambios a nivel microbiológico, sensorial y/o físico-químico<sup>42</sup>.

Uno de los objetivos principales de los tratamientos tecnológicos es convertir un alimento perecedero en otro que extienda su vida útil, como por ejemplo la esterilización por calor de los alimentos enlatados, la



utilización de conservadores químicos, las fermentaciones que reducen el pH o producen alcohol, la reducción de la actividad de agua ( $a_w$ ), eliminando agua de un alimento o añadiendo un soluto. Con frecuencia, la estabilidad de un alimento depende de más de uno de estos factores. Para los consumidores el alimento empacado representa un producto con propiedades nutricionales, sensoriales y microbiológicas más estables cuando comparado con los alimentos sin empacar. Así, los alimentos estables no son siempre estériles, a veces contienen una flora especial no alterante<sup>43</sup>.

Un alimento enlatado es estéril comercialmente, lo que significa que los microorganismos que hayan podido sobrevivir al tratamiento térmico son incapaces de crecer en circunstancias normales. Los *Coliformes fecales* también denominados *Termotolerantes*, llamados así porque soportan temperaturas de hasta 45°C, comprenden un grupo reducido de microorganismos indicadores de calidad, ya que son de origen fecal. Evidentemente los microorganismos que han sobrevivido a un tratamiento térmico inadecuado (mal calculado, o por fallo en autoclaves) o aquellos que han contaminado la lata o bote a través de una fuga son los que pueden producir alteración de esta clase de alimentos<sup>44</sup>. Asimismo, las esporas muy resistentes al tratamiento térmico, incapaces de germinar y reproducirse en el alimento enlatado a temperaturas de almacenamiento normales, pueden hacerlo y alterar el producto si este se almacena a temperaturas excesivamente altas. La disertación sobre los criterios a tomar en cuenta para clasificar a los microorganismos como termófilos ha conducido a considerar también la temperatura óptima a la cual se producen ciertos metabolitos entre ellos las enzimas u otros productos de la fermentación del alimento<sup>45</sup>.

El tiempo de conservación o vida útil de un alimento percedero es el tiempo de almacenamiento durante el cual el alimento no sufre cambios organolépticos y es aceptable para el consumidor. Un requisito microbiológico recomendado debe ser analizado, aunque no rutinariamente, y el incumplimiento de los límites establecidos para el número de muestras analizadas sirve para alertar al responsable del

producto sobre la necesidad de identificar y corregir los factores causantes del problema. La clase de microorganismos presentes inicialmente, el tipo de alimento y las condiciones de almacenamiento influyen en la vida del mismo. Un número de microorganismos de  $10^6$  a  $10^8$  por gramo generalmente señala el final de su vida útil<sup>46</sup>.

## **2.8 Microorganismos Indicadores**

El recuento alto o la sola presencia de ciertos microorganismos en nuestros alimentos no significan necesariamente un riesgo para el consumidor o una calidad menor de estos productos. En realidad, cada fracción de alimento alberga levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos. En general los alimentos se vuelven potencialmente peligrosos solo después de que se han sobrepasado las normas de higiene, limpieza y desinfección. Si un alimento fue sometido a condiciones que pudieran haber favorecido la llegada a los mismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, pueden convertirse en vehículo de transmisión de enfermedades.

El estudio microbiológico de rutina de los alimentos para determinar en ellos una serie numerosa de microorganismos patógenos y sus toxinas no se practica en la mayoría de los laboratorios. Por esto, es necesario hacer los exámenes microbiológicos rutinarios siempre que la información epidemiológica disponga, sugiera o haga pensar en la presencia de un agente patógeno en especial dentro de un determinado alimento. El analista 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, como ocurre con el virus de la hepatitis infecciosa. Para otras enfermedades contraídas por el consumo de alimentos o por el agua de bebida, tales como la *shigelosis*, los métodos de laboratorios no ofrecen suficiente confianza, especialmente cuando los agentes patógenos están en un número escaso o se encuentran distribuidos de manera desigual en alimentos que, por otra parte, contienen un gran número de microorganismos saprofitos. Una correcta higiene de los alimentos está determinada por multitud de factores: condiciones de obtención de los mismos, características de los

medios empleados para su transporte, temperaturas y condiciones de conservación, etc<sup>47</sup>. Actualmente, no existen indicadores universales para cada tipo de monitoreo, por lo que los especialistas deben seleccionar el tipo de indicador apropiado para la situación específica a estudiar, dentro de los indicadores bacterianos<sup>48</sup>. Tales dificultades han determinado la amplia utilización de grupos (o especies) de microorganismos, cuya enumeración o recuento se realiza con mayor facilidad y cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicos. Los grupos o especies utilizados con estos fines se denominan microorganismos “indicadores”, y sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas, como su calidad microbiológica<sup>49</sup>.

### **2.8.1 *Aerobios mesófilos***

Dentro de este grupo se incluyen todos los microorganismos que pueden desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con temperatura óptima entre 30°C y 40°C.

El recuento de microorganismos Aerobios mesófilos, en condiciones establecidas, estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Nos refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración<sup>50</sup>.

Las especies que se encuentran en los alimentos son muy extensas y no poseen un hábitat bien definido y en general no causan enfermedades en el ser humano. Son utilizados como indicadores de la calidad del procesamiento<sup>51</sup>.

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.

- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto.

Para el uso o la interpretación del conteo de microorganismos Aerobios mesófilos existen determinados factores que deben ser tenidos en cuenta:

Este recuento es sólo de microorganismos vivos.

- El uso del indicador dependerá de la trazabilidad del producto y de la adecuada toma de muestra. En los alimentos con facilidad de deteriorarse que han sido correctamente manipulados podrían evidenciar recuentos altos y disminuir su calidad si son almacenados por un largo período de tiempo. Para este caso, el recuento no se encontraría alto por la higiene del producto, sino por la vida útil del mismo.
- Debido a todos los procedimientos sometidos al alimento en su elaboración, por ejemplo, un proceso térmico podría enmascarar productos con elevados recuentos o condiciones pésimas de higiene y salubridad. Adicionalmente, el almacenamiento en tiempos prolongados de congelación o con pH bajo puede producir una disminución del recuento de microorganismos.
- El conteo de microorganismos Aerobios mesófilos indica las condiciones higiénico sanitarias de ciertos alimentos, sin embargo, no tiene validez sanitaria en otros tipos de productos que han sido procesados con bacterias (por ejemplo, quesos) o alimentos que presenten dentro de su formulación determinados conservantes<sup>50</sup>.

### **2.8.2 *Staphylococcus aureus***

El género denominado *Staphylococcus*, pertenece a la clase III *Bacilli*, orden I *Bacillales*, familia VIII Microcococeae, que tiene cerca de 38 especies. Solo 18 especies de estos *Staphylococcus*, fueron reportadas de importancia en alimentos, llegando a ser *Staphylococcus aureus* el más relevante y siendo ésta indicadora de contaminación por una

inadecuada manipulación de los alimentos. Los *Staphylococcus aureus* son bacterias con morfología microscópica típica de cocos Gram positivos agrupados en racimos no esporulados (asporógena) e inmóvil de tamaño entre 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ , Es organótrofa, catalasa positiva, con un contenido de G+C en la composición del ADN de 30 a 40%. Generalmente las cepas que producen coagulasa son termonucleasa positiva.

Además del *Staphylococcus aureus* otras 6 especies presentan cepas coagulasa positivas. Sin embargo, se ha demostrado que especies diferentes a *S. aureus* pueden ser productoras de SE como son cepas de *S. intermedius* y *S. hyicus*, pero, no se ha reportado que casos que ocasionen intoxicación alimentaria. Es necesario aclarar que existen cepas coagulasa negativas<sup>52</sup> que pueden ser enterotoxigénicas.

### **Recuento de *Staphylococcus aureus***

Los *estafilococos* se alojan en la piel, fosas nasales, y las lesiones de humanos y otros mamíferos. Se utiliza como componentes de criterios microbiológicos para alimentos después de tratamientos térmicos, para productos que son sometidos a manipulación de manera excesiva durante el proceso de preparación y para aquellos que son sometidos a manipulación después del proceso de cocción. Normalmente, los *estafilococos* se eliminan por cocción. Elevados recuentos en alimentos sometidos a procesos térmicos son debido a contaminación luego de este tratamiento (manipulación, conservación inadecuada del mismo y/o contacto con equipos o aire contaminado).

*Staphylococcus aureus* podría señalar un riesgo potencial para la salud. Números altos de *estafilococos* puede indicar la presencia de toxinas termoestables, sin embargo, un recuento bajo no significa ausencia de las mismas, debido a que una población numerosa pudo haber disminuido a un número más pequeño por una etapa del proceso, por ej., calentamiento o fermentación.

### 2.8.3 **Coliformes totales**

Las bacterias *Coliformes totales* agrupa todos los *bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados*, que van a fermentar la lactosa y producir gas en un periodo máximo de 48h a 35°C  $\pm$  1°C. Principalmente está conformado por 4 géneros: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*.

Los *Coliformes fecales*, están conformados por *bacterias Gram-negativas* que tienen la capacidad de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48h de incubación a 44,5  $\pm$  0,1°C. Dentro de este grupo no está incluido una especie determinada, sin embargo, la más prominente es *Escherichia coli*.

El recuento en el laboratorio de organismos Coliformes, se puede realizarse por medio del empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales para su correcta determinación<sup>53</sup>.

Los *Coliformes fecales* relacionados a la flora intestinal presentan la particularidad de ser termotolerantes, se pueden multiplicar a 44°C, y de fermentar la lactosa, lo que la diferencia del resto que son denominados Coliformes totales<sup>54</sup>.

#### **Recuento de Coliformes**

Las bacterias *Coliformes* en los alimentos no quiere decir necesariamente que hubo contaminación con heces o que hay patógenos entéricos presentes. Los microorganismos *Coliformes* son necesariamente muy útiles como parte de los criterios microbiológicos para indicar contaminación post-proceso térmico.

Ciertos *Coliformes (Escherichia coli)* están en las heces del hombre y muchos otros animales, no obstante otros (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*) normalmente se encuentran en el agua, suelo y semillas.

Comúnmente, en carne de aves, la leche cruda, vegetales y otros alimentos sin cocción se encuentran conteos bajos de bacterias

coliformes naturalmente por lo que presentan poco o ningún valor para el monitoreo de los mismos.

Estos microorganismos son fácilmente eliminados por tratamiento térmico, debido a esto su presencia en alimentos sometidos al calor indica una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste no ha sido efectivo. Si obtenemos un recuento alto en alimentos que han sido sometidos a un proceso térmico, se debería considerar que existieron fallas (ausencia o deficiencia) en la refrigeración post-cocción. Los *Coliformes* se estresan letalmente en procesos de congelación, por esto el conteo de *Coliformes* en alimentos freezados debe ser interpretado con sumo cuidado. El recuento de *Coliformes* como indicador necesita un conocimiento extenso del proceso que el alimento ha sufrido (producción, procesamiento, distribución, etc.) y del efecto que él ha tenido en las bacterias *coliformes*<sup>55</sup>.

#### **2.8.4 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* se encuentra clasificado dentro de la familia *Enterobacteriaceae* (*bacterias entéricas*), es un bacilo *Gram-negativo* que existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales. Además, hay algunas cepas de *Escherichia coli* patógenas que provocan enfermedades diarreicas. Estas *Escherichia coli* están clasificadas en base a las características que presentan sus factores de virulencia, cada grupo causa la enfermedad por un mecanismo diferente.

*E. coli* tiene la propiedad de adherirse a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado que son codificadas por genes situados en plásmidos. De manera semejante las toxinas son mediadas por plásmidos o fagos.

Este grupo de bacterias se encuentra constituido por las siguientes cepas: *Escherichia coli enterotoxigénica* (ETEC), *Escherichia coli enteropatógena* (EPEC), *Escherichia coli enterohemorrágica* (EHEC), *Escherichia coli enteroinvasiva* (EIEC), *Escherichia coli enteroagregativa* (EAEC), *Escherichia coli enteroadherente difusa* (DAEC). Existen otras cepas que no han sido perfectamente caracterizadas; de las cepas

anteriores, las 4 primeras están implicadas en intoxicaciones causadas por el consumo de agua y alimentos contaminados<sup>53</sup>.

### **Recuento de *Escherichia coli***

Cuando hablamos de *E. coli*, su hábitat natural es el intestino de los animales vertebrados. Los criterios microbiológicos que incluyen *Escherichia coli* son de utilidad en casos en que se desea determinar contaminación fecal. Un alimento contaminado o la contaminación del mismo con *Escherichia coli* condiciona el riesgo de que puedan encontrarse en ese alimento ciertos patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud. No obstante, la ausencia de *Escherichia coli* no asegura la ausencia de patógenos entéricos.

Un proceso térmico puede eliminar fácilmente *Escherichia coli*, por lo que, la presencia de la misma en un alimento sometido a temperaturas elevadas demuestra un proceso deficiente o normalmente una contaminación posterior al proceso que se puede atribuir al equipo, los manipuladores o a una contaminación cruzada. Pero, si el objetivo del examen es controlar la contaminación post-tratamiento térmico, los organismos a seleccionar deberían ser las bacterias *Coliformes* en lugar de *Escherichia coli*<sup>40</sup>.



# **CAPITULO III**

# **METODOLOGÍA**

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Tipo y Diseño de Estudio

##### **Método:**

El trabajo de investigación utilizó el método analítico, porque se realizó estudios microbiológicos en 90 muestras de refrescos, distribuidos de la siguiente forma: 45 muestras de refrescos de maracuyá, cada muestra conteniendo 200 ml y 45 muestras de refrescos de maíz morada de 200 ml. De las cuales 30 muestras corresponden a los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II”, todos comprendidos en el distrito de Ventanilla – Callao, entre los meses de febrero a abril de 2016, para cuantificar y evaluar el recuento de *Aerobios mesófilos*, *Coliformes totales*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

##### **Técnica:**

**Cuantitativa.** La evaluación se realizó mediante los métodos validados por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) por placas Petrifilm para cuantificar la presencia de *Coliformes totales*, *Escherichia coli*, *Aerobios mesófilos* y *Staphylococcus aureus*, se procesó la información, y se obtuvieron datos, los cuales se cuantificaron para su reporte final.

**Descriptiva.** Se identificaron las características y controles que deben tener los refrescos y los puestos de venta ambulatorio, describiendo así los resultados investigados según la norma sanitaria vigente **NTS 071 591 2008 MINSA**, que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.

**Transversal.** Se realizó en un espacio de tiempo comprendido entre febrero-abril de 2016, por lo cual su propósito será describir las variables y analizarlas en un momento dado.

**Diseño.** Fue no experimental, porque se utilizaron técnicas validadas y reconocidas por organizaciones internacionales, enfocadas a la evaluación del recuento de *Coliformes totales*, *Escherichia coli*, *Aerobios mesófilos* y *Staphylococcus aureus* en refrescos de venta ambulatoria, la

cual se procesó en el laboratorio de microbiología, sin manipular las muestras evitando así la alteración de resultados.

### **Selección del Área de Estudio**

El área de estudio comprendió los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II” del distrito de Ventanilla – Callao (Figura N°1).

Los análisis del estudio se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la empresa CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS SOCIEDAD ANONIMA CERRADA - CERTILAB A.P S.A.C, ubicado en el distrito de San Miguel, Provincia de Lima – Perú.

### **Población y muestra**

#### **Población**

Puestos ambulatorios que expenden refrescos de maracuyá y maíz morado en los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II”.

#### **Diseño Muestral**

Se analizaron un total de 45 muestras con 200 ml de volumen por cada refresco haciendo un total de 90 muestras; de las cuales 30 muestras corresponderán al mercado “Milagro”; 30 muestras corresponden al mercado “Villa Pachacutec” y 30 muestras al mercado “Juan Pablo II”.

Este método es utilizado en forma empírica, es decir, no se efectúa bajo normas probabilísticas de selección, por lo que en los procesos intervienen opiniones y criterios personales y no existiendo una norma bien definida o validada.

## **3.2 Criterios de Inclusión y Exclusión**

Fueron parte de estudio los puestos que vendían ambos tipos de refrescos.

Las muestras no fueron aceptadas para efectuar los ensayos en las siguientes situaciones:

- Cuando no se haya conservado la integridad de las muestras hasta su llegada al laboratorio, el envase se encuentre roto, abierto,

agujereado o que la muestra presente evidentes signos de deterioro.

- Cuando se verifique una temperatura inapropiada durante el transporte, o la temperatura en el momento de la recepción no es adecuada.
- Cuando la muestra sea insuficiente.

### 3.3 Muestra

El estudio se realizó en muestras recolectadas en los puestos que dispensan bebidas de venta ambulatoria. Se consideró como unidad muestral los puestos de ventas de ambos refrescos a la vez en los diferentes mercados. Así mismo después de la minuciosa evaluación de la unidad muestral, elegimos como unidad de análisis los refrescos de maíz morado y maracuyá.

### 3.4 Definiciones Operacionales de las Variables, Indicadores e Índices

#### 3.4.1 Variable Independiente (X) e Indicador:

Variable Independiente (X)	Dimensión	Indicadores
<ul style="list-style-type: none"><li>– Refrescos de maíz morado</li><li>– Refrescos de maracuyá</li></ul>	Volumen	Mililitros (ml)

#### 3.4.2 Variable Dependiente (Y) e Indicador:

Variable dependiente (Y)	Dimensión	Indicadores
<b>Nivel de contaminación</b>	Colonias	Unidad formadora de colonias por ml (UFC/ml)

### 3.5 Procedimiento para la Recolección de la Información

#### 3.5.1 Técnicas de Muestreo

La Norma Técnica Peruana NTP 2859-I, establece el proceso de muestreo, considerando que el objetivo del muestreo es obtener una

muestra representativa y que el producto muestreado no sufra ninguna alteración hasta el momento de ser sometida a una medición o ensayo.

Se considera que todo proceso de muestreo debe incluir las etapas de extracción de muestra, manipuleo, conservación y transporte de la muestra. Las muestras de alimentos a analizar deben reflejar con exactitud las condiciones microbiológicas existentes en el momento del muestreo. El muestreo se debe efectuar asépticamente, utilizando recipientes e instrumentos estériles para proteger las muestras contra la contaminación exógena, manteniéndolas en condiciones adecuadas. Es muy importante el tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta su llegada al laboratorio, por tanto, este tiempo debe ser mínimo para evitar alguna contaminación cruzada y cambios en la muestra por factores externos. Tales que la microflora original que contienen el alimento no se deteriore ni se multipliquen.

Las muestras se depositan en recipientes limpios, secos, estériles y sin escapes, de capacidad suficiente para contener la muestra unitaria deseada.

Se rotulan todos los recipientes que contienen las muestras indicando el nombre de la muestra, hora del muestreo, lugar y otros datos que el inspector crea necesario. Las etiquetas o rótulos deben quedar bien fijados.

Dentro de la evaluación de los diferentes puestos de venta de refrescos siempre se debe tener en cuenta todos los parámetros establecidos para cada muestra, así mismo se debe basar en los criterios microbiológicos establecidos por la normativa vigente, ya que uno de los factores que en mayor medida afecta la salud pública es la higiene de los alimentos, especialmente aquellos que son expendidos en los mercados de alta concurrencia de la población.

### **3.5.2 Procedimiento para la Selección de la Muestra**

La extracción de muestra dependió de la presentación del producto, del tipo de ensayo. En esta etapa se consideró la cantidad o unidades a muestrear, selección de muestras, dispositivos para la extracción de muestras, así como cualquier tipo de material a utilizar en el muestreo.

Según MINSA en el año 2006, el procedimiento para seleccionar las muestras, debe estar en función de los riesgos sanitarios relacionados a las diferentes etapas de la cadena alimentaria, sea de la fabricación, de la elaboración y/o expendio<sup>56</sup>.

