



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

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

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

**PRESENCIA DE CARGA BACTERIANA EN JUGOS DE
NARANJA QUE SE COMERCIALIZAN EN EL MERCADO
MODELO DE ICA, 2019**

AUTOR:

Bach. Rojas Aburto Esther Marilú

ICA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A mis padres, Fortunato e Ynes por su apoyo incondicional, sus consejos, su amor y lucha constante. A ellos mi eterno agradecimiento por la dicha de ser su hija, convirtiéndose en el principal soporte de toda mi carrera universitaria hasta convertirme en un profesional Químico Farmacéutico.

AGRADECIMIENTO

A dios por bendecirme y guiarme siempre, quien no me ha dejado caer en todos estos años de estudio.

A la facultad de Farmacia y Bioquímica, por darnos una plana docente de calidad. Gracias por prepararnos para nuestra carrera.

INDICE

	Pág.
CARATULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN	x
CAPÍTULO I– PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción de la realidad problemática	12
1.2. Formulación del problema	13
Problema General	13
Problemas Específicos	13
1.3 Justificación e Importancia	13
1.4 Objetivos de la investigación	14
Objetivo General	14
Objetivos Específicos	14
1.5 Hipótesis y Variables	15
Operacionalización de variables	16
CAPÍTULO II– BASES TEÓRICAS	
2.1 Antecedentes de la investigación	17
2.2 Marco teórico	18
2.3 Marco conceptual	21

CAPITULO III – METODOLOGÍA	
3.1. Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación	23
Tipo de Investigación	23
Nivel de Investigación	23
Diseño de Investigación	23
3.2. Población y Muestra	23
Población de estudio	23
Muestra de estudio	24
3.3. Técnicas y procedimiento de recolección de datos	24
3.4. Técnica de procesamiento y análisis de datos	25
3.5. Aspectos éticos	35
CAPÍTULO IV – RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. Resultados	36
4.2. Discusión	38
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	43
FUENTES DE INFORMACIÓN	44
ANEXO	49
Matriz de consistencia	50

RESUMEN

Objetivo: Determinar la presencia de microorganismos bacterianos en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019. Metodología: El estudio se realizó mediante un enfoque básico, descriptivo no experimental. La población estuvo constituida por 4 puestos de venta de jugo de naranja del Mercado Modelo de la ciudad de Ica. Se evaluaron 4 muestras de jugo de naranja seleccionados de diferentes puestos de venta al azar. Se incluyó a los jugos de naranja no pasteurizados. Se recolectaron las muestras y fueron transportados al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, para el procesamiento de las muestras se utilizó la técnica de tubos de fermentación múltiple del número más probable (NMP), para la determinación de Coliformes Totales se utilizó como medio de cultivo Caldo Lactosado Bilis Verde Brillante y para la identificación de Escherichia coli, Staphylococcus aureus se realizó la siembra en los siguientes medios de cultivo: Agar Mac Conkey, Agar lisina Hierro, Agar Triple Azúcar Hierro, Agar Citrato Simmons, Medio RM-VP; Agar Manitol Hipertónico respectivamente. Resultados: Los resultados obtenidos fueron comparados conforme a la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071 - MINS/DIGESA - V.01: en el recuento de la Técnica de tubos de fermentación múltiple del NMP se observó que dos de las muestras presentaron bacterias coliformes totales superiores a los límites mínimos permisibles. Asimismo, se encontró la presencia de Escheria coli y Staphylococcus aureus.

Conclusiones: Las muestras analizadas dos de ellas presentaron elevados recuentos en Coliformes Totales y Escherichia Coli a diferencia del Staphylococcus aureus que se identificó en una muestra, no aptos para el consumo humano de acuerdo a la Norma Técnica Sanitaria.

Palabras claves: NMP, coliformes totales, carga bacteriana, staphylococcus aureus, escherichia coli.

ABSTRACT

Objective: To determine the presence of bacterial microorganisms in the orange juice that is marketed in the Ica Model Market in 2019. Methodology: The study was conducted using a basic, descriptive approach does not experiment. The population consisted of 4 stalls selling orange juice at the Mercado Modelo in the city of Ica. 4 samples of orange juice selected from different stalls were randomly evaluated. Unpasteurized orange juices were included. The samples were collected and transported to the Microbiology laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the San Luis Gonzaga National University of Ica, for the processing of the samples the technique of multiple fermentation tubes of the most probable number (MPN) was used. , for the determination of Total Coliforms, the culture medium was used as Brilliant Green Bile Lactose Broth and for the identification of Escherichia coli, Staphylococcus aureus, the sowing was carried out in the following culture media: Mac Conkey Agar, Iron Lysine Agar, Triple Sugar Agar Iron, Simmons Citrate Agar, RM-VP Medium; Hypertonic Mannitol Agar respectively. Results: The results obtained were compared according to the Sanitary Technical Standard NTS N ° 071 - MINSA / DIGESA - V.01: in the count of the Multiple Fermentation Tube Technique of the NMP it was observed that two of the samples presented total coliform bacteria higher than the minimum permissible limits. Likewise, the presence of Escheria coli and Staphylococcus aureus was found.

Conclusions: The samples analyzed, two of them presented high counts in Total Coliforms and Escherichia Coli, unlike Staphylococcus aureus that was identified in a sample, not suitable for human consumption according to the Sanitary Technical Standard.

Keywords: NMP, total coliforms, bacterial load, staphylococcus aureus, escherichia coli.

