



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL " SAN LUIS GONZAGA "  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
EVALUACION DE ORIGINALIDAD



**INFORME DE REVISIÓN**

Se ha realizado el análisis con el software antiplagio de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", por parte del Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, quien deja:

**CONSTANCIA**

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título es:

**Coliformes totales, coliformes fecales y Escherichia coli en refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales Ica-Perú, junio a agosto 2022**

Presentado por:

**CLAUDIA DARLENE TATAJE JURADO**

Del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** obteniéndose como resultado una coincidencia de **1%** otorgándosele el calificativo de:

**APROBADO**

Se adjunta al presenta el reporte de evaluación del software antiplagio.

Observaciones:

SE APRUEBA EL PRESENTE TRABAJO POR TENER UNA SIMILITUD MENOR O IGUAL AL LIMITE ESTABLECIDO EN EL REGLAMENTO CORRESPONDIENTE (MENOR A 20%).

Ica, 25 de Setiembre de 2023

FREDDY YONELL CALDERON RAMOS  
DIRECTOR (E) DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA**  
**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



Coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en refrescos  
expendidos en el interior del mercado Arenales Ica-Perú, junio a  
agosto 2022

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Salud pública y conservación del medio ambiente

**INFORME FINAL DE TESIS**

AUTOR

BACH. TATAJE JURADO CLAUDIA DARLENE

**ICA – PERÚ**

2024

## **DEDICATORIA**

Esta tesis la dedico a Dios por permitirme gozar de salud durante toda la investigación, por ser mi fortaleza para no derrumbarme frente a las adversidades.

A mis padres Diana y Marcos por su apoyo incondicional; a mi madre por su exigencia para ser una persona de bien y poder terminar con este proyecto, además de ayudarme con los recursos económicos para esta investigación; a mi padre por sus buenos consejos, su motivación, sobre todo por ser mi apoyo emocional en todo este trayecto.

A mis hermanos Carolina y Orlando por ser esa fuente de inspiración para poder seguir dejando huella en el camino para ellos y por siempre alegrarse conmigo cuando les contaba sobre los resultados de la investigación.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional San Luis Gonzaga por albergarme en sus cálidas aulas, por tener una plana docente de calidad para poder formar a buenos profesionales

A la facultad de Ciencias Biológicas por poder darme los conocimientos necesarios en estos 5 años de estudios para poder ser una futura bióloga competente en este mundo laboral.

Al Blgo. Luis A. Cartagena Siguas por aceptar ser mi asesor y brindarme su apoyo, conocimientos y su amistad en todo este periodo de investigación.

Al Centro de Investigación, Capacitación y Asesoría (CICA), por permitirme usar las instalaciones y equipos del laboratorio CICA, además de promover a los estudiantes a realizar investigación y por ayudarme a enfocar mis objetivos de estudio y clarificar el método para el procesamiento de las muestras.

A mi familia por enseñarme a ser persistente con mis objetivos y nunca desvanecer en el intento a pesar de tener tropiezos en el camino.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.....	12
2.1. Toma de muestras.....	12
2.2. Preparación de la muestra e inoculación (Anexo, Fig. 2).....	12
2.2.1. Determinación de coliformes totales .....	12
I. Fase presuntiva:.....	12
II. Fase confirmativa:.....	12
2.2.2. Determinación de coliformes fecales .....	13
I. Fase confirmativa para coliformes fecales: .....	13
2.2.3. Determinación de <i>E. coli</i> .....	13
I. Prueba confirmativa de <i>E. coli</i> .....	13
II. RESULTADOS.....	14
III. DISCUSIÓN.....	19
IV. CONCLUSIONES.....	21
V. RECOMENDACIONES .....	22
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
VII. ANEXOS.....	27

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> en refrescos que se expenden en el mercado Arenales-Ica.....	14
Tabla 2. Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i> por puesto de expendio de chicha morada en el mercado Arenales-Ica.....	15
Tabla 3. Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i> por puesto de expendio de cebada en el mercado Arenales-Ica.....	16
Tabla 4. Cumplimiento de calidad sanitaria de refresco de chicha morada por puesto de expendio en el mercado Arenales-Ica .....	36
Tabla 5. Cumplimiento de calidad sanitaria de refresco de cebada por puesto de expendio en el mercado Arenales-Ica.....	37
Tabla 6. Ficha para muestreo de campo .....	39
Tabla 7. Ficha para llenado de resultados.....	40
Tabla 8. Numeración de coliformes por el método del número más probable (NMP/mL) .....	41
Tabla 9. NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01 .....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Fig. 1. NMP/mL de coliformes totales en los puestos que expenden refrescos en el interior del mercado Arenales-Ica.....	17
Fig. 2. NMP/mL de coliformes fecales en las muestras de refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales-Ica.....	17
Fig. 3. NMP/mL de <i>E. coli</i> en las muestras de refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales-Ica. ....	18
Fig. 4: Flujograma de prueba presuntiva y confirmativa para coliformes totales y fecales .....	28
Fig. 5: Flujograma de prueba completa para <i>E. coli</i> .....	29
Fig. 6: Adquisición de las muestras en diferentes puestos: A) Embotellamiento de cebada B) Embotellamiento de chicha morada C) Muestra sellada D) Balde de chicha morada junto a residuos sólidos.....	30
Fig. 7: Tubos con presencia de gas y turbidez en: A) Caldo lauril sulfato, B) Caldo bilis verde brillante, C) Caldo EC.....	31
Fig. 8: Crecimiento de <i>E. coli</i> en: A) Agar MacConkey B) Agar HiCrome .....	32
Fig. 9: Identificación de <i>E. coli</i> por pruebas bioquímicas.....	32
Fig. 10: <i>E. coli</i> bacterias bacilares Gram negativas vistas al microscopio 1 000X .....	33
Fig. 11: A) Número total de muestras por refresco, B) Tipos de refrescos por puesto de venta .	34
Fig. 12. Porcentaje de acuerdo al criterio microbiológico por cada tipo de refresco que expenden el mercado Arenales-Ica.....	35
Fig. 13. Porcentaje de puestos de venta que no cumplen con los límites permisible según la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01 .....	38
Fig. 14. Porcentaje de muestras que no cumplen con los límites permisible según la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01 .....	38

## RESUMEN

Los coliformes totales y fecales son organismos indicadores por estar estrechamente relacionados a la inocuidad en la producción de alimentos y bebidas; su presencia indica el probable contacto con materia fecal, con el entorno ambiental, deficiencia en el tratamiento térmico. *Escherichia coli* es una bacteria indicadora de contaminación fecal ya que suele habitar en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente. Los refrescos elaborados artesanalmente a base de maíz morado y cebada son frecuentemente consumidos y pueden contaminarse durante su preparación o en su expendio; por lo que la presente investigación tuvo por objetivo evaluar el cumplimiento del análisis microbiológico de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en los refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales de la ciudad de Ica.

Se analizó un total de 85 muestras siendo 43 de cebada y 42 de chicha morada perteneciente a los 17 puestos del mercado, obtenidos entre los meses de junio a agosto del 2022. Para la determinación de coliformes totales, fecales y *E. coli* se utilizó el método del número más probable (NMP) y para la evaluación de los resultados se utilizó la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-01 y la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994; obteniéndose que los refrescos de cebada y chicha morada evaluadas superan los límites máximos permisibles (LMP) en un 93 % y 86 % de coliformes totales, en el caso de coliformes fecales el 84 % y 71 % superan los LMP, mientras que el 63 % y 52 % de muestras evaluadas superan el LMP para *E. coli* respectivamente. Concluyéndose que la mayoría de los refrescos que se expenden en el interior del mercado Arenales no cumplen con los límites de aceptabilidad establecidas por la norma sanitaria.

**Palabras clave:** refrescos, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, NMP

## ABSTRACT

Total and fecal coliforms are indicator organisms because they are closely related to the safety of food and beverage production; Its presence indicates probable contact with fecal matter, with the environmental environment, deficiency in thermal treatment. *Escherichia coli* is an indicator bacteria of fecal contamination since it usually lives in the intestinal tract of man and warm-blooded animals. Soft drinks made by hand from purple corn and barley are frequently consumed and can become contaminated during their preparation or sale; therefore, the objective of this research was to evaluate compliance with the microbiological analysis of total coliforms, fecal coliforms and *E. coli* in soft drinks sold inside the Arenales market in the city of Ica.

A total of 85 samples were analyzed, 43 of barley and 42 of chicha morada belonging to the 17 market stalls, obtained between the months of June to August 2022. To determine total, fecal coliforms and *E. coli*, the most probable number method (NMP) and NTS N° 071-MINSA/DIGESA-01 and the Official Mexican Standard NOM-112-SSA1-1994 were used to evaluate the results; it was obtained that the barley and chicha morada soft drinks evaluated exceed the maximum permissible limits (LMP) by 93% and 86% of total coliforms, in the case of fecal coliforms, 84% and 71% exceed the LMP, while 63% and 52% of samples evaluated exceed the LMP for *E. coli* respectively. Concluding that the majority of soft drinks sold inside the Arenales market do not comply with the acceptability limits established by the health standard.

**Keywords:** soft drinks, total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli*

## I. INTRODUCCIÓN

Los coliformes son considerados “organismos indicadores” por estar estrechamente relacionados a la insalubridad en la producción de alimentos y bebida, éstos se definen como bacilos Gram negativos, no esporulados, con la capacidad de producir gas y fermentar la lactosa, además de poder desarrollarse en medios con sales biliares a 35 °C – 37 °C transcurrido un tiempo de 24 a 48 horas. A este grupo pertenecen cuatro géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*, encontrándose en el suelo, agua, semillas, materias de putrefacción, salvo el género *Escherichia* que son microorganismos que se encuentran en el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente (1,2,3).

Los coliformes fecales incluyen un grupo más reducido de coliformes, éstos son considerados termotolerantes por la capacidad de resistir y desarrollarse a temperaturas elevadas en un rango de 44,5 ó 45 °C. Este grupo está considerado como un indicador de contaminación fecal ya sea de origen animal o humano, siendo *E. coli* la especie más representativa (90 %) y en menor proporción ciertas bacterias de los géneros *Citrobacter* y *Enterobacter* (4,5). Su presencia indica el probable contacto con materia fecal, con el entorno ambiental y si se logra encontrar después de un tratamiento térmico es debido a una cocción insuficiente o una contaminación secundaria después de la preparación del alimento (6,7).