### 3.5.3 Conservación y Transporte de la Muestra

Las muestras obtenidas se colocarán en un refrigerador o contenedor isotérmico (Cooler) con geles refrigerantes, el cual será distribuido de manera uniforme sobre la base y los laterales, asegurando que la temperatura sea inferior a 10°C; a fin de salvaguardar la vida útil de la muestra hasta su posterior llegada al laboratorio. El tiempo para el transporte entre la toma de muestra y la recepción de las muestras en el laboratorio estará en función estricta de la temperatura indicada, no debe sobrepasar 24 horas y excepcionalmente las 36 horas<sup>57</sup>.

**TABLA N° 1: Criterios para el Transporte de Muestra en Ensayos Microbiológicos**

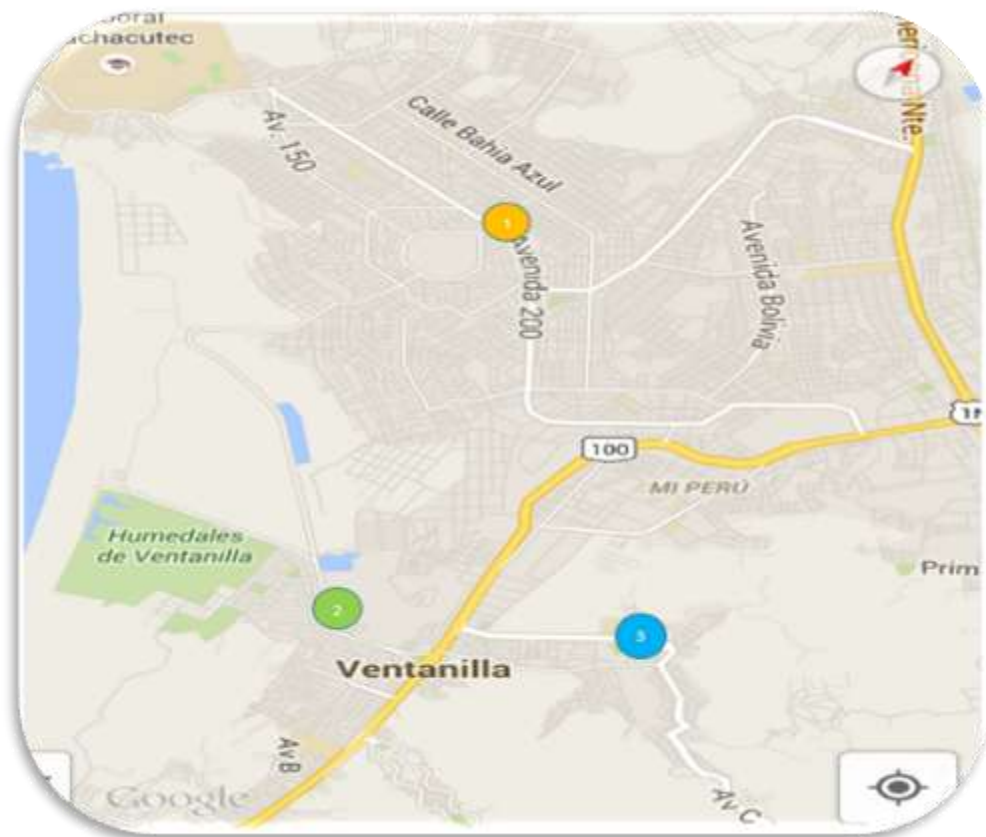
<b>Tipo de muestra</b>	<b>Tipo de envase</b>	<b>Cantidad mínima de muestra</b>	<b>Conservación</b>	<b>Tiempo máximo para el transporte al laboratorio</b>
Muestras preparadas líquidas	Bolsa de plástico o botella estéril	200ml	Refrigeración (0-4°C)	Antes de las 24 horas de tomada la muestra

### 3.5.4 Lugar de Muestreo

Para realizar la toma de muestra, se definió las zonas en donde se realizó la investigación; por lo tanto, se realizaron visitas previas, en diferentes ocasiones, para determinar los puntos críticos (Figuras N° 2, 3 y 4).

Se determinaron 5 puestos de venta ambulancia de refrescos de maracuyá y de maíz morado en cada uno de los mercados. En los meses de febrero-abril del 2016, de las cuales se recolectaron 90 muestras.

**FIGURA N° 1: Ubicación de los Mercados en el Área del Distrito.**



**LEYENDA**

- |    |                            |
|----|----------------------------|
| 1. | MERCADO "VILLA PACHACUTEC" |
| 2. | MERCADO "MILAGRO"          |
| 3. | MERCADO "JUAN PABLO II"    |

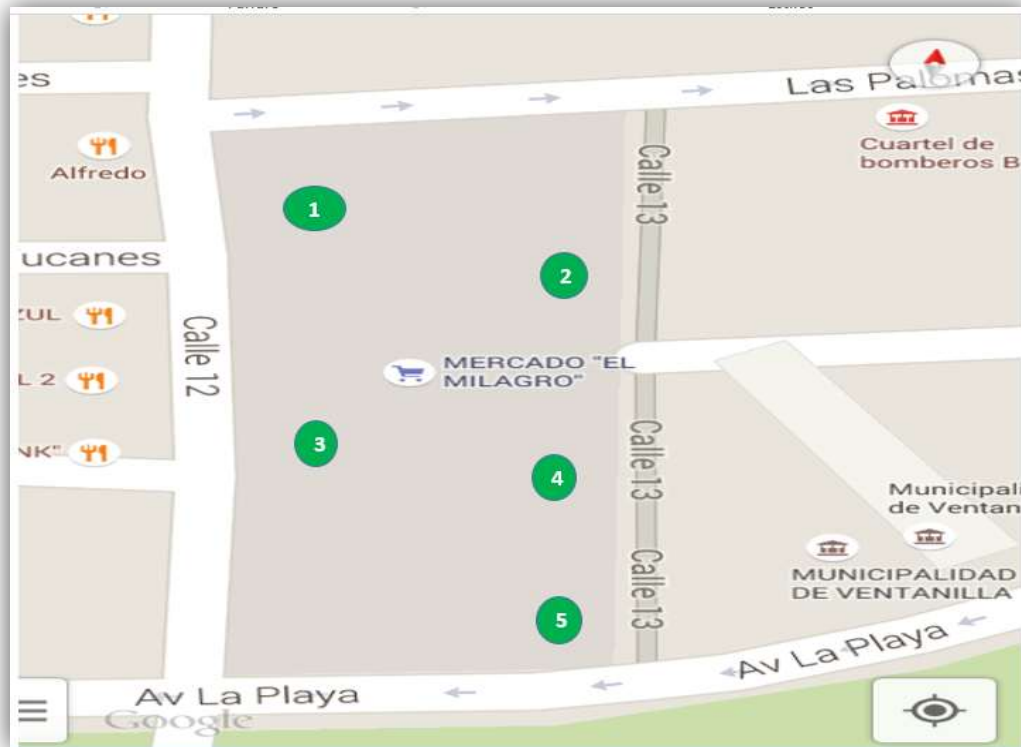
**TABLA N° 2: Determinación no Probabilística de Muestreo**

<b>MUESTREO DE REFRESCOS DE MARACUYÁ Y MAIZ MORADO</b>					
<b>MERCADO JUAN PABLO II</b>		<b>MERCADO MILAGRO</b>		<b>MERCADO PACHACUTEC</b>	
<b>PUESTO 1</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 1</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 1</b>	<b>Muestreo</b>
<b>PUESTO 2</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 2</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 2</b>	<b>Muestreo</b>
<b>PUESTO 3</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 3</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 3</b>	<b>Muestreo</b>
<b>PUESTO 4</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 4</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 4</b>	<b>Muestreo</b>
<b>PUESTO 5</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 5</b>	<b>Muestreo</b>	<b>PUESTO 5</b>	<b>Muestreo</b>
<b>PUESTO 6</b>		<b>PUESTO 6</b>		<b>PUESTO 6</b>	
<b>PUESTO 7</b>		<b>PUESTO 7</b>		<b>PUESTO 7</b>	
<b>PUESTO 8</b>		<b>PUESTO 8</b>		<b>PUESTO 8</b>	
		<b>PUESTO 9</b>		<b>PUESTO 9</b>	
		<b>PUESTO 10</b>		<b>PUESTO 10</b>	
		<b>PUESTO 11</b>			

La Tabla N° 2 muestra los puestos de venta en donde se realizó el muestreo, en cada punto se tomó una muestra tanto de refresco de maracuyá y refresco de maíz morado por fecha (tratamiento). Se obtuvo 5 puntos de muestreo por cada mercado, dando como total 15 muestras de refresco de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado por tratamiento.



**FIGURA N° 2: Ubicación de los Puestos en el Mercado “El Milagro”**



**FIGURA N° 3: Ubicación de los Puestos en el Mercado “Juan Pablo II”**



**FIGURA N° 4: Ubicación de los Puestos en el Mercado “Villa Pachacutec”**



### **3.5.5 Procedimiento de Muestreo**

1. La elección de la fecha y hora para la toma de las muestras fueron el 13 de febrero del 2016 para el primer tratamiento (muestreo y análisis de las muestras) en los tres mercados; 20 de febrero para el segundo tratamiento y el 5 de marzo para el tercer tratamiento. La toma de muestra se realizó según fecha indicada en días sábados partir del mediodía, debido a la mayor demanda, por la alta densidad de consumidores y de transportes vehiculares, y porque los rayos solares llegan con mayor fuerza a estas horas.
2. Detectados los puntos críticos, se organizó el equipo necesario para la toma de muestra como: envases estériles, *Cooler* con gel refrigerante, rotuladores, guantes, gorros, mascarillas.
3. Se recolectó la cantidad de dos (2) muestras por cada puesto de venta; una (1) muestra de refresco de maracuyá y una (1) muestra de refresco de maíz morado en botellas de vidrio estéril. Cada muestra consta de aproximadamente de 200 ml de refresco (ración vendida normalmente).
4. Se rotuló y registró las muestras según ficha técnica (Anexo N°1).
5. Se almacenaron las muestras en un *Cooler* con gel refrigerante, para mantener la temperatura hasta su análisis en el laboratorio.

Es muy importante el tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta su llegada al laboratorio, por tanto, este tiempo debe ser mínimo para evitar alguna contaminación cruzada y cambios en la muestra por los factores externos.

**TABLA N° 3: Criterios Microbiológicos para Alimentos Elaborados**

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por gr o ml	
					m	M
<i>Aerobios mesófilos</i>	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>Coliformes</i>	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>

### 3.6 Métodos de Análisis

Los métodos de análisis utilizados son métodos validados y reconocidos por organismos internacionales.

Para este estudio se utilizó métodos validados por la AOAC para cada tipo de microorganismo por placas Petrifilms.

#### 3.6.1 Recuento de *Aerobios*<sup>58</sup>

Las placas Petrifilm para Recuento de *Aerobios* (*Aerobios Count AC*) son un medio de cultivo actualmente utilizado que están listos para ser empleado, contiene diversos nutrientes del *Agar Standard Methods*, además un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que va facilitar el recuento de las colonias. Las placas Petrifilm AC se usan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.

#### Procedimiento:

a. Se pipeteo 10 ml de muestra en una funda o bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado conteniendo 90 ml de diluyente, obteniéndose la dilución 10<sup>-1</sup> (Figura N° 6). Se homogenizo la muestra.

b. Se preparó las diluciones de la muestra utilizando uno de los siguientes diluyentes estériles: agua de peptona al 0,1%, solución salina (0,85 - 0,90 %). El pH de la muestra debe estar entre 6,6 – 7,2, si es necesario ajustarlo para muestras ácidas con NaOH 1N y alcalinas con

HCl 1N. No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.

**c.** Se pipeteo 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  en un tubo conteniendo 9 ml del mismo diluyente para obtener la dilución  $10^{-2}$ . Se repitió la misma secuencia para obtener la dilución  $10^{-3}$ . Con posterior homogenización de la muestra.

**d.** Se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levantar la lámina semitransparente superior. Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm pipetear 1 ml de las diluciones establecidas anteriormente (Figura N° 7). Inocular dos placas por dilución.

**e.** Bajar la película superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire.

**f.** Presionar con cuidado el dispersor con la cara hacia abajo para repartir la muestra sobre el área circular.

**g.** Levantar el dispersor, y esperar un minuto a que se solidifique el gel y proceder a la incubación.

**h.** Incubar la placa cara arriba (Figura N° 8).

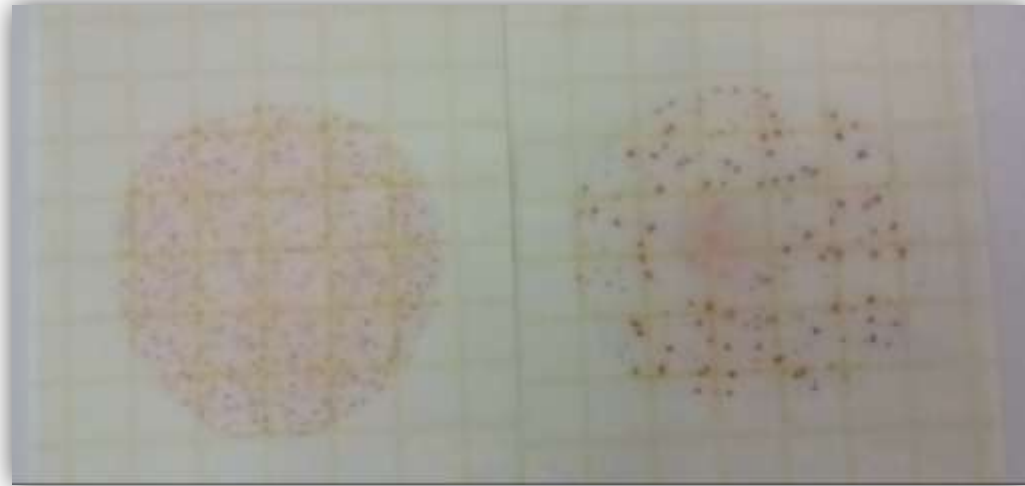
Tiempo de incubación y temperatura varían según el método.

Para el método AOAC Método Oficial 990.12 utilizado en esta investigación:

– Incubar 48 hrs ( $\pm 3$  hrs) a  $35^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

**i.** Contar en un contador de colonias según la guía de interpretación (Figura N°5).

**FIGURA N° 5: Lectura de Resultados de la Muestra para Aerobios.**



### **Interpretación de Resultados**

- El rango recomendado de recuento en las Placas Petrifilm AC es de 30 a 300 colonias.
- Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.
- Para expresar los resultados elegir la placa que contenga las colonias en el rango indicado y multiplicar por el factor de dilución de la placa escogida, dicho valor se expresa en unidades formadoras de colonias por ml.

### **3.6.2 Recuento de *E. coli*/Coliformes<sup>59</sup>**

Las placas Petrifilm para Recuento de *E. coli* y *Coliformes* es un sistema de medio de cultivo listo, que está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio VRBG, el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucurónido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría (El área donde se desarrollarán los microorganismos está definida por una película intermedia de espuma). Se complementa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricoloruro de trifeníl tetrazolio (TTC) como indicador.

**Procedimiento:**

- a. Pese o pipetee 10 ml de muestra en una funda o bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado conteniendo 90 ml de diluyente, obteniéndose la dilución  $10^{-1}$  (Figura N° 6). Homogenice la muestra.

**FIGURA N° 6: Procedimiento del Pesado de la Muestra**



- b. Preparar las diluciones de la muestra utilizando uno de los siguientes diluyentes estériles: agua de peptona al 0,1%, solución salina (0,85 - 0,90 %). El pH de la muestra debe estar entre 6,6 – 7,2, si es necesario ajustarlo para muestras ácidas con NaOH 1N y alcalinas con HCl 1N. No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.
- c. Pipetear 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  en un tubo conteniendo 9 ml del mismo diluyente para obtener la dilución  $10^{-2}$ . Repetir la misma secuencia para obtener la dilución  $10^{-3}$ . Homogenice la muestra.
- d. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levantar la lámina semitransparente superior. Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm pipetear 1 ml de las diluciones establecidas anteriormente (Figura N° 7). Inocular dos placas por dilución.

**FIGURA N° 7: Inoculación de la Muestra**



- e. Bajar la película superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire.
- f. Presionar con cuidado el dispersor con la cara hacia abajo para repartir la muestra sobre el área circular.
- g. Levantar el dispersor, y esperar un minuto a que se solidifique el gel y proceder a la incubación.
- h. Incubar la placa cara arriba (Figura N° 8).



**FIGURA N° 8. Incubación de las Placas Petrifilm**



Tiempo de incubación y temperatura varían según el método.

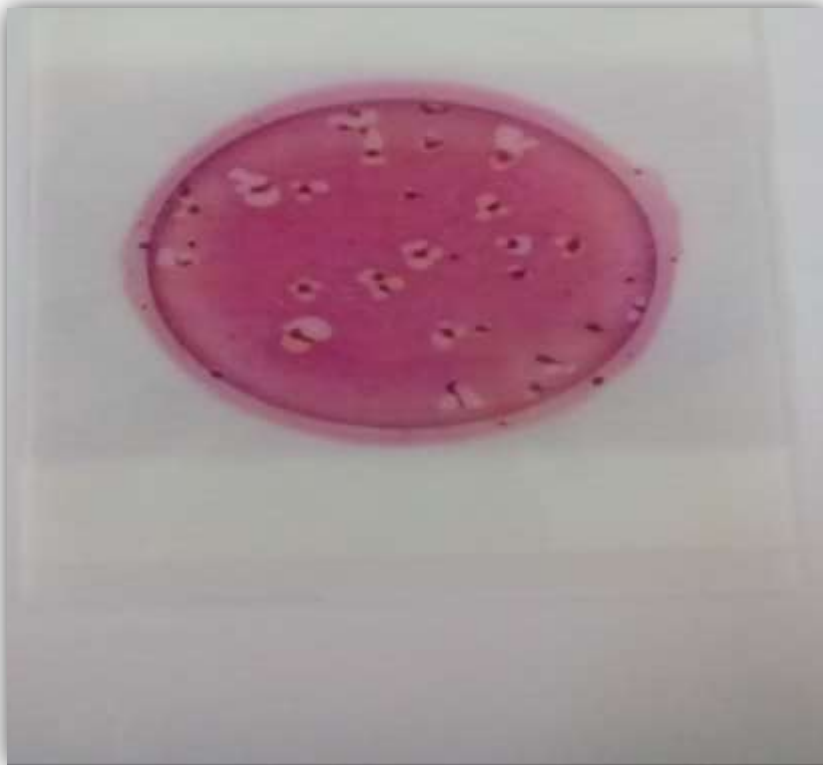
Para el método AOAC Método Oficial 991.14 utilizado en esta investigación:

- Para *Coliformes* incubar 24 hrs ( $\pm 2$  hrs) a 35 °C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).
- Para *Escherichia coli* incubar 48 hrs ( $\pm 2$  hrs) a 35 °C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Retirar las placas una vez cumplido su tiempo de incubación y proceder al recuento de colonias.

- i. Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias estándar u otro tipo de lente de aumento iluminada. Según guía de interpretación (Figura N° 9).

**FIGURA N° 9: Lectura de Resultados de la Muestra para *Coliformes* y *E. coli*.**



#### Interpretación de Resultados

- El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150 colonias.
- Las colonias rojas con gas indican la presencia de coliformes y las colonias azules la presencia de *E. coli*.
- Para expresar los resultados elegir la placa que contenga las colonias en el rango indicado y multiplicar por el factor de dilución de la placa escogida, dicho valor se expresa en unidades formadoras de colonias por ml.

### 3.6.3 Recuento de *Staphylococcus aureus*<sup>60</sup>

La placa Petrifilm Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus* es un sistema de medio de cultivo listo para la muestra que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio modificado cromogénico Baird-Parker en la placa es selectivo y diferencial para el *Staphylococcus aureus*. Las colonias rojo-violetas en la placa son *S. aureus*. Cuando solamente se aprecian colonias rojo-violetas, recuente las colonias; la prueba se ha terminado.

