

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA DE INDUSTRIAS**  
**ALIMENTARIAS**



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE BEBIDAS**  
**REFRESCANTES A BASE DE SOYA ELABORADAS**  
**ARTESANALMENTE, COMERCIALIZADAS EN LA**  
**CIUDAD DE JAÉN, 2019.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO**  
**EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Autores:** Bach. Diego Coll Rojas Ipanaque  
Bach. Lesly Josely Molocho Yajahuanca

**Asesora:** M. Sc. Yuriko Sumiyo Murillo Domen

**JAÉN-PERÚ, SETIEMBRE, 2021**



## FORMATO 03: ACTA DE SUSTENTACIÓN

Siendo las 10:00 horas del día 13 de setiembre del 2021, vía conexión virtual, se reunieron los siguientes integrantes del jurado:

Presidente: Dra. María Alina Cueva Ríos

Secretaria: Dra. Delicia Liliana Bazán Tantaleán

Vocal: Mg. Lizbeth Maribel Córdova Rojas, Para evaluar la sustentación del informe final:

( ) Trabajo de Investigación

( X ) Tesis

( ) Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE BEBIDAS REFRESCANTES A BASE DE SOYA ELABORADAS ARTESANALMENTE COMERCIALIZADAS EN LA CIUDAD DE JAEN, 2019" presentado por los Bachilleres Diego Coll Rojas Ipanaque y Lesly Josely Molocho Yajahuanca, de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Jaén.

Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

( x ) Aprobar

( ) Desaprobar

( x ) Unanimidad

( ) Mayoría

Con la siguiente mención:

- |                |            |               |
|----------------|------------|---------------|
| a) Excelente   | 18, 19, 20 | ( )           |
| b) Muy bueno   | 16, 17     | ( )           |
| c) Bueno       | 14, 15     | ( X ) Nota 14 |
| d) Regular     | 13         | ( )           |
| e) Desaprobado | 12 ó menos | ( )           |

Siendo las 11:09 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

Jaén, 13 de setiembre de 2021

Dra. María Alina Cueva Ríos  
Presidente

Dra. Delicia Liliana Bazán Tantaleán  
Secretario

Mg. Lizbeth Maribel Córdova Rojas  
Vocal

## INDICE

RESUMEN .....	VII
ABSTRACT .....	VIII
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS .....	6
2.1 Objetivo general .....	6
2.2 Objetivos específicos .....	6
III. MATERIAL Y MÉTODOS .....	7
3.1 Área de estudio .....	7
3.2 Tipo de estudio .....	9
3.3 Diseño de estudio .....	10
3.4 Análisis de datos .....	10
3.5 Población y Muestra .....	10
3.6 Materiales y Procedimientos .....	11
IV. RESULTADOS .....	15
V. DISCUSIÓN .....	36
VI. CONCLUSIONES .....	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
AGRADECIMIENTO .....	43
DEDICATORIA .....	44
ANEXOS .....	45

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Coordenadas UTM (WGS84) y direcciones de referencias de los 14 puestos ubicados en los sectores Morro Solar y Pueblo Nuevo .....	8
<b>Tabla 2</b> Criterios microbiológicos según NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.....	9
<b>Tabla 3</b> Sectores y puestos donde se recogió las muestras de bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Jaén 2019.....	11
<b>Tabla 4</b> Variable de estudio y dimensiones .....	15
<b>Tabla 5</b> Número de UFC/mL de <b>E. coli</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1 .....	16
<b>Tabla 6</b> Número de UFC/mL de <b>E. coli</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2 .....	17
<b>Tabla 7</b> Número de UFC/mL de <b>E. coli</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3. ....	18
<b>Tabla 8</b> Número de UFC/mL de <b>S. aureus</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1 .....	19
<b>Tabla 9</b> Número de UFC/mL de <b>S. aureus</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2. ....	20
<b>Tabla 10</b> Número de UFC/mL de <b>S. aureus</b> en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3. ....	21
<b>Tabla 11</b> Número de UFC/mL de Coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén en la semana 1. ....	22
<b>Tabla 12</b> Número de UFC/mL de coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2.....	23

<b>Tabla 13</b> Número de UFC/mL de coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3.....	24
<b>Tabla 14</b> Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 1. ....	25
<b>Tabla 15</b> Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 2. ....	26
<b>Tabla 16</b> Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 3. ....	27
<b>Tabla 17</b> Calidad microbiológica respecto “m y M” en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1.....	33
<b>Tabla 18</b> Calidad microbiológica respecto a “m y M” en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén – semana 2. ....	34
<b>Tabla 19</b> Calidad microbiológica respecto a “m y M” en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén – semana 3. ....	35

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Nivel de aceptabilidad de <b>E. coli</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1. ....	28
<b>Figura 2</b> Nivel de aceptabilidad de <b>E. coli</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2. ....	28
<b>Figura 3</b> Nivel de aceptabilidad de <b>E. coli</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3. ....	29
<b>Figura 4</b> Nivel de aceptabilidad de <b>S. aureus</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1.....	29
<b>Figura 5</b> Nivel de aceptabilidad de <b>S. aureus</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2.....	30
<b>Figura 6</b> Nivel de aceptabilidad de <b>S. aureus</b> en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3.....	30
<b>Figura 7</b> Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1. ....	31
<b>Figura 8</b> Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2. ....	31
<b>Figura 9</b> Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3. ....	32
<b>Figura 10</b> Procedimiento en Placas Petrifilm™ para El Recuento de <b>E. Coli</b> / Coliformes. ....	46
<b>Figura 11</b> Procedimiento en Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de <b>S. aureus</b> . ....	48
<b>Figura 12</b> Preparación de agua peptonada.....	50
<b>Figura 13</b> Muestras de bebidas refrescantes a base de soya. ....	50
<b>Figura 14</b> Preparación de las diluciones de las bebidas refrescantes a base de soya con agua peptonada.....	51
<b>Figura 15</b> Sembrado de la dilución 10 <sup>-3</sup> en Placas Petrifilm recuento de <b>E. coli</b> /Coliformes. ....	51
<b>Figura 16</b> Sembrado de la dilución 10 <sup>-2</sup> en Placas Petrifilm Staph Express para recuento de <b>S. aureus</b> . ....	52

<b>Figura 17</b> Interpretación del crecimiento bacteriano en placas petrifilm <b>E. coli</b> y <b>S. aureus</b> . .....	52
<b>Figura 18</b> Conteo de las unidades formadoras de colonias con ayuda del contador de colonias.....	53
<b>Figura 19</b> Ubicación geográfica del área de estudio. ....	54
<b>Figura 20</b> Vista satelital de Morro Solar. ....	55
<b>Figura 21</b> Vista satelital de Pueblo Nuevo. ....	56

## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de las bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la vía pública de la ciudad de Jaén, durante el mes de diciembre del 2019, identificándose como muestra no probabilística a 14 puestos de venta ambulatoria, siendo siete del sector Morro Solar y siete del sector Pueblo Nuevo, tomándose un total de 42 muestras de la bebida objeto de estudio. Para el análisis microbiológico de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y coliformes totales, se utilizó placas Petri film 3M y para el recuento de estos microorganismos se utilizó el método AOAC Método Oficial 990.12, el método AFNOR método validado (3M-01/19-04/03) y la Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.

De la evaluación, se obtuvo que, solo el 7% y 14% de los puestos de venta ambulatoria de la primera y segunda semana respectivamente, cumplen con la calidad microbiológica para los tres tipos de microorganismos evaluados, sin embargo, en la tercera semana ninguno de los puestos cumple. Por ende, se concluye que la calidad microbiológica de la bebida objeto de estudio es variable en el tiempo; ya que el 100% de los puestos de venta ambulatoria presentó al menos uno de los tres microorganismos estudiados, por encima de los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M” establecidos en la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 vigente en nuestro país.

Palabras clave: calidad microbiológica, bebidas refrescantes, *E. coli*, *S. aureus*.

## ABSTRACT

The objective of this research was to determine the microbiological quality of the soya-based soft drinks made by hand and marketed in the public thoroughfare of the city of Jaén, during the month of December 2019, identifying as a non-probabilistic sample 14 ambulatory sales positions, being seven from the Morro Solar sector and seven from the Pueblo Nuevo sector, taking a total of 42 samples of the drink under study. For the microbiological analysis of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and total coliforms, 3M Petri film plates were used and for the enumeration of these microorganisms the AOAC method Official Method 990.12 was used, the AFNOR method validated method (3M-01 / 19-04 / 03) and the Sanitary Standard that establishes the microbiological criteria of sanitary quality and safety for food and beverages for human consumption.