INTRODUCCIÓN

El jugo (zumo) de fruta ha sido definido por el Codex Alimentario como el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el brote de un número significativo de enfermedades transmitidas por los alimentos muestra que los alimentos peligrosos son un problema de salud pública mundial. La revisión bibliográfica ha permitido verificar el estado actual de las investigaciones con respecto al tema, entre ellos: Galarza (1) evaluó alimentos sin tratamiento térmico (jugo de frutas, sandía, rodajas de piña) en las calles del Cercado de Lima reportando un 100% de coliformes totales, el 30% está fuera del límite permitido y el 70% está dentro del límite máximo permitido por la Norma Técnica de Salud; Escobar y Rodríguez (2) evaluaron los jugos comercializados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador en Argentina, encontrando que el 100% de las muestras presentaron *Escherichia coli*, el 87.50% presentaron *Salmonella spp.*, estos porcentajes de muestras exceden los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano; García y Rodríguez (3) realizaron la determinación de indicadores de contaminación e identificación de levaduras aisladas a partir de jugos y refrescos naturales hallando que en aquellos jugos de frutas pasteurizadas la carga bacteriana fue menor a los no pasteurizados tanto en coliformes como en levaduras; Flores (4) halló que las frutas de *Citrus sinensis* (naranja) evaluadas en los mercados de Puno y Juliaca

superan en 100.00% los límites establecidos (límite permisible =102 -103) de *Escherichia coli*. Ante esta situación, en este estudio se propuso cumplir con el objetivo de Determinar la presencia de microorganismos bacterianos en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática:

Una de las formas de elaboración del jugo de naranja es de forma manual, donde muchas veces se observa que los manipuladores desconocen de las buenas prácticas de manipulación constituyendo un riesgo de contaminación del producto que puede causar daños al consumidor, debido a que estos jugos son susceptibles a una contaminación microbiana, ya que su base es agua en un 75%-95%, además de contener ciertos carbohidratos que pertenecen a la fruta, vitaminas y minerales, lo cual hace un medio idóneo para el crecimiento de microorganismos patógenos donde principalmente la contaminación de estos alimentos se da a través de las malas prácticas de higiene por parte del manipulador o manipulación y conservación inadecuada, constituyendo una problemática de salud en los consumidores.

Ante la falta de estudios rigurosos, se plantea el objetivo de determinar la presencia de microorganismos bacterianos en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

1.2. Formulación del problema:

1.2.1. Problema general

¿Cuál será la carga bacteriana que se podrá encontrar en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?

1.2.2 Problemas específicos:

Problema específico 1

¿Existirá presencia de Coliformes totales en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?

Problema específico 2

¿Existirá presencia de Escherichia coli en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?

Problema específico 3

¿Existirá presencia de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?

1.3. Justificación e importancia

En este trabajo se pretende obtener conocimientos nuevos que aporten al mejoramiento de la calidad del servicio y satisfacción del consumidor, los cuales podrían dar lugar a evaluar periódicamente este problema. A nivel social, el aporte de este trabajo radica en que se beneficiarán a los consumidores del servicio, los que tendrán la posibilidad de adquirir jugos saludables.

El beneficio de este estudio consiste en alertar a los consumidores sobre la calidad microbiológica del jugo de naranja natural expendidos en los puestos de venta y a optimizar la calidad de ellos.

1.4. Objetivos de la investigación:

1.4.1 Objetivo general:

Determinar la presencia de microorganismos bacterianos en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

1.4.2 Objetivos específicos:

Objetivo específico 1

Determinar la presencia de Coliformes totales en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

Objetivo específico 2

Determinar la presencia de Escherichia coli en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

Objetivo específico 3

Determinar la presencia de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

1.5 Hipótesis y variables:

1.5.1 Hipótesis de investigación:

Hipótesis general:

Existe presencia de microorganismos bacterianos por encima del límite mínimo permisible en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

Hipótesis específicas:

Hipótesis específica 1

Existe presencia significativa de Coliformes totales en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

Hipótesis específica 2

Existe presencia significativa de Escherichia coli en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

Hipótesis específica 3

Existe presencia significativa de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.

1.5.2 Variables de estudio

Variable dependiente:

Carga bacteriana.

Variable independiente:

Jugo de naranja.

1.5.3 Operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
VARIABLE INDEPENDIENTE	La percepción de la calidad.	Apariencia/condición, frescura/madurez, sabor/aroma, seguridad.	Razon
Jugo de naranja			
VARIABLE DEPENDIENTE	Conjunto de requisitos microbiológicos que debe reunir el jugo de naranja para ser considerado apto para el consumo humano.	Técnica del NMP/mL de muestra. LIMITE MINIMO PERMISIBLE: 10^{-2} NMP/mL	Razon
Carga Bacteriana			

CAPÍTULO II

BASES TEORICAS

2.1. Antecedentes de la investigación

García y Rodríguez (1). Realizaron la determinación de indicadores de contaminación e identificación de levaduras aisladas a partir de jugos y refrescos naturales que se comercializan en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica, hallaron que en aquellos jugos de frutas pasteurizadas la carga bacteriana fue menor a los no pasteurizados tanto en coliformes como en levaduras, esto debido a que las prácticas de higiene de los manipuladores son deficientes respecto al manejo y elaboración de los jugos naturales.

Escobar y Rodríguez (2). Evaluó la calidad microbiológica de jugos naturales comercializados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador. De acuerdo a sus resultados obtenidos con la lista de chequeo, identificaron que los puestos de venta de jugos naturales no cumplen con las condiciones higiénicas mínimas necesarias para la comercialización de jugos naturales en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador. En cuanto a la determinación de *Escherichia coli*, según el método de NMP ninguna de las muestras de jugos naturales de los diferentes puestos situados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador se encuentra dentro de los parámetros permitidos (<3.0 NMP/mL), establecido por el RTCA 67.04.50:08, por lo tanto, estos jugos no son aptos para el consumo humano.

Flores y Morey (3). Analizaron la relación entre la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica en jugos de fruta surtidos de dos mercados de la ciudad de Iquitos 2015, hallando que el número total de muestras analizadas de zumos de frutas de los mercados Belén y central excedió el límite permisible (m) para el número de bacterias mesófilas aerobias y coliformes, microorganismos indicativos de condiciones higiénicas deficientes y el empleo de agua no segura, por tanto, en humanos, no apto para el consumo. La presencia de estos microorganismos patógenos, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*, no fue significativa en las muestras de jugos de frutas surtidas.

Galarza K. (4) evaluó alimentos sin tratamiento térmico (jugo de frutas, sandía, rodajas de piña) en las calles del Cercado de Lima reportando un 100% de coliformes totales, el 30% está fuera del límite permitido y el 70% está dentro del límite máximo permitido por la Normas Técnica de Salud.