#### **Procedimiento:**

- a. Pese o pipetee 10 ml de muestra en una funda o bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado conteniendo 90 ml de diluyente, obteniéndose la dilución  $10^{-1}$  (Figura N°6). Homogenice la muestra.
- b. Preparar las diluciones de la muestra utilizando uno de los siguientes diluyentes estériles: agua de peptona al 0,1%, solución salina (0,85 - 0,90 %). El pH de la muestra debe estar entre 6,6 – 7,2, si es necesario ajustarlo para muestras ácidas con NaOH 1N y alcalinas con HCl 1N. No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.
- c. Pipetear 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  en un tubo conteniendo 9 ml del mismo diluyente para obtener la dilución  $10^{-2}$ . Repetir la misma secuencia para obtener la dilución  $10^{-3}$ . Homogenice la muestra.
- d. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levantar la lámina semitransparente superior. Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm pipetear 1 ml de las diluciones establecidas anteriormente (Figura N° 7). Inocular dos placas por dilución.
- e. Bajar la película superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire.
- f. Presionar con cuidado el dispersor con la cara hacia abajo para repartir la muestra sobre el área circular.

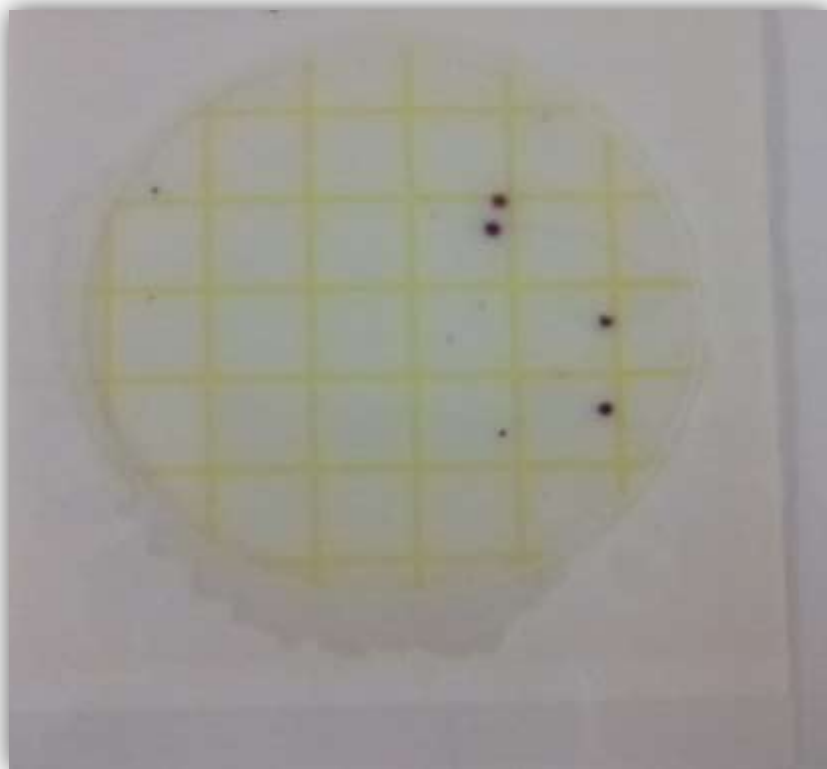
- g. Levantar el dispersor, y esperar un minuto a que se solidifique el gel y proceder a la incubación.
- h. Incubar las placas caras arriba (Figura N° 8).

Tiempo de incubación y temperatura varían según el método.

Para el método AOAC Método Oficial 2003.07 utilizado en esta investigación:

- Incubar 24 hrs ( $\pm 2$  hrs) a  $35^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).
- i. Contar en un contador de colonias según la guía de interpretación (Figura N°10).

**FIGURA N° 10: Lectura de Resultados de la Muestra para *Staphylococcus aureus*.**



### **Interpretación de Resultados**

- El rango límite de recuento de la población en las Placas Petrifilm Staph Express es de 150 colonias.

- Las colonias rojo – violeta en la placa evidencian presencia de *S. aureus*. Cuando solamente se aprecien colonias rojo – violeta, cuente las colonias y la prueba se habrá completado.
- Si encuentra flora de acompañamiento en el fondo de su prueba de *Staphylococcus aureus* el disco Staph Express Petrifilm se debe usar para diferenciar *Staphylococcus aureus* del resto de colonias sospechosas. Cuando el disco se inserta en la placa el *Staphylococcus aureus* produce una zona rosada.
- Para expresar los resultados elegir la placa que contenga las colonias en el rango indicado y multiplicar por el factor de dilución de la placa escogida, dicho valor se expresa en unidades formadoras de colonias por ml.

### **3.7 Infraestructura/Equipos y Medios Físicos en el Proyecto.**

- Computadora
- Calculadora
- Incubadoras
- Pipetas
- Dispensadores
- Placas petrifilm
- Cooler
- Gel
- Refrigeradora
- Potenciómetro
- Contador de colonias
- Pipeteador
- Balanza
- Desecador

# **CAPÍTULO IV**

# **RESULTADOS Y**

# **DISCUSIÓN**

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- Los análisis se realizaron considerando el tipo de refresco, con 45 muestras de refresco de maracuyá y 45 muestras de refresco de maíz morado, considerando 200 ml. por muestra.
- Los análisis se realizaron en base a los puestos muestreados por cada mercado con el promedio de los resultados de los tres tratamientos realizados por cada puesto.
- Los resultados se expresan en términos de límite de calidad microbiológica aceptable y se compararon los valores de recuento microbiológico de las bebidas de refresco de maracuyá y refresco de maíz morado con los valores de recuentos microbiológicos establecidos en la norma sanitaria.

##### 4.1 Evaluación del Mercado “Juan Pablo II”

##### 4.1.1 Recuento de Aerobios mesófilos

Según el diseño muestral se analizaron 15 muestras de refresco de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado de venta ambulatoria, para la numeración de *Aerobios*, se procedió según el método AOAC Método Oficial 990.12, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°4 y 5.

**TABLA N° 4: Resultados de Recuento de Aerobios mesófilos en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	3700	100000	AC
Puesto 2	31000	100000	AC
Puesto 3	450000	100000	NA
Puesto 4	320000	100000	NA
Puesto 5	16000	100000	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

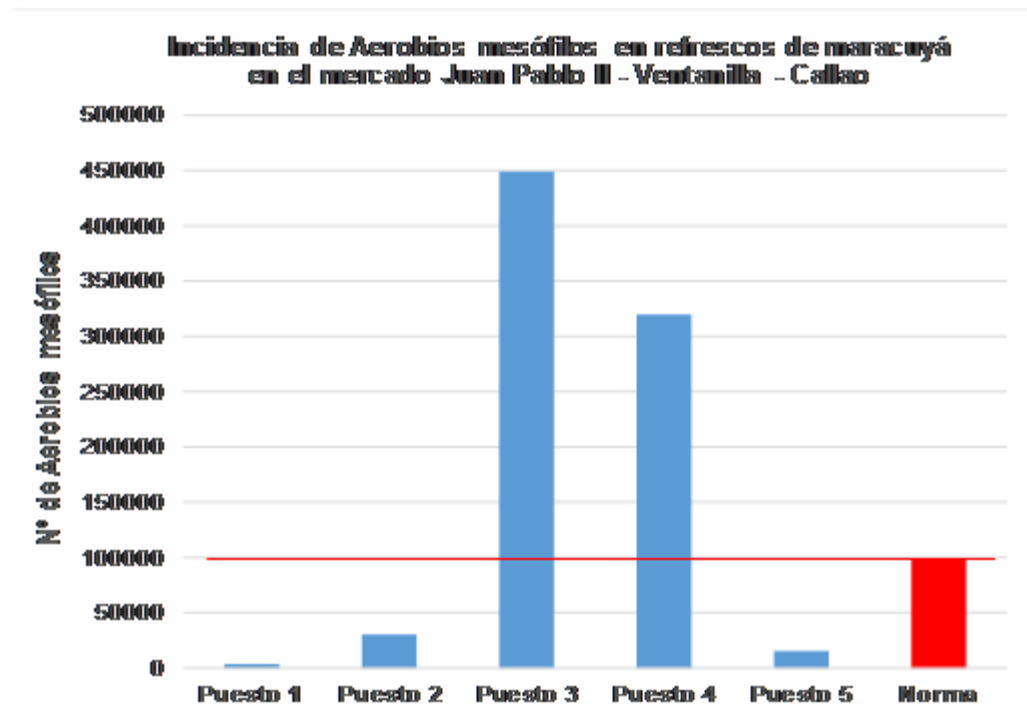
a

La Tabla N° 4 muestra que 2 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran fuera de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 5: Resultados de recuento de Aerobios mesófilos en refresco de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	8400	100000	AC
Puesto 2	6800	100000	AC
Puesto 3	7600	100000	AC
Puesto 4	7600	100000	AC
Puesto 5	24000	100000	AC
AC= ACCEPTABLE    NA= NO ACCEPTABLE			

La Tabla N° 5 muestra que todos los puestos de ventas analizados evidencian carga microbiana debajo de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

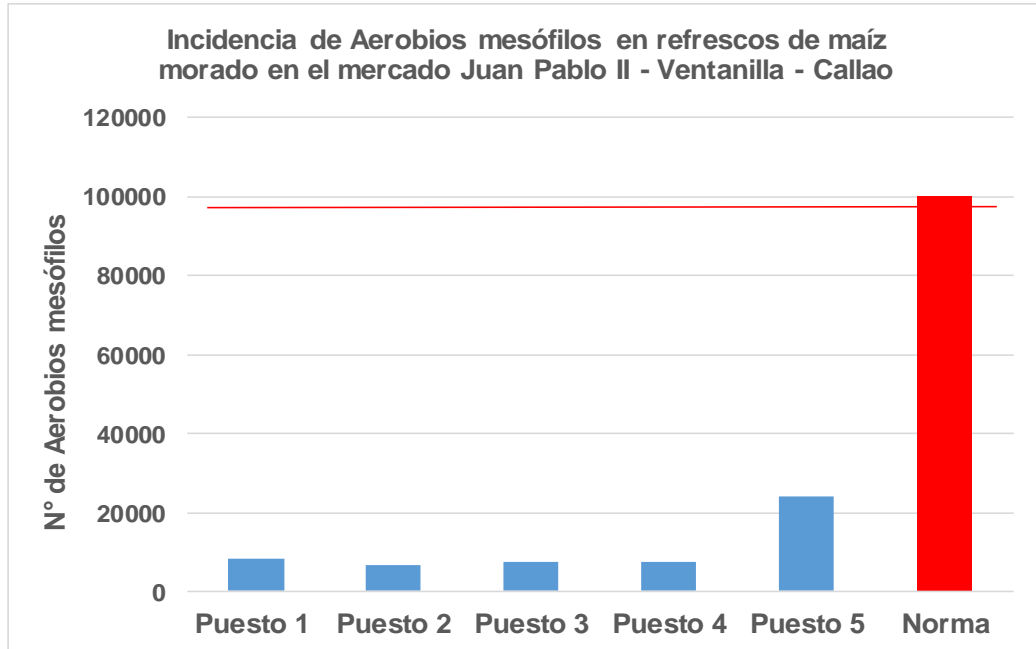


Fuente: Elaborado por los Tesistas

**FIGURA N° 11: Incidencia de Aerobios mesófilos en refrescos de maracuyá en el mercado de Juan Pablo.**



La Figura N°11 muestra que los puestos 3 y 4 están fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Aerobios mesófilos, en refrescos de maracuyá en el mercado Juan Pablo II – Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 12: Incidencia de Aerobios mesófilos en refrescos de maíz morado en el mercado de Juan Pablo.**

La Figura N°12 muestra que todos los puestos están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA, para Aerobios mesófilos en refrescos de maíz morado en el mercado Juan Pablo II – Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 6: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en Aerobios mesófilos para el Mercado Juan Pablo II.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	2	60	40
Maíz Morado	5	0	100	0

La Tabla N°6 muestra para el refresco de maracuyá del total de los puestos analizados el 40% no cumple con los límites establecidos por la norma, mientras que para el refresco de maíz morado para el total de puestos analizados el 100% cumple con los límites permitidos.

#### 4.1.2 Recuento de Coliformes totales

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulancia, para la numeración de Coliformes totales, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N° 7 y 8.

**TABLA N° 7: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá.**

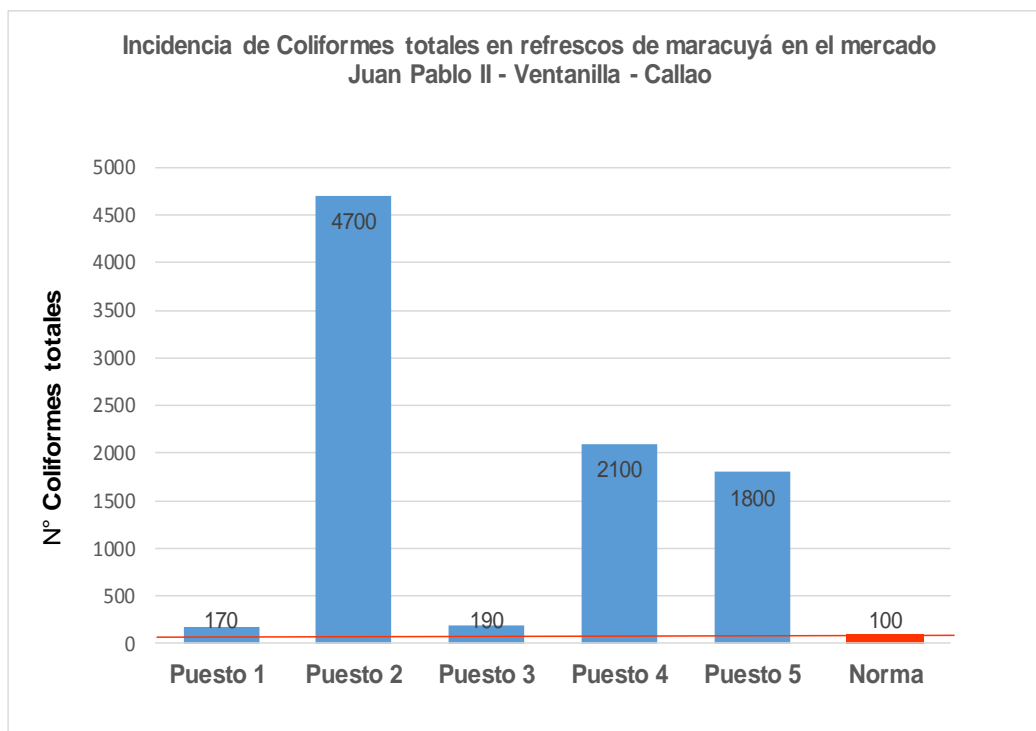
N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	170	100	NA
Puesto 2	4700	100	NA
Puesto 3	190	100	NA
Puesto 4	2100	100	NA
Puesto 5	1800	100	NA
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N° 7 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 8: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maíz Morado.**

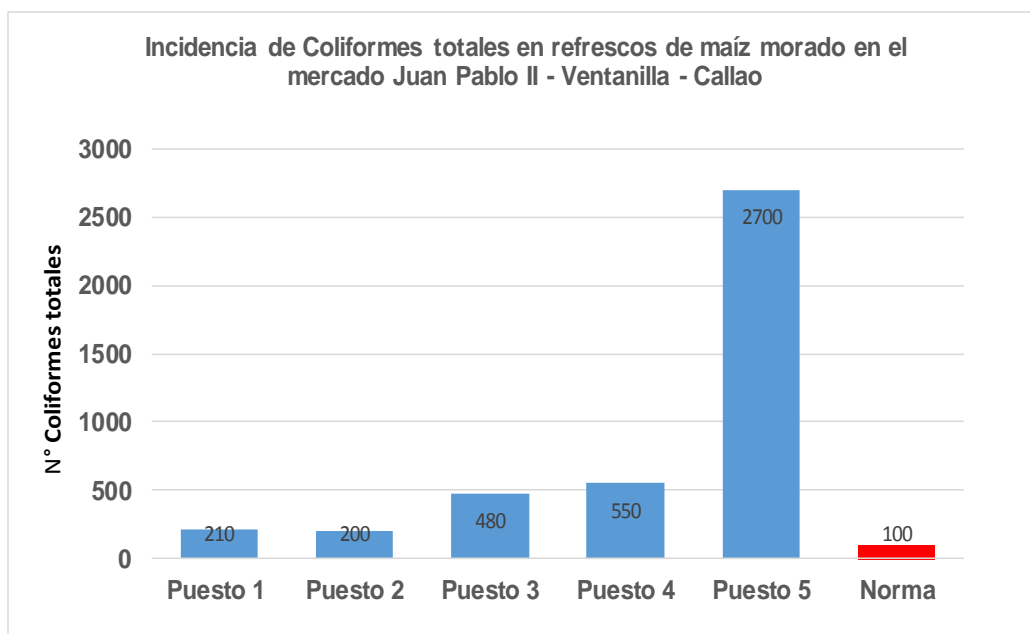
N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	210	100	NA
Puesto 2	200	100	NA
Puesto 3	480	100	NA
Puesto 4	550	100	NA
Puesto 5	2700	100	NA
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N°8 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N°13: Incidencia de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II.**

La Figura N°13 muestra que todos los puestos están por encima de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA, para Coliformes totales en refrescos de maracuyá en el mercado Juan Pablo II - Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 14: Incidencia de Coliformes totales en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Juan Pablo II.**

La Figura N°14 muestra que todos los puestos están por encima de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA, para Coliformes totales en refrescos de maíz morado en el mercado Juan Pablo II - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 9: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en Coliformes Totales para el Mercado Juan Pablo II.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	5	0	100
Maíz morado	5	5	0	100

La Tabla N° 9 muestra que para el maracuyá del total de los puestos evaluados el 100% no cumple con los límites establecidos por la norma, de igual manera para refrescos de maíz morado el total de puestos analizados el 100% no cumple con dichos límites.

#### 4.1.3 Recuento de *E. coli*

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulatória, para la numeración de *E. Coli*, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N° 10 y 11.

**TABLA N° 10: Resultados de Recuento de *E. Coli* en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N°10 muestra que todos los puestos de ventas evaluados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 11: Resultados de Recuento de *E. coli*, en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N° 11 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 12: Porcentajes de Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en *E. coli* para el Mercado Juan Pablo II.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	0	100	0
Maíz morado	5	0	100	0

La Tabla N° 12 muestra que para el refresco de maracuyá del total de los puestos analizados el 100% cumple con los límites establecidos por la norma, de igual manera para el refresco de maíz morado el total de puestos analizados (100%) cumple con dichos límites.

#### 4.1.4 Recuento de *Staphylococcus aureus*.

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulatória, para la numeración de *staphylococcus aureus*, por el método AOAC Método Oficial 2003.07, obteniendo los resultados expresados en la Tabla N°13 y 14.

**TABLA N° 13: Resultados de Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	3	10	AC
Puesto 2	23	10	NA
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

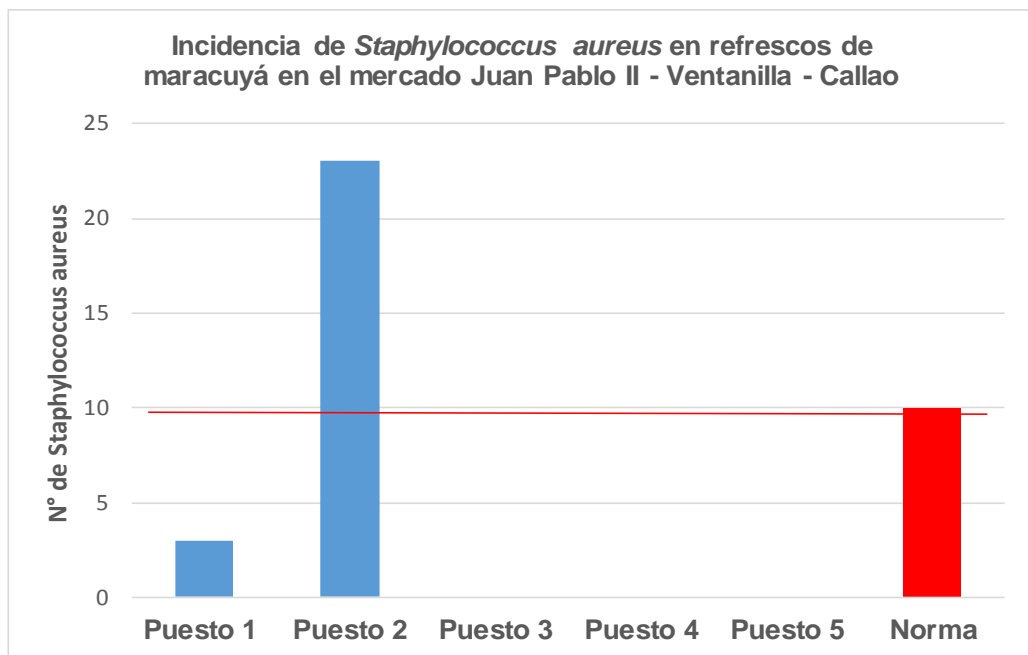
La Tabla N°13 muestra que 1 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentra por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSAs.