*Escherichia coli* es un indicador de contaminación fecal en los alimentos, posee una forma bacilar Gram negativa, anaerobio facultativo, movilidad con flagelos peritricos. Es una bacteria que habita en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, pero también se puede encontrar en el entorno natural como el agua y el suelo. Debido a que se han encontrado distintos mecanismos patógenos, se han clasificado en los siguientes grupos o virotipos: *E. coli* enteropatógena (ECE), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregante (ECEA) y *E. coli* enteroadherente difusa (ECEDA). La mayoría de *E. coli* no suelen ser patógenas, pero algunas cepas pueden causar intoxicación (especialmente *E. coli* O157:H7). La enfermedad causada por ésta va desde una diarrea leve hasta una colitis hemorrágica con dolor abdominal y diarreas sanguinolentas lo cual lo hace peligrosa para la persona que lo porte (8,9,10).

Los refrescos son frecuentemente consumidos por ser saludables, de obtención rápida y de costo económico. Éstos son producidos previa manipulación directa o con la ayuda de herramientas manuales o medios mecánicos, siempre con la contribución directa de la persona utilizando materia prima procedentes de la naturaleza (11). Entre los refrescos que mayormente se expenden en el mercado Arenales son lo que están preparados a base de maíz morado y cebada; estos

productos son de fácil preparación, pero al contaminarse constituyen una fuente de riesgo para la salud del consumidor (12).

El conocimiento de la calidad de los refrescos no solo hace referencia a las cualidades percibidas en el producto final, sino también las higiénicas al momento de su elaboración. En general es una práctica común encontrar los tachos de basura cerca de los lugares donde preparan y/o expenden las bebidas, adicionalmente la falta recurrente de agua potable y las deficientes condiciones higiénico-sanitarias dentro del mercado, son los principales indicios que comprometen la calidad del refresco (13).

Los alimentos, incluyendo los refrescos, están expuestos a factores que causan e incrementan su deterioro, por ello se busca prevenir y controlar los microorganismos presentes en los alimentos a nivel internacional con criterios microbiológicos (CM), que reflejen el conocimiento y la experiencia de las buenas prácticas de higiene (BPH) y así contribuir a la mejora de la calidad de los alimentos, de esta manera se disminuirá el impacto de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) en la salud humana (14,15,16).

Los criterios microbiológicos hacen referencia a la aceptabilidad del producto, esto se tomará en cuenta según la cantidad de microorganismos que se determine. Estos parámetros permiten garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas para el consumo humano. Los principales microorganismos presentes en los refrescos son las bacterias aerobias mesófilas, los coliformes, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Salmonella sp.* (17).

Se ha reportado la presencia frecuente de coliformes totales y fecales, además de la presencia *E. coli* y *Salmonella sp.* en establecimientos de Costa Rica y Guatemala evidenciando una mala calidad microbiológica en los refrescos analizados (18,19). Asimismo, en el Perú se ha documentado la presencia de coliformes totales, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter* y aerobios mesófilos, en los refrescos de cebada y chicha morada que se comercializan en Lima, Arequipa e Iquitos (11,20,21,22). En Ica, sólo se ha documentado la carga bacteriana en los jugos de naranja, mas no se han publicado estudios relacionados con la calidad microbiológica de los refrescos (23).

La venta de refrescos al tener mayor demanda hace que las personas que la consuman desconozcan de la preparación y/o manipulación. Por ello, se planteó esta investigación ya que los refrescos se ven expuestos a contaminación ya sea de origen directo o indirecto; ésto puede ser causado por la manipulación del vendedor o en la preparación de los mismos. Al ser un alimento de consumo masivo se requiere de varios litros de agua; además el clima cálido, conlleva al uso de bloques de hielo que finalmente son colocados en los grandes baldes de preparación como producto final. Por otro lado; el mercado, es un lugar inadecuado de expendio ya que muchas veces existe la presencia de insectos que propicia la contaminación y propagación de microorganismos en las bebidas (24).

El trabajo de investigación tuvo como objetivo general evaluar el cumplimiento del análisis microbiológico de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en los refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales de Ica. Asimismo, tuvo como objetivos específicos: determinar mediante el método del número más probable (NMP) los coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en los refrescos de cebada y chicha morada expendidos en el interior del mercado Arenales, comparar los resultados obtenidos con la NTS N°071-MINSA/DIGESA y la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994.

## II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

### 2.1. Toma de muestras

Se analizaron 85 muestras constituido por 2 tipos de refrescos: 43 muestras de cebada, 42 de chicha morada; pertenecientes a los 17 puestos del mercado Arenales, de los cuales se obtuvieron 5 muestras por cada puesto. La frecuencia del muestreo fue cada dos semanas durante los meses de junio a agosto del 2022. Las muestras fueron obtenidas en su envase original, botella de plástico de 500 mL, fueron rotuladas en el mismo puesto de venta y llevadas al laboratorio del Centro de Investigación, Capacitación y Asesoría (CICA) para su procesamiento. (Anexo, Fig. 3,8)

### 2.2. Preparación de la muestra e inoculación (Anexo, Fig. 2)

Para la ejecución de la investigación se utilizó el Manual de Análisis Microbiológicos de Alimentos - DIGESA (2001). Se transfirió 10 mL de refresco a un frasco conteniendo 90 mL de agua peptonada (APA) para la obtención de la dilución  $10^{-1}$ , luego de homogeneizar se transfirió 1 mL a un tubo con 9 mL de APA, obteniendo la dilución  $10^{-2}$ , prosiguiendo de igual forma para la dilución  $10^{-3}$  (25).

#### 2.2.1. Determinación de coliformes totales

##### I. Fase presuntiva:

Se transfirió 1 mL de cada dilución a series de 3 tubos conteniendo cada uno 10 mL de caldo lauril sulfato triptosa (LST) con campana de Durham, los cuales fueron codificados de acuerdo al número de la muestra y la dilución que contenía (25,26).

Se incubaron a 37 °C durante 24 horas y se observó la presencia de gas y turbidez en el medio lo cual indicó resultado positivo y los tubos presuntos negativos se incubaron y se examinaron de nuevo a las 48 horas.

Pasado dicho tiempo se anotaron los tubos positivos y se procedió a realizar la fase confirmativa para coliformes totales (Anexo, Fig. 4).

##### II. Fase confirmativa:

De los tubos positivos en la etapa presuntiva se transfirió dos asadas a tubos que contenían 10 mL de caldo bilis verde brillante (BRILA) al 2 % con campana de Durham, los cuales fueron rotulados de acuerdo al código de los tubos de la fase anterior. Posteriormente, fueron incubados a 37 °C por 24 horas y se observó la turbidez y producción de gas, los tubos presuntos negativos se incubaron y se examinaron de nuevo a las 48 horas (Anexo, Fig. 4).

Luego se realizó la lectura y se registraron los resultados en una hoja de recolección de datos para luego ser comparados con la tabla del número más probable (NMP) (23).

Después de haber obtenido el NMP se utilizó la NTS N°071-MINSA/DIGESA para ver si cumplían con los criterios microbiológicos (17).

### **2.2.2. Determinación de coliformes fecales**

Una vez identificados los tubos positivos de coliformes totales se realizó la prueba confirmativa para la coliformes fecales

#### **I.Fase confirmativa para coliformes fecales:**

Se transfirió dos asadas de cada tubo positivo de la etapa presuntiva a tubos que contenían 10 mL de caldo EC con campana de Durham, estos fueron rotulados de acuerdo al código de la fase anterior. Posteriormente, fueron incubados a 44,5 °C por 24 horas y se observó la turbidez y producción de gas, los tubos aparentemente negativos se incubaron y se examinaron de nuevo a las 48 horas (Anexo, Fig. 4).

Luego de 48 horas se hizo la lectura y se registraron los datos en una hoja de recolección de resultados para luego ser comparados con la tabla del número más probable (NMP) (25).

Se utilizó la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994 para evaluar si cumplían con los criterios microbiológicos (27).

### **2.2.3. Determinación de *E. coli***

#### **I.Prueba confirmativa de *E. coli* (Anexo, Fig. 6)**

De los tubos positivos en el caldo EC se tomó una asada y se sembró por agotamiento y estría en agar MacConkey y en agar HiCrome (25). Se llevó a incubación a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, se examinó las placas y se observó colonias lactosa positiva de color rojo opaco en el agar MacConkey y colonias celestes en el agar HiCrome (Anexo, Fig. 5). Luego se tomó una colonia del agar MacConkey y se pasó a un tubo que contenía agar BHI y se llevó a incubar por 24 horas a 37 °C.

A partir de ello se realizó una tinción Gram (28) observándose bacilos cortos Gram negativos (Anexo, Fig. 7).

Asimismo, se realizaron pruebas complementarias con la ayuda de la batería bioquímica TSI, LIA, citrato, SIM, VP-RM los cual se incubaron a 37 °C por 24 horas, verificándose luego las lecturas vinculantes a *E. coli* (29,30,21,32,33) (Anexo, Fig. 6)

## II. RESULTADOS

Tabla 1. Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en refrescos que se expenden en el mercado Arenales-Ica.

Refresco	Muestras analizadas	Análisis microbiológico											
		coliformes totales*				coliformes fecales**				<i>E. coli</i> *			
		no cumplen		cumplen		no cumplen		cumplen		no cumplen		cumplen	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Chicha morada	42	36	86	6	14	30	71	12	29	22	52	20	48
Cebada	43	40	93	3	7	36	84	7	16	27	63	16	37
Total	85	76	89	9	11	66	78	19	22	49	58	36	42

\*: Limite permisible según la Norma Técnica Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01

\*\* : Limite permisible según la Norma Oficial Mexicana NOM- 112-SSA1-1994

Cumplen: coliformes totales  $<10^2$ , coliformes fecales  $<3$ , *E. coli*  $<10$  (NMP/mL)

No cumplen: coliformes totales  $>10^2$ , coliformes fecales  $>3$ , *E. coli*  $>10$  (NMP/mL)

**Tabla 2.** Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* por puesto de expendio de chicha morada en el mercado Arenales-Ica.