2.2. Marco teórico:

En nuestra ciudad, la población consume jugo de naranja fuera del hogar, de forma ambulatoria, de forma ocasional o habitual. Por ello, la manipulación de las naranjas debe ser segura y controlada para no perjudicar al consumidor.

Fuentes de contaminación de los alimentos

Segun Garcinuño (5) en la actualidad se puede decir que vivimos en el mundo microbiano lo que significa que los alimentos son susceptibles a ciertos tipos de contaminación cuando se fabrican y procesan. Por tanto, las principales causas de la contaminación de los alimentos se pueden resumir de la siguiente manera:

- Herramientas y equipo: Se requiere una desinfección regular para evitar la acumulación de residuos y niveles microbianos peligrosos durante la preparación de los alimentos.
- Hombres: Los manipuladores de alimentos son el factor de mayor riesgo de contaminación de los alimentos debido a la exposición constante, por lo que deben seguir los procedimientos de manipulación adecuados, principalmente ropa y vestimenta de trabajo, higiene de manos.
- Insectos, roedores, pájaros: Estos animales se infectan con enfermedades que pueden afectar a los humanos. Por esta razón, es imperativo que se adopte un buen programa de control de plagas. También es importante tener en cuenta que manipuladores de alimentos no deben tener mascotas, ya que pueden portar enfermedades que pueden infectar a los humanos.
- Agua: El agua puede ser portadora de sustancias tóxicas, microorganismos, metales pesados, etc., por lo que es fundamental

que el agua que se utiliza para el procesamiento y manipulación de alimentos sea apta para el consumo humano.

- Medio Ambiente: El aire en el área de tratamiento debe estar lo más limpio posible que pueda proporcionar una buena ventilación y un intercambio de aire constante.
- Materias Primas: Deben ser de alta calidad y cumplir con los requisitos de la ley vigente.

Eley (6) Los alimentos pueden estar contaminados por varios tipos de agentes (físico, químico y biológico) que pueden alterar sus propiedades.

Castillo G. y Gomez E. (7) La contaminación de frutas y verduras con patógenos humanos puede ocurrir en cualquier eslabón de la cadena productiva (producción, cosecha, postcosecha, almacenamiento, procesamiento, distribución y/o preparación). Específicamente, hubo informes de contaminación de frutas y verduras con coliformes fecales (CF) debido a la presencia de heces. Un ejemplo es una bebida no pasteurizada obtenida a partir de productos hortofrutícolas naturales.

Lound y Briend (8) La intoxicación alimentaria es un problema de salud pública en todo el mundo, la mayoría de los cuales es causado por microorganismos de origen microbiano, con alimentos y agua contaminados como fuente de infección. La población más sensible de adquirir esta infección son los ancianos, los niños y los pacientes inmunodeprimidos debido a las débiles defensas de su sistema inmunológico.

Bayona (9) La producción y venta de alimentos (jugo de naranja) en la vía pública es un fenómeno con impactos sociales, observándose problemas de salud, sociales y culturales que afectan a todos los ciudadanos. Sin embargo, las enfermedades transmitidas por los alimentos en la vía pública, como el jugo de naranja que se vende informalmente, son el resultado de una amplia variedad de productos comestibles contaminados con microorganismos patógenos. La prevención de enfermedades causadas por alimentos no inocuos depende de la fuente de la cadena de producción y del manejo cuidadoso.

2.3. Marco conceptual:

Coliformes totales: Grupo de microorganismos que comprende varios bacilos aerobios y anaerobios facultativos. El nombre genérico de coliformes se refiere a un grupo de especies bacterianas con propiedades bioquímicas específicas de importancia general y relativa como indicadores de contaminación del agua y los alimentos.

Escherichia coli: Microorganismo enterobacteriano Gram negativo, anaerobio facultativo, usualmente móvil por flagelos peritricos, que presenta morfología bacilar y fermenta glucosa, lactosa y sacarosa.

Staphylococcus aureus: Bacteria con morfología de cocos en racimos anaerobio-aerobio facultativo, Gram positivo productora de coagulasa y catalasa.

Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA): Se refieren a cualquier enfermedad causada por la ingestión de un alimento contaminado que provoca efectos nocivos en la salud del consumidor.

Carga bacteriana: Número y tipo de microorganismo bacteriano que contamina un producto.

Jugo (zumo) de fruta: Producto obtenido directamente con procedimientos de extracción mecánica.

Jugo contaminado: Jugo que contiene microorganismos como bacterias, virus, hongos, parásitos o toxinas producidas por los microorganismos. También puede estar contaminado por sustancias extrañas como tierra o tóxicas como detergentes o insecticidas.

Calidad microbiológica: Grupo de microorganismos que su presencia indica un manejo inadecuado o contaminación en alimentos, que aumentan el riesgo de desencadenar enfermedades transmitidas por alimentos.

Inocuidad de los alimentos: Es la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se elaboren y/o consuman de acuerdo con el uso al que es destinado.

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

3.1. Tipo, nivel y diseño de investigación.

Tipo de Investigación

Esta investigación es básica, ya que busco el conocimiento de la realidad, para poder contribuir a una sociedad cada vez más avanzada y que responda mejor a los retos de la humanidad.

Nivel de Investigación

El estudio alcanzará un nivel descriptivo, porque como investigador busco describir situaciones y eventos.

Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo no experimental que, según Hernández, Fernández y Baptista, podría definirse como la investigación que se realiza sin manipular deliberadamente variables. De corte Transversal, porque el muestreo se realizó una sola vez y se analizó inmediatamente.

3.2. Población y muestra:

Población de estudio:

Tamayo (2012) señala que la población viene a ser la totalidad de un fenómeno de estudio, que va incluir a la totalidad de unidades de análisis que integran dicho fenómeno y que se va a cuantificar para un determinado estudio integrando un conjunto N de entidades que participan de una

determinada característica. La población está conformada por 4 puestos de venta de jugos de naranja en el mercado modelo de Ica.