**TABLA N° 14: Resultados de Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	17	10	NA
Puesto 3	3	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

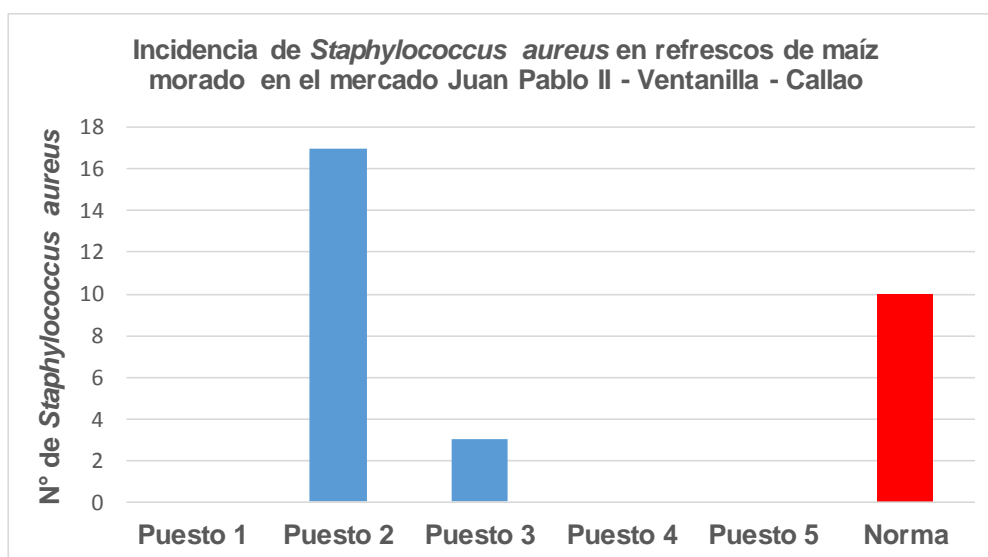
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N°14 muestra que 1 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentra por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA



**FIGURA N° 15: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en refrescos de maracuyá en el mercado Juan Pablo II.**

La Figura N°15 muestra que el puesto N° 2 se encuentra fuera de los límites permitidos por la Norma (NTS 071 591-2008 MINSA) para *Staphylococcus aureus*, en refrescos de maracuyá en el mercado Juan Pablo II - Ventanilla – Callao.



**FIGURA N°16: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en refrescos de maíz morado en el mercado Juan Pablo II.**

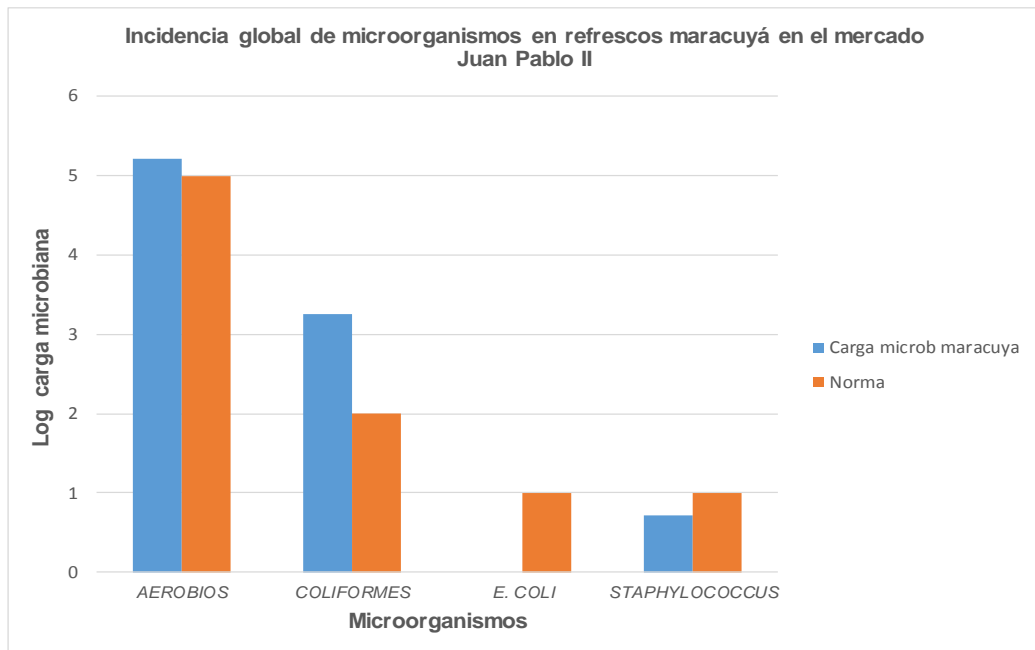
La Figura N° 16 muestra que el puesto 2 también está fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para *Staphylococcus aureus*, en refrescos de maíz morado en el mercado Juan Pablo II - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 15: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en *Staphylococcus aureus* para el Mercado Juan Pablo II.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	1	80	20
Maíz morado	5	1	80	20

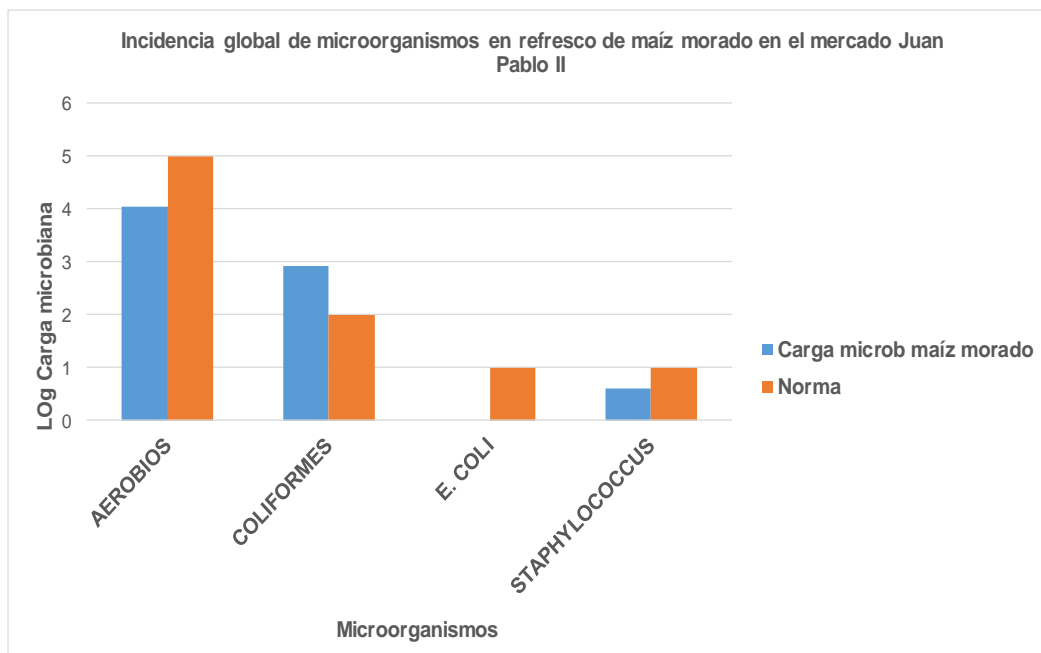
La Tabla N°15 muestra que para el refresco de maracuyá del total de los puestos analizados el 80% si cumple con los límites establecidos por la norma, de igual manera que en chicha morada para el total de puestos analizados el 80% si cumple con dichos límites.





**FIGURA N° 17: Índice Global de la Calidad Microbiológica de Refrescos de Maracuyá en el Mercado Juan Pablo II.**

La Figura N°17 muestra el índice de crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para refrescos de maracuyá en el mercado Juan Pablo II, en donde la carga de Aerobios mesófilos y Coliformes totales exceden los límites de la norma.



**FIGURA N° 18: Índice Global de la Calidad Microbiológica en refresco de maíz morado en el Mercado Juan Pablo II**

La Figura N°18 muestra el índice de crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para chicha morada en el mercado Juan Pablo II, en donde la carga de Coliformes totales excede los límites de la norma, mientras que el resto de microorganismos si están dentro de los parámetros de la misma norma.

## 4.2 Evaluación del Mercado “MILAGRO”

### 4.2.1 Recuento de Aerobios mesófilos

Según el diseño muestral se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulancia, para la numeración de aerobios mesófilos, por el método AOAC Método Oficial 990.12, obteniendo los resultados expresados en la Tabla N°16 y 17.

**TABLA N° 16: Resultados de Recuento de Aerobios mesófilos en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	4000	100000	AC
Puesto 2	5100	100000	AC
Puesto 3	8800	100000	AC
Puesto 4	5700	100000	AC
Puesto 5	7100	100000	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

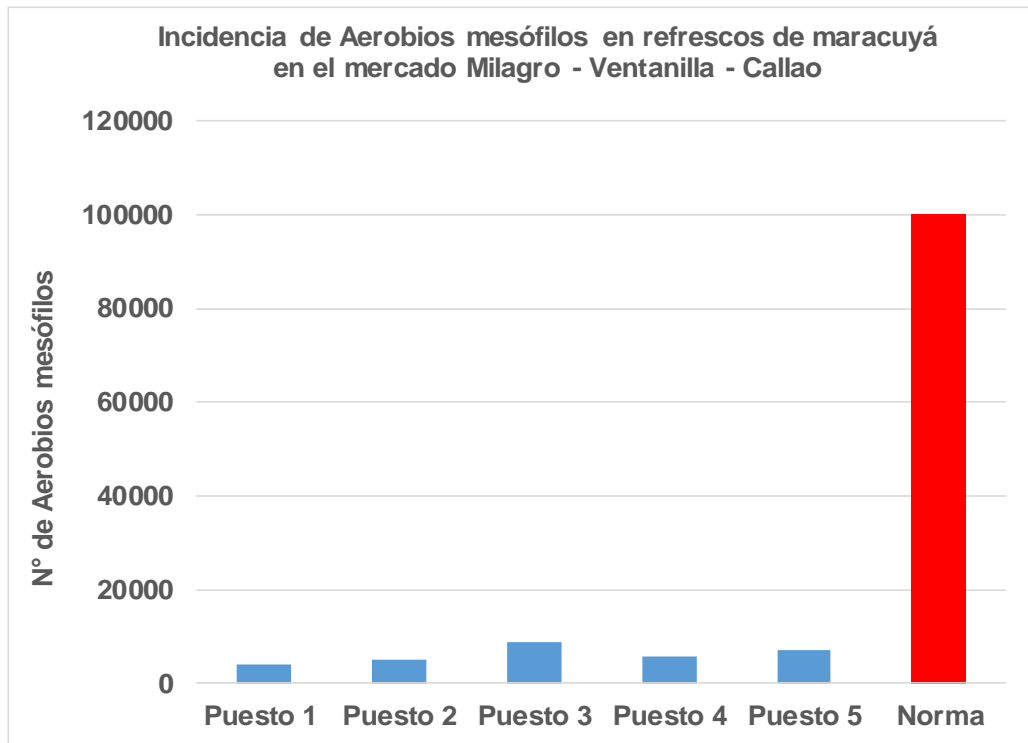
La Tabla N°16 muestra que todos los puestos de ventas analizados se evidencian carga microbiana de Aerobios mesófilos por debajo del límite máximo permitido según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 17: Resultados de Recuento de Aerobios mesófilos en refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	7400	100000	AC
Puesto 2	3000	100000	AC
Puesto 3	30000	100000	AC
Puesto 4	17000	100000	AC
Puesto 5	3000	100000	AC

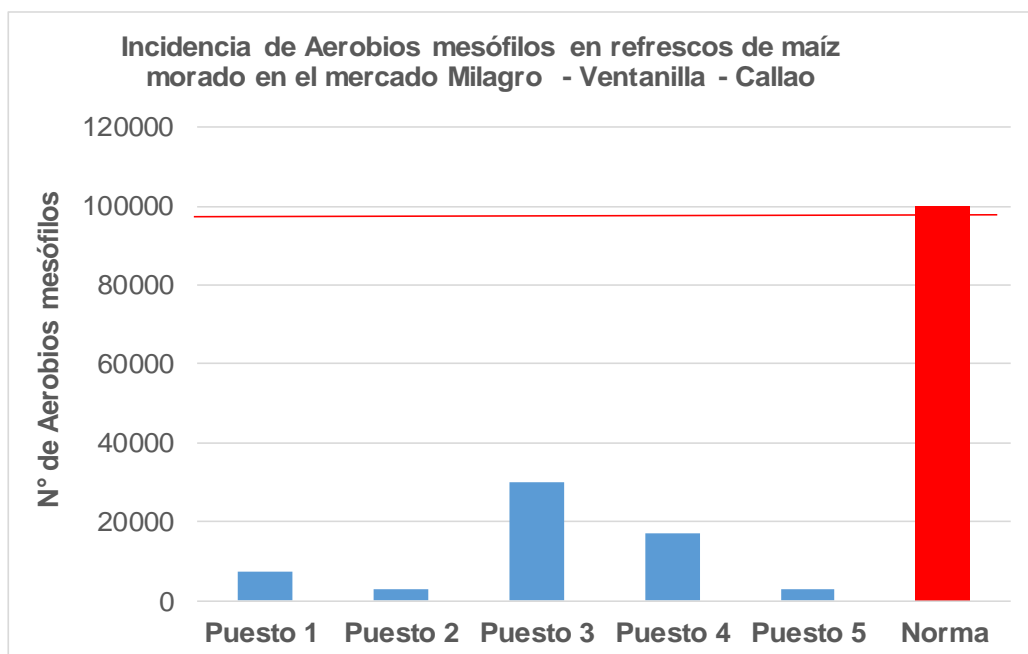
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N°17 muestra que 5 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 19: Incidencia de Aerobios mesófilos en Refrescos de Maracuyá**

La Figura N° 19 muestra que todos los puestos están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Aerobios mesófilos, en refrescos de maracuyá en el mercado Milagro – Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 20: Incidencia de Aerobios mesófilos en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 20 muestra que todos los puestos están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Aerobios mesófilos, en refrescos de maíz morado en el mercado Milagro – Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 18: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en Aerobios mesófilos para el Mercado Milagro.**

<b>Refrescos</b>	<b>Puestos analizados</b>	<b>Puestos no aceptables</b>	<b>% de puestos aceptables</b>	<b>% de puestos no aceptables</b>
Maracuyá	5	0	100	0
Maíz Morado	5	0	100	0

La Tabla N°18 muestra que para el refresco de maracuyá todos los puestos analizados cumplen con los límites establecidos por la norma, asimismo para el refresco de maíz morado para el total de puestos analizados también cumplen los referidos límites.

#### **4.2.2 Recuento de Coliformes totales**

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de chicha morada de venta ambulancia, para la numeración de Coliformes totales, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°19 y 20.

**TABLA N° 19: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá.**

<b>N° de puestos</b>	<b>Prom. Carga microbiana(ufc/ml)</b>	<b>Norma (ufc/ml)</b>	<b>Interpretación global</b>
<b>Puesto 1</b>	<b>320</b>	<b>100</b>	<b>NA</b>
<b>Puesto 2</b>	<b>560</b>	<b>100</b>	<b>NA</b>
<b>Puesto 3</b>	<b>840</b>	<b>100</b>	<b>NA</b>
<b>Puesto 4</b>	<b>390</b>	<b>100</b>	<b>NA</b>
<b>Puesto 5</b>	<b>77</b>	<b>100</b>	<b>AC</b>

AC= ACCEPTABLE    NA= NO ACCEPTABLE

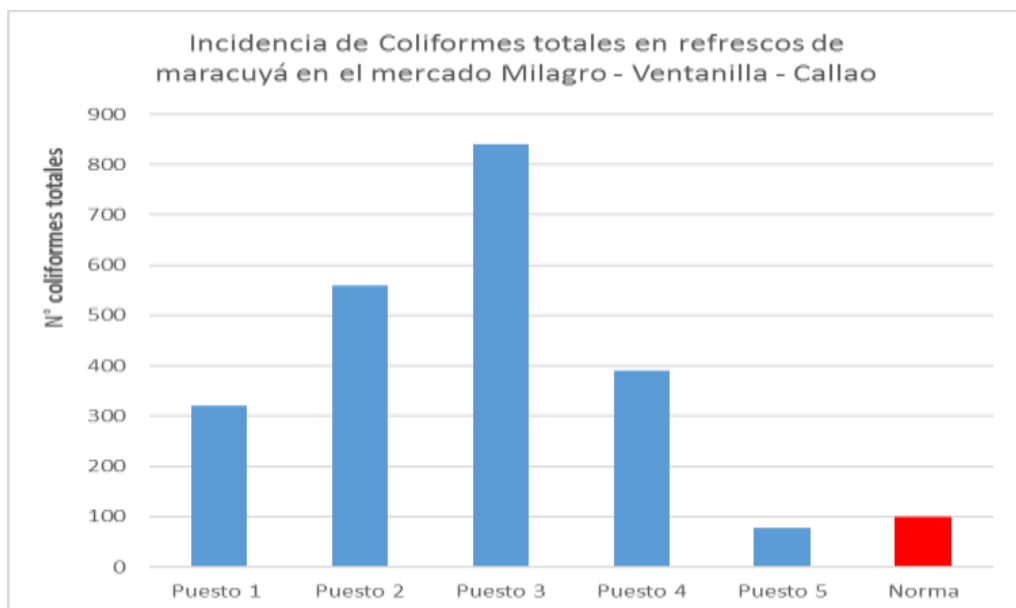
La Tabla N°19 muestra que 4 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 20: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	1400	100	NA
Puesto 2	160	100	NA
Puesto 3	77	100	AC
Puesto 4	470	100	NA
Puesto 5	7	100	AC

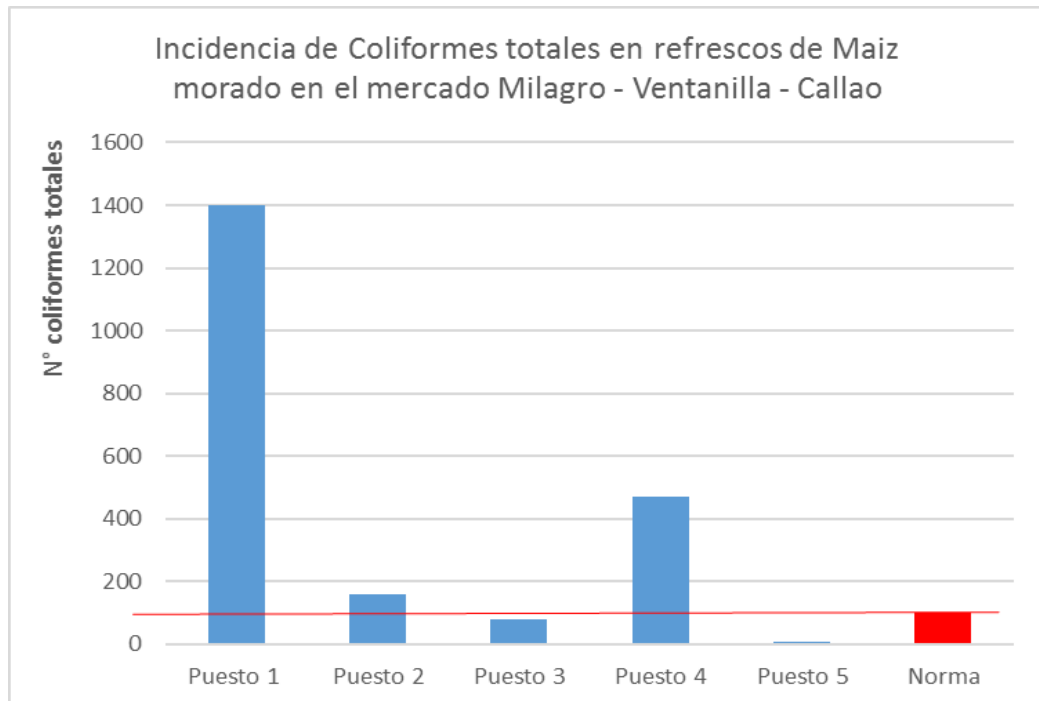
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N° 20 muestra que 3 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 21: Incidencia de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 21 muestra que los puestos 1, 2, 3 y 4 están fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Coliformes totales, en refrescos de maracuyá en el mercado Milagro – Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 22: .Incidencia de Coliformes totales en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 22 muestra que los puestos 1, 2 y 4 están fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Coliformes totales, en refrescos de maíz morado en el mercado Milagro – Ventanilla – Callao.