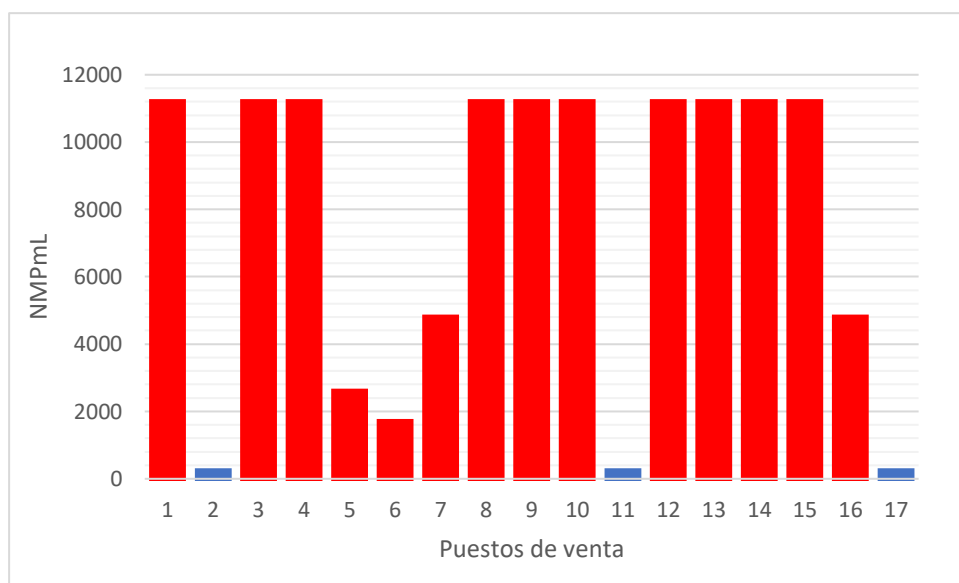
N° puesto	Número más probable (NMP/mL)			Cumplimiento c/nc
	coliformes totales	coliformes fecales	<i>E. coli</i>	
1	>1100	460	93	nc
	460	240	<3.0	nc
	>1100	460	<3.0	nc
	460	210	<3.0	nc
2	43	<3.0	<3.0	c
	150	<3.0	<3.0	nc
4	240	150	<3.0	nc
	210	210	150	nc
	>1100	43	23	nc
5	150	93	43	nc
6	460	240	75	nc
	1100	460	93	nc
	1100	<3.0	<3.0	nc
	150	<3.0	<3.0	nc
7	150	75	43	nc
9	>1100	>1100	1100	nc
	>1100	>1100	1100	nc
10	240	43	23	nc
	150	93	9.2	nc
	210	210	43	nc
	1100	460	150	nc
	1100	150	<3.0	nc
11	150	20	<3.0	nc
	<3.0	<3.0	<3.0	c
	<3.0	<3.0	<3.0	c
	150	<3.0	<3.0	nc
	<3.0	<3.0	<3.0	c
12	210	93	20	nc
	240	75	43	nc
	150	93	23	nc
13	460	240	75	nc
15	1100	460	20	nc
16	150	75	15	nc
	210	43	21	nc
	150	11	11	nc
	460	20	15	nc
	460	75	20	nc
17	240	43	<3.0	nc
	460	<3.0	<3.0	nc
	<3.0	<3.0	<3.0	c
	75	<3.0	<3.0	c
	240	<3.0	<3.0	nc

c: cumple, nc: no cumple

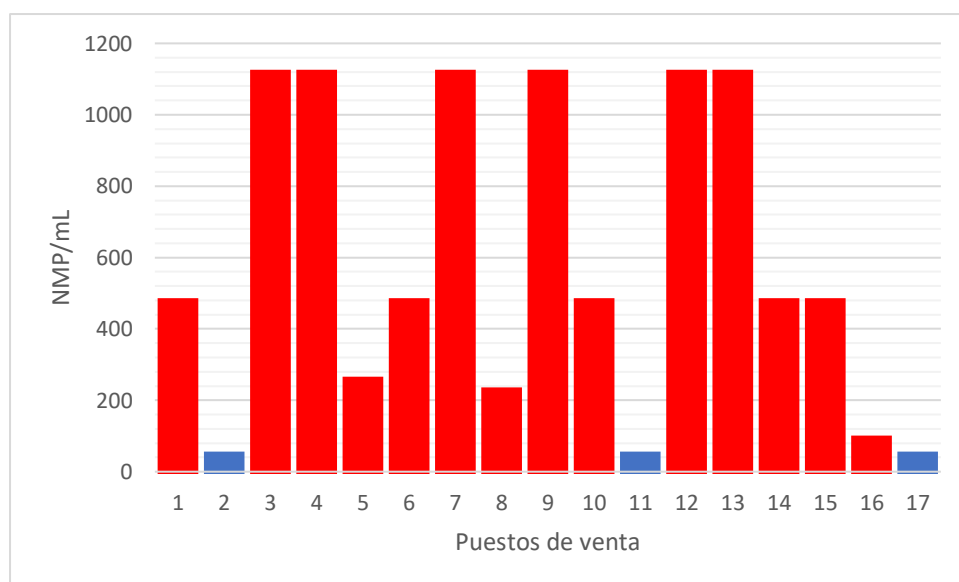
**Tabla 3.** Cumplimiento de criterios microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* por puesto de expendio de cebada en el mercado Arenales-Ica.

N° puesto	Número más probable (NMP/mL)			Cumplimiento c/nc
	coliformes totales	coliformes fecales	<i>E. coli</i>	
1	460	240	93	nc
2	23	<3.0	<3.0	c
	21	<3.0	<3.0	c
	9.2	<3.0	<3.0	c
3	1100	1100	<3.0	nc
	240	240	15	nc
	1100	1100	1100	nc
	210	93	<3.0	nc
	240	150	<3.0	nc
4	210	210	150	nc
	>1100	>1100	1100	nc
5	240	240	240	nc
	150	93	15	nc
	150	150	20	nc
	460	240	93	nc
6	460	<3.0	<3.0	nc
7	1100	1100	460	nc
	>1100	>1100	1100	nc
	460	240	43	nc
	150	9.2	<3.0	nc
8	460	43	23	nc
	>1100	210	160	nc
	150	150	93	nc
	460	150	23	nc
	210	75	43	nc
9	240	210	150	nc
	>1100	>1100	1100	nc
	460	240	210	nc
12	1100	460	240	nc
	1100	1100	1100	nc
13	240	93	20	nc
	>1100	>1100	1100	nc
	1100	460	<3.0	nc
	>1100	1100	<3.0	nc
14	>1100	< 3.0	<3.0	nc
	460	28	20	nc
	>1100	35	21	nc
	>1100	460	<3.0	nc
	>1100	1100	460	nc
15	1100	<3.0	<3.0	nc
	460	9.2	<3.0	nc
	210	7.4	<3.0	nc
	1100	<3.0	<3.0	nc

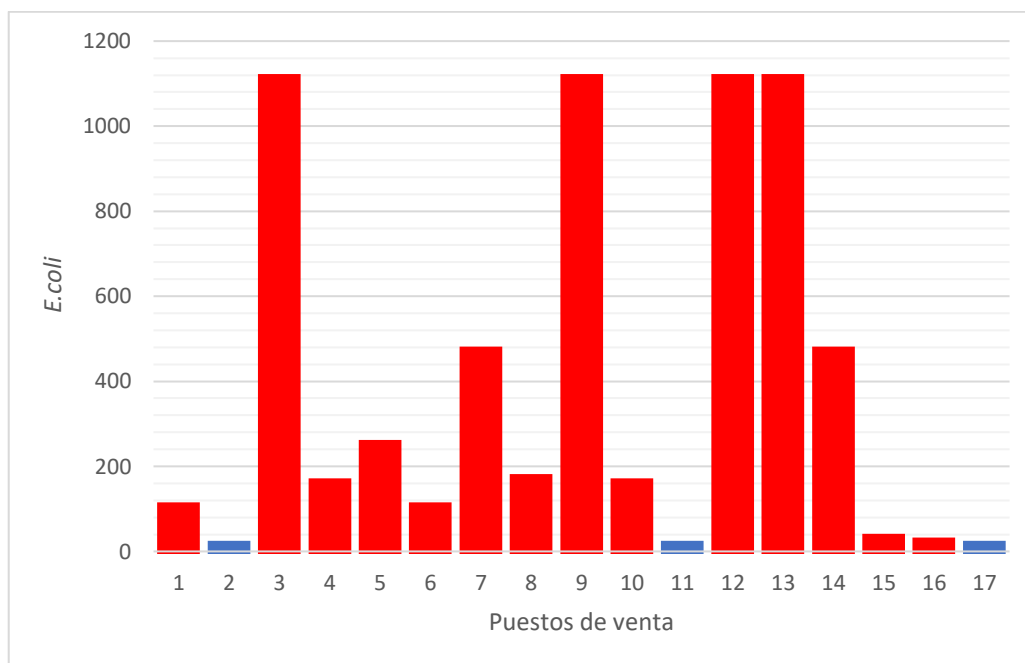
c: cumple, nc: no cumple



**Fig. 1.** NMP/mL de coliformes totales en los puestos que expenden refrescos en el interior del mercado Arenales-Ica.



**Fig. 2.** NMP/mL de coliformes fecales en las muestras de refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales-Ica.



**Fig. 3.** NMP/mL de *E. coli* en las muestras de refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales-Ica.

### III. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que la mayoría de los refrescos que se expenden en el mercado Arenales estuvieron contaminados. Para la determinación de coliformes totales, fecales y *E. coli* se utilizó el método del número más probable (NMP) y fueron comparados con los límites permisibles establecidos por la Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-01 y la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994 para refrescos, estableciendo los criterios microbiológicos para el recuento de coliformes totales ( $10^2$  NMP/mL), coliformes fecales ( $<3$  NMP/mL) y *E. coli* (10 NMP/mL). Como se observa en la tabla 1, los refrescos analizados mostraron como resultado que del total de las 85 muestras el 89 %, 66 % y 49 % presentaron contaminación por coliformes totales, fecales y *E. coli* respectivamente, sobrepasando los LMP que establece la NTS.