Muestra de estudio:

La muestra viene a ser una parte representativa de la población, cuyas características esenciales son las de ser objetiva y reflejo fiel de ella, de tal manera que los resultados obtenidos en la muestra pueden generalizarse a todos los elementos que conforman dicha población (Carrasco, 2006).

Se consideró una muestra por cada puesto de venta.

La recolección de muestra se realizó según el criterio de inclusión y exclusión, por lo que éstas son representativas.

a) Criterios de inclusión

Puestos de venta que comercialicen jugo de naranja sin pasteurizar.

b) Criterios de exclusión

Puestos de venta que comercialicen:

- Jugos surtidos
- Jugos especiales
- Jugos pasteurizados.

3.3. Técnicas y procedimiento de recolección de datos

En este estudio se utilizará la técnica de la observación. Dentro de los tipos de observación se empleará la observación directa simple y la observación indirecta a través de la revisión de diversos documentos de los sujetos de investigación. Los miembros de la muestra serán elegidos al azar.

3.4. Técnica de procesamiento y análisis de datos

3.4.1 Toma de muestra:

Se recolectó las muestras el día 16 de agosto del 2019 en 4 puestos de venta del Mercado Modelo de Ica, utilizando frascos estériles de plástico con tapa rosca, uno para cada muestra. Al realizarse la recolección de muestras se etiquetaron correctamente, en cada lugar donde fueron adquiridas. Los frascos estériles fueron transportados en un recipiente Caja Térmica (Tecnopor) a 5°C. La toma de muestras se realizó por mi persona, tomando en cuenta las precauciones de asepsia en todo momento y revisando las condiciones adecuadas de temperatura y humedad. Las muestras se transportaron al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

A cada una de las muestras se le colocó una etiqueta, con los datos completos para su correcta identificación:

- Fecha
- Lugar de muestreo
- Hora de muestreo

3.4.2. Procesamiento de muestra:

La muestra fue homogenizada con un instrumento estéril en el mismo recipiente donde llegó. Luego fue diluida a tres diferentes concentraciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} para ello el diluyente fue el agua destilada.

- ✓ Dilución 10-1: se midió asépticamente 10 mL de la muestra y se agregó al frasco de vidrio de 250 mL y se le adicionó 90 mL de solución diluyente estéril (agua destilada). Se agito para homogenizar.
- ✓ Dilución 10-2: de la dilución anterior, se toma una alícuota de 1 mL con una pipeta estéril y se transfiere a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de solución diluyente estéril. Se agito para homogenizar.
- ✓ Dilución 10-3: de la dilución 10-2 se toma una alícuota de 1mL utilizando una pipeta estéril y se transfiere a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de agua destilada y también se agito para homogenizar.

Determinación de microorganismos coliformes totales:

Para el análisis de coliformes totales utilice la técnica de tubos de fermentación múltiple (dilución en tubo) del número más probable (NMP). Este método se basa en que las bacterias coliformes totales fermentan la lactosa incubada a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 h, resultando en la producción de gas y ácidos, el cual se manifiesta en las campanas de fermentación utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares.

Se utilizó como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante, por ser selectivo solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante.

PREPARACIÓN DEL CALDO BRILA (VERDE-BRILLANTE-BILIS-LACTOSA)

De acuerdo a las especificaciones técnicas del proveedor se realizaron los cálculos correspondientes. Se suspendió 14, 04g del polvo en 360ml de agua destilada, disolver y calentar a 100°C durante 30 minutos. Distribuir en tubos de 10 x 150mm agregar la cantidad de muestra respectiva y colocar la campanita de Durham.

En la presente tabla se presenta a detalle el proceso que se realizó con cada muestra. Incubar a 35 +- 1°C por 48h.

NUMERO DE TUBOS	DILUCION DE MUESTRA	VOLUMEN DE LA MUESTRA	VOLUMEN DEL MEDIO	CONCENTRACION DEL MEDIO
3	10 ⁻¹	1mL	10mL	Simple
3	10 ⁻²	1mL	10mL	Simple
3	10 ⁻³	1mL	10mL	Simple

PREPARACIÓN DEL AGAR MAC CONKEY

El agar Mac Conkey fue preparado de acuerdo a las instrucciones del fabricante con agua destilada, se calentó para disolver. Se midió el pH con el potenciómetro, el valor de la medición estuvo entre 6.9-7.3. Se llevó a Autoclave a 121°C durante 15 minutos, luego se llevó a baño María a 45°C. Se comenzó el plaqueo por duplicado con cada una de las diluciones decimales. Se tomó 1mL de cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) y se inoculó por duplicado en las placas Petri conteniendo el Agar Mac Conkey por siembra en superficie. Posteriormente todas las placas se incubaron a 36 +/- 1°C durante un periodo de 24 horas.

Identificación bioquímica de Escherichia coli

A partir de las colonias aisladas lactosa positiva se sembraron en los siguientes medios:

➤ **Agar lisina hierro (LIA)**

Se suspendió 0,56g en 16mL de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar agitando con frecuencia y hervir durante 1 minuto hasta la disolución completa. Se distribuye en tubos y se procede a esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Enfriar y dejar solidificar en posición inclinada (pico de flauta profundo)

A partir de un cultivo del microorganismo en estudio y mediante el uso de aguja de inoculación, inoculamos en el medio de cultivo, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del mismo. Incubar a 36°C por 24h.

Para poder interpretar los resultados: observamos el color del medio de cultivo.

- Descarboxilación de lisina:

Resultado positivo: Superficie alcalina/profundidad alcalina. (Pico violeta/fondo violeta).

Resultado negativo: Superficie alcalina/profundidad ácida. (Pico violeta/fondo amarillo).

- Desaminación de lisina:

Resultado positivo: Superficie roja/profundidad ácida.

- Producción de SH₂:

Resultado positivo: Ennegrecimiento del medio de cultivo (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad).

Resultado negativo: El medio de cultivo permanece sin cambio de color.