**TABLA N° 21: Porcentajes de Puestos que Cumplen o No Cumplen con la Norma, en Coliformes Totales para el Mercado Milagro.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	4	20	80
Maíz Morado	5	3	40	60

La Tabla N° 21 muestra que para el refresco maracuyá del total de los puestos analizados el 80% no cumple con los límites establecidos por la norma, a su vez en refrescos de maíz morado para el total de puestos analizados el 60% no cumple con dichos límites.

#### 4.2.3 Recuento de *E. coli*

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulatória, para la numeración de *E. Coli*, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°22 y 23.

**TABLA N° 22: Resultados de Recuento de *E. Coli* en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N° 22 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 23: Resultados de Recuento de *E. Coli*, en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N° 23 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 24: Puestos que Cumplen o No Cumplen con la Norma, en *E. coli* para el Mercado Milagro.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	0	100	0
Maíz Morado	5	0	100	0

La Tabla N° 24 muestra que para el maracuyá del total de los puestos analizados el 100% si cumple con los límites establecidos por la norma, de igual manera que en chicha morada para el total de puestos analizados el 100% si cumple con dichos límites.

#### **4.2.4 Recuento de *Staphylococcus aureus***

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refrescos de maíz morado de venta ambulatória, para la numeración de *Staphylococcus aureus*, por el método AOAC Método Oficial 2003.07, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°25 y 26.

**TABLA N° 25: Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	23	10	NA
Puesto 4	33	10	NA
Puesto 5	3	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

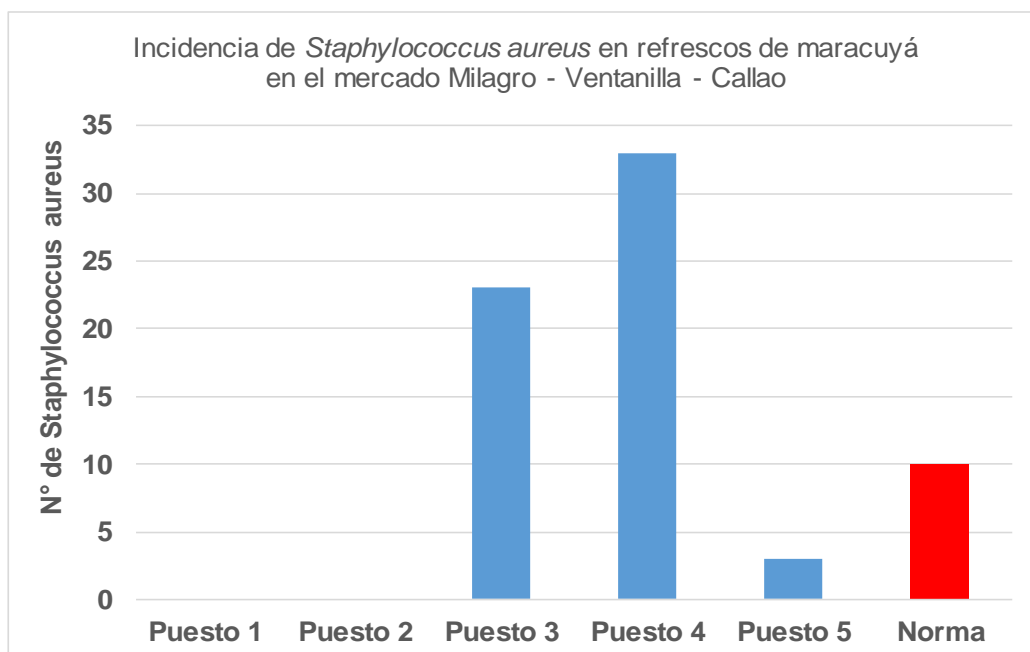
La Tabla N° 25 muestra que 2 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentra por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 26: Resultados de Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	10	10	AC
Puesto 4	13	10	NA
Puesto 5	0	10	AC

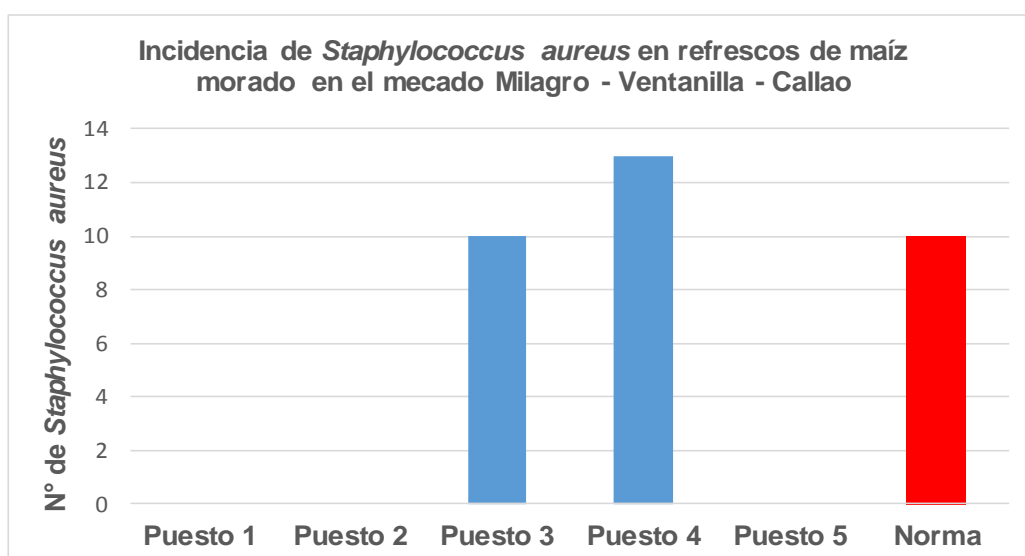
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N° 26 muestra que 1 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentra por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 23: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en refrescos de Maracuyá en el Mercado Milagro.**

La Figura N°23 muestra que el puesto 3 y 4 están fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSa para *Staphylococcus aureus*, en refrescos de maracuyá en el mercado Milagro - Ventanilla – Callao.



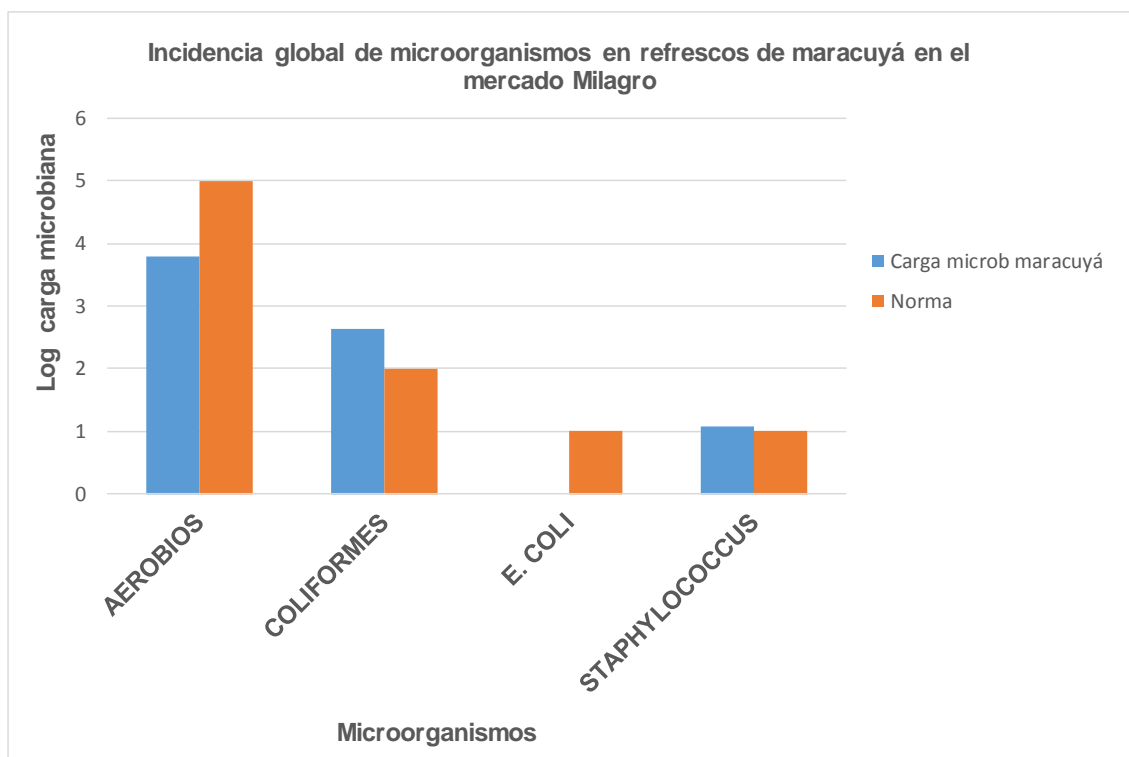
**FIGURA N° 24: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en Refrescos de Maiz Morado en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 24 muestra que el puesto 4 está fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para *Staphylococcus aureus*, en refrescos de maíz morado en el mercado Milagro - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 27: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en *Staphylococcus aureus* para el Mercado Milagro.**

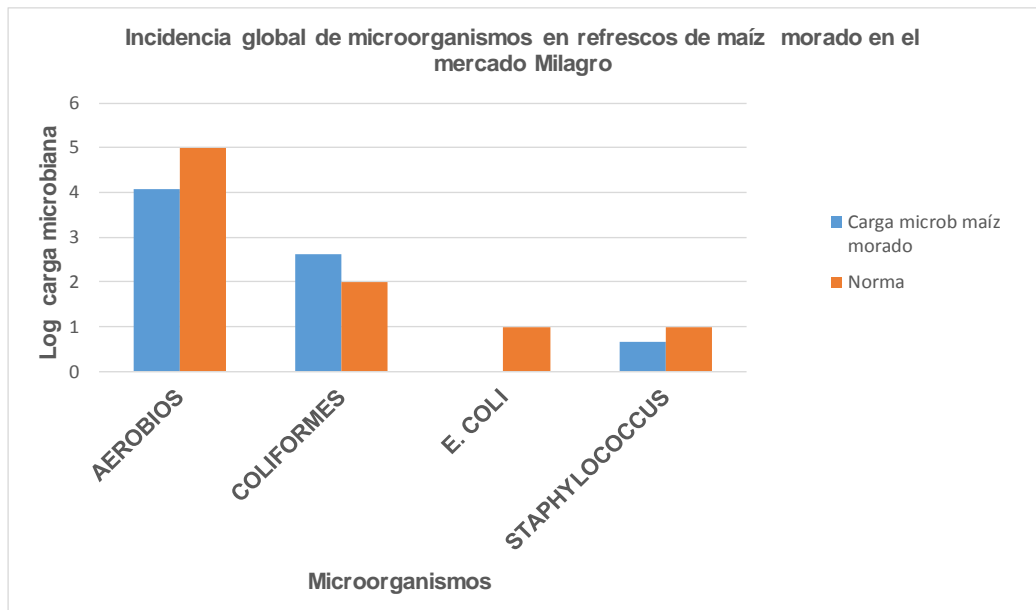
Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	2	60	40
Maíz Morado	5	1	80	20

La Tabla N° 27 muestra que para el maracuyá del total de los puestos analizados el 60% si cumple con los límites establecidos por la norma, en chicha morada para el total de puestos analizados el 80% si cumple con dichos límites.



**FIGURA N° 25: Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 25 muestra el índice de crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para refrescos de maracuyá en el mercado Milagro, en donde la carga de Coliformes totales y *Staphylococcus aureus* exceden los límites de la norma.



**FIGURA N° 26: Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Milagro.**

La Figura N° 26 muestra el índice de crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para chicha morada en el mercado Milagro, en donde solo la carga de Coliformes totales excede los límites de la norma.

### 4.3 Evaluación del Mercado “PACHACUTEC”

#### 4.3.1 Recuento de Aerobios mesófilos

Según el diseño muestral se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado de venta ambulancia, para la numeración de aerobios mesófilos, por el método AOAC Método Oficial 990.12, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°28 y 29.

**TABLA N° 28: Resultados de Recuento de Aerobios mesófilos en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	31000	100000	AC
Puesto 2	15000	100000	AC
Puesto 3	2900	100000	AC
Puesto 4	15000	100000	AC
Puesto 5	73000	100000	AC

AC= ACEPTABLE NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N°28 muestra que 5 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según la NTS 071 591 2008 MINSA.

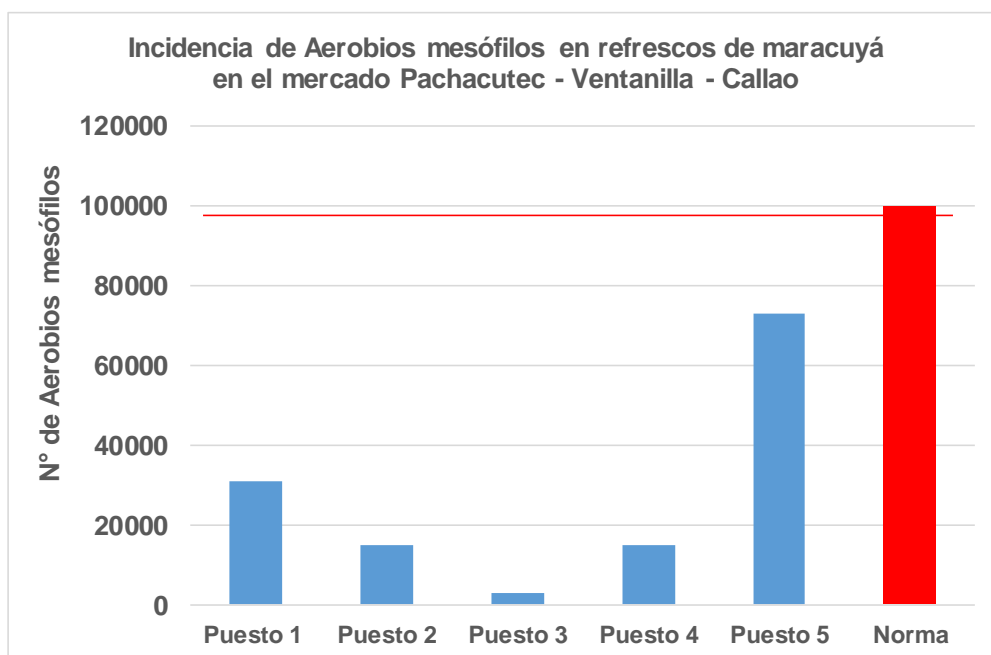
**TABLA N° 29: Resultados de Recuento de Aerobios Mesófilos en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	3900	100000	AC
Puesto 2	740	100000	AC
Puesto 3	20000	100000	AC
Puesto 4	2400	100000	AC
Puesto 5	32000	100000	AC

AC= ACEPTABLE NA= NO ACEPTABLE

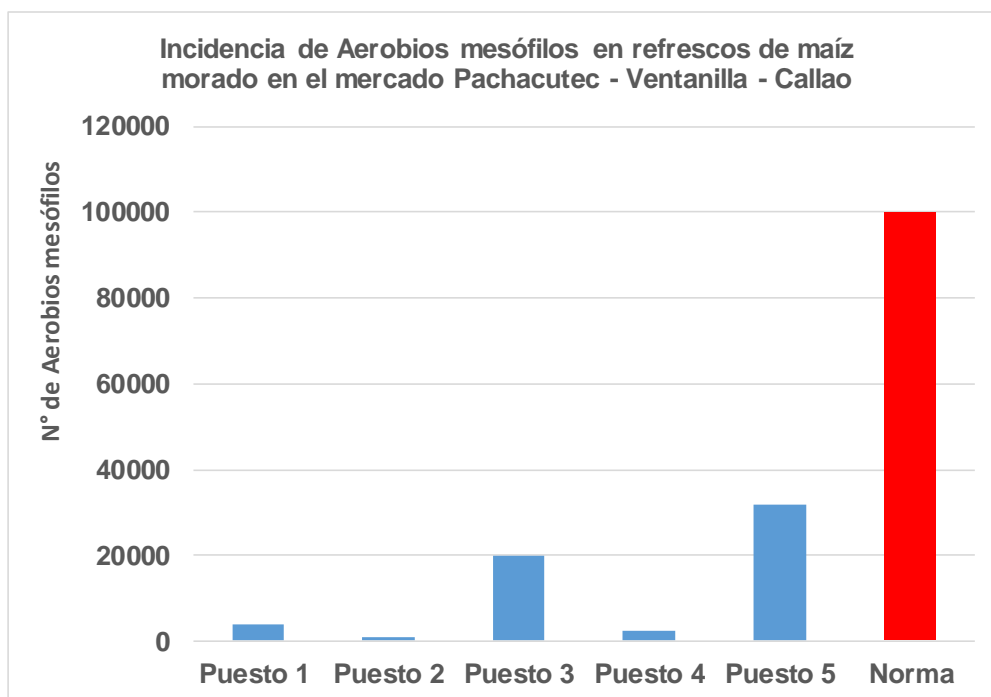


La Tabla N°29 muestra que 5 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 27: Incidencia de Aerobios mesófilos en refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec.**

La Figura N° 27 muestra que todos los puestos están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para aerobios mesófilos, en refrescos de maracuyá en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 28: Incidencia de Aerobios Mesófilos en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec.**

La Figura N°28 muestra que todos los puestos están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para aerobios mesófilos, en refrescos de maíz morado en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 30: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en Aerobios mesófilos para el Mercado Pachacutec.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	0	100	0
Maíz Morado	5	0	100	0

La Tabla N°30 muestra que para los refrescos de maracuyá y maíz morado analizados cumplen con los límites establecidos por la norma.

#### 4.3.2 Recuento de Coliformes totales

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado de venta ambulancia, para la numeración de Coliformes totales, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N° 31 y 32.