En la tabla 1 se observa que el 93 % y 86 % de muestras de cebada y chicha morada respectivamente superaron los límites permisibles para coliformes totales, mostrando resultados en la tabla 2 y 3 que exceden los LMP establecidos por la NTS N°071 ( $10^2$  NMP/mL), donde los valores más altos se encontraron en los puestos 1,3,4,8,9,10,12,13,14 y 15 para ambos refrescos como se muestra en la Fig. 1 (17). Resultados similares obtuvo Bardales (11) al analizar muestras de refrescos de maíz morado reportando 86,6 %, mientras que Salazar (20) determinó que las muestras de cebada presentaron el 66,67 % y las muestras de chicha morada el 33,3 %, al igual que Bentos (22) quien encontró el 61,3 % al analizar muestras de cebada presentaban recuentos elevados de coliformes totales excediendo los límites de la NTS; la presencia de los mismos se considera como un indicador de la calidad sanitaria de los alimentos o que existe una vía de contaminación entre una fuente de bacteria al alimento. Esto puede ser causado por unas malas prácticas de manufactura en las etapas de la cadena de alimentos: manipulación, preparación de la bebida, transporte y distribución. Como la desinfección de la superficie, equipos y utensilios, estado sanitario deficiente en el ambiente y en los alrededores. Además del mal manejo de prácticas de higiene de los manipuladores de alimentos, como la falta de uso de guantes, mascarilla y el nulo o deficiente lavado de manos (2,34).

Con respecto al análisis microbiológico de coliformes fecales en las muestras de refresco, se evidenció que el 84 % y 71 % de cebada y chicha morada respectivamente superaron los límites permisibles según la Norma Oficial Mexicana NOM- 112-SSA1-1994, obteniéndose valores desde 7.4 hasta  $>1100$  NMP/mL, valor que sobrepasa lo declarado por la Norma Mexicana ( $<3$  NMP/mL). Los resultados más elevados se dieron en los puestos 3,4,7,9,12 y 13 como se observa en la Fig. 2. Se encontraron similitudes en otras investigaciones, tal es el caso de Bentos (22) cuyo análisis se basó en muestras de cebada obteniendo 86,6 % de coliformes fecales, mientras que en

San Salvador se determinó que el 100 % de los refrescos no se encuentran dentro de los LMP (35). La presencia de estos coliformes indicaría que hubo una contaminación de origen fecal pudiendo ser humano o de animal, estado sanitario deficiente en el entorno ambiental, presencia de animales domésticos y de vectores, contaminación secundaria después del tratamiento térmico; esto podría deberse a la mala o nula higiene del manipulador al momento de servir la bebida o el uso de bloques de hielo. Ya que no hay garantías de la potabilidad del agua que se utiliza para fabricar los mismos y si éstos estuviesen contaminados con bacterias podría causar una contaminación cruzada con el refresco (36,37,38).

Se registró que del total de las muestras analizadas el 63 % y 52 % de cebada y chicha morada respectivamente excedieron los límites permisibles para *E. coli* (tabla 1), encontrándose mayores valores que sobrepasan los LMP establecido por la NTS (10 NMP/mL). Los puestos 3,9,12 y 13 presentaron recuentos elevados, tal como se muestra en el gráfico de barras representado en la Fig. 3. Estos resultados coinciden con lo reportado por Castañeda et al. (19) luego de analizar los refrescos expendidos por cafeterías formales e informales en el municipio de Amatlán en Guatemala, reportando que el 60 % de las muestras presentaron *E. coli*, otras investigaciones obtuvieron menor porcentaje reportando el 33,3 % por cada muestra de cebada y chicha respectivamente (20), asimismo en Trujillo se reportó el 14 % de presencia de *E. coli* en muestras de extracto de *Saccharum officinarum* que se vende en forma ambulatoria (39). Encontrar esta especie de bacteria en el alimento indica una contaminación directa de origen fecal evidenciando una mala práctica de higiene del manipulador, deficiente capacitación al personal, como falta de lavado de manos, así como la manipulación de los alimentos por personas enfermas o portadoras asintomáticas. Además de la presencia de contaminante biológico ya sea un vector en el ambiente o los alrededores de las instalaciones (22).

Por otro lado, las muestras de los puestos 2, 11 y 17 cumplen con los criterios microbiológicos de aceptabilidad esto podría deberse al previo envasado de refrescos durante su expendio en dichos puestos. Asimismo, en el puesto 9 las muestras no cumplieron con los criterios microbiológicos durante los 5 muestreos de esta investigación, esto infiere que en este puesto no hubo mejoras de las condiciones higiénico-sanitarias.

Cabe mencionar que, los mayores porcentajes del no cumplimiento de la calidad microbiológica se encontraron en las muestras de cebada en comparación con la chicha morada. Esta diferencia podría estar influenciado por las características y propiedades del maíz morado, lo cual se le atribuye a su alto contenido en antocianinas y compuestos fenólicos, además de la adición de cáscara de *Anana comosus* “piña” a la preparación del refresco, ya que le atribuyen propiedades antimicrobianas (40,41,42).

#### IV. CONCLUSIONES

1. La mayoría de los refrescos expendidos en el interior del mercado Arenales, no cumplen con los criterios microbiológicos para el consumo humano.
2. Se encontró que la mayoría de las muestras de cebada y chicha morada superaron los límites máximos permisibles que establece la Norma Técnica Sanitaria (DIGESA) en un 93 % y 86 % de coliformes totales, 84 % y 71 % de coliformes fecales y 63 % y 52 % de *E. coli* respectivamente.
3. El porcentaje de contaminación por coliformes totales, fecales y *E. coli* fue mayor en los refrescos de cebada que los de chicha morada.

## **V. RECOMENDACIONES**

1. Completar la investigación del análisis microbiológico de los refrescos con los otros agentes microbianos que establece la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01
2. Determinar la calidad microbiológica de refrescos en los diferentes mercados de Ica, para llevar un control sanitario.
3. Realizar el estudio y evaluación de la calidad microbiológica de refrescos en otras temporadas del año.
4. Complementar este estudio con otras investigaciones respecto al análisis de superficies vivas y/o superficies inertes en los lugares donde se obtuvieron las muestras de refrescos.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

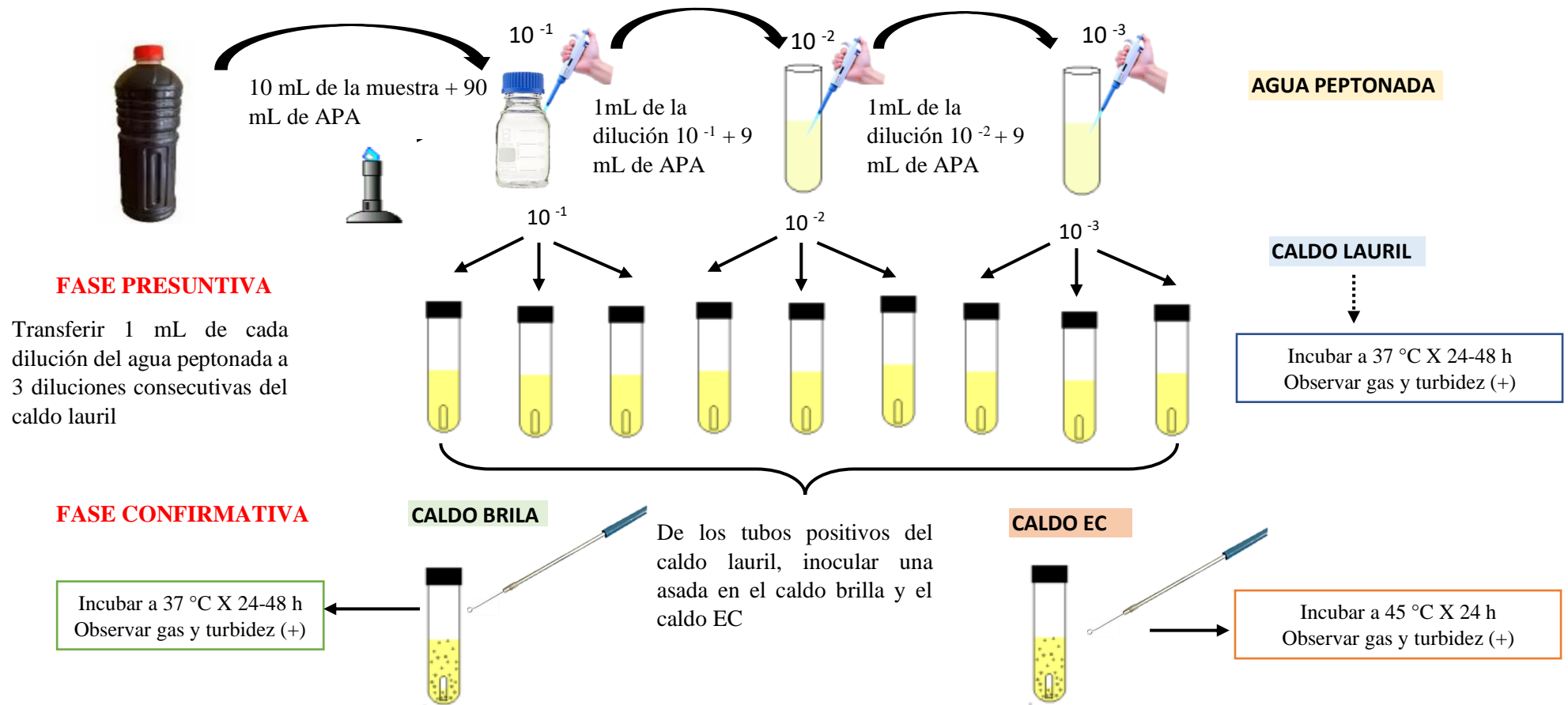
1. 3M P. Coliformes. [Online]. [Consultado 02 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www.3m.com.pe/3M/es\\_PE/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/coliformes/](https://www.3m.com.pe/3M/es_PE/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/coliformes/).
2. PennState Extension. Bacterias Coliformes. [Online].; 2020 [Consultado 02 Setiembre 2022]. Disponible en: <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes#:~:text=Las%20bacterias%20coliformes%20a%20menudo,el%20agua%20causa%20una%20enfermedad.>
3. Biomérieux. Coliformes. [Online]. [Consultado 02 Setiembre 2022]. Disponible en: <https://www.biomerieux.es/coliformes.>
4. Frazier W., Westhoff D. Microbiología de los alimentos. 4ta Edición. Zaragoza España: ACRIBIA, S.A.; 2002. p. 72.
5. Murray, Rosenthal, Pfaller. Microbiología Médica 8va Edición. In. Barcelona, España: ELSEVIER; 2017. p. 255-258.
6. Hernández F. Fundamentos de Epidemiología: El Arte Detectivesco de la Investigación Epidemiológica. 1ª edición. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia; 2002. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=vu7xOb6X\\_qkC&printsec=copyright&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=true](https://books.google.com.pe/books?id=vu7xOb6X_qkC&printsec=copyright&redir_esc=y#v=onepage&q&f=true)
7. OMS: Organización Mundial de la Salud. Guías en la calidad del agua potable. 3era Edición. Ginebra: Biblioteca de OMS; 2006. 398 p.
8. Koneman E.; Allen S.. Diagnostico Microbiologico. 6ta Edición. In. Argentina : Médica Panamericana ; 2008. p. 227- 238.
9. Franco P., Ramírez L., Orozco M., López L. Determinación de *Escherichia coli* e identificación del serotipo O157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartagena [Online].; 2013 [Consultado 08 Agosto 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v10n1/v10n1a09.pdf>
10. Curutiu C., Iordache F.,Gurban P.,Lázar V., Chifiriuc M. Principales contaminantes microbiológicos de aguas y bebidas embotelladas [Online].; 2019 [Consultado 08 Agosto 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128152720000143>
11. Bardales T.; Rojas M. Determinación de la calidad microbiológica de refrescos artesanales comercializados en los principales mercados del distrito de Ventanilla, Callao – 2016. [Online].; 2016 [Consultado 10 Octubre 2022]. Disponible en: [https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4589/Melissa\\_Tesis\\_Titulo\\_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y.](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4589/Melissa_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y.)