From the evaluation, it was obtained that, only 7% and 14% of the outpatient sales positions of the first and second week respectively, comply with the microbiological quality for the three types of microorganisms evaluated, however, in the third week none of the posts complies. Therefore, it is concluded that the microbiology of the drink under study is variable over time; 100% of the outpatient sales stalls presented at least one of the three microorganisms studied, above the minimum microbiological limits "m" and maximum "M" established in the current NTS N°. 071-MINSA / DIGESA-V.01 In our country.

Keywords: microbiological quality, soft drinks, *E. coli*, *S. aureus*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) representan un problema de salud pública creciente en todo el mundo. Las ETA se producen debido a la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminadas con microorganismos patógenos que afectan a la población de manera individual o colectiva. Las manifestaciones clínicas más comunes son la aparición de síntomas gastrointestinales como diarrea, vómitos y dolor abdominal; pero también puede presentarse, cefalea, fiebre, visión doble, hepatitis, problemas neuronales, choque séptico, insuficiencia multiorgánica e incluso la muerte, reportando una carga considerable de discapacidad, así como de mortalidad. (MINSA, 2019, pág. 381)

Las ETA pueden ser infecciones o intoxicaciones:

- Se conoce como infección transmitida aquella que se produce por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales para la salud, como virus, bacterias y parásitos (ej.: *Salmonella*, virus de la Hepatitis A, *Trichinella spirallis*).
- La intoxicación causada por alimentos se produce por la ingestión de toxinas o venenos que se encuentran presentes en el alimento ingerido, y que han sido producidas por hongos o bacterias, aunque éstos ya no se hallen en el alimento (ej.: toxina botulínica, enterotoxina de *S. aureus*) (Administración Nacional de medicamentos, 2017).

Aproximadamente, 250 agentes causan las ETA, siendo los principales patógenos involucrados: *Salmonella* sp., *E. coli*, *Clostridium* spp., *S. aureus*, *Bacillus cereus* y *Vibrio cholerae*, considerados como agentes clásicos y *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* sp., y *Yersinia* sp. como bacterias emergentes (MINSA, 2019)

La *E. coli*, es una bacteria que está presente en los intestinos de las personas y animales, en el medioambiente y, a veces, también en los alimentos. En su mayoría los tipos de *E. coli* son inofensivos y parte de un tracto intestinal sano. Sin embargo, algunos causan diarrea, infecciones urinarias, enfermedad respiratoria, infecciones sanguíneas y otras enfermedades.

Los tipos de *E. coli* que pueden causar enfermedades se propagan a través del agua o los alimentos contaminados y del contacto con animales o personas. Dos tipos de *E. coli* que causan enfermedad diarreica diagnosticados en los Estados Unidos son la *E. coli* productora de la toxina de Shiga (STEC) y la *E. coli* enterotoxigénica (ETEC). La STEC es un grupo de bacterias de *E. coli* que producen la toxina de Shiga. Esta toxina provoca diarrea que puede tener sangre.

La *S. aureus*, es un microorganismo muy frecuente en el medio ambiente, presente en la industria alimentaria, además de poder vivir en humanos y animales. Es uno de los patógenos no formadores de esporas con mayor resistencia, logrando sobrevivir largos periodos de tiempo en ambientes sin humedad. Su crecimiento se desarrolla entre los 7° C hasta los 47,8 °C, teniendo su óptimo de crecimiento en 35 °C. Con respecto al pH, su intervalo de crecimiento oscila entre 4,5 y 9,3, estando su óptimo entre 7,0 y 7,5. Es causante de un gran número de intoxicaciones alimentarias como náuseas, diarreas, vómitos de manera intensa, pero de corta duración, de varias horas a un día. (Bertó, 2015).

El recuento de organismos coliformes, puede realizarse por medio del empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales para su correcta determinación. (Bardales y Rojas, 2016).

Las bacterias coliformes totales agrupan todos los bacilos Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que van a fermentar la lactosa y producir gas en un periodo máximo de 48h a 35°C ± 1°C. Principalmente está conformado por 4 géneros: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales Mejía et al. (2015).

Rico y Rivas (2012). Investigaron la calidad microbiológica de bebidas refrescantes dispensadas en máquinas de restaurantes de comida rápida del distrito 1 de la zona metropolitana de San Salvador. Su trabajo tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de bebidas refrescantes dispensadas en máquinas de 7 restaurantes de comida rápida del distrito 1 de la zona metropolitana de San Salvador, se tomaron 28 muestras entre refrescos, jugos, tés (naturales, artificiales) y 4 muestras de hielo, haciendo un total de 32 muestras. Los resultados del 100% de muestras (28) entre refrescos, jugos y tés naturales y artificiales fueron: el 67.86% estaban contaminadas con Coliformes totales, 39.29% con

Coliformes fecales y *E. coli*, el 100% resultó con ausencia de *Salmonella spp.* Y con respecto a las muestras de hielo el 100% de las muestras resultaron conformes para bacterias mesófilas aerobias y *Pseudomonas spp.*, el 75% resultó no conforme para Coliformes totales y el 25% fueron no conforme para Coliformes fecales y *E. coli*.

Castellon y Isidpra (2009). Investigaron la inocuidad microbiológica de refrescos artesanales a base de frutas comercializados en los diferentes mercados del Centro Histórico de San Salvador. De acuerdo a la fórmula establecida, llevaron a cabo un muestreo aleatorio estratificado para determinar el número de muestras a tomar de cada puesto de refresco ubicados en cada mercado, para lo cual se realizó una prueba piloto, haciendo un total de 24 muestras de refrescos a base de frutas. De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis realizados a las muestras se encontró la presencia de *E. coli*, la cual debe estar ausente en un alimento. Se encontraron valores altos de coliformes totales, bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras.

Bardales y Rojas (2016). En su investigación de determinación de la calidad microbiológica de refrescos artesanales comercializados en los principales mercados del distrito de Ventanilla, Callao – 2016, el 93,3% y el 86,6% de puestos de ventas analizados de refresco de maracuyá y refrescos de maíz morado respectivamente, presentaron crecimiento microbiano de Coliformes Totales superando los límites de la norma por lo tanto deberían ser considerados no aptas para el consumo humano, no se obtuvo presencia de *E. coli*, porque el resultado indicó la ausencia (0%) en todos los puestos de venta de refrescos de maíz morado, mientras que en el 6,6% de puestos de venta de refrescos de maracuyá se obtuvo crecimiento inaceptable de *E. coli*, según la normatividad vigente. De acuerdo a los resultados obtenidos para la numeración de Aerobios mesófilos, se encontró que el 13.3% de los puestos de venta de refrescos de maracuyá sobrepasaron los límites máximos permitidos, y el 100% de los puestos de venta de chicha morada no sobrepasaron dichos valores. Los resultados elevados de Aerobios mesófilos se ubicaron en los puestos de venta del mercado Juan pablo II con un 40% del total de puestos que tuvieron recuentos por encima de los máximos aceptables. El 20% del total de puestos de venta analizados en lo que respecta a refrescos de maracuyá evidenciaron el recuento de *S. aureus* por encima de los valores de la norma sanitaria, así mismo, el 80% de puestos de venta de refrescos de maíz morado presenta valores aceptables de *S. aureus*.

Castañeda y Chicas (2017). Comparación de la calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatitlán, varias cafeterías ubicadas en el lago de Amatitlán expenden bebidas con niveles altos de *E. coli*, y el 60% de todas las cafeterías evaluadas sobrepasan el límite permisible para el consumo humano, *E. coli* que es de < 100 UFC/mL.

Galarza (2018). Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del cercado de Lima entre mayo 2017 y junio 2018, los resultados de las muestras analizadas demostraron que hubo presencia al 100% de coliformes totales, con un 80% fuera del rango permisible y un 20% dentro del límite máximo permitido por la Norma Técnica Sanitaria.