**TABLA N° 31: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	320	100	NA
Puesto 2	2300	100	NA
Puesto 3	460	100	NA
Puesto 4	2700	100	NA
Puesto 5	3700	100	NA

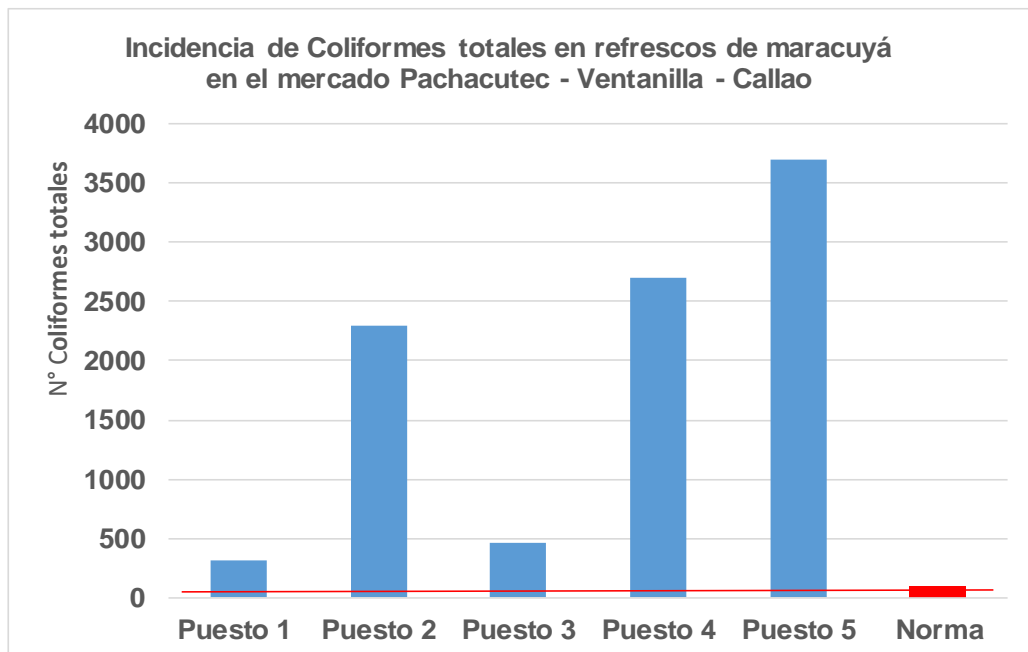
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La **TABLA N°31** muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 32: Resultados de Recuento de Coliformes totales en Refrescos de Maíz Morado.**

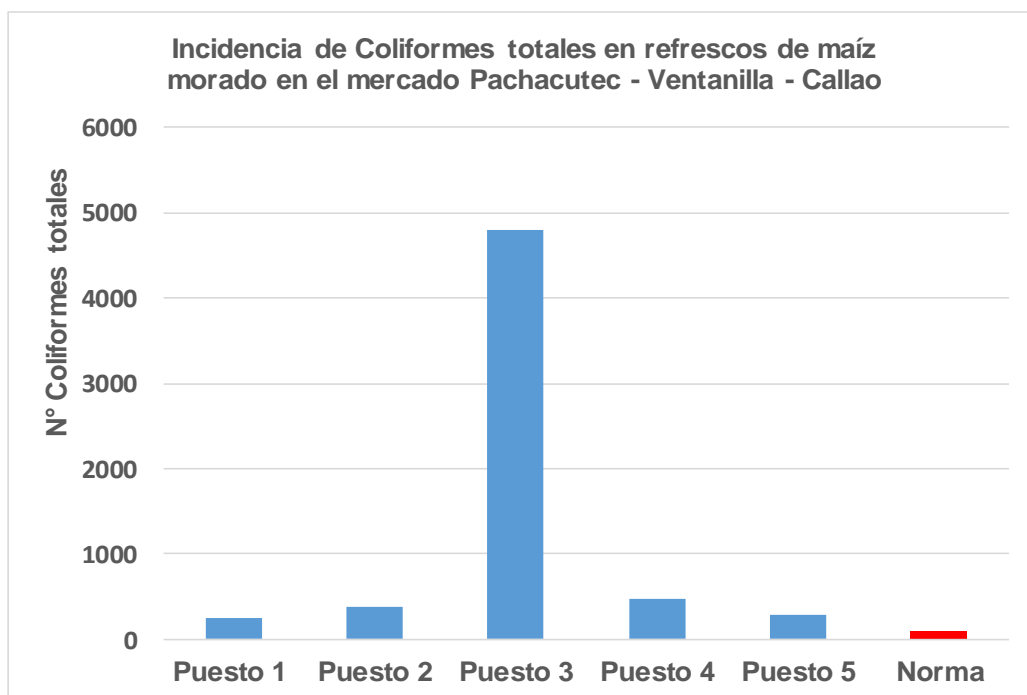
N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	240	100	NA
Puesto 2	380	100	NA
Puesto 3	4800	100	NA
Puesto 4	480	100	NA
Puesto 5	280	100	NA
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N° 32 muestra que todos puestos de ventas analizados se encuentran por encima de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 29: Incidencia de Coliformes totales en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec**

La Figura N° 29 muestra que todos los puestos están fuera de los límites establecidos por la norma para Coliformes totales, en refrescos de maracuyá en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.



**FIGURA N° 30: Incidencia de Coliformes Totales en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec.**

La Figura N° 30 muestra que todos los puestos están fuera de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para Coliformes totales, en refrescos de maíz morado en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 33: Puestos que Cumplen o no Cumple con la Norma, en Coliformes Totales para el Mercado Pachacutec.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	5	0	100
Maíz Morado	5	5	0	100

La Tabla N° 33 muestra que para el refresco de maracuyá del total de los puestos analizados el 100% no cumple con los límites establecidos por la norma, a su vez en refrescos de chicha morada para el total de puestos analizados el 100% no cumple con dichos límites.

#### 4.3.3 Recuento de *E. Coli*

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado de venta ambulatória, para la numeración de *E. coli*, por el método AOAC Método Oficial 991.14, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N°34 y 35.

**TABLA N° 34: Resultados de Recuento de *E. coli* en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	23	10	NA
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC

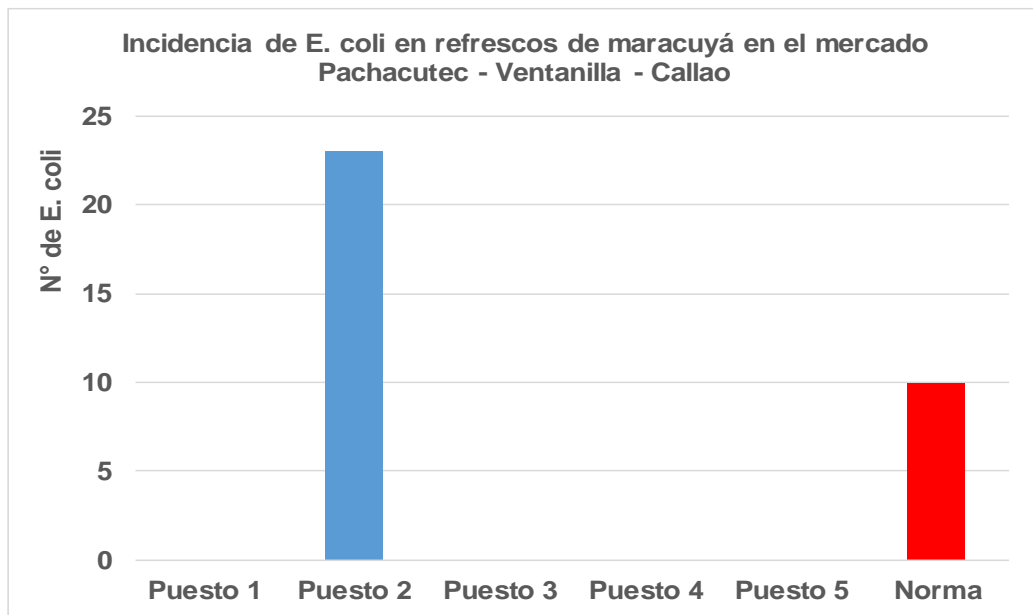
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

La Tabla N° 34 muestra que 4 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentran dentro del límite máximo permitido según NTS 071 591 2008 MINSA.

**TABLA N° 35: Resultados de Recuento de *E. coli* en Refrescos de Maíz Morado.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	0	10	AC
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N° 35 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran dentro de los límites máximos permitidos según NTS 071 591 2008 MINSA.



**FIGURA N° 31: Incidencia de *E. coli* en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec**

La Figura N° 31 muestra que el 20% de los puestos analizados están fuera de los límites permitidos por la norma sanitaria para *E. coli* en refrescos de maracuyá en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.

**TABLA N° 36: Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en *E. coli* para el Mercado Pachacutec.**

Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	1	80	20
Maíz Morado	5	0	100	0

La Tabla N° 36 muestra que para el refresco de maracuyá del total de los puestos analizados el 80% cumplen con los límites establecidos por la norma, para refrescos de maíz morado el total de puestos analizados cumplen con dichos límites.

#### 4.3.4 Recuento de *Staphylococcus aureus*.

Se analizaron 15 muestras de refrescos de maracuyá y 15 muestras de refresco de maíz morado de venta ambulancia, para la numeración de *Staphylococcus aureus*, por el método **AOAC Método Oficial 2003.07**, obteniendo los resultados expresados en las Tablas N° 37 y 38.

**TABLA N° 37: Resultados de Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maracuyá.**

N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	0	10	AC
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	10	10	AC

AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE

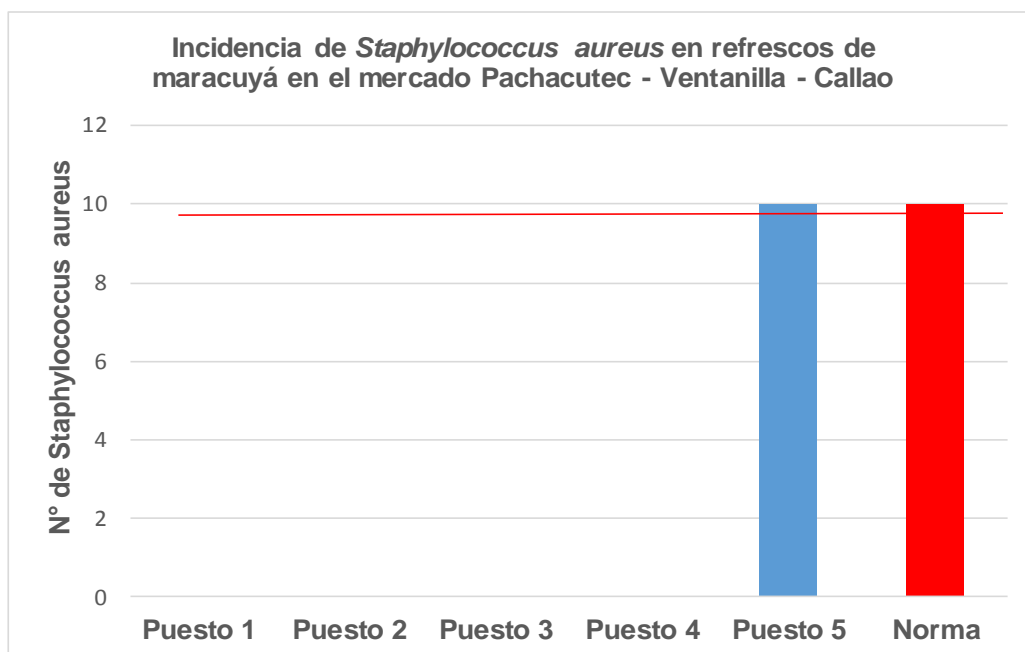
La Tabla N°37 muestra que todos los puestos de ventas analizados se encuentran dentro del límite máximo permitido según NTS 071 591 2008 MINSA.



**TABLA N°38. Resultados de Recuento de *Staphylococcus aureus*, en Refrescos de Maíz Morado.**

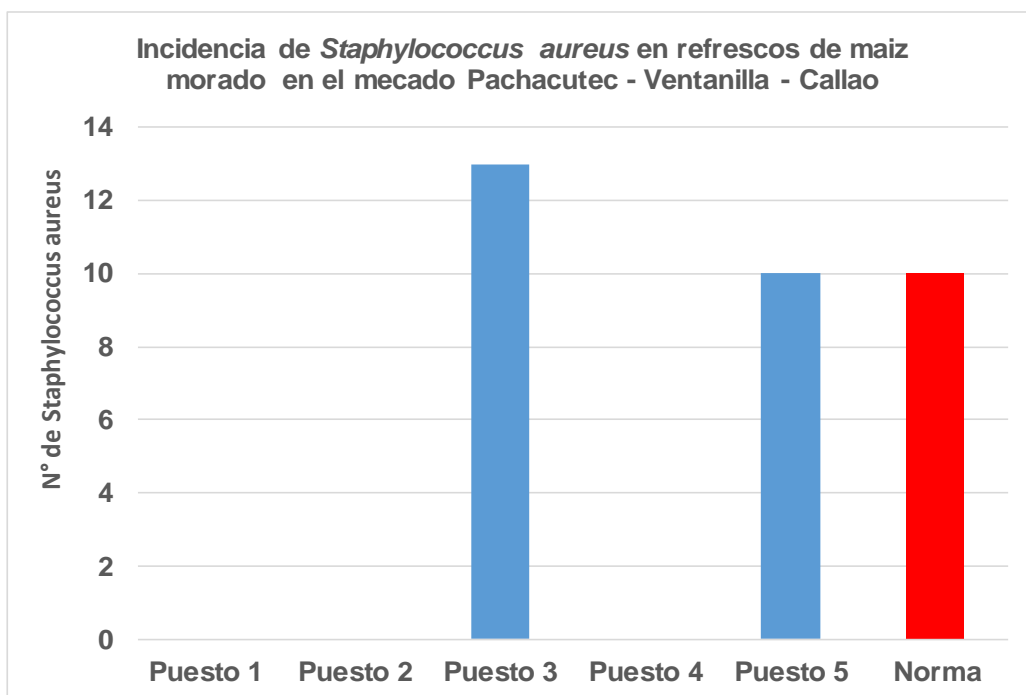
N° de puestos	Prom. Carga microbiana(ufc/ml)	Norma (ufc/ml)	Interpretación global
Puesto 1	0	10	AC
Puesto 2	0	10	AC
Puesto 3	13	10	NA
Puesto 4	0	10	AC
Puesto 5	10	10	AC
AC= ACEPTABLE    NA= NO ACEPTABLE			

La Tabla N°38 muestra que 1 de los 5 puestos de ventas analizados se encuentra por encima del límite máximo permitido según NTS 071 591 2008 MINSAs.



**FIGURA N° 32: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec.**

La Figura N°32 muestra que todos los puestos de venta están dentro de los límites establecidos por la NTS 071 591-2008 MINSA para *Staphylococcus aureus* en refrescos de maracuyá en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.



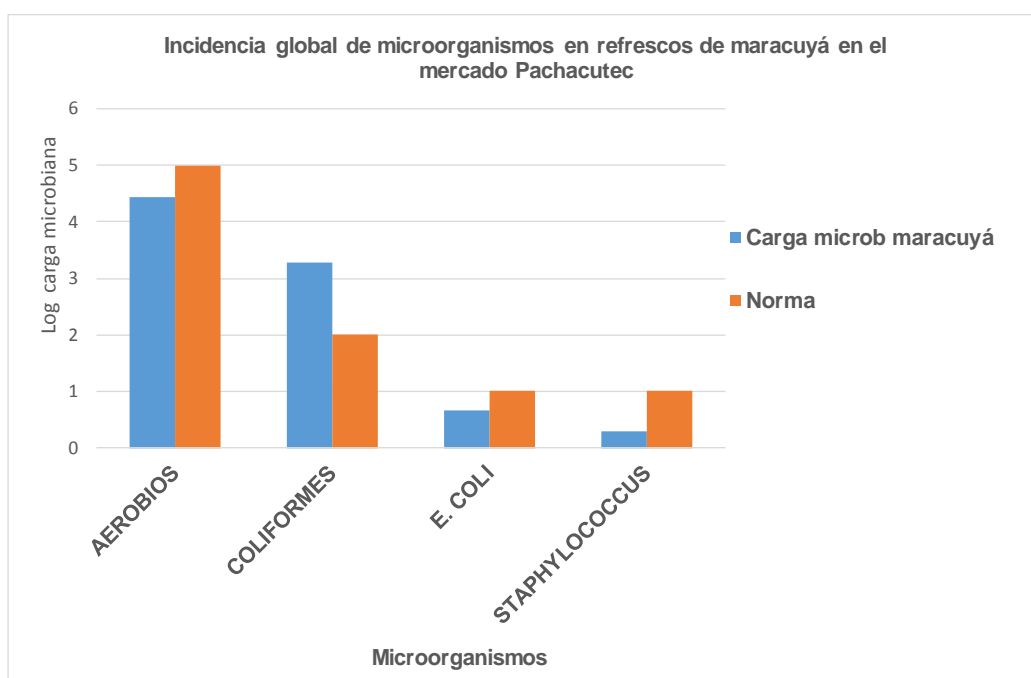
**FIGURA N° 33: Incidencia de *Staphylococcus aureus* en Refrescos de Maiz Morado en el Mercado Pachacutec.**

La Figura N° 33 muestra que el 20% de los puestos están fuera del límite establecido por la NTS 071 591-2008 MINSA para *Staphylococcus aureus* en refrescos de maíz morado en el mercado Pachacutec - Ventanilla – Callao.

**TABLA N°39. Puestos que Cumplen o no Cumplen con la Norma, en *Staphylococcus aureus* para el Mercado Pachacutec.**

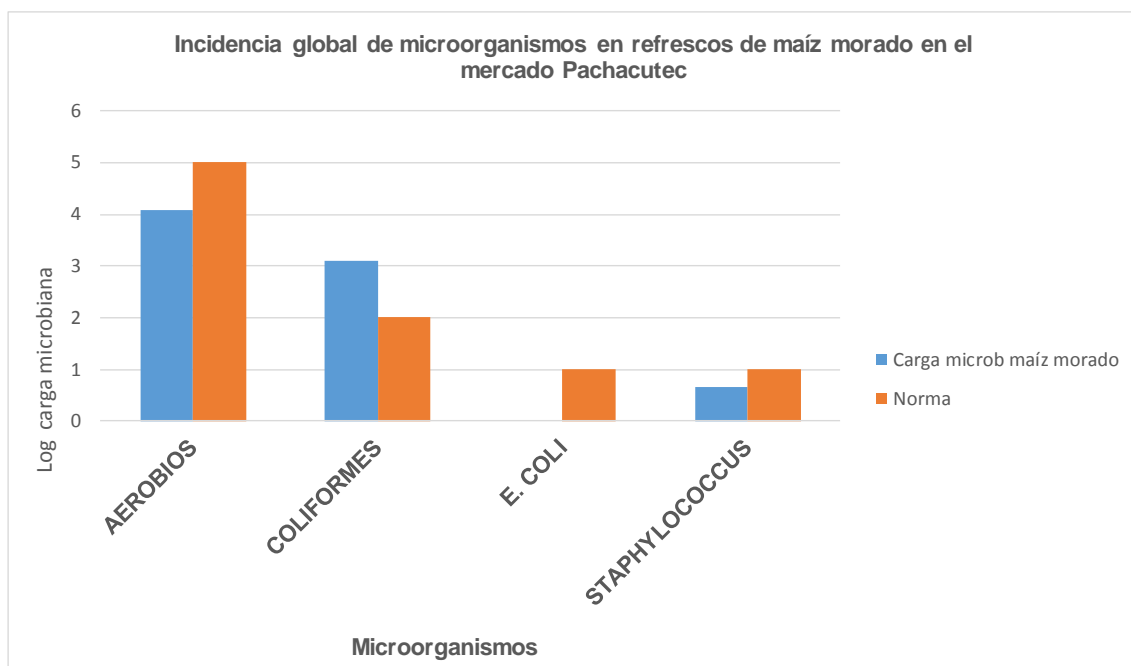
Refrescos	Puestos analizados	Puestos no aceptables	% de puestos aceptables	% de puestos no aceptables
Maracuyá	5	0	100	0
Maíz Morado	5	1	80	20

La Tabla N° 39 muestra que para el refresco de maracuyá todos los puestos analizados cumplen con el límite establecido por la norma, en relación al refresco de maíz morado el 80% de los puestos analizados cumplen con dichos límites.