12. OPS/OMS. Enfermedades transmitidas por alimentos. [Online]. [Consultado 30 Abril 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>.
13. UNNOBA P. Calidad de alimentos. [Online].; 2020 [Consultado 14 Agosto 2022]. Disponible en: [https://www.unnoba.edu.ar/wp-content/uploads/2020/05/03\\_Alimentaci%C3%B3n-saludable-clase-15-Calidad-de-alimentos.pdf](https://www.unnoba.edu.ar/wp-content/uploads/2020/05/03_Alimentaci%C3%B3n-saludable-clase-15-Calidad-de-alimentos.pdf).
14. PAHO. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). [Online].; 2015 [Consultado 11 Octubre 2022]. Disponible en: [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=en#gsc.tab=0](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=en#gsc.tab=0).
15. CAC/GL-21. Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos a los alimentos. [Online].; 1997 [Consultado 21 Agosto 2022]. Disponible en: [http://www.sanipes.gob.pe/normativas/15\\_CACGL21-1997Rev.2013CriterMicrobilogAlimentos.pdf](http://www.sanipes.gob.pe/normativas/15_CACGL21-1997Rev.2013CriterMicrobilogAlimentos.pdf).
16. MINSA. Vigilancia y Conservación de Alimentos. [Online]. Lima-Perú; 2018 [Consultado 11 Octubre 2022]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4518.pdf>.
17. MINSA/DIGESA. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. [Online].; 2003 [Consultado 21 Setiembre 2022]. Disponible en: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma\\_consulta/Proy\\_RM615-2003.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf).
18. Sharon M. Determinación de *Escherichia coli* en bebidas mixtas de frutas no pasteurizadas comercializadas en establecimientos especializados de San Ramón, Alajuela. Rev.costraricenses. salud pública. 2017 Diciembre; 26(2).
19. Castañeda B., Chicas E. Comparación de la calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatitlán.. [Online].; 2017 [Consultado 13 Setiembre 2022]. Disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1170.pdf>.
20. Salazar C. Calidad microbiológica de refrescos artesanales expendidos de forma ambulante en el mercado de Arequipa durante los meses de Abril-Junio del 2019. [Online].; 2021 [Consultado 13 Setiembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12773/13505/BIsacuyg.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
21. Machaca Y. Determinación de coliformes totales en refrescos artesanales expendidos en las avenidas Independencia y Goyoneche de la ciudad de Arequipa, causantes de enfermedades transmitidas por alimentos; Arequipa febrero 2020. Revista de Investigación Científica de Ingenierías. 2021 Setiembre; 3(3).

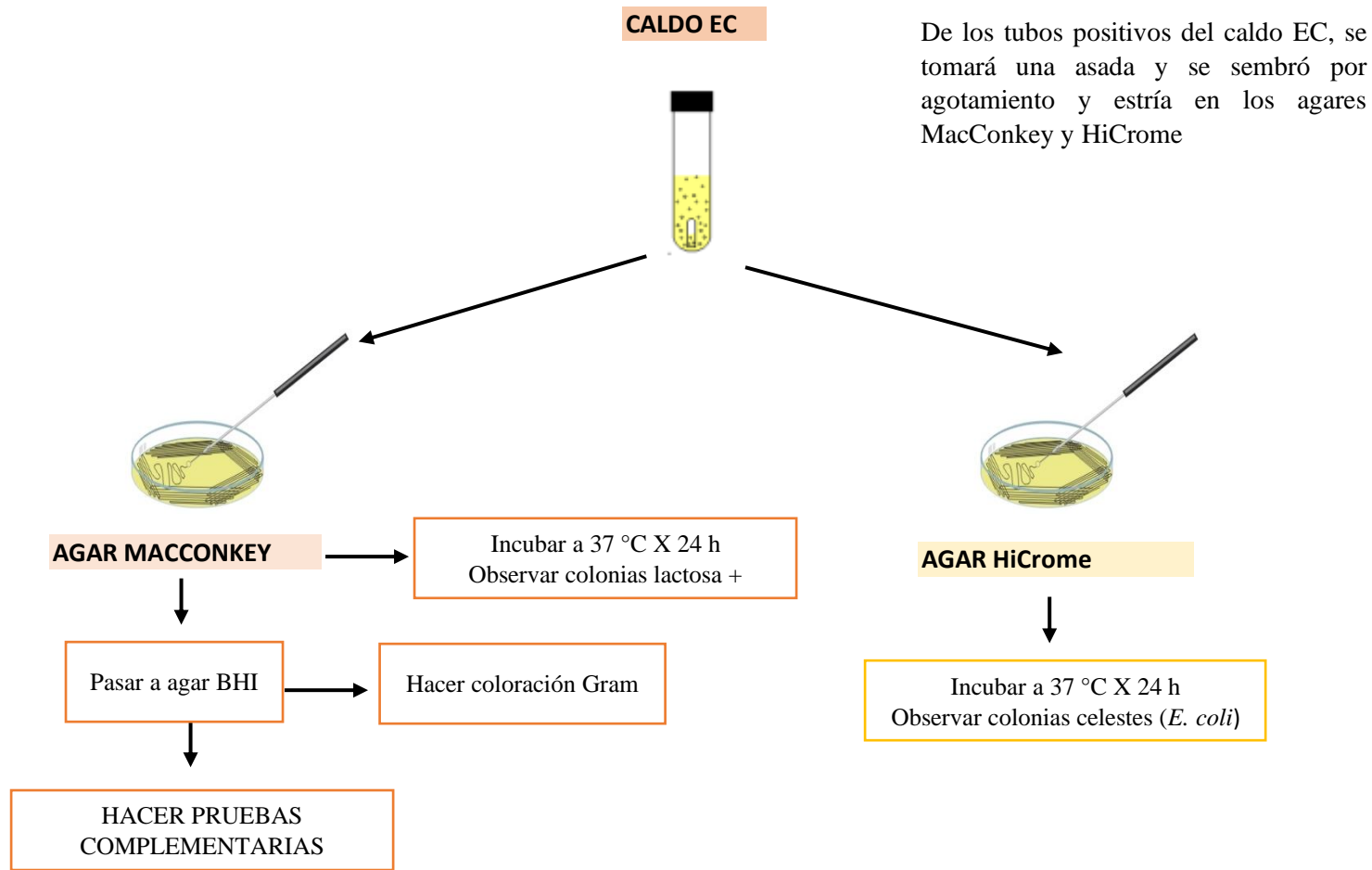
22. Bentos P., Rengifo C. Calidad bacteriológica de refrescos de *Mauritia flexuosa* “aguaje” y *Hordeum vulgare* “cebada” que se expenden en el mercado de Belén, Iquitos-2017. [Online].; 2019 [Consultado 14 Agosto 2022]. Disponible en: [https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6620/Anthony\\_Tesis\\_Titulo\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6620/Anthony_Tesis_Titulo_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
23. Rojas A. Presencia de carga bacteriana en jugos de naranja que se comercializan en el mercado Modelo de Ica, 2019. [Online].; 2019 [Consultado 13 Setiembre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/3469>.
24. AEMAMC. Análisis bacteriológico de alimentos de venta ambulante. Cost. Cienc. Méd. 1989; 10(2).
25. Dirección General de Salud Ambiental. Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos. [Online].; 2001 [Consultado 24 Setiembre 2022]. Disponible en: [http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61\\_MAN.ANA.MICROB.pdf](http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf).
26. Instituto Nacional de Salud. Manual de Técnicas Recomendadas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. [Online].; 1981 [Consultado 24 Setiembre 2022]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/manual-tecnicas-recomendadas-analisis-microbiologicos-alimentos.pdf>.
27. Proyecto de norma oficial mexicana - NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Especificaciones sanitarias. Cédula de verificación. México; 1994.
28. Pascual. Tinción de Gram.pdf. [Online].; 2005 [Consultado 24 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion\\_de\\_gram.pdf](https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion_de_gram.pdf).
29. BritaniaLab. T.S.I. Agar (Triple Sugar Iron Agar). [Online].; 2021 [Consultado 28 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_6070971eb11bd.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070971eb11bd.pdf).
30. BritaniaLab. Lisina Hierro Agar. [Online].; 2021 [Consultado 28 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_6054e85d48c47.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e85d48c47.pdf).
31. BritaniaLab. Simmons Citrato Agar. [Online].; 2021 [Consultado 28 Setiembre 2022]Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_607092758cfa8.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607092758cfa8.pdf).
32. BritaniaLab. SIM Medio. [Online].; 2021 [Consultado 28 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_6070922459b84.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070922459b84.pdf).
33. BritaniaLab. RM-VP. [Online].; 2021 [Consultado 28 Setiembre 2022]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_6070751064820.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070751064820.pdf).
34. Qué son las buenas prácticas de manufactura (BPM) y su importancia en la industria de alimentos [Online]., 2022 [Consultado 09 Setiembre 2023]. Disponible en