Alvila y Fonseca (2008). Estudiaron la calidad microbiológica en jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca, Colombia, aplicando encuestas en los diferentes hogares de bienestar familiar y se estableció un número de 60 muestras en los 5 municipios para ser tomadas en 2 meses. Las 60 muestras analizadas tuvieron recuentos por encima de los valores estipulados en el reglamento de elaboración, conservación y comercialización de jugos (Resolución 7992 de 1991), 36.7% de Mesófilos, 96.7% de hongos y levaduras, 71.7% de Coliformes totales en el jugo, y 23.3% de Coliformes fecales. En cuanto a análisis microbiológico de las aguas se evidencio 55% de Coliformes totales y 20% de Coliformes fecales por encima de la norma. Se logró demostrar que la fuente de contaminación de Coliformes totales y *E. coli* de los jugos es el agua, poniendo en evidencia que es un factor crítico para la calidad de los jugos y posiblemente es una fuente de enfermedades diarreicas en los niños.

Orosco y Vílchez (2012). En el análisis de aerobios mesófilos, todos los puntos de venta superaron el valor límite de  $10^4$  UFC/g por muestra de aguaje y solo dos se encuentran por debajo de dicho valor, el punto de venta “H” con  $4.7 \times 10^3$  UFC/g de muestra de aguaje y el punto de venta “M” con  $9.9 \times 10^3$  UFC/g de muestra de aguaje. En el análisis de *E. coli*, todos consiguieron valores de menores de 3 NMP por gramo de muestra de aguaje, excepto el punto de venta F. Este resultado indica la ausencia de *E. coli* en los frutos de *Mauritia flexuosa* comercializados en la zona urbana del distrito de Punchana. En el análisis de *Salmonella sp.* se notó la ausencia total de este microorganismo.

Cada alimento es un medio de proliferación de microorganismos, y los más afectados suelen ser aquellos que se expenden en la vía pública con o sin ningún tratamiento térmico, como es el caso de los jugos de frutas surtidos, refrescos, entre otros; que según la Norma Sanitaria

(NTS N° 071), en ella podrían estar presentes microorganismos indicadores de higiene y también patógenos. Estos alimentos se convierten en vehículos de transmisión de patógenos si no son preparados de acuerdo con las buenas prácticas de manipulación e higiene, en concordancia con las exigencias del reglamento sanitario (MINSA, 2008).

Este uso de información servirá como guía y método de experimentación ya que anteriormente no se han evaluado cuidadosamente las bebidas refrescantes que se expenden en las vías públicas, por lo que se recomienda a los locales realizar la vigilancia higiénica sanitaria para garantizar la calidad de los productos que se expenden de forma ambulatoria, ya que actualmente no cumplen con esta normativa.

Como objetivo de esta investigación se consideró determinar la calidad microbiológica de las bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la vía pública en la ciudad de Jaén, durante el mes de diciembre del 2019; llamamos bebidas refrescantes a base de soya en plural, debido a que cada puesto de venta tiene su propio proceso de elaboración, donde se le adicionan distintas cantidades de hielo, azúcar, saborizantes u otros, en adelante también se le llamara bebida objeto de estudio.

Este proyecto será fundamental en la provincia de Jaén, ya que hasta la actualidad no se han realizado investigaciones sobre bebidas refrescantes expandidas en establecimientos de venta ambulatoria y a la vez estos puestos no cuentan con una autorización de la municipalidad ya que no existe una normativa que regule el comercio ambulatorio en nuestra ciudad, además la mayor parte de la población concurre a estos lugares porque favorece en su economía tiempo y ahorro, pues estas bebidas son heladas y refrescantes generando gran demanda debido al clima tropical en la ciudad de Jaén y si no se han considerado las condiciones sanitarias mínimas en su preparación pueden generar riesgos contra la salud pública.

Esta investigación busca brindar la información del resultado final de la evaluación microbiológica de la bebida objeto de estudio a las instituciones vinculadas con la salud pública, los consumidores y a los comerciantes de venta ambulatoria, a fin de que estos puedan tomar medidas para expender una bebida inocua; también es importante indicar que los niños son los más sensibles al padecimiento de una ETA, que en casos extremos podría conllevarlos a la muerte.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Determinar la calidad microbiológica de las bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la vía pública en la ciudad de Jaén, durante el mes de diciembre del 2019.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Determinar el conteo y recuento de *E. coli*, *S. aureus* y coliformes totales de las bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la vía pública en la ciudad de Jaén, durante el mes de diciembre del 2019.
- Comparar los conteos y recuentos de microorganismos con la norma sanitaria vigente NTS 071 591 2008 MINSA.
- Correlacionar los resultados de calidad microbiológica obtenidos con los puestos de venta organizados por sector.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1 Área de estudio**

##### **Ubicación Política**

Departamento: Cajamarca

Provincia: Jaén

Distrito: Jaén

Sectores: Morro Solar y Pueblo Nuevo.

##### **Ubicación Geográfica**

La ciudad de Jaén geográficamente se encuentra ubicado entre las coordenadas UTM (WGS84) de la zona 17M:

Este	:	741289	745249
Norte	:	9370711	9362700

##### **Altitud**

La ciudad de Jaén, se encuentra a una altura de 729 msnm.

La ubicación específica de los 14 puestos identificados se encuentra descrita en la tabla 1 y en las figuras 16, 17 y 18.

Coordenadas UTM (WGS84) y direcciones de referencias de los 14 puestos ubicados en los sectores Morro Solar y Pueblo Nuevo.

**Tabla 1**

*Coordenadas UTM (WGS84) y direcciones de referencias de los 14 puestos ubicados en los sectores Morro Solar y Pueblo Nuevo.*

Puesto	Coordenadas UTM (WGS84)		Dirección de Referencia	Sector
	Este	Norte		
1	742827	9368074	Intersección de las Calles Ayacucho y Junín	
2	743086	9367982	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Alfredo Bastos	
3	743083	9367963	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Alfredo Bastos	
4	743142	9367885	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Marañón	Morro Solar
5	743145	9367872	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Marañón	
6	743182	9367770	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Cruz de Chalpon	
7	743502	9367398	Intersección de la Av. Mesones Muro y Av. Oriente	
8	742571	9369110	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau	
9	742570	9369121	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau	
10	742579	9369147	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau	
11	742585	9369160	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Cahuide	Pueblo Nuevo
12	742575	9369178	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Cahuide	
13	742604	9369198	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Atahualpa	
14	742598	9369258	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Tahuantinsuyo	

### 3.2 Tipo de estudio

La investigación tiene un estudio descriptivo, cuantitativo y transversal.

- **Cuantitativa.** Se realizó la evaluación mediante los métodos validados por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) por placas Petrifilm donde se cuantificó la presencia de *E. coli* y *S. aureus* y coliformes totales, las cuales fueron procesadas de acuerdo a la guía de interpretación de las placas petrifilm, para obtener los datos, los cuales se cuantificaron para su reporte final.
- **Descriptiva.** Porque se identificó las variables que debe tener la bebida objeto de estudio tomando como referencia NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 aprobada mediante Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano de acuerdo a la siguiente tabla.
- **Transversal.** Realizada en un intervalo de tiempo comprendido durante el mes de diciembre del 2019, con el propósito de describir las variables y analizarlas en su momento dado.

**Tabla 2**

*Criterios microbiológicos según NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01.*

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	C	Limite por gr o mL	
					M	M
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>

*Fuente.* NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 aprobada mediante Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA

### 3.3 Diseño de estudio

La presente investigación es no experimental, ya que no se altera el objeto de investigación y se utilizaron técnicas validadas y reconocidas por organizaciones internacionales, enfocadas a la evaluación del recuento de coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus*, en refrescos de venta ambulatoria, los cuales fueron procesadas en el laboratorio de Biología de la Universidad Nacional de Jaén.

### 3.4 Análisis de datos

Los métodos de análisis que se utilizaron son métodos validados y reconocidos por organismos internacionales.

- Se usó el método AOAC Método Oficial 990.12 en:
  - ✓ Coliformes: se incubo por 24 hrs ( $\pm 2$  hrs) a 35 °C ( $\pm 1$ °C).
  - ✓ *E. coli*: se incubo por 48 hrs ( $\pm 2$  hrs) a 35 °C ( $\pm 1$ °C).
- Se usó el método AFNOR método validado (3M-01/19–04/03)
  - ✓ *S. aureus*: se incubo por: 37 °C  $\pm 1$  °C por 24 hrs ( $\pm 2$  hrs),
  - ✓ Incubación del Disco: 37 °C  $\pm 1$  °C por  $\pm 3$ h.