➤ **Agar triple azúcar hierro (TSI)**

Se suspendió 1g en 16mL de agua purificada. Dejamos reposar por 5 minutos. Mezclamos bien, calentamos con agitación continua y hervir durante 2 minutos hasta su disolución total, realizando la distribución en tubos, llenándolos con un volumen que ocupa hasta la tercera parte de los mismos. Procedimos a esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

Enfriamos y dejamos que el agar se solidifique en pico de flauta profundo. Una vez aislado el cultivo puro del microorganismo en estudio, con aguja de inoculación, inoculamos en el medio de cultivo, picando el fondo y extendiéndose sobre la superficie del mismo. Incubar a 36°C durante 24 horas.

Para la interpretación del resultado, observamos si el medio de cultivo cambia de color y la producción de gas.

- Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo): Quiere decir que el microorganismo solamente fermenta la glucosa.
- Superficie ácida/profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): Al observar este cambio de color en el medio de cultivo quiere decir que este tipo de microorganismo fermenta lactosa, glucosa y/o sacarosa.
- Superficie alcalina/profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): El microorganismo es no fermenta ningún tipo de azúcares.
- Al observar la presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.

➤ **Medio RM-VP**

Se suspendió 0,40g del polvo en 24mL de agua purificada. Dejamos reposar por 5 minutos. Calentamos con agitación frecuente y llevamos a ebullición para disolución total. Distribuimos en tubos y esterilizamos en autoclave a 121°C durante 15 minutos. La siembra se realiza por

inoculación directa a partir del cultivo en estudio. Incubar a 36°C durante 48 horas.

Examinamos los tubos para poder revelar las pruebas bioquímicas:

PRUEBA DEL ROJO METILO: Añadimos 2 gotas de la solución de rojo de metilo al 0,04%, observamos el color del medio.

Resultado positivo: Si se forma el color rojo.

Resultado negativo: Color amarillo.

PRUEBA DEL VOGES PROSKAUER: Añadir 0,6 mL de afta naftol al 5% en alcohol etílico y 0,2 mL de hidróxido de potasio al 40% en 2,5mL de cultivo.

Agitamos vigorosamente el tubo y dejamos a temperatura ambiente durante 15 minutos. Observar el color de la superficie del medio.

Resultado positivo: Si se observa la presencia de un color rojo en pocos minutos después de una agitación completa del tubo.

Resultado negativo: Ausencia de color rojo.

➤ **Agar citrato de simmons**

Se suspendió 0,4g del polvo en 16mL de agua purificada. Dejamos reposar por 5 minutos. Calentamos con agitación continua hasta llevar a ebullición durante 2 minutos para que pueda disolverse totalmente. Distribuimos en tubos y esterilizamos en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriamos y dejamos solidificar en posición inclinada (pico de flauta). Sembrar

estriando la superficie del medio de cultivo. Incubar a 36°C durante 24 horas.

Interpretación de resultados:

Positivo: Crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta.

Negativo: Ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo.

Determinación de *Sthaphylococcus aureus*

AGAR MANITOL HIPERTONICO

La preparación del medio se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se inició el plaqueo por duplicado de las diluciones decimales. Se tomó 1 mL de cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) y se inoculó por duplicado en las placas Petri conteniendo el Agar Manitol Hipertónico por siembra en superficie. Posteriormente todas las placas se incubaron a 36 +/- 1°C durante un periodo de 24 horas.

PRUEBAS DIFERENCIALES:

Catalasa:

En una lámina porta objeto se colocó una gota de peróxido de hidrogeno y se incorporó una colonia, la bacteria reaccionó originando la liberación de burbujas, que es característico cuando se da la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Reacción positiva.

Oxidasa:

Con el uso del asa bacteriológica se toma una muestra bacteriana a partir de una colonia aislada proveniente de un cultivo de 24h.

Al ponerse en contacto la muestra con la tira de papel filtro impregnado el reactivo de KOVACS, se observa una coloración morada en un periodo no mayor de 30segundos (positivo).

Coagulasa:

Para realizar esta prueba se utilizó el plasma sanguíneo, se introdujo 2ml en un tubo de ensayo, empleando el asa bacteriológica, inocular la colonia del microorganismo en estudio. Incubar a 37°C, observando cada 15 minutos tras incubación de 4h, pero si es negativa debe incubarse hasta 24h.

Resultado positivo: Coagulación del plasma.

Resultado negativo: El plasma permanece líquido.

3.4.3 Técnicas de análisis e interpretación:

Los datos obtenidos se pasaron a cuadros con el fin de obtener la variabilidad de resultados obtenidos en las 4 muestras de jugo de naranja de los puestos de venta que se comercializaron en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019, estos valores serán comparados con los valores estándares establecidos por la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y

bebidas de consumo humano (R. M. N° 591-2008/MINSA) para el caso de Coliformes Totales, para ello se utilizó el método del número más probable que consiste de una prueba presuntiva y confirmativa. La serie de tres tubos generalmente se utiliza para la mayoría de los alimentos. El resultado positivo se demuestra por la presencia de gas y/o crecimiento microbiano propiedad de microorganismos coliformes para producir gas a partir de la fermentación de lactosa dentro de las 48 horas de incubación a 35 ± 1 °C.

Las muestras analizadas 1 y 3 del Mercado Modelo de Ica, resultaron positivos a la presencia de coliformes totales. En el recuento de los coliformes presento valores que varían entre 43 y 210 NMP/mL, siendo el límite mínimo permisible 100 NMP/mL.

En cuanto a la lectura de las placas de siembra del Agar Mac Conkey se observó la presencia de colonias rojas fermentadores de lactosa, lo cual son características de las enterobacterias.

Para ello se realizaron pruebas bioquímicas diferenciales para confirmar la presencia de *Escherichia coli*, en agar LIA, TSI, Citrato, RM-VP, resultando positivos las muestras 1 y 3, los cuales concuerdan con los resultados positivos en el recuento de coliformes totales.