**FIGURA N° 34: Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refrescos de Maracuyá en el Mercado Pachacutec.**

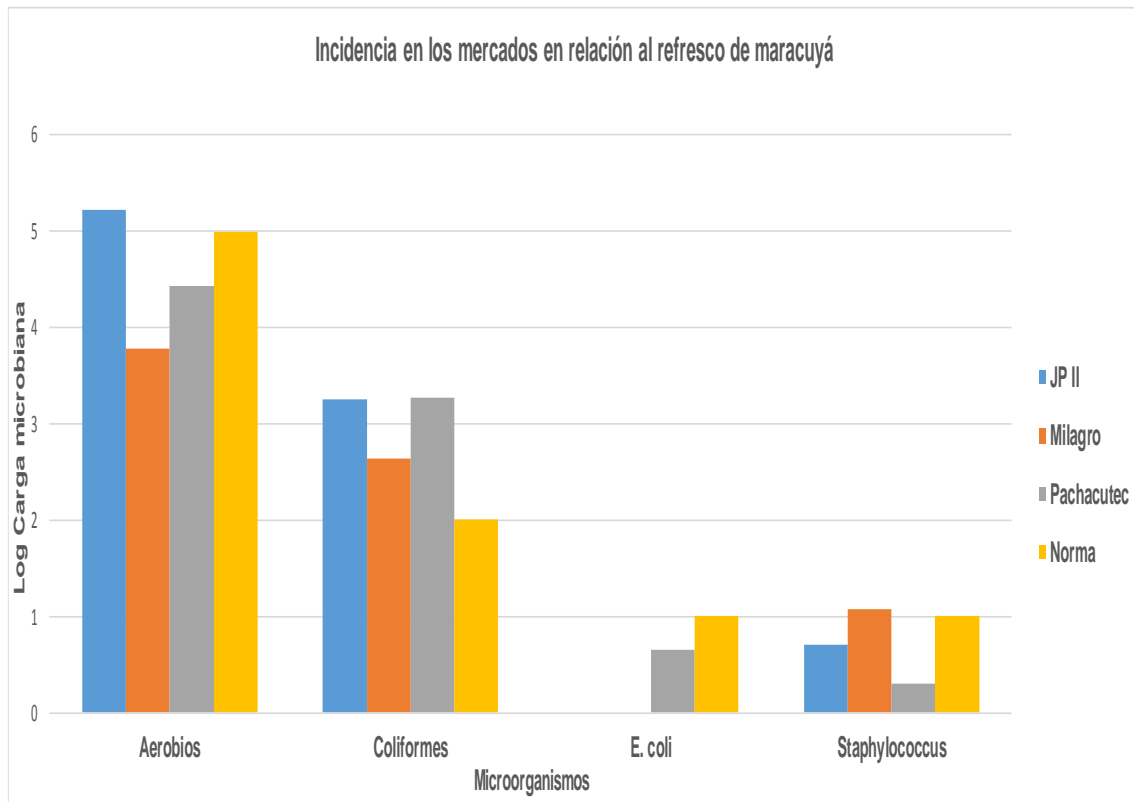
La Figura N° 34 muestra el índice de crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para refrescos de maracuyá en el mercado Pachacutec, en donde la carga de Coliformes totales excede el límite establecido por la norma.



**FIGURA N° 35: Incidencia Global de la Calidad Microbiológica en Refrescos de Maíz Morado en el Mercado Pachacutec.**

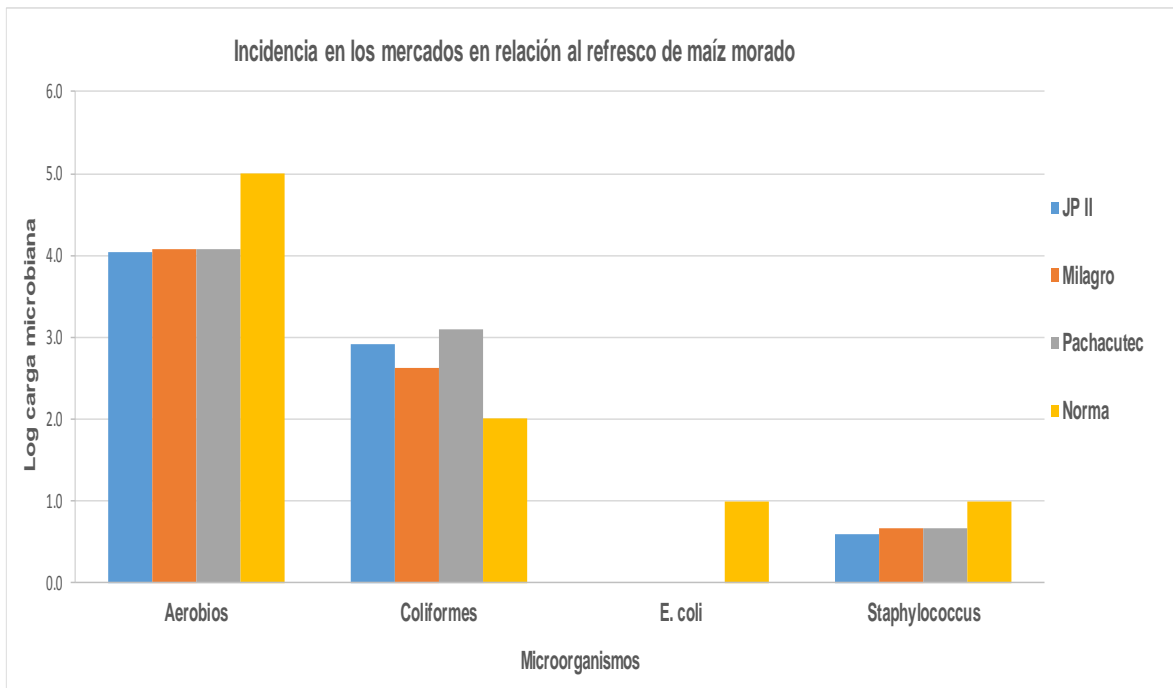
La Figura N° 35 muestra la incidencia del crecimiento microbiano por cada tipo de microorganismos analizados para el refresco de maíz morado en el mercado Pachacutec, en donde al igual que el maracuyá la carga de Coliformes totales excede los límites de la norma.

#### 4.4 Evaluación General de los Mercados



**FIGURA N° 36: Incidencia en los Mercados en Relación al Refresco de Maracuyá.**

La Figura N° 36 muestra a modo general que el mercado Juan Pablo II tiene más índice de contaminación en aerobios mesófilos, asimismo, se observa contaminación con Coliformes totales que sobre pasa el límite permitido en los tres mercados. Por otro lado, el mercado Milagro tiene el índice de contaminación en *Staphylococcus aureus* que sobre pasa el límite permitido.



**FIGURA N° 37: Incidencia en los Mercados en Relación al Refresco de Maíz Morado.**

La Figura N° 37 muestra que los tres mercados exceden los límites de la norma en lo que respecta a Coliformes totales, mientras que para los demás indicadores muestra parámetros por debajo de los límites permitidos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, permiten evidenciar los refrescos que fueron afectados por contaminación microbiana, se realizó el análisis microbiológico a 90 muestras de refrescos, 45 muestras de refresco de maracuyá y 45 muestras de refresco de maíz morado en 15 puestos de venta de tres mercados en estudio, mediante los métodos validados por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) por placas Petrifilm para cuantificar la presencia de *Coliformes totales*, *Escherichia coli*, Aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus*. Los resultados de la evaluación de los puestos respectivos indican que superan los límites máximos establecidos por la norma sanitaria vigente el recuento de Coliformes totales en 100%, 70% y 100% de los refrescos (maracuyá y maíz morado) vendidos en puestos de venta de los mercados Juan Pablo II, Milagro y Pachacutec respectivamente, los resultados obtenidos indican deficiencias durante la preparación del alimento, es decir en las prácticas de higiene, la calidad del agua empleada, la desinfección de los recipientes utilizados en la elaboración<sup>61</sup>. Se evidencia un aumento de los recuentos bacterianos debido a factores anteriormente citados, unas de las maneras de minimizar estos factores contaminantes pueden ser contrarrestados por procesos de higienización.

Un estudio donde se evaluó la calidad microbiológica y sanitaria de los puestos de venta ambulatoria de alimentos (PVAA) del distrito de Comas, con una muestra representativa de 61 PVAA. Los PVAA fueron seleccionados por muestreo aleatorio estratificado. La evaluación microbiológica fue realizada por el método de determinación de organismos *Coliformes* de origen fecal y el método de inmunoensayo enzimático para detección de *Salmonella*, las muestras de agua, superficies inertes y superficies vivas mostraron que el 49.2% de los PVAA presentaron contaminación microbiológica<sup>62</sup>.

En otra investigación reportado por Ávila et al., (2008)<sup>63</sup>. Realizaron estudios de profundidad para Coliformes fecales por el método del número más probable para el análisis se muestra que el 96,7% de las muestras sobrepasa los valores máximos permitidos por la norma



colombiana, resultado próximo reportado en el presente estudio. Gómez-Aldapa *et al.*, (2013)<sup>64</sup> evaluaron la presencia de bacterias coliformes, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* en tortillas de maíz de un total de 200 muestras (500 gr) detectaron contaminación con bacterias coliformes en 70% de las muestras, 40% de las muestras contaminadas con coliformes fecales, para *E. coli* y *Salmonella* 32% y 2% de contaminación de las respectivamente.

En un trabajo realizado por Arroyo *et al.*, (2011)<sup>65</sup> se utilizó la técnica del número más probable (NMP) en fermentación de tubos múltiples (FTM) para investigar Coliformes fecales (CF) y el recuento estándar en placas (RSP) de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias Aerobias mesófilas (BAM), Mohos y Levaduras. Los resultados obtenidos en cuanto a Coliformes totales y bacterias Aerobias mesófilas (BAM), Mohos y Levaduras superan los requerimientos máximos establecidos por las normas de Venezuela.

Por otro lado, se encontró que el 20%, 30% y 10% de los refrescos vendidos en los puestos de venta de los mercados Juan Pablo II, Milagro y Pachacutec respectivamente, presentan *Staphylococcus aureus* lo cual indica que en los lugares de elaboración las medidas de higiene y procesos de manipulación no son los adecuados y el agua utilizada para la elaboración de los refrescos no es la más óptima esto puede explicar los resultados encontrados para este grupo alimenticio. Al comparar los resultados obtenidos de *S. aureus* con los datos repostados en la literatura, se encontró que 152 muestras estaban contaminadas de un total de 241 muestras de bebidas en el distrito de Moquegua<sup>66</sup>.

Para el control de incidencia de *Staphylococcus aureus* encontrados en este estudio, es preciso implementar control en higiene, temperaturas, limpieza de equipos, utensilios y manipulación, con el fin de evitar el desarrollo del patógeno y la producción de su toxina.

Por otro lado, se evidencio la presencia de *E. coli* en un puesto de venta de refresco de maracuyá en el mercado “Pachacutec” probablemente corresponde a deficientes condiciones sanitarias y manipulaciones incorrectas, que sugieren educar al personal manipulador sobre buenas

prácticas de manufactura para así garantizar la inocuidad de los alimentos. *E. coli* han sido utilizados como indicadores de contaminación fecal de los alimentos. El uso de apropiados organismos indicadores dentro de un criterio microbiológico puede ayudar a controlar aspectos microbiológicos de la calidad de los alimentos, pero CT, CF y *E. coli* son reportados a ser de un valor limitado como indicadores de la presencia potencial de microorganismos de pública importancia para la salud<sup>67</sup>.

La principal bacteria de este grupo es la *Escherichia coli* cuya presencia en los alimentos indica una posible contaminación fecal por lo cual el consumidor en caso de ingerir ese alimento podría estar expuesto a bacterias entéricas<sup>68</sup>. La detección de contaminación fecal se debe realizar de forma rápida y precisa para proteger la salud humana y el medio ambiente<sup>69</sup>. Los coliformes pueden proliferar en gran cantidad de alimentos, en agua y productos lácteos. Pueden ser fácilmente destruidos por el calor utilizado en las diversas etapas de elaboración<sup>70</sup>.

En cuanto a los resultados encontrados sobre la calidad microbiológica de los refrescos en los mercados del distrito de Ventanilla, la información de este estudio puede ser muy útil como punto de partida para los programas de control de calidad y de vigilancia epidemiológica en los distritos de la provincia de Lima.

La calidad sanitaria de los alimentos analizados, evidencian que dichos productos representan un riesgo para la salud pública, expresado en el aumento de casos de enfermedades transmitidas por alimentos por esta razón, deben implementarse mejoras en el procesamiento, transporte, conservación y almacenamiento, así como la ejecución de controles de calidad más estrictos en cada uno de ellos.

La contaminación de la materia de alimento, durante la preparación de los alimentos, debido a las bacterias presentes en superficies de la cocina es una de las principales causas de brotes de origen alimentario. Las células adheridas a las superficies de cocinas domésticas y procesamiento de alimentos no se eliminan fácilmente por la normalidad de los procedimientos de limpieza. Por lo tanto, pueden ser una fuente de contaminación para otros alimentos y objetos<sup>71</sup>.

# **CAPÍTULO V**

## **CONCLUSIONES Y**

### **RECOMENDACIONES**

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

El 93,3% y el 86,6% de puestos de ventas analizados de refresco de maracuyá y refrescos de maíz morado respectivamente, presentaron crecimiento microbiano de Coliformes Totales superando los límites de la norma por lo tanto deberían ser considerados no aptas para el consumo humano.

No se obtuvo presencia de *Escherichia coli*, porque el resultado indicó la ausencia (0%) en todos los puestos de venta de refrescos de maíz morado, mientras que en el 6,6% de puestos de venta de refrescos de maracuyá se obtuvo crecimiento inaceptable de *Escherichia coli*, según la normatividad vigente.

De acuerdo a los resultados obtenidos para la numeración de Aerobios mesófilos se encontró que el 13,3% de los puestos de venta de refrescos de maracuyá sobrepasaron los límites máximos permitidos, y el 100% de los puestos de venta de chicha morada no sobrepasaron dichos valores.

Los resultados altos de Aerobios mesófilos se ubicaron en los puestos de venta del mercado Juan pablo II con un 40% del total de puestos que tuvieron recuentos por encima de los máximos aceptables.

El 20% del total de puestos de venta analizados en lo que respecta a refrescos de maracuyá evidenciaron el recuento de *Staphylococcus aureus* por encima de los valores de la norma sanitaria, así mismo, el 80% de puestos de venta de refrescos de maíz morado presenta valores aceptables de *Staphylococcus aureus*.

## 5.2 RECOMENDACIONES

Promover campañas de sensibilización a los habitantes del distrito de Ventanilla en alimentación saludable con énfasis en la importancia de consumir alimentos inocuos y los riesgos que pueden generar no hacerlo, de esta manera estas personas tengan mayor criterio a la hora de escoger los diversos productos para su alimentación.

La Municipalidad de Ventanilla y DIGESA deben implementar programas específicos de capacitación masiva enfocado a los vendedores de refrescos, sobre la manipulación de alimentos, buenas prácticas de higiene y sobre los principales puntos críticos que puedan desencadenar una contaminación del refresco, todo esto con la finalidad que contribuir a mejorar la calidad de los productos que se expenden en esta zona.

Las autoridades encargadas deben realizar inspecciones a los puestos ambulatórios y verificar las condiciones de higiene que operan con el fin de garantizar la calidad microbiológica de los refrescos que se comercializan.

Incentivar a los estudiantes a realizar más trabajos de investigaciones referentes al control de calidad de los alimentos.

Continuar realizando investigaciones en otros productos alimenticios de venta directa al público con la finalidad de brindar herramientas a las autoridades de salud pública que permitan mejorar las condiciones de salud de la comunidad mediante la identificación de zonas de riesgo, alimentos de mayor susceptibilidad, sus posibles fuentes y soluciones.

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INEI (2014). Producción y empleo informal en el Perú 2007-2012. Recuperado de:  
[https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales)
2. Strawn, L.K., Schneider, K.R., Danyluk, M.D. Microbial safety of tropical fruits. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2011, 51, 132 -145.
3. Bueno, S. M.; Barbosa, S. H. R.; Garcia–Cruz, C. H. Avaliação da qualidade dos sucos de laranja engarrafados in natura, comercializados nas vias públicas da cidade de São José do Rio Preto, SP. *Revista Higiene Alimentar*, 2005, 19 (128), 113-117.
4. Munares, Y., Shimajuko, J. Calidad Sanitaria de Alimentos que se expenden en la vía pública del Distrito de Trujillo. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica (2006).
5. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación, (IT). 2009. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico (en línea). Roma. Consultado 11 de setiembre de 2016. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/011/i0480s/i0480s00.htm>
6. Ruschel, CK; Carvalho, HH; Souza, RB; Tondo, EC. Qualidade microbiológica e físico-química de suco de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre/RS. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 2001, 21(1): 94-97.
7. Calderón, G. Estudio de caso – Enfermedades transmitidas por alimentos en el Salvador. Recuperado el 1 de setiembre de 2016, de Estudio de caso – Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico, 2009). <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>.
8. Merino, L. Importancia de los vegetales que se consumen en la transmisión de enfermedades de origen alimentario. Disponible en:  
<http://www.siicsalud.com/des/des043/05504016.html>. (Acceso 15/09/2016)
9. Soares, J. C., Marques, M. R., Tavaría, F. K., Pereira, J. O., Malcata, F. X., & Pintado, M. M. Biodiversity and characterization of *Staphylococcus*

- species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 146(2), 123–129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.008>.
10. Lamers, R. P., Muthukrishnan, G., Castoe, T. a., Tafur, S., Cole, A. M., & Parkinson, C. L. (2012). Phylogenetic relationships among *Staphylococcus* species and refinement of cluster groups based on multilocus data. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1), 171. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2148-12-171>.
  11. Rosenstein, R., & Götz, F. (2013). What distinguishes highly pathogenic *Staphylococci* from medium- and non-pathogenic? In U. Dobrindt, J. H. Hacker, & C. Svanborg (Eds.), *Between pathogenicity and commensalism*. Vol. 358. (pp. 33–89). Berlin: Springer Berlin Heidelberg. [http://dx.doi.org/10.1007/82\\_2012\\_286](http://dx.doi.org/10.1007/82_2012_286).
  12. Harris, L. G.; Foster, S. J.; Richards, R. G. An introduction to *Staphylococcus aureus* and techniques for identifications *S. aureus* adhesions in relation to adhesión to biomaterials: Review *Eur Cells Mater*, 4(2), 39-60, 2002).
  13. Low, DE. Clinical microbiology: issues in identification and susceptibility testing. En Crosby KB; Archer, GL, eds. *The staphylococci in human disease*. Nueva York: Churchill Livingstone, 233-252, 1997).
  14. Tibavizco, D; Rodríguez, JY; Silva, E; Cuervo, S; Cortés, JA. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomedica*, 27(2), 294-307, 2007).
  15. United States Environmental Protection Agency. 5.11 Fecal bacteria. Available from: <http://water.epa.gov/type/rsl/monitoring/vms511.cfm>).
  16. Zamudio M, Arias I, Luna M, Valenzuela A, Segovia E, Villanueva E. Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en el Perú. *Boletín Instituto Nacional de Salud*. 2008. (5) 18-19.
  17. Kopper G, Calderón G, Schneider S, Domínguez W, Gutiérrez G. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma 2009. 15-16.