Se utilizó el programa Microsoft Excel para encontrar los resultados, ya que dicho programa nos permitió realizar operaciones estadísticas y matemáticas.

### 3.5 Población y Muestra

La población son los puestos de venta ambulatorios de bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Jaén, durante el mes de diciembre del 2019.

La muestra son los catorce puestos de venta ambulatorios de bebidas refrescantes a base de soya ubicados en los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo; tomándose un promedio de 200 mL de refresco por muestra, haciendo un total de 2 800 mL equivalentes a las catorce muestras por cada una de las tres repeticiones durante la primera, segunda y tercera semana, obteniendo un total de 42 muestras que ascienden a 8 400 mL.

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

**Tabla 3**

*Sectores y puestos donde se recogió las muestras de bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Jaén 2019.*

Sector Morro Solar		Sector Pueblo Nuevo	
Puesto 1	Intersección de las Calles Ayacucho y Junín.	Puesto 8	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau.
Puesto 2	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Alfredo Bastos.	Puesto 9	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau.
Puesto 3	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Alfredo Bastos.	Puesto 10	Av. Mariscal Castilla - Parque Miguel Grau.
Puesto 4	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Marañón.	Puesto 11	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Cahuide.
Puesto 5	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Marañón.	Puesto 12	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Cahuide.
Puesto 6	Intersección de la Av. Mesones Muro y Ca. Cruz de Chalpon.	Puesto 13	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Atahualpa.
Puesto 7	Intersección de la Av. Mesones Muro y Av. Oriente.	Puesto 14	Intersección de la Av. Mariscal Castilla y Ca. Tahuantinsuyo.

*Fuente. Elaboración propia.*

### 3.6 Materiales y Procedimientos

- Refresco de soya, obtenido de los 14 puestos de venta ambulatoria de la ciudad de Jaén.

#### a) **Recolección de muestras:**

Las muestras de bebidas refrescantes a base de soya fueron recolectadas en bolsas de plástico de primer uso con cierre hermético, por cada puesto de venta de los dos sectores, durante la primera, segunda y tercera semana; cada muestra consto aproximadamente de 200 mL (ración vendida normalmente) estas fueron rotuladas y almacenadas en un cooler con geles refrigerantes distribuidos de manera uniforme en la base y los laterales, asegurando una temperatura menor a 10°C , salvaguardando la vida útil de la muestra hasta su posterior análisis en el laboratorio de Biología de la Universidad Nacional de Jaén.

**b) Procedimiento para recuento de Coliformes Totales y *E. coli***

1. Se pipetearon 10 mL de la muestra con una pipeta de vidrio de 10 mL en un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contuvo 90 mL de diluyente de agua peptonada, obteniéndose la dilución  $10^{-1}$ . Luego se homogenizo la muestra con una varilla de vidrio por 30 segundos.
2. Luego en dos tubos de ensayo que contuvieron 9 mL del mismo diluyente cada uno, se realizó las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , colocando en el primer tubo de la primera dilución 1 mL de muestra de  $10^{-1}$  empleando una micropipeta de puntas desechables para cada succión y así mismo se realizó con el segundo obteniendo la dilución  $10^{-3}$ .
3. De la última dilución  $10^{-3}$  se pipeteo 1 mL, se colocó la placa Petrifilm EC sobre una superficie plana y se levantó la lámina semitransparente superior de la placa y se colocó la muestra, realizando este procedimiento dentro de la cámara de flujo laminar y así posteriormente con todas las muestras de los 14 puestos. Se inoculó tres placas de dicha dilución.
4. Se bajó la película superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire y con ayuda del dispersor se repartió la muestra sobre el área circular.
5. Posteriormente se llevó a incubar por 24 hrs ( $\pm 2$  hrs a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) para recuento de Coliformes y por 48 hrs ( $\pm 2$  hrs) a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) para *E. coli*.
6. Las Placas Petrifilm fueron contadas en un contador de colonias. Se consultó con la Guía de Interpretación para leer los resultados.

**Descripción**

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), entre otros. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

Las colonias Coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de Coliformes confirmó su presencia (3M Food Safety, 2017).

**c) Procedimiento para recuento de *S. aureus*:**

1. Se pipetearon 10 mL de la muestra con una pipeta de vidrio de 10 mL en un matraz Erlenmeyer de 250 mL que contuvo 90 mL de diluyente de agua peptonada, obteniéndose la dilución  $10^{-1}$ . Luego se homogenizó la muestra con una varilla de vidrio por 30 segundos
2. Luego en dos tubos de ensayo que contuvieron 9 mL del mismo diluyente cada uno, se realizó las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , colocando en el primer tubo de la primera dilución 1 mL de muestra de  $10^{-1}$  empleando una micropipeta de puntas desechables para cada succión y así mismo se realizó con el segundo obteniendo la dilución  $10^{-3}$ .
3. De la dilución  $10^{-2}$  se extrajo 1 mL, se levantó la lámina semitransparente superior de la placa Petrifilm Staph Express y se colocó la muestra, realizando este procedimiento dentro de la cámara de flujo laminar y así posteriormente con todas las muestras de los 14 puestos. Se inoculó tres placas de dicha dilución.
4. Se bajó la película superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire y con ayuda del dispersor se repartió la muestra sobre el área circular.
5. Posteriormente se llevó a incubar por  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  por 24 hrs ( $\pm 2$  hrs).
6. Se utilizaron adicionalmente Disco Staph Express Petrifilm™ de 3M™ en algunas placas Petrifilm para diferenciar el *S. aureus* del resto de las colonias sospechosas, con un tiempo de incubación de  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  por  $\pm 3$ h.
7. Las Placas Petrifilm fueron contadas en un contador de colonias y se consultó la Guía de Interpretación para leer los resultados.

## Descripción

Las Placas Petrifilm Staph Express para Recuento de *S. aureus* son un medio de cultivo listo para ser empleado. Las colonias rojo-violeta en la placa son *S. aureus*. Cuando solamente se aprecien colonias rojo-violeta, cuente las colonias y la prueba se habrá completado.

Si encuentra flora de acompañamiento en el fondo de su prueba de *S. aureus*, el Disco Staph Express Petrifilm™ de 3M™ se debe utilizar para diferenciar el *S. aureus* del resto de las colonias sospechosas. El Disco Staph Express Petrifilm se debe utilizar cuando la placa presente colonias que no sean color rojo-violeta; por ejemplo, colonias negras o azul-verdosas.

Cuando el Disco se inserta en la placa y se incuba por una hora adicional, se forman zonas rosadas de DNasa. Las zonas rosadas son *S. aureus* la mayoría de las veces, aunque ocasionalmente pueden ser *S. hyicus* o *S. intermedius* (3M Food Safety, 2017).

#### IV. RESULTADOS

Los análisis se realizaron en 14 puestos que expenden bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente comercializadas en la ciudad de Jaén, con 42 muestras, considerando 200 mL por muestra.

**Tabla 4**

*Variable de estudio y dimensiones.*

Variable Única	Dimensión	Ítems	Peso
Calidad microbiológica de bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Jaén 2019.	D1: Evaluación microbiológica de la bebida objeto de estudio.	3	100%

*Fuente.* Elaboración propia.

Los resultados obtenidos se han expresado en tablas y figuras, precedidos de una breve descripción de los mismos.

A continuación, se muestran las tablas 5,6 y 7 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan los resultados obtenidos en el recuento del agente microbiano E. coli por el método AOAC Método Oficial 991.14, así como su comparación con los límites establecidos en la NTS, en los 14 puestos de venta ambulatorios que se encontraban ubicados en los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo

**Tabla 5**

*Número de UFC/mL de E. coli en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	2	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	3	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	4	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	5	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	6	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	7	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	9	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	10	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	11	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	12	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	13	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	14	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable

**Tabla 6**

*Número de UFC/mL de E. coli en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	2	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	3	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	4	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	5	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	6	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	7	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	9	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	10	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	11	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	12	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	13	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	14	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable

**Tabla 7**

*Número de UFC/mL de E. coli en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	53	51	54	53000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	2	36	36	36	36000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	3	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	4	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	5	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	6	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	7	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	9	8	9	8	8000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	10	2	2	2	2000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	11	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	12	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	13	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	14	2	2	2	2000	10	100	Inaceptable	Inaceptable

A continuación, se muestran las tablas 8,9 y 10 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan los resultados obtenidos en el recuento del agente microbiano *S. aureus* por el método AOAC Método Oficial 991.14, así como su comparación con los límites establecidos en la NTS, en los 14 puestos de venta ambulatorios que se encontraban ubicados en los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo.