- <https://www.winterhalter.com/cl-es/blog-winterhalter/que-son-las-buenas-practicas-de-manufactura-bpm-y-su-importancia-en-la-industria-de-alimentos/>
35. Castellón, K. Determinación de la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del centro histórico de San Salvador, 2009
  36. AquaJaker. La calidad de hielo en tus bebidas [Online].; 2021 [Consultado 09 Setiembre 2023]. Disponible en: <https://aquajaker.com/la-calidad-del-hielo-puede-afectar-tu-bebida>
  37. Siggo. Detectan bacterias fecales en el hielo de bebidas frías [Online].; 2017 [Consultado 09 Setiembre 2023]. Disponible en: <https://www.siggo.es/blog/horeca/detectan-bacterias-fecales-en-el-hielo-de-bebidas-frias>
  38. Chavarrías M. Hielo más seguro [Online].; 2014 [Consultado 09 Setiembre 2023]. Disponible en: <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/hielo-mas-seguro.html>
  39. López L. Evaluación de la calidad microbiológica de extracto de *Saccharum officinarum* que se comercializa de forma ambulatoria en el distrito de Trujillo – La Libertad, Perú – 2018. [Online].; 2018 [Consultado 10 Setiembre 2023]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11370/L%c3%b3pez%20Lara%2c%20Leonard.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  40. Scielo. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. Subnigroviolaceo [Online].; 2014 [Consultado 08 Setiembre 2023] Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172014000400005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172014000400005)
  41. Scielo Cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en zona altoandina de Perú: Adaptación e identificación de cultivares de alto rendimiento y contenido de antocianina [Online].; 2020 [Consultado 08 Setiembre 2023] Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172020000300291](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172020000300291)
  42. Poveda C., Ramirez M., Reyes I., Estudio de la actividad antimicrobiana de la pulpa *Ananas comosus* (Piña dorada) por el método Dilución en Caldo, Febrero-Marzo 2015. Nicaragua; 2015.

## **VII. ANEXOS**



**Fig. 4:** Flujograma de prueba presuntiva y confirmativa para coliformes totales y fecales



**Fig. 5:** Flujograma de prueba completa para *E. coli*



A



B

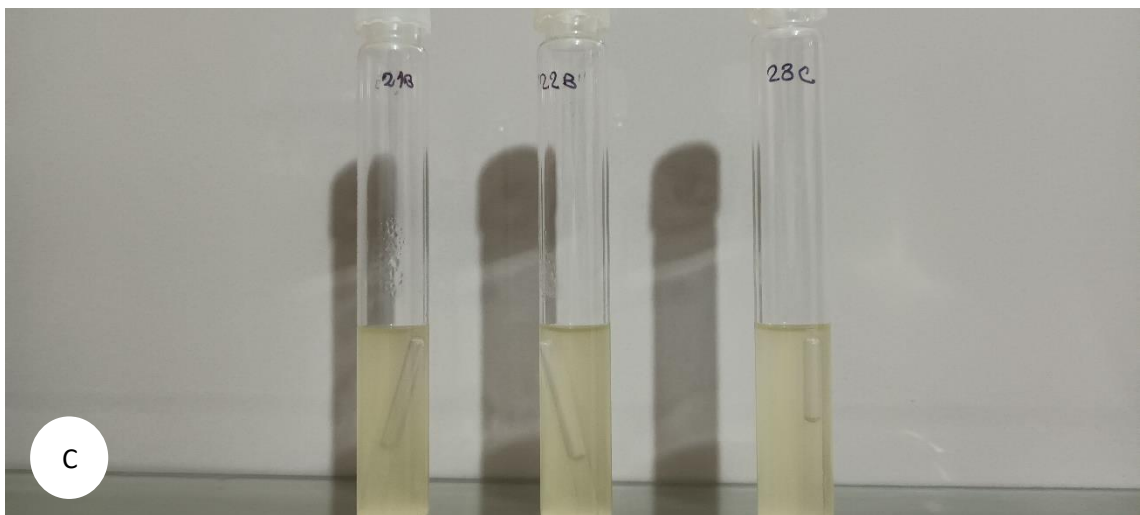
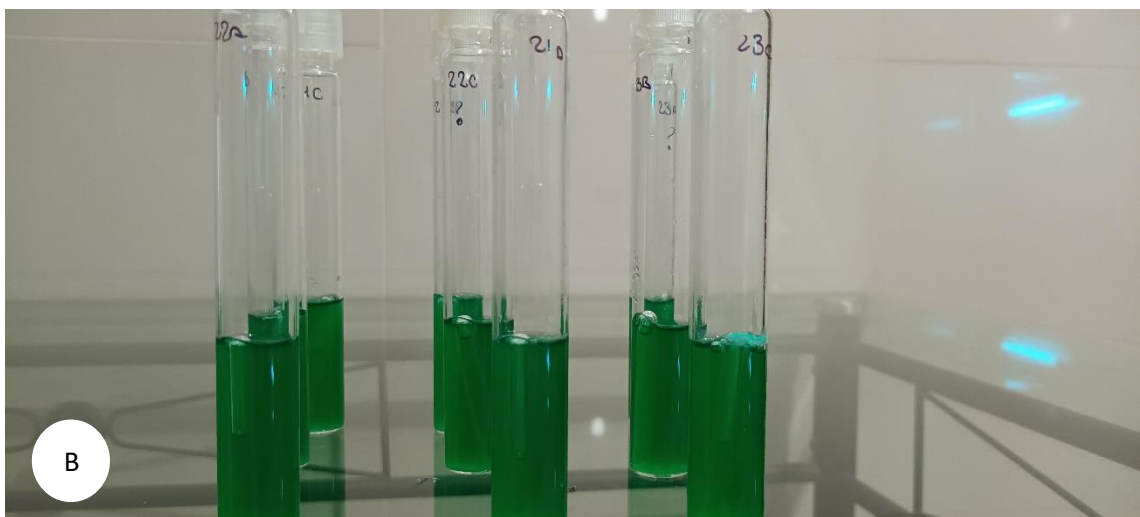
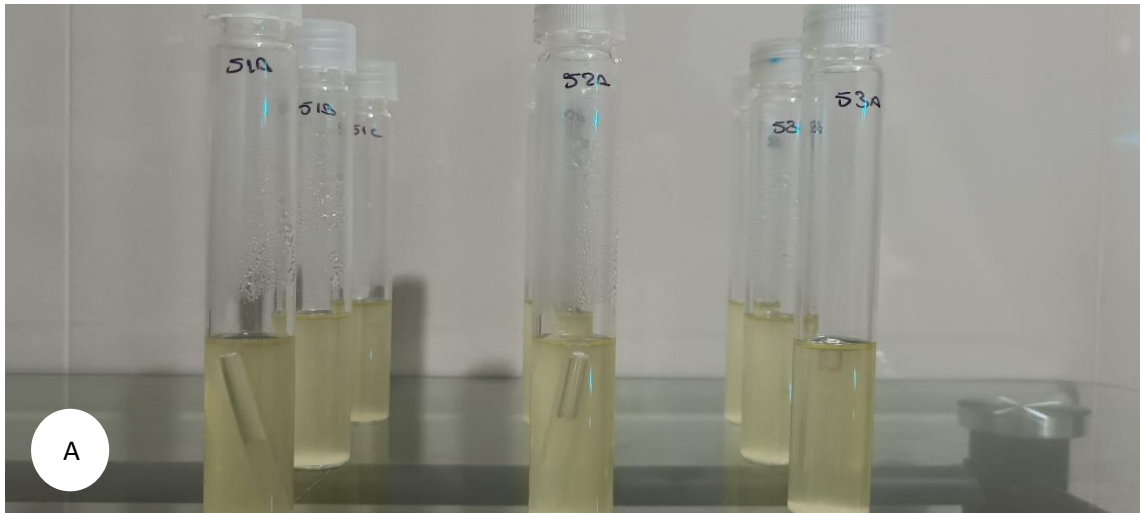