La lectura de la siembra en Agar Manitol Hipertónico se realizó con la finalidad de aislar el crecimiento de *Staphylococcus*, transcurrido las 48 horas después de la siembra, se observó colonias amarillas que es indicativo de presencia de microorganismos, para ello se realizaron pruebas específicas de Catalasa, Coagulasa, Oxidasa; resultando positivo

la M3, confirmando la presencia de Staphylococcus Aureus productores de coagulasa y catalasa.

3.5. Aspecto ético:

Todo el proceso del análisis microbiológico se realizará en estricta confidencialidad y de exclusivo manejo por el investigador. La toma de la muestra será de forma anónima. Se colocará a disposición en la biblioteca de la facultad para que sirva como antecedente de una investigación, con la finalidad de continuar con el estudio y abarcar más en el tema.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Resultados

Resultados de las pruebas para determinar el número más probable de las muestras de jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica colectadas y procesadas el 16 de agosto del 2019. El método del NMP es un método estadístico con una confiabilidad de 95%. Se presentan en una sola tabla el resultado de las 4 muestras analizadas.

CUADRO N° 1

Código de muestras	Número característico	NMP/mL	Límite mínimo permisible/mL	Observaciones
M1	3,2,1	150	100	Inaceptable
M2	3,1,1	70	100	Aceptable
M3	3,2,2	210	100	Inaceptable
M4	3,2,0	90	100	Aceptable

NMP: Numero Más Probable

RESULTADOS POSITIVOS/NEGATIVOS DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Escherichia coli*.

CUADRO N°2

CODIGO DE MUESTRA	PRUEBAS BIOQUIMICAS						
	TSI	RM	LIA			CITRATO	VP
M1	POSITIVO	POSITIVO	PRODUCCION DE HS ₂	DESAMINACION DE LISINA	DESCARBOXILACION DE LISINA	NEGATIVO	NEGATIVO
			NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO		
M2	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
M3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
M4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

RESULTADO POSITIVO/NEGATIVO DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA
Staphylococcus aureus.

CUADRO N°3

CODIGO DE MUESTRA	OXIDASA	CATALASA	COAGULASA
M1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
M2	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
M3	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
M4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

4.2. Discusión de resultados:

El estudio se realizó mediante un enfoque básico, descriptivo no experimental. La población estuvo constituida por 4 puestos de venta de jugo de naranja del Mercado Modelo de la ciudad de Ica, de la que se extrajo una muestra de jugo de naranja no pasteurizado por cada puesto de venta.

El crecimiento de coliformes totales se halló en 50% de las muestras analizadas donde se encontraron por encima de los límites mínimos permisibles 100 NMP/mL, este resultados es similar al estudio realizado por Galarza (1) evaluó alimentos sin tratamiento térmico (jugo de frutas, sandía, rodajas de piña) en las calles del Cercado de Lima reportando un 100% de coliformes totales, el 30% está fuera del límite permitido y el 70% está dentro del límite máximo permitido por la Norma Técnica de Salud; así mismo, García y Rodríguez (3) realizaron la determinación de indicadores de contaminación e identificación de levaduras aisladas a partir de jugos y refrescos naturales hallando que en aquellos jugos de frutas pasteurizadas la carga bacteriana fue menor a los no pasteurizados tanto en coliformes como en levaduras. La presencia de estas bacterias se debe a la utilización de agua no segura lo cual es un vehículo de transmisión de microorganismos, como también el uso continuo del agua tanto en el lavado de las frutas y la mano del manipulador, también se constató que actualmente no portan la indumentaria adecuada e incluso se observó el uso de aros y relojes que explican la falta de higiene en los procesos de manipulación y/o expendio de estos jugos al consumidor. La OMS (2015), corrobora con esta acepción, asegurando que la mayoría de las ETAs, son ocasionados por una manipulación inadecuada de los alimentos y que no todos los manipuladores entienden la importancia de adoptar prácticas básicas de higiene al momento de preparar cualquier tipo de alimento, así mismo lo explica el MINSA (2003) en el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de abasto.

El crecimiento de *Escherichia coli* se reportó en el 50% del total de muestras, este estudio es similar al estudio realizado por Flores (4) halló que las frutas de *Citrus sinensis* (naranja) evaluadas en los mercados de Puno y Juliaca superan en 100.00% los límites establecidos (límite permisible =102 -103) de *Escherichia coli*.

Se halló *Staphylococcus aureus* en las muestras que representan el 25% del total de ellas; esto se relaciona con la contaminación ocasionada por parte del manipulador ya sea por mala higiene o como portador de la bacteria. Respecto a esto, Kishimoto et al. (2004) expone que la presencia de *S. aureus* se encuentra en las manos de los manipuladores de los alimentos y el INS (2011) que la presencia de esta bacteria se debe a la contaminación cruzada y a los manipuladores de los alimentos.

En cuanto a la persona que comercializa este tipo de alimentos, se encontró que el 50% de las personas que elaboran los jugos de naranja tienen las uñas pintadas, portan pulseras y no se lavan adecuadamente las manos y el 100% no emplean la vestimenta reglamentaria completa y no hacen el uso correcto de ello, que es lo contrario a lo que establece en los artículos 19 y 20 del Reglamento Sanitario De Funcionamiento De Mercados De Abasto (Resolución Ministerial N° 282-2003-Sa/Dm) - Minsa (2003) que indica que todo personal que manipula los alimentos debe portar indumentaria de colores blancos o claros ya que se observó que algunos de los puestos portan indumentaria de otro color y que debe estar libre de cualquier tipo de accesorios en las manos. Así como también en cuanto a los ambientes, enseres e implementación el 50 % tienen los tachos de

basura sin tapa, datos que se contradicen a lo establecido en el artículo 41 del reglamento antes mencionado; el mismo que estipula que los residuos se deberán depositar en recipientes de fácil limpieza y con una bolsa de plástico en el interior.

CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia de microorganismos bacterianos por encima de los límites mínimos permisibles en los jugos de naranja que se comercializan en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019, en un 50% del total de muestras analizadas.
- Se determinó la presencia de coliformes totales en los jugos de naranja adquiridos, sin embargo, un 50% se consideran inaceptables para el consumo humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA-V.01).
- Del total de muestras analizadas se determinó que un 50% fueron *Escherichia coli*, microorganismos bacterianos que indican condiciones higiénicas inadecuadas, así como el empleo de agua no segura.
- La presencia de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, se determinó en un 25% del total de muestras analizadas de jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica.