**Tabla 8**

*Número de UFC/mL de S. aureus en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	12	12	13	1200	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	2	50	49	47	4900	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	3	6	7	6	600	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	4	7	7	8	700	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	5	15	14	14	1400	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	6	9	8	9	900	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	7	40	35	38	3800	10	100	Inaceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	1	1	1	100	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	9	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	10	21	21	21	2100	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	11	9	8	9	900	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	12	12	12	11	1200	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	13	17	18	16	1700	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	14	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable

**Tabla 9**

*Número de UFC/mL de S. aureus en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	247	240	233	24000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	2	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	3	850	810	830	83000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	4	123	128	134	12800	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	5	100	96	93	9600	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	6	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	7	845	836	840	84000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	9	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	10	630	630	631	63000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	11	61	64	59	6100	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	12	1440	1500	1470	147000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	13	780	780	780	78000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	14	481	480	480	48000	10	100	Inaceptable	Inaceptable

**Tabla 10**

*Número de UFC/mL de S. aureus en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	1320	1380	1260	132000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	2	1110	1140	1080	111000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	3	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	4	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	5	22	21	22	2200	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	6	10	9	10	1000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	7	1410	1530	1470	147000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	1	1	1	100	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	9	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	10	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	11	1650	1650	1650	165000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	12	1350	1350	1350	135000	10	100	Inaceptable	Inaceptable
	13	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable
	14	0	0	0	0	10	100	Aceptable	Aceptable

A continuación, se muestran las tablas 11,12 y 13 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan los resultados obtenidos en el recuento de coliformes totales por el método AOAC Método Oficial 991.14, así como su comparación con los límites establecidos en la NTS, en los 14 puestos de venta ambulatorios que se encontraban ubicados en los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo.

**Tabla 11**

*Número de UFC/mL de Coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén en la semana 1.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	140	146	133	140000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	2	138	138	137	138000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	3	500	460	480	480000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	4	11	11	11	11000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	5	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	6	1	1	1	1000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	7	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	9	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	10	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	11	140	136	131	136000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	12	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	13	188	190	187	188000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	14	146	145	147	146000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable

**Tabla 12**

*Número de UFC/mL de coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 2.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	2	3	3	3	3000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	3	1	1	1	1000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	4	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	5	39	40	39	39000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	6	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	7	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	9	2	2	2	2000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	10	4	4	4	4000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	11	102	98	93	98000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	12	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	13	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
	14	130	138	134	134000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable

**Tabla 13**

*Número de UFC/mL de coliformes totales en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 3.*

Sector	Puesto	T1 (UFC)	T2 (UFC)	T3 (UFC)	Carga microbiana promedio (UFC/ml)	Límite según NTS "m" (UFC/ml)	Límite según NTS "M" (UFC/ml)	Condición respecto a "m"	Condición respecto a "M"
Morro Solar	1	1033	1043	1024	1033000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	2	778	775	776	776000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	3	809	820	830	820000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	4	770	765	760	765000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	5	8	8	8	8000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	6	33	33	32	33000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	7	0	0	0	0	100	1000	Aceptable	Aceptable
Pueblo Nuevo	8	5	5	5	5000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	9	867	848	828	848000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	10	5	5	5	5000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	11	87	91	89	89000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	12	170	157	163	163000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	13	1120	1140	1101	1120000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable
	14	925	919	922	922000	100	1000	Inaceptable	Inaceptable

A continuación, se muestran las tablas 14,15 y 16 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan el número de puestos aceptables e inaceptables según NTS, así como el cálculo de la mediana, cuartiles y la hipótesis chi cuadrado por agente microbiano, en los 14 puestos de venta ambulatorios que se encontraban ubicados en los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo.

**Tabla 14**

*Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 1.*

Agente Microbiano	Tipo de Sector	Aceptables "m"		Inaceptables "m"		Aceptables "M"		Inaceptables "M"		Total	Mediana	Q1	Q2	Valor P(m)	Valor P(M)
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%						
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Pueblo Nuevo	7	100%	0	0%	7	100%	0	0%	7	0	0	0	∞	∞
	Morro Solar	7	100%	0	0%	7	100%	0	0%	7	0	0	0		
Total	Jaén	14	100%	0	0%	14	100%	0	0%	14	0	0	0		
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Pueblo Nuevo	0	0%	7	100%	0	0%	7	100%	7	1200	1200	1400	0.127	0.127
	Morro Solar	2	29%	5	71%	2	29%	5	71%	7	900	100	1200		
Total	Jaén	2	14%	12	86%	2	14%	12	86%	14	1050	1200	900		
Coliformes totales	Pueblo Nuevo	2	29%	5	71%	2	29%	5	71%	7	11000	140000	0	0.280	0.280
	Morro Solar	4	57%	3	43%	4	57%	3	43%	7	0	0	6000		
Total	Jaén	6	43%	8	57%	6	43%	8	57%	14	6000	11000	0		

**Tabla 15**

*Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 2.*

Agente Microbiano	Tipo de Sector	Aceptables "m"		Inaceptables "m"		Aceptables "M"		Inaceptables "M"		Total	Mediana	Q1	Q2	Valor P(m)	Valor P(M)
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%						
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Pueblo Nuevo	7	100%	0	0%	7	100%	0	0%	7	0	0	0	∞	∞
	Morro Solar	7	100%	0	0%	7	100%	0	0%	7	0	0	0		
Total	Jaén	14	100%	0	0%	14	100%	0	0%	14	0	0	0		
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Pueblo Nuevo	2	29%	5	71%	2	29%	5	71%	7	12800	24000	9600	1.000	1.000
	Morro Solar	2	29%	5	71%	2	29%	5	71%	7	48000	0	63000		
Total	Jaén	4	29%	10	71%	4	29%	10	71%	14	18400	12800	48000		
Coliformes totales	Pueblo Nuevo	4	57%	3	43%	4	57%	3	43%	7	0	1000	0	0.593	0.593
	Morro Solar	3	43%	4	57%	3	43%	4	57%	7	2000	2000	49000		
Total	Jaén	7	50%	7	50%	7	50%	7	50%	14	500	0	2000		

**Tabla 16**

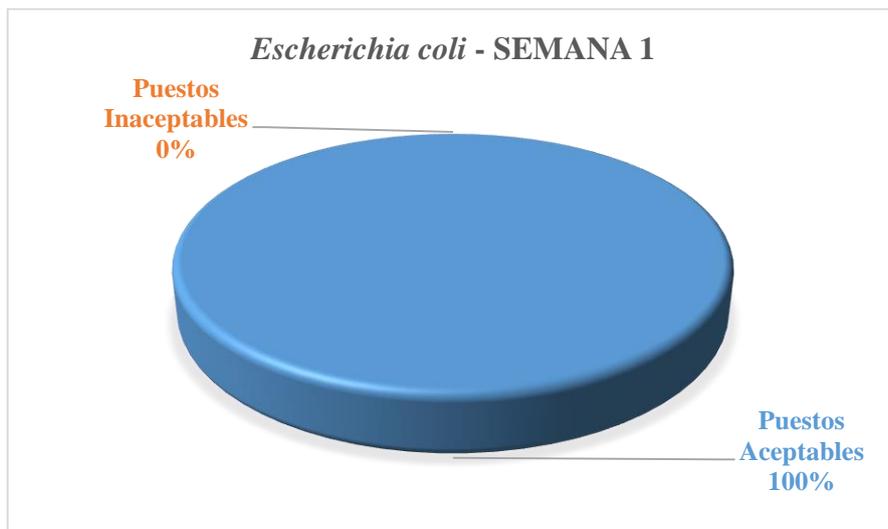
*Análisis de la relación entre tipo de sector y el nivel de aceptabilidad respecto a la norma sanitaria de criterios microbiológicos - semana 3.*

Agente Microbiano	Tipo de Sector	Aceptables "m"		Inaceptables "m"		Aceptables "M"		Inaceptables "M"		Total	Mediana	Q1	Q2	Valor P(m)	Valor P(M)
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%						
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Pueblo Nuevo	5	71%	2	29%	5	71%	2	29%	7	0	36000	0	0.577	0.577
	Morro Solar	4	57%	3	43%	4	57%	3	43%	7	0	2000	0		
Total	Jaén	9	64%	5	36%	9	64%	5	36%	14	0	0	0		
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Pueblo Nuevo	2	29%	5	71%	2	29%	5	71%	7	2200	111000	2200	0.280	0.280
	Morro Solar	4	57%	3	43%	4	57%	3	43%	7	0	0	0		
Total	Jaén	6	43%	8	57%	6	43%	8	57%	14	550	2200	0		
Coliformes totales	Pueblo Nuevo	1	14%	6	86%	1	14%	6	86%	7	765000	820000	8000	0.299	0.299
	Morro Solar	0	0%	7	100%	0	0%	7	100%	7	163000	5000	922000		
Total	Jaén	1	7%	13	93%	1	7%	13	93%	14	464000	765000	163000		

A continuación, se muestran las figuras 1 al 3 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan el número de puestos aceptables e inaceptables según NTS en porcentajes respecto al agente microbiano *E. coli*.