C

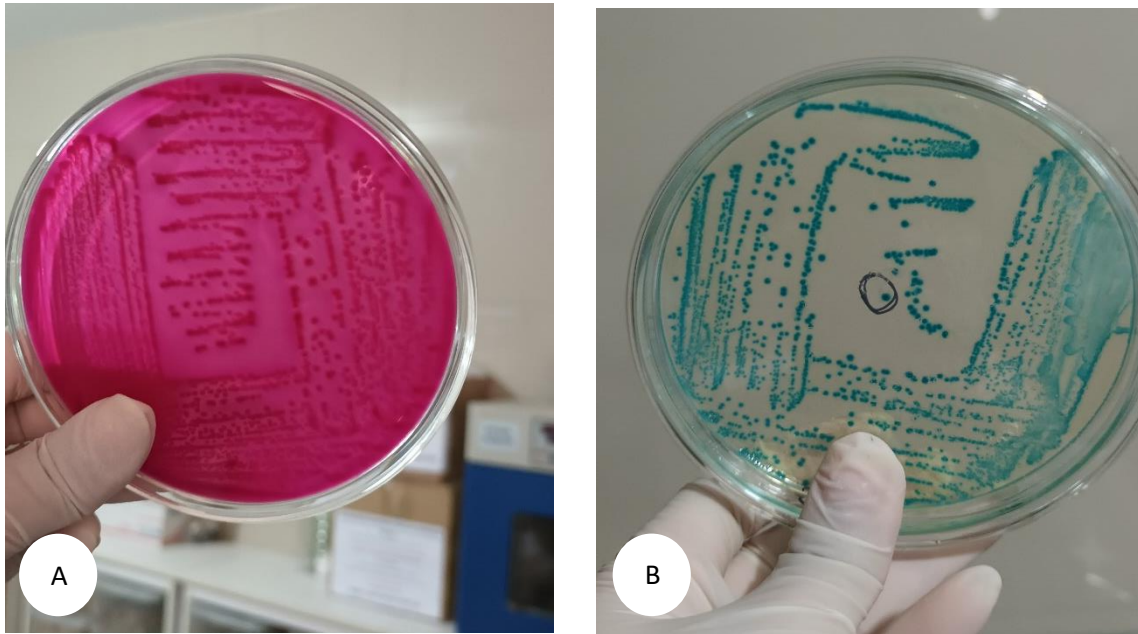


D

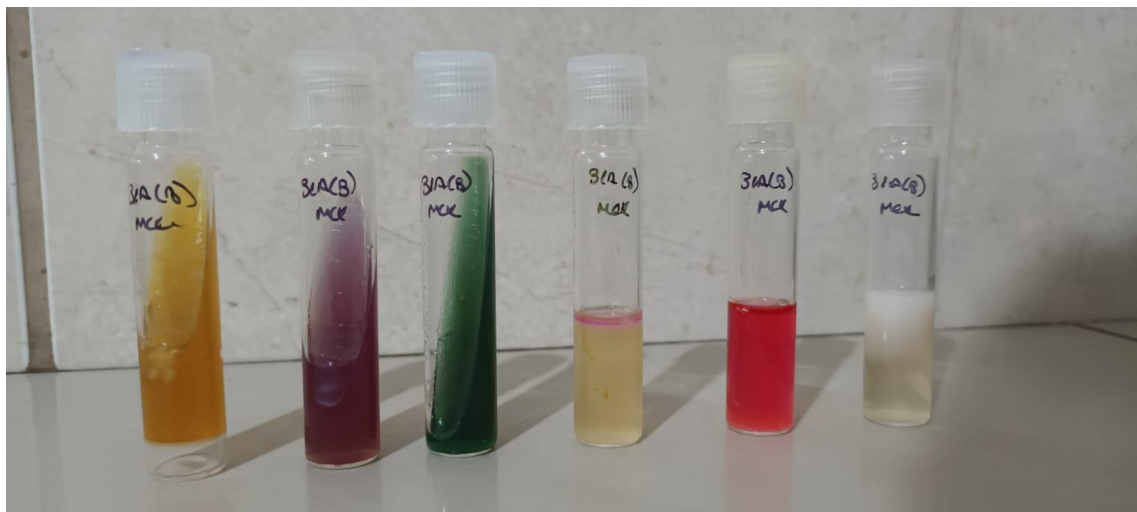
**Fig. 6:** Adquisición de las muestras en diferentes puestos: A) Embotellamiento de cebada B) Embotellamiento de chicha morada C) Muestra sellada D) Balde de chicha morada junto a residuos sólidos



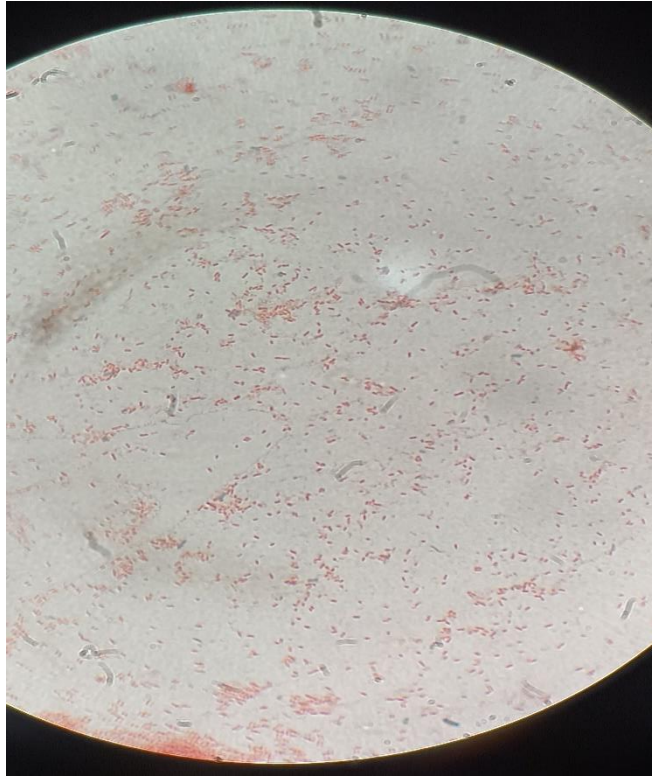
**Fig. 7:** Tubos con presencia de gas y turbidez en: A) Caldo lauril sulfato, B) Caldo bilis verde brillante, C) Caldo EC



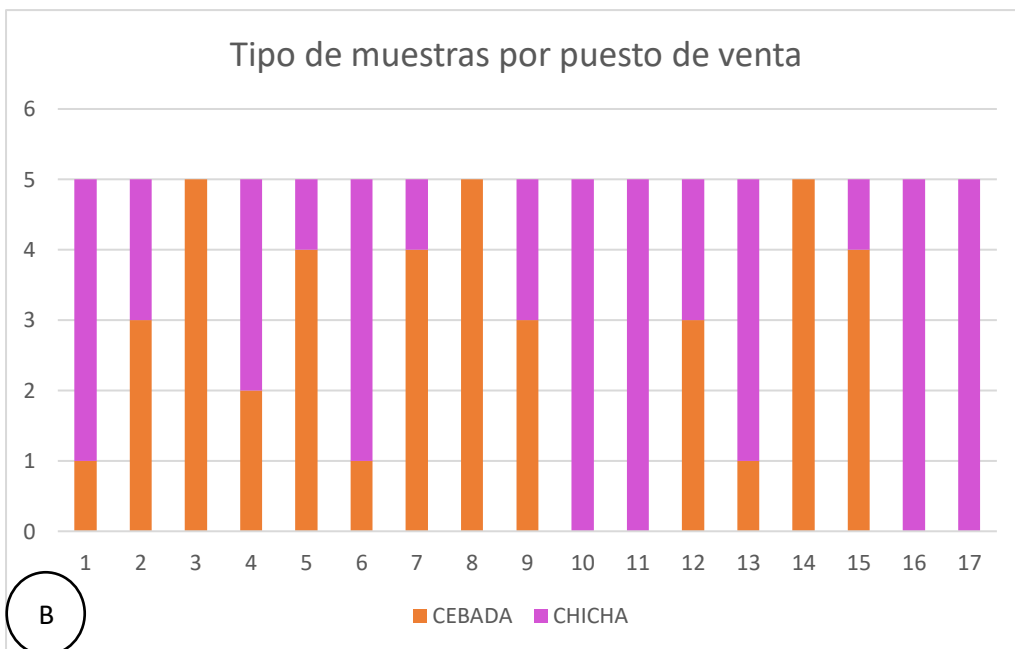
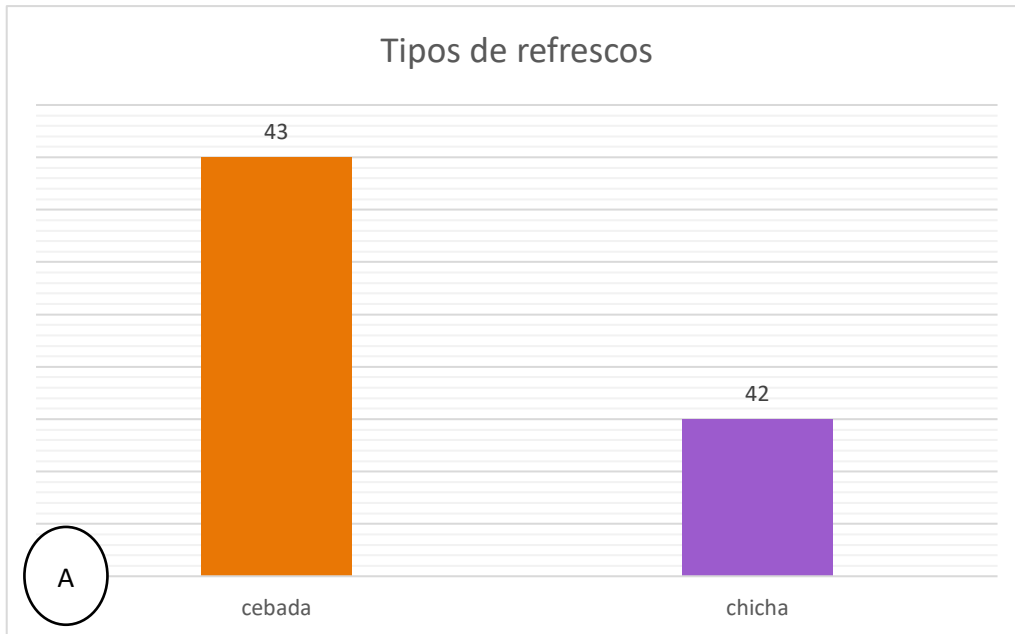
**Fig. 8:** Crecimiento de *E. coli* en: A) Agar MacConkey B) Agar HiCrome