RECOMENDACIONES

- Realizar la vigilancia higiénica sanitaria las municipalidades correspondientes de los mercados de abasto a través de sus autoridades y funcionarios, DIGESA y otros, para garantizar la calidad de los productos que se comercializan en el Mercado Modelo de Ica, ya que en la actualidad no están cumpliendo con esta normativa.
- Informar mediante trípticos, charlas las buenas prácticas de higiene y manipulación, para disminuir la presencia de *Escherichia coli* en los alimentos.
- Capacitar a las personas que comercializan este tipo de alimento sobre las buenas prácticas de manipulación de alimentos, ya que somos portadores de estos microorganismos.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Escobar E. Rodríguez K. Calidad microbiológica de jugos naturales comercializados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador. [Trabajo de graduación para optar al grado de licenciado(a) en química y farmacia]. [San Salvador, el Salvador, Centro América]. Universidad de El Salvador, 2016. [citado 06 de abril del 2019]. Recuperado a partir de: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/12948/1/16103693.pdf>
2. García G. Rodríguez M. Determinación de indicadores de contaminación e identificación de levaduras aisladas a partir de jugos y refrescos naturales que se comercializan en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica. [Trabajo final de graduación para optar el grado de licenciatura en microbiología y química clínica]. [Costa Rica]. Universidad de Costa Rica, 2015. [citado 06 de abril del 2019]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/4519/1/39042.pdf>
3. Flores M. Morey S. Relación entre la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica en jugos de frutas surtidos de dos mercados de la ciudad de Iquitos, 2015. [Trabajo final de carrera para optar el título profesional de licenciado en bromatología y nutrición humana]. [Iquitos - Perú]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2016. [citado 16 de abril del 2019]. Recuperado a partir de:

https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4109/Miguel_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

4. Flores E. Contaminación microbiológica por escherichia coli y salmonella sp. en citrus sinensis (naranja) y solanum lycopersicum (tomate) en las ciudades de Puno y Juliaca, 2018. [Tesis para optar el título profesional de licenciado en biología]. [Puno - Perú]. Universidad Nacional del Altiplano de Puno, 2019. [citado 16 de abril del 2019]. Recuperado a partir de: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11666/Flores_AduviriErika.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Galarza K. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del Cercado de Lima entre mayo 2017 y junio 2018. [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico]. [Lima - Perú]. Universidad Norbert Wiener, 2018. [citado 26 de agosto del 2019]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2656/TESIS%20%20Galarza%20Katherine.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Ministerio de Salud (MINSa). Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto. Diario El Peruano. 27 de Junio del 2003. Normas Legales (ANEXO – RESOLUCIÓN MINISTERIAL Nº 282-2003-SA/DM). [Consultado 26 de junio del 2019]; 246762– 246778 pág. Disponible en:

<https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/254256-282-2003-sa-dm>

7. Ministerio de Salud (MINSA). Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano (NTS N° 071 – MINSA/DIGESA – V.01). [Consultado 01 de julio del 2019]; 2-6. Disponible en:
https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf
8. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Manual de Bioseguridad en el Laboratorio: Ginebra. Tercera Edición. 2005. [Citado 21 de abril del 2019]. Disponible en:
https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
9. CODEX ALIMENTARIUS. Norma General del CODEX para Zumos (Jugos) y Néctares de Frutas (CODEX STAN 247-2005). 1-7. [Citado 17 de abril del 2019]. Disponible en:
http://www.fao.org/input/download/standards/10154/CXS_247s.pdf
10. Moreiras y col. 2013. Orange (citrus sinensis) Tablas de Composición de Alimentos. [Citado 23 de abril del 2019]; 287-288. Disponible en: <http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/naranja.pdf>
11. Roberto Calderón, Juan Diego Jácome, Michael Reyes, Danny Rojas y Lenin J. Ramírez Cando. Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los

alrededores de la universidad politécnica salesiana-sede quito, campus “el girón”. LA GRANJA: Revista de Ciencias de la Vida 25(1) 2017[Citado 23 de abril del 2019]; 71-84. Disponible en: <http://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.07>

12. Guadalupe Socorro Zendejas-Manzo, Héctor Avalos-Flores, Marisela Yadira Soto-Padilla. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed 2014. [Citado 14 de abril del 2019]; 25:129-143. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

13. Silvia Campuzano, Dayana Mejía Flórez, Catalina Madero Ibarra, Paola Pabón Sánchez. Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. NOVA. 2015; 13 (23) [Citado 05 de abril del 2019]; 81-92. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>

14. Bayona R., Martin A. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública de un sector del norte de Bogotá. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 12 (2): 9-17, 2009. [Citado 05 de abril del 2019] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v12n2/v12n2a02.pdf>

15. Rosa Garcinuño. Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento. [Citado 23 de abril del 2019].

Disponible

en:

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4696799.pdf>

16. Lund M., Briend J. Patógenos y enfermedades transmitidos por los alimentos. Vol. 8, N° 9
17. Catillo G. y Gomez E. Salmonella y Shigella en naranja recién exprimida. Revista de protección alimentaria, 69 (2006)
18. Eley A. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Acribia. España. 1994

ANEXO

ANEXO 01
MATRIZ DE CONSISTENCIA

Presencia de carga bacteriana en jugos de naranja que se comercializan en el Mercado Modelo de Ica.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA	METODOLOGIA
¿Cuál será la carga bacteriana que se podrá encontrar en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?	Determinar la presencia de microorganismos bacterianos en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Existe presencia de microorganismos bacterianos por encima del límite mínimo permisible en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Variable Dependiente: carga bacteriana.	La población y muestra estará conformada por 4 puestos de venta de jugos de naranja en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Tipo de Investigación: Basica o fundamental. Metodo de investigación: Descriptivo. Diseño de la investigación: No experimental.
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICAS			
¿Existirá presencia de Coliformes totales en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019	Determinar la presencia de Coliformes totales en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Existe presencia significativa de Coliformes totales en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Variable Independiente: jugo de naranja.		
¿Existirá presencia de Escherichia coli en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?	Determinar la presencia de Escherichia coli en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Existe presencia significativa de Escherichia coli en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.			
¿Existirá presencia de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja adquirido en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019?	Determinar la presencia de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.	Existe presencia significativa de Staphylococcus aureus en el jugo de naranja que se comercializa en el Mercado Modelo de Ica en el año 2019.			