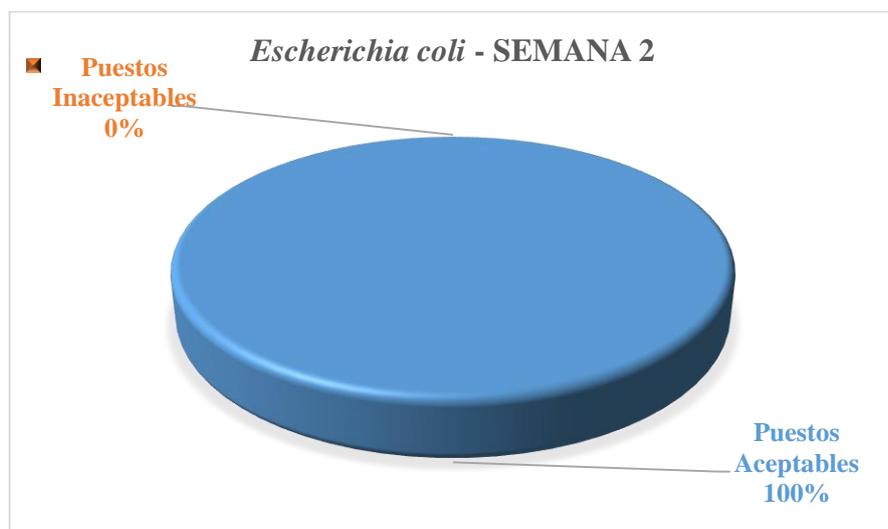
**Figura 1**

*Nivel de aceptabilidad de E. coli en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1.*



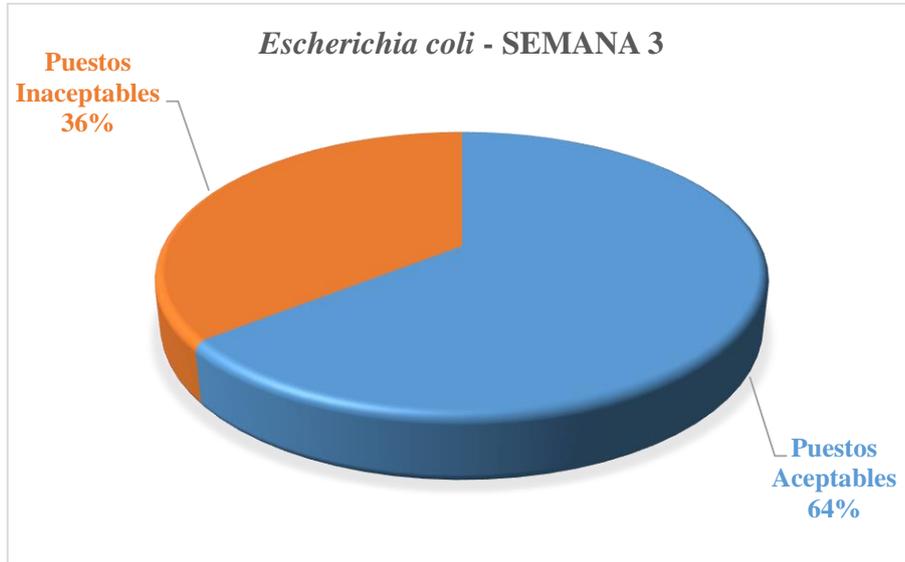
**Figura 2**

*Nivel de aceptabilidad de E. coli en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2.*



**Figura 3**

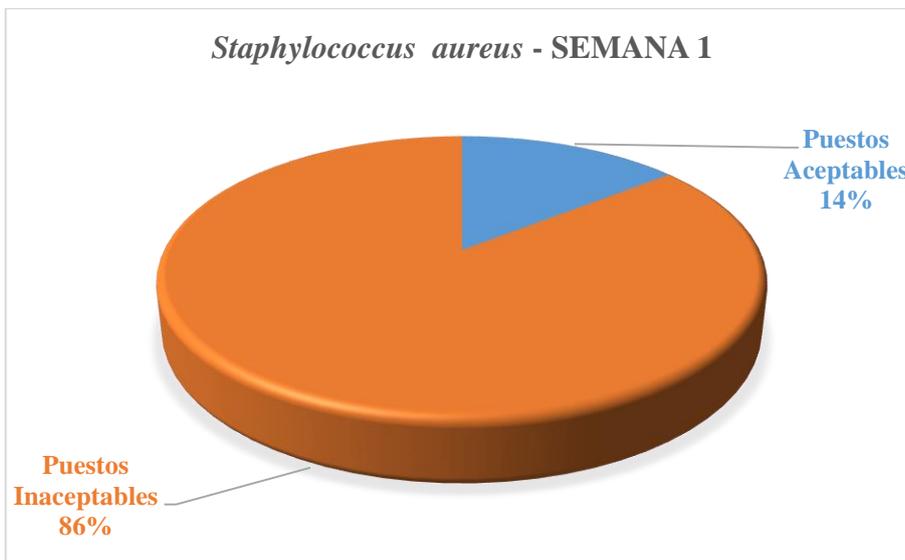
Nivel de aceptabilidad de *E. coli* en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3.



A continuación, se muestran las figuras 4 al 6 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan el número de puestos aceptables e inaceptables según NTS en porcentajes respecto al agente microbiano *S. aureus*.

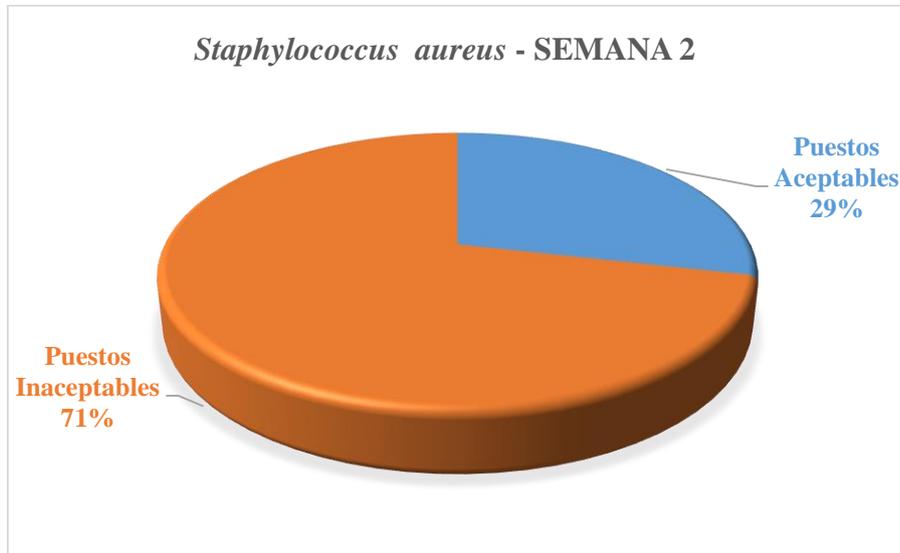
**Figura 4**

Nivel de aceptabilidad de *S. aureus* en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1.



**Figura 5**

Nivel de aceptabilidad de *S. aureus* en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2.