18. López C, Feltri A, Leotta G, González G, Manfredi E, Gottardi G, *et al.* Brote de Enfermedad Alimentaria en la localidad de El Huecú, provincia de Neuquén. Rev. argent. microbiol. v.40 n.4 Ciudad Autónoma de Buenos Aires oct./dic. 2008.
19. Mauricio T. Manual de Manipulación de los Alimentos. Universidad Peruana Unión. 2012.
20. Henríquez C, Guillén C, Benavente L, Gotuzzo E, Echevarria J, Seas Ramos C. Incidencia y factores de riesgo para adquirir diarrea agua en una comunidad rural de la selva peruana. Rev Med Hered; 2002. 3(2).
21. Caballero, Á. E. Temas de Higiene de los Alimentos. La Habana, 2008.
22. Dirección General de Salud Animal. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura en la Elaboración de Productos Alimenticios para Consumo Animal. México, D.F. 2013.
23. Organización Mundial de la Salud. E. Coli enterohemorrágica (EHEC). Nota descriptiva n°125 diciembre de 2011. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es>
24. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y de Manufactura (BPM). Guía técnica para la industria de frutas y vegetales. 2010. 4-5.
25. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de los alimentos. Nota descriptiva N°399. 2015. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
26. Martí LE, Sequeira G, Rosmini M, Repetto HA, Frizzo L, Signorini M. La Seguridad Alimentaria como Política Pública. Organización Panamericana de la Salud. Febrero 2012. Disponible en:  
<http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/otras%20pub/SeguridadAlimentaria.pdf>
27. Norma Técnica de Especificaciones de Néctares, Jugos y Bebidas no Carbonatadas N°03 043-03. Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. Febrero 2003.
28. Vitoria I. Zumos de frutas y bebidas de refresco en la infancia. Sección de Nutrición Infantil. Hospital de Xàtiva. 2007. Disponible en:  
<http://www.avpap.org/documentos/alava2007/zumos.pdf>

29. Flores B. Propuesta de un Modelo de Gestión de la Calidad para Elaboración de Alimentos Artesanales Tipo Light. Trabajo Especial de Grado. Universidad Católica Andrés Bello, Postgrado en Sistemas de Calidad, Caracas, 2011.
30. Lancibidad G. Producción Artesanal de Alimentos: Análisis y Perspectivas. 2010. Disponible en:  
<http://argus.iica.ac.cr/Esp/regiones/sur/uruguay/Documentos%20de%20Ia%20Oficina/CoyunturaAgropecuaria/coy-diciembre2006.pdf>
31. Chichizola B, López E, Navarro JM, Salinas F. Acopio, procesamiento y exportación de maíz morado. Trabajo aplicativo final. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Escuela de Postgrado. Arequipa 2007.
32. Organismo Público Sierra Exportadora. Antocianina de maíz morado. 2011. 4-5.
33. Gorriti A, Quispe F, Arroyo J, Córdova A, Jurado B, Santiago I, *et al.* Extracción de Antocianinas de las Corontas de *Zea mays* L. “Maíz Morado”. Ciencia e Investigación. 2009;12(2):64-7
34. Ronceros G, Ramos W, Arroyo J, Galarza C, Gutiérrez R, Ortega-Loayza A, *et al.* Estudio comparativo del maíz morado (*Zea mays* L.) y simvastatina en la reducción de lípidos séricos de pacientes diabéticos normotensos con dislipidemia. An Fac med. 2012; 73(2):113-7.
35. García MA. Cultivo de Maracuyá Amarillo. Guía técnica. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador. 2002.9.
36. Amaya JE. Cultivo de Maracuyá. Gerencia Regional Agraria La Libertad, Trujillo-Perú. 2009, 30p.
37. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. Cultivo del maracuyá. Guía Tecnológica n<sup>o</sup> 8. Managua, Nicaragua. 1996.
38. Codex Alimentarius. Principios y Directrices para el Establecimiento y la Aplicación de los Criterios Microbiológicos para los Alimentos: CAC/GL 21 – 1997.
39. Instituto de Salud Pública. Guía de muestreo e interpretación de resultados analíticos de productos alimenticios. Edición: 1. Madrid, 2011, 6-8

40. CONAL. Instituto nacional de alimentos. Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos. Argentina 2003.
41. FAO/OMS. Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos.4. Disponible en:  
[https://www.assa.gov.ar/assa/userfiles/file/fortalecimiento\\_de\\_los\\_sistemas\\_nacionales.pdf](https://www.assa.gov.ar/assa/userfiles/file/fortalecimiento_de_los_sistemas_nacionales.pdf)
42. Valencia, F. E., Millán, N. J., Jaramillo, Y. Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. Revista Lasallista de Investigación. 2008; 5(1): 28-33.
43. Álvarez, B. E. Evaluación de procesos tecnológicos para contribuir a la competitividad de los alimentos autóctono producidos en el bajo Sinú. Tesis. Universidad de Córdoba, Córdoba, España. 2014.
44. Bautista, A. L., Tovar, J. L., Mancilla, O. R., Magdaleno, H., Ramírez, C., Arteaga, R. Calidad microbiológica del agua obtenida por condensación de la atmósfera en Tlaxcala, Hidalgo y Ciudad de México. Rev. Int. Contam. Ambie., 2013. 29 (2) 167-175.
45. Piñero, J, Rivas, N. Aislamiento y caracterización de una cepa de actinomiceto celulolítico, termófilo moderado y acidófilo. Revista Científica, FCV-LUZ. 2004; XIV(5), pp. 412-418.
46. Iriarte, M. M. Interpretación de resultados de análisis microbiológicos en alimentos: Planes de atributos. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. 2006; 37(2).
47. Pérez-Silva, M. C, Belmonte, S., Martínez, J. Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. Rev. Esp. Salud Pública, 1998: 72:67-75.
48. Pullés, M. R. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en cuba. Revista CENIC. Ciencias Biológicas; 2014. 45(1), 25-36.
49. ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Volumen 1. Su significado y métodos de enumeración. 2ª Edición. Editorial Acribia; 2000.

50. RENALOA. Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos Indicadores. Noviembre 2014. volumen 3.
51. Salgado, V. R. Análisis de mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y *Salmonella* spp. en cuatro ingredientes utilizados en la planta de lácteos en Zamorano. Tesis, Zamorano, Honduras 2002.
52. Alejo, J., Cortes, M., Correa, D., Klotz, B., Herrera, F., Martínez, J. Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* Enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. Instituto Nacional de Salud. Bogotá 2011.
53. Camacho, A., Giles, A., Ortegón, M., Palao, B., Velázquez, O. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª Ed. Facultad de Química, UNAM. México. 2002.
54. Vásquez, S., O'Neill, S., Legnani, M. Importancia de los coliformes en los alimentos. 2013.
55. ANMAT. Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Instituto Nacional de Alimentos. 2003.
56. NTP-ISO 2859-1 2013. Procedimiento de muestreo para inspección por atributos- Parte 1: Planes de muestreo clasificados por límite de calidad aceptable (LCA) para inspección lote a lote.
57. NTS N° 071 591-2008 - MINSA/DIGESA-V.01. NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO.
58. Guía de interpretación. 3M Placas Petrifilm™. Para el Recuento de Aerobios.
59. Guía de interpretación. 3M Placas Petrifilm™. Para el recuento de *E. coli*/Coliformes.
60. Guía de interpretación. 3M Petrifilm™. Placas Staph Express para Recuento de *Staphylococcus aureus*.
61. Vidal, D. J., Consuegra, A., Gomes, C. P., Assessment of the microbiological quality of water packed. In bags manufactured in Sincelejo – Colombia. Rev. MZV. Córdoba, 2009, 14(2), 1736-1744.

62. Quispe, J. J., Sánchez, V. Evaluación microbiológica y sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima – Perú. *Rev Med Exp* 2001, 18(1-2).
63. Ávila, G. T., Fonseca, M. M. Calidad Microbiológica de Jugos Preparados en Hogares de Bienestar Familiar de la Zona Norte de Cundinamarca. Tesis, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2008.
64. Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Andrés M. Cruz Gálvez, A. M., Román-Gutiérrez, A. D., Castro-Rosas, J. Presence of coliform bacteria, fecal coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* on corn tortillas in central Mexico. *Food Control* 32 (2013) 31 - 34
65. Arroyo, A. A., Ninón, M., Bianco, H. W. Determinación del perfil microbiológico de la chicha de venta ambulante en Barquisimeto. *Salud Arte y Cuidado*. **2001**, **4(1)**, **13-24**.
66. Dirección Regional de Salud (DIRESA) de Moquegua (2008),
67. Nguyen-the, C., Carlin, F. (2000). Fresh and processed vegetables. In B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, & G. W. Gould (Eds.), *The microbial safety and quality of food* (pp. 620e684). Gaithersburg, MD: Aspen publishers.
68. Haller, L., Pote, J., Loizeau, J-L., Wildi, W. Distribution and survival of faecal indicator bacteria in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. *Ecol. Indic.* 2009, 9: 540-547.
69. Paruch, A., Mæhlum, T. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. *Ecological Indicators*. 2012, 23: 140-142.
70. Doyle, M., Beuchat, L. *Food Microbiology*. Editorial ASM Press, 3era edition, 2007.
71. Teixeira, P., Silva, S., Araújo, F., Azeredo, J., & Oliveira, R. (2007). Bacterial adhesion to food contacting surfaces. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 13 - 20

# **ANEXOS**

**Anexo 1: Ficha Técnica de Muestreo**

FICHA TECNICA DE MUESTREO					
Fecha				Hora	
Persona que toma la muestra					
Mercado				Puesto	
Producto					
Volumen de muerstra					
Observaciones					

## Anexo 2: Informe de Ensayo



Fecha: 09/03/2016

### INFORME DE ENSAYO

<b>Solicitante:</b>	<b>MELISSA DEL PILAR BARDALES TAMANI</b> <b>ANTONY BILL ROJAS MOLANO</b>
<b>Dirección:</b>	<i>Jirón independencia #381 San Miguel</i>
<b>Nombre del Producto:</b>	<b>REFRESCO DE MAIZ MORADO</b> <b>REFRESCO DE MARACUYÁ</b>
<b>Características de la muestra:</b>	<p><i>La toma de muestra fue realizada:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Fecha y toma de Muestra: 13/02/2016, para el primer tratamiento (muestreo y análisis de las muestras) en los tres mercados: 20/02/2016, para el segundo tratamiento y el 05/03/2016 para el tercer tratamiento.</i></li> </ul> <p><i>Muestra: Refresco de maíz morado y maracuyá</i> <i>Mercado Milagro</i> <i>Mercado Pachacutec</i> <i>Mercado Juan Pablo II</i></p>
<b>Cantidad recibida:</b>	200 ml c/u.
<b>Presentación:</b>	<i>En bolsas de polietileno transparente cerrado</i>
<b>Fecha de recepción:</b>	13 de Febrero de 2016
<b>Fecha de ejecución de ensayos:</b>	<i>Del 13 de Febrero de 2016 al 05 de Marzo de 2016</i>

---

**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**

**MERCADO "PACHACUTED" (REFRESCO DE MARACUYÁ)**

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N.Aerobios mesófilos</i>	<i>N.Coliformes totales</i>	<i>N.E.Coli</i>	<i>N.Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	26X10 <sup>3</sup>	29x10	<10	<10	UFC/g
	34X10 <sup>3</sup>	37x10	<10	<10	UFC/g
	33X10 <sup>3</sup>	29x10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	13x10 <sup>3</sup>	24X10 <sup>3</sup>	10	<10	UFC/g
	17x10 <sup>3</sup>	19X10 <sup>3</sup>	30	<10	UFC/g
	16x10 <sup>3</sup>	25X10 <sup>3</sup>	30	<10	UFC/g
PUESTO 3	24x10 <sup>2</sup>	41X10	<10	<10	UFC/g
	31x10 <sup>2</sup>	50X10	<10	<10	UFC/g
	32x10 <sup>2</sup>	48X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 4	12X10 <sup>3</sup>	24X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
	20X10 <sup>3</sup>	31X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
	14X10 <sup>3</sup>	27X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
PUESTO 5	76X10 <sup>3</sup>	32X10 <sup>3</sup>	<10	10	UFC/g
	68X10 <sup>3</sup>	41X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
	75X10 <sup>3</sup>	39X10 <sup>3</sup>	<10	20	UFC/g

**Métodos de ensayo utilizados:**

01.- AOAC 990.12. 20th Edition 17.2.07. 2016 Aerobic Plate Count in Foods.

02.- AOAC 991.14 20th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.

03.- AOAC 991.14 20th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.

04.- AOAC 2003.07.2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.

**CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.**  
 Av. La Paz 1596, San Miguel, Lima - PERÚ  
 Teléfono: (511) 578-4986 - 578-4970 - 578-5082 Telefax: 578-4542 E-mail: certilab@certilabperu.com





**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**

**MERCADO "PACHACUTED" (REFRESCO DE MAIZ MORADO)**

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N.Aerobios mesofilos</i>	<i>N.Coliformes totales</i>	<i>N.E.Coli</i>	<i>N.Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	41X10 <sup>2</sup>	22X10	<10	<10	UFC/g
	37X10 <sup>2</sup>	26X10	<10	<10	UFC/g
	38X10 <sup>2</sup>	23X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	80X10	36X10	<10	<10	UFC/g
	68X10	41X10	<10	<10	UFC/g
	74X10	38X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 3	18x10 <sup>3</sup>	52x10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	23x10 <sup>3</sup>	45x10 <sup>3</sup>	<10	20	UFC/g
	18x10 <sup>3</sup>	47x10 <sup>3</sup>	<10	20	UFC/g
PUESTO 4	29x10 <sup>2</sup>	53x10	<10	<10	UFC/g
	21x10 <sup>2</sup>	45x10	<10	<10	UFC/g
	23x10 <sup>2</sup>	45x10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 5	25x10 <sup>3</sup>	30x10	<10	<10	UFC/g
	33x10 <sup>3</sup>	26x10	<10	20	UFC/g
	37x10 <sup>3</sup>	28x10	<10	10	UFC/g



**Métodos de ensayo utilizados:**

- 01 - AOAC 990.12. 20Th Edition. 17.2.07. 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
- 02 - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 03 - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 04 - AOAC 2003.07:2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.

**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS****MERCADO "MILAGRO" (REFRESCO DE MARACUYÁ)**

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N.Aerobios mesófilos</i>	<i>N.Coliformes totales</i>	<i>N.E.Coli</i>	<i>N.Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	39X10 <sup>2</sup>	32X10	<10	<10	UFC/g
	45X10 <sup>2</sup>	29X10	<10	<10	UFC/g
	37X10 <sup>2</sup>	35X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	43X10 <sup>2</sup>	53X10	10	<10	UFC/g
	54X10 <sup>2</sup>	61X10	30	<10	UFC/g
	57X10 <sup>2</sup>	54X10	30	<10	UFC/g
PUESTO 3	95X10 <sup>2</sup>	90X10	<10	10	UFC/g
	83X10 <sup>2</sup>	79X10	<10	30	UFC/g
	85X10 <sup>2</sup>	82X10	<10	30	UFC/g
PUESTO 4	61X10 <sup>2</sup>	32X10	<10	50	UFC/g
	57X10 <sup>2</sup>	41X10	<10	30	UFC/g
	54X10 <sup>2</sup>	44X10	<10	20	UFC/g
PUESTO 5	68X10 <sup>2</sup>	80	<10	10	UFC/g
	74X10 <sup>2</sup>	60	<10	<10	UFC/g
	70X10 <sup>2</sup>	90	<10	<10	UFC/g

**Métodos de ensayo utilizados:**

- 01 - AOAC 990.12. 20Th Edition. 17.2.07. 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
- 02 - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 03 - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 04 - AOAC 2003.07:2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.



**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS****MERCADO "MILAGRO" (REFRESCO DE MAIZ MORADO)**

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N.Aerobios mesófilos</i>	<i>N.Coliformes totales</i>	<i>N.E.Coli</i>	<i>N.Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	79X10 <sup>2</sup>	11X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	68X10 <sup>2</sup>	19X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	76X10 <sup>2</sup>	13X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	36X10 <sup>2</sup>	13X10	<10	<10	UFC/g
	23X10 <sup>2</sup>	20X10	<10	<10	UFC/g
	32X10 <sup>2</sup>	15X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 3	24X10 <sup>3</sup>	90	<10	<10	UFC/g
	31X10 <sup>3</sup>	80	<10	10	UFC/g
	34X10 <sup>3</sup>	60	<10	20	UFC/g
PUESTO 4	15X10 <sup>3</sup>	46X10	<10	10	UFC/g
	21X10 <sup>3</sup>	52X10	<10	20	UFC/g
	16X10 <sup>3</sup>	44X10	<10	10	UFC/g
PUESTO 5	25X10 <sup>2</sup>	20	<10	<10	UFC/g
	31X10 <sup>2</sup>	<10	<10	20	UFC/g
	33X10 <sup>2</sup>	<10	<10	10	UFC/g

**Métodos de ensayo utilizados:**

01. - AOAC 990.12. 20Th Edition 17.2.07. 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
02. - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
03. - AOAC 991.14 20Th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
04. - AOAC 2003.07.2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.



**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS****MERCADO "JUAN PABLO II" (REFRESCO DE MARACUYÁ)**

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N. Aerobios mesófilos</i>	<i>N. Coliformes totales</i>	<i>N. E. Coli</i>	<i>N. Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	38X10 <sup>2</sup>	12X10	<10	10	UFC/g
	31X10 <sup>2</sup>	20X10	<10	<10	UFC/g
	42X10 <sup>2</sup>	18X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	26X10 <sup>3</sup>	50X10 <sup>2</sup>	<10	40	UFC/g
	34X10 <sup>3</sup>	43X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	32X10 <sup>3</sup>	48X10 <sup>2</sup>	<10	30	UFC/g
PUESTO 3	36X10 <sup>4</sup>	17X10	<10	<10	UFC/g
	50X10 <sup>4</sup>	24X10	<10	<10	UFC/g
	48X10 <sup>4</sup>	15X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 4	27X10 <sup>4</sup>	15X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	33X10 <sup>4</sup>	21X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	35X10 <sup>4</sup>	28X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
PUESTO 5	11X10 <sup>3</sup>	10X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	26X10 <sup>3</sup>	21X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g
	12X10 <sup>3</sup>	23X10 <sup>2</sup>	<10	<10	UFC/g

**Métodos de ensayo utilizados:**

- 01.- AOAC 990.12, 20Th Edition 17.2.07, 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
- 02.- AOAC 991.14 20Th Edition, 17.3.04, 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 03.- AOAC 991.14 20Th Edition, 17.3.04, 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 04.- AOAC 2003.07.2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.



ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

MERCADO "JUAN PABLO II" (REFRESCO DE MAIZ MORADO)

Ensayo	Resultado				Unidades
	<i>N. Aerobios mesófilos</i>	<i>N. Coliformes totales</i>	<i>N.E.Coli</i>	<i>N. Staphylococcus aureus</i>	
PUESTO 1	83X10 <sup>2</sup>	22X10	<10	<10	UFC/g
	90X10 <sup>2</sup>	17X10	<10	<10	UFC/g
	80X10 <sup>2</sup>	24X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 2	79X10 <sup>2</sup>	18X10	<10	30	UFC/g
	62X10 <sup>2</sup>	24X10	<10	<10	UFC/g
	64X10 <sup>2</sup>	17X10	<10	20	UFC/g
PUESTO 3	84X10 <sup>2</sup>	53X10	<10	<10	UFC/g
	73X10 <sup>2</sup>	41X10	<10	<10	UFC/g
	70X10 <sup>2</sup>	49X10	<10	10	UFC/g
PUESTO 4	71X10 <sup>2</sup>	54X10	<10	<10	UFC/g
	84X10 <sup>2</sup>	62X10	<10	<10	UFC/g
	74X10 <sup>2</sup>	50X10	<10	<10	UFC/g
PUESTO 5	30X10 <sup>3</sup>	30X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
	19X10 <sup>3</sup>	22X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g
	22X10 <sup>3</sup>	29X10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g



Métodos de ensayo utilizados:

- 01 - AOAC 990.12. 20th Edition 17.2.07. 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
- 02 - AOAC 991.14 20th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 03 - AOAC 991.14 20th Edition. 17.3.04. 2016 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods.
- 04 - AOAC 2003.07.2012 Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Types of Processed and Prepared Foods.

- Los resultados del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, ni certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA.
- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de CERTILAB.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.

San Miguel, 09 de Marzo de 2016



*[Signature]*  
Dra. Rosa Nelly Rosas Gómez

CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.

Av. La Paz 1598, San Miguel, Lima - PERÚ

Teléfono: (511) 578-4986 - 578-4970 - 578-5062. Telefax: 578-4542 E-mail: certilab@certilabperu.com

### Anexo 3: Puestos de Muestreo





#### Anexo 4: Muestras en el Laboratorio





## Anexo 5: Recuento de Placas Incubadas