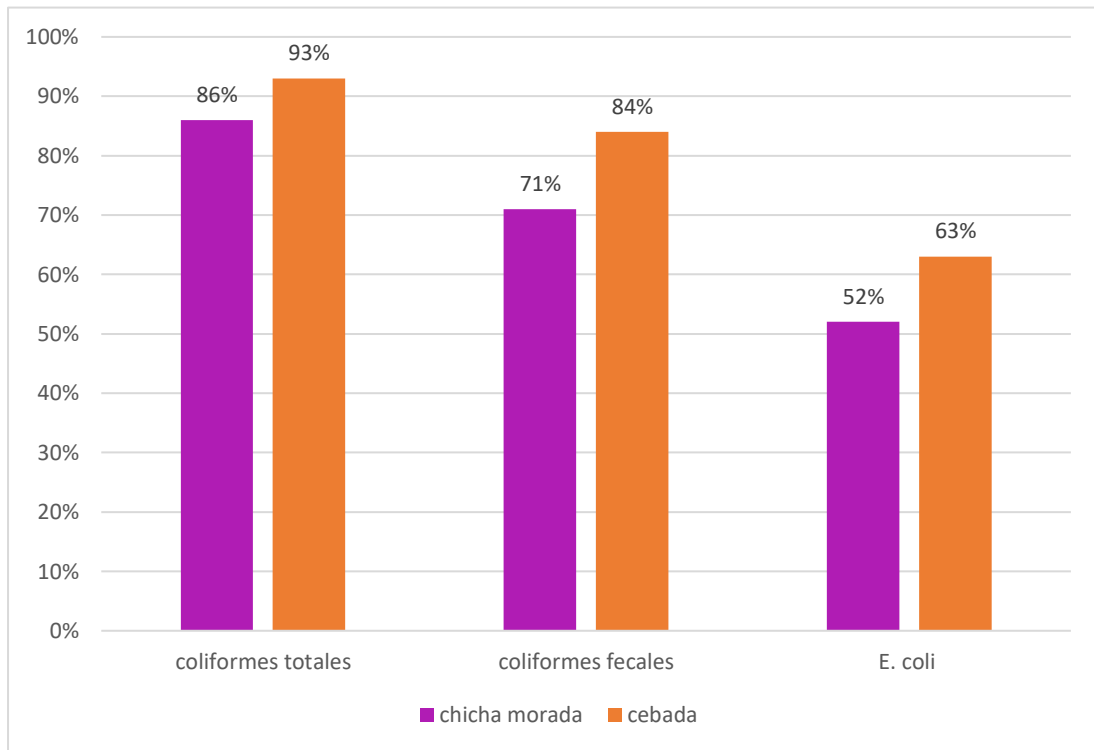
**Fig. 9:** Identificación de *E. coli* por pruebas bioquímicas



**Fig. 10:** *E. coli* bacterias bacilares Gram negativas vistas al microscopio 1 000X



**Fig. 11:** A) Número total de muestras por refresco, B) Tipos de refrescos por puesto de venta



**Fig. 12.** Porcentaje de acuerdo al criterio microbiológico por cada tipo de refresco que expenden el mercado Arenales-Ica.

**Tabla 4.** Cumplimiento de calidad sanitaria de refresco de chicha morada por puesto de expendio en el mercado Arenales-Ica

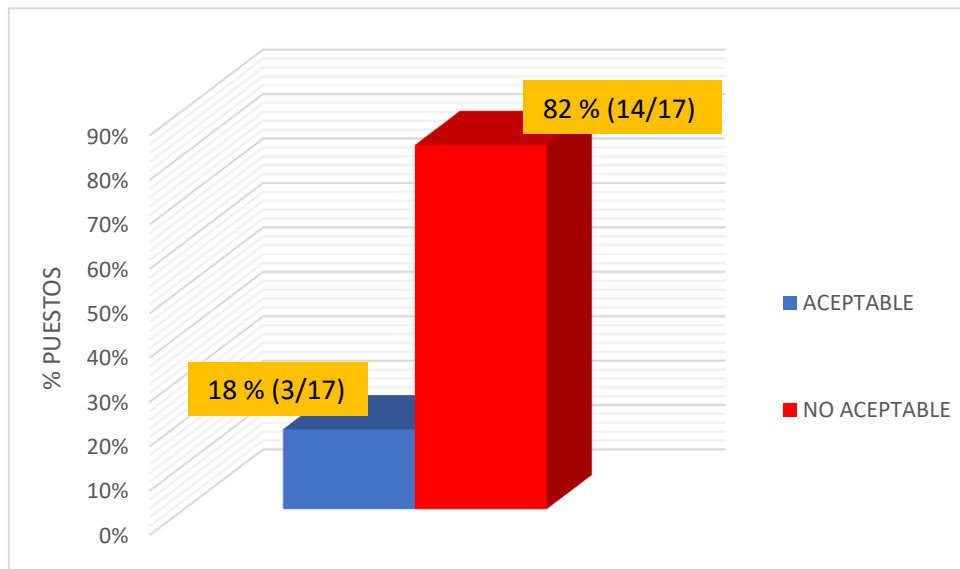
N° puesto	muestras (n)	calidad sanitaria*	
		no cumple	cumplen
		%	%
1	4	100	
2	2	50	50
4	3	100	
5	1	100	
6	4	100	
7	1	100	
9	2	100	
10	5	100	
11	5	40	60
12	3	100	
13	1	100	
15	1	100	
16	5	100	
17	5	60	40

\* coliformes totales <math>10^2</math>, coliformes fecales <math>3</math>, *E. coli* <math>10</math> (Limite permisible por mL)

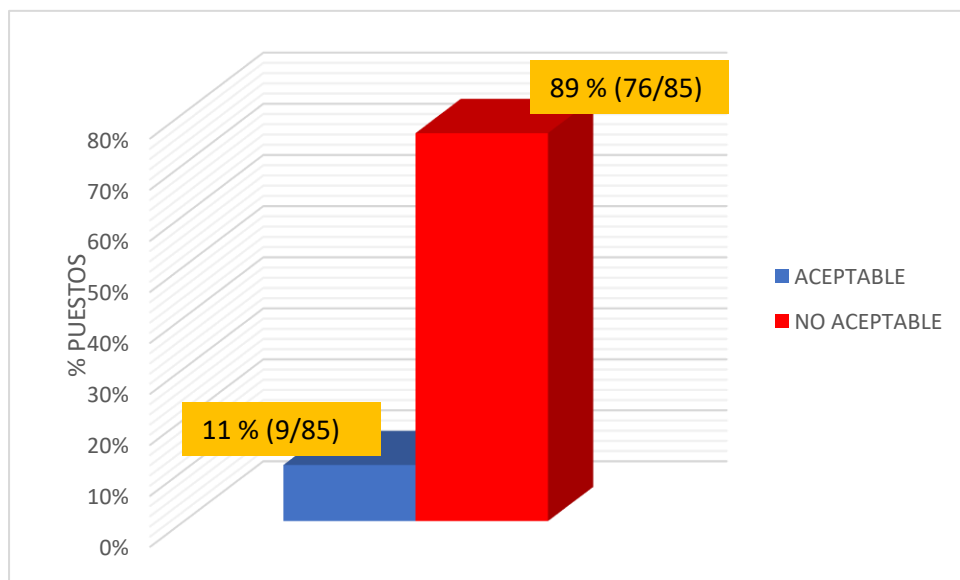
**Tabla 5.** Cumplimiento de calidad sanitaria de refresco de cebada por puesto de expendio en el mercado Arenales-Ica

N° puesto	Muestras (n)	calidad sanitaria*	
		no cumple	cumplen
		%	%
1	1	100	
2	3		100
3	5	100	
4	2	100	
5	4	100	
6	1	100	
7	4	100	
8	5	100	
9	3	100	
12	2	100	
13	4	100	
14	5	100	
15	4	100	

\* coliformes totales <math>10^2</math>, coliformes fecales <math>3</math>, *E. coli* <math>10</math> (Limite permisible por mL)



**Fig. 13.** Porcentaje de puestos de venta que no cumplen con los límites permisible según la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01



**Fig. 14.** Porcentaje de muestras que no cumplen con los límites permisible según la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01

**Tabla 6.** Ficha para muestreo de campo

**N° DE MUESTREO**

FECHA:

<b>N° DE PUESTO DE VENTA</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>REFRESCO</b>	<b>HORA</b>
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 7.** Ficha para llenado de resultados

Fecha	Refresco	N° muestra	N° muestreo	Dilución	coliformes totales	coliformes fecales	<i>E. coli</i>
				10 <sup>-1</sup>			
				10 <sup>-2</sup>			
				10 <sup>-3</sup>			
				10 <sup>-1</sup>			
				10 <sup>-2</sup>			
				10 <sup>-3</sup>			
				10 <sup>-1</sup>			
				10 <sup>-2</sup>			
				10 <sup>-3</sup>			
				10 <sup>-1</sup>			
				10 <sup>-2</sup>			
				10 <sup>-3</sup>			
				10 <sup>-1</sup>			
				10 <sup>-2</sup>			
				10 <sup>-3</sup>			

**Tabla 8.** Numeración de coliformes por el método del número más probable (NMP/mL)

Tubos positivos			NMP/ mL	Tubos positivos			NMP/ mL
0.10	0.01	0.001		0.10	0.01	0.001	
0	0	0	<3.0	2	2	0	21
0	0	1	3.0	2	2	1	28
0	1	0	3.0	2	2	2	35
0	1	1	6.1	2	3	0	29
0	2	0	6.2	2	3	1	36
0	3	0	9.4	3	0	0	23
1	0	0	3.6	3	0	1	38
1	0	1	7.2	3	0	2	64
1	0	2	11	3	1	0	43
1	1	0	7.4	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	3	0	16	3	2	1	150
2	0	0	9.2	3	2	2	210
2	0	1	14	3	2	3	290
2	0	2	20	3	3	0	240
2	1	0	15	3	3	1	460
2	1	1	20	3	3	2	1100
2	1	2	27	3	3	3	>1100

**Fuente:** Manual de Análisis Microbiológicos de Alimentos (DIGESA)

**Tabla 9.** NTS N°071-MINSA/DIGESA-V01

15. COMIDAD PREPARADAS						
15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesa, salsa de papa huancaína, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas, mixtas, palta rellena, sándwiches, ceviche, postre, refrescos, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus.</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----

**Donde:**

- **“n” (minúscula):** Número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis, que se eligen separada e independientemente, de acuerdo a normas nacionales o internacionales referidas a alimentos y bebidas apropiadas para fines microbiológicos.
- **“c” (mayúscula):** Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o unidades de muestra provisionalmente aceptables en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a “c” se rechaza el lote
- **m (minúscula):** Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a “m”, representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes rechazables en un plan de muestreo de 2 clases.
- **M (mayúscula):** Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

Fuente: Norma Técnica Sanitaria - Dirección General de Salud (DIGESA)