**Figura 6**

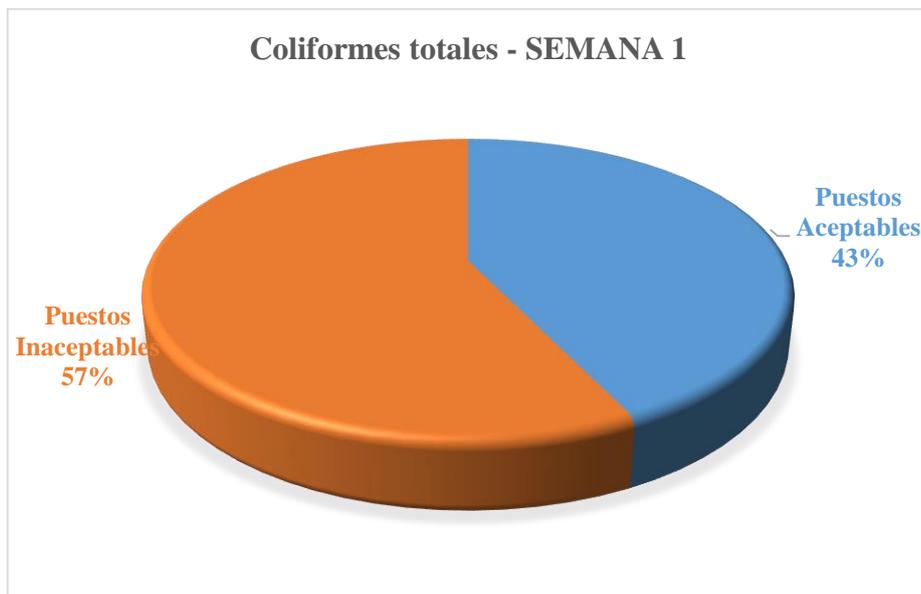
Nivel de aceptabilidad de *S. aureus* en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3.



A continuación, se muestran las figuras 7 al 9 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan el número de puestos aceptables e inaceptables según NTS en porcentajes respecto al agente microbiano coliformes totales.

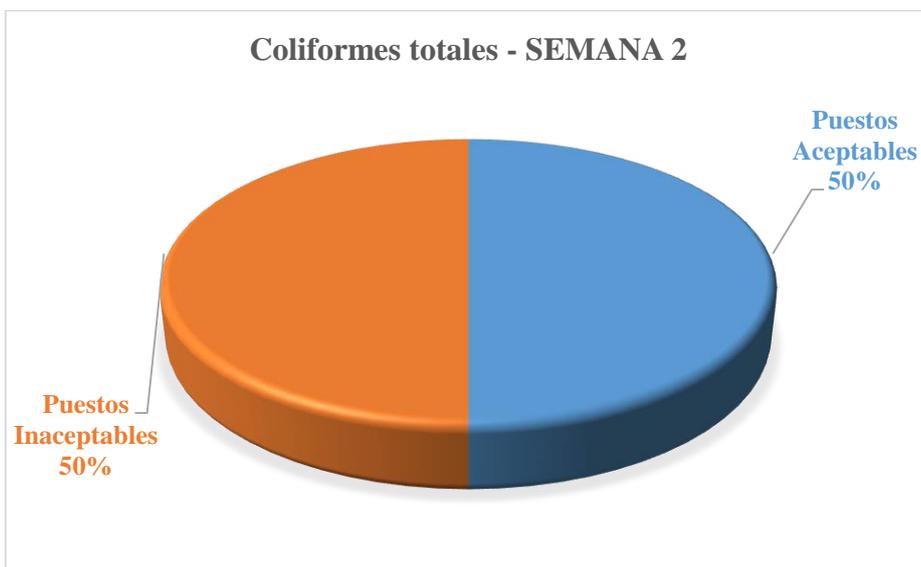
**Figura 7**

*Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 1.*



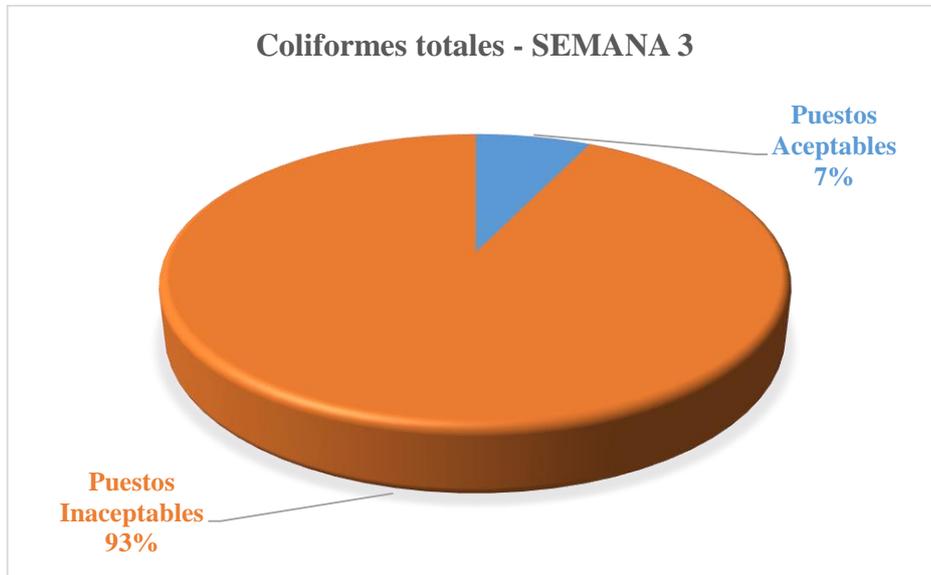
**Figura 8**

*Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 2.*



**Figura 9**

*Nivel de aceptabilidad de Coliformes totales en los puestos de venta respecto al mínimo “m” y al máximo “M” en la semana 3.*



A continuación, se muestran las tablas 17,18 y 19 de las semanas 1, 2 y 3 respectivamente, que expresan la calidad microbiológica de la bebida objeto de estudio de cada puesto respecto a sus tres indicadores (agentes microbianos).

**Tabla 17**

*Calidad microbiológica respecto "m y M" en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén - semana 1.*

Sector	Puesto	Condición respecto a "m y M" <i>Escherichia coli</i>	Condición respecto a "m y M" <i>Staphylococcus aureus</i>	Condición respecto a "m y M" Coliformes totales	Calidad Microbiológica respecto a los tres Indicadores
Morro Solar	1	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	2	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	3	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	4	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	5	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	6	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	7	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	9	Aceptable	Aceptable	Aceptable	Aceptable
	10	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	11	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	12	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	13	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	14	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable

**Tabla 18**

*Calidad microbiológica respecto a "m y M" en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén – semana 2.*

Sector	Puesto	Condición respecto a " <i>Escherichia coli</i> "	Condición respecto a " <i>Staphylococcus aureus</i> "	Condición respecto a "m y M"	Calidad Microbiológica respecto a los tres Indicadores
Morro Solar	1	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	2	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	3	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	4	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	5	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	6	Aceptable	Aceptable	Aceptable	Aceptable
	7	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	Aceptable	Aceptable	Aceptable	Aceptable
	9	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	10	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	11	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	12	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	13	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
	14	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable

**Tabla 19**

*Calidad microbiológica respecto a "m y M" en las bebidas refrescantes a base de soya comercializadas en los 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de Jaén – semana 3.*

Sector	Puesto	Condición respecto a " <i>Escherichia coli</i> "	Condición respecto a " <i>Staphylococcus aureus</i> "	Condición respecto a "m y M"	Calidad Microbiológica respecto a los tres Indicadores
Morro Solar	1	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	2	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	3	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	4	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	5	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	6	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	7	Aceptable	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable
Pueblo Nuevo	8	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	9	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	10	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	11	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	12	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable	Inaceptable
	13	Aceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable
	14	Inaceptable	Aceptable	Inaceptable	Inaceptable

## V. DISCUSIÓN

Se puede observar que no existe asociación entre el tipo de sector y los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M” en las semanas 1, 2 y 3, puesto que al aplicar la prueba chi-cuadrado el valor de P para *E. coli*, *S. aureus* y coliformes totales son mayores a un nivel de significancia de 0.05, valor tomado como referencia para el presente estudio, dichos resultados se encuentran detallados en las tablas 14, 15 y 16, por lo tanto, en adelante nos referiremos a los resultados obtenidos en los 14 puestos que representa a la ciudad de Jaén.