ANEXO 0.2

NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) DE BACTERIAS, SEMBRANDO TRES TUBOS POR CADA DILUCIÓN

No. de tubos Positivos en cada dilución			NMP/g ó ml	Límites de confianza			
Diluciones 10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		Infer. 99%	Super.	Infer. 95%	Super.
0	1	0	3	<1	23	<1	17
1	0	0	4	<1	28	1	21
1	0	1	7	1	35	2	27
1	1	0	7	1	36	2	28
1	2	0	11	2	44	4	35
2	0	0	9	1	50	2	38
2	0	1	14	3	62	5	48
2	1	0	15	3	65	5	50
2	1	1	20	5	77	8	61
2	2	0	21	5	80	8	63
3	0	0	23	4	177	7	129
3	0	1	40	10	230	10	180
3	1	0	40	10	290	20	210
3	1	1	70	20	370	20	280
3	2	0	90	20	520	30	390
3	2	1	150	30	660	50	510
3	2	2	210	50	820	80	640
3	3	0	200	<100	1900	100	1400
3	3	1	500	100	3200	200	2400
3	3	2	1100	200	6400	300	4800

Fuente: Gaviria, Blanca C., Manual de Prácticas de Microbiología de Alimentos, 1997, Bogotá, Colombia, Carrera de Bacteriología PUJ.

ANEXO 0.3

FIGURA N° 1: PUESTOS DE VENTA DE JUGO DE NARANJA.



FIGURA N° 2: PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.



FIGURA N° 3: PREPARACION DE DILUCION DE MUESTRAS.



FIGURA N° 4: PROCESAMIENTO DE MUESTRAS



FIGURA 5: SIEMBRA EN LOS MEDIOS DE CULTIVO.



FIGURA 6: INCUBACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.



FIGURA 7: CRECIMIENTO BACTERIANO EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

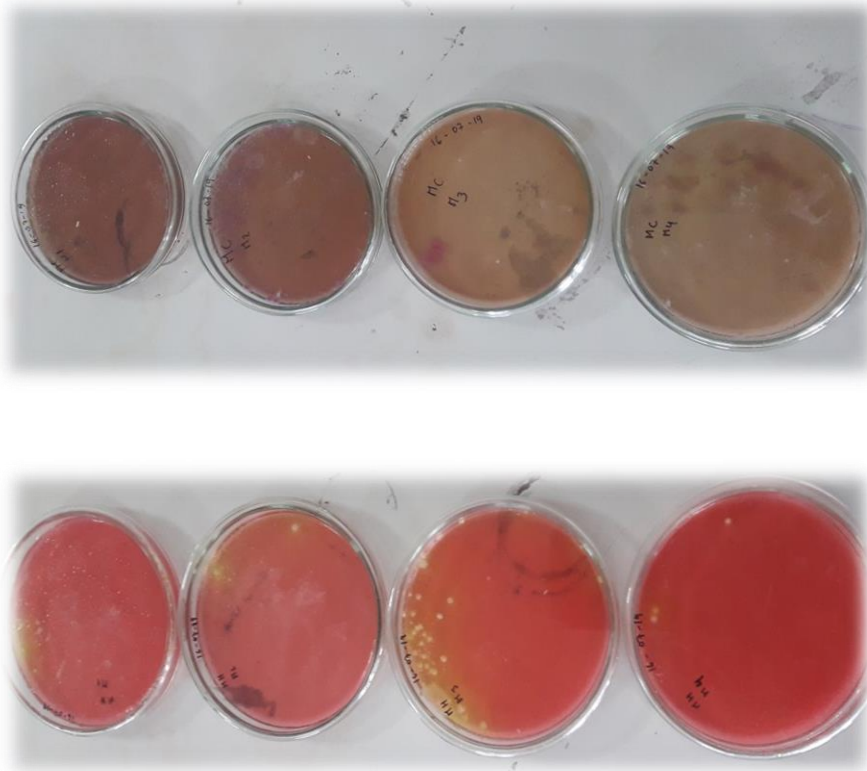


FIGURA 8: PRUEBA DE LA CATALASA.

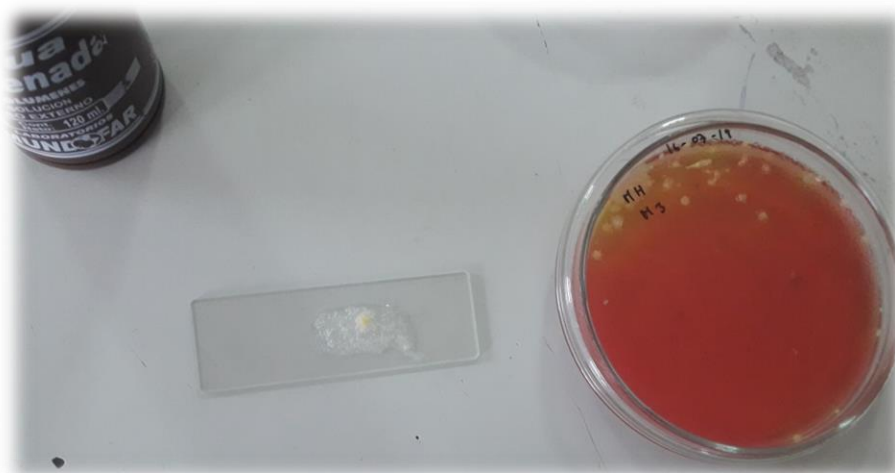


FIGURA 9: PRUEBA DE RM-VP.