Respecto al *E. coli* en la semana 1 (Tablas 5 y 14) y en la semana 2 (Tablas 6 y 15) se puede observar que 14 /14 puestos (100%) mostraron resultados aceptables de acuerdo a la NTS N° 071 -MINS/DIGESA-V.01 ; estos resultados concuerdan con el estudio realizado por (Bardales & Rojas, 2016), en los refrescos de maíz morado comercializados en los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II” del distrito de Ventanilla – Callao; el estudio antes descrito es tomado como referencia, puesto que el proceso de elaboración es parecido al de la bebida objeto de estudio; en la semana 3 (Tablas 7 y 16) se puede observar que 9/14 puestos (64%) mostraron resultados aceptables y 5 /14 puestos (36%) mostraron resultados inaceptables de acuerdo a la NTS N° 071 -MINS/DIGESA-V.01; dichos resultados concuerdan con el estudio realizado por (Rico & Rivas, 2012), en el cual se puede observar la presencia de dicho microorganismo en el 39.20% de 28 muestras entre refrescos, jugos, té (naturales, artificiales) en puestos de venta del Distrito Uno de la zona metropolitana de San Salvador; también Bentos & Rengifo (2019), en los puestos del mercado Belen de la ciudad de Iquitos, encontraron 86% de refrescos de *Hordeum vulgare* “cebada” contaminados con *E. coli* superando los límites máximos permisibles en la Norma Técnica Sanitaria (DIGESA), lo cual difiere con los resultados encontrados en la bebida objeto del presente estudio.

Para *E. coli* se ha obtenido resultados aceptables en todas las muestras de la primera y segunda semana; sin embargo, para la tercera semana no; esto puede ser debido a que las muestras se recolectaron en la tercera semana de diciembre del 2019, días en que se presenta

mayor concurrencia de peatones por navidad y por ende mayor demanda, lo que podría haber provocado que los comerciantes ambulantes no hayan cumplido con las condiciones higiénicas adecuadas.

Respecto al *S. aureus* en la semana 1 (Tablas 8 y 14) se puede observar que 2 /14 puestos (14%) mostraron resultados aceptables y 12/14 puestos (86%) mostraron resultados inaceptables de acuerdo a la NTS N° 071 -MINS/DIGESA-V.01; en la semana 2 (Tablas 9 y 15) se puede observar que 4 /14 puestos (29%) mostraron resultados aceptables y 10/14 puestos (71%) mostraron resultados inaceptables; en la semana 3 (Tablas 10 y 16) se puede observar que 6 /14 puestos (43%) mostraron resultados aceptables y 8/14 puestos (57%) mostraron resultados inaceptables; estos resultados concuerdan en parte con el estudio realizado por (Bardales & Rojas, 2016) en el que se indica que en el 20% refrescos de maíz morado comercializados en los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II” del distrito de Ventanilla – Callao mostraron resultados inaceptables, también Bentos & Rengifo (2019), en los puestos del mercado Belen de la ciudad de Iquitos no se encontraron refrescos de *Hordeum vulgare* “cebada” contaminados con *S. aureus* cumpliendo con la Norma Técnica Sanitaria (DIGESA), lo cual difiere con los resultados encontrados en la bebida objeto del presente estudio.

Para *S. aureus* se ha obtenido resultados aceptables e inaceptables en las 3 semanas consecutivas; esto puede ser debido a que los comerciantes ambulantes no utilizan indumentaria adecuada (guantes quirúrgicos, cofia, cubre bocas).

Respecto a los coliformes totales en la semana 1 (Tablas 11 y 14) se puede observar que 6 /14 puestos (43%) mostraron resultados aceptables y 8/14 puestos (57%) mostraron resultados inaceptables de acuerdo a la NTS N° 071 -MINS/DIGESA-V.01; en la semana 2 (Tablas 12 y 15) se puede observar que 7/14 puestos (50%) mostraron resultados aceptables y 7/14 puestos (50%) mostraron resultados inaceptables; en la semana 3 (Tablas 13 y 16) se puede observar que 1 /14 puestos (7%) mostraron resultados aceptables y 13/14 puestos (93%) mostraron resultados inaceptables; estos resultados concuerdan en parte con el estudio realizado por (Bardales & Rojas, 2016) en el que se indica que en el 86.6% refrescos de maíz morado comercializados en los mercados “Milagro”, “Villa Pachacutec” y “Juan Pablo II” del distrito de Ventanilla – Callao mostraron resultados inaceptables; también Bentos & Rengifo (2019), en los puestos del mercado Belen de la ciudad de Iquitos encontraron 61% de refrescos de *Hordeum vulgare* “cebada” contaminados con coliformes

superando los límites máximos permisibles en la Norma Técnica Sanitaria (DIGESA), lo cual concuerda en parte con los resultados encontrados en la bebida objeto del presente estudio.

Para coliformes totales se ha obtenido resultados similares en las muestras de la primera y segunda semana; sin embargo, para la tercera semana no; esto puede ser debido a que las muestras se recolectaron en la tercera semana de diciembre del 2019, días en que se presenta mayor concurrencia de peatones por navidad y por ende mayor demanda, lo que podría haber provocado que los comerciantes ambulantes no hayan cumplido con las condiciones higiénicas adecuadas.

En la semana 1, el 7% de los puestos cumple con la calidad microbiológica para los tres tipos de microorganismos evaluados; en la semana 2, el 14% de los puestos cumple con la calidad microbiológica para los tres tipos de microorganismos evaluados y en la semana 3, ninguno de los puestos cumple con la calidad microbiológica para los tres tipos de microorganismos evaluados, esto quiere decir que la calidad microbiológica de la bebida objeto de estudio no es constante en el tiempo, esto posiblemente se debería a que no se realiza un procedimiento estándar en la elaboración y comercialización de dicha bebida.

Se tiene una gran labor a realizar por parte de futuros tesisistas ya que se tendría que investigar cuales serían los posibles factores que conllevan a que exista presencia de Coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus* en la bebida objeto de estudio. Además, el municipio de Jaén, la universidad, DIGESA y otras partes interesadas deben difundir a la población el presente estudio de tal manera que los expendedores y los consumidores puedan informarse del hallazgo de estas bacterias y a su vez se logren realizar charlas y/o capacitaciones para que apliquen las BPM y puedan expender bebidas de calidad.

## VI. CONCLUSIONES

De la evaluación microbiológica de la bebida objeto de estudio, se obtuvo que, solo el 7% y 14% de los puestos de venta ambulancia de la primera y segunda semana respectivamente, cumplen con la calidad microbiológica para los tres tipos de microorganismos evaluados (*E. coli*, *S. aureus* y coliformes totales); sin embargo, en la semana 3, ninguno de los puestos cumple. Además, se concluye que, la calidad microbiológica de la bebida objeto de estudio durante el mes de diciembre del 2019, es variable en el tiempo; el 100% de los puestos de venta ambulancia evaluados durante la primera, segunda y tercera semana, presentó al menos uno de los tres microorganismos estudiados, por encima de los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M” establecidos en la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 vigente en nuestro país.

Se realizó el conteo y recuento de *E. coli*, obteniendo que en la primera y segunda semana no hubo presencia de *E. coli* en el 100% de los puestos de venta ambulancia, pero en la tercera semana se evidenció presencia de este microorganismo en 36% de los puestos que superaron los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M”.

Se realizó el conteo y recuento *S. aureus*, donde se encontró presencia en un 86%,71% y 57% de los puestos de venta ambulancia, durante la primera, segunda y tercera semana respectivamente, con resultados inaceptables ya que superaron los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M”.

Se realizó el conteo y recuento de coliformes totales, donde se encontró presencia en un 57%,50% y 93% de los puestos de venta ambulancia, durante la primera, segunda y tercera semana respectivamente, con resultados inaceptables ya que superaron los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M”.

No existe asociación entre el tipo de sector y la calidad microbiológica de los puestos en las semanas 1, 2 y 3, puesto que al aplicar la prueba chi-cuadrado el valor de P para *E. coli*, *S. aureus* y coliformes totales son mayores a un nivel de significancia de 0.05.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 3M Food Safety. (2017). *3M ciencia para la vida*. Obtenido de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1624098O/3m-petriefilm-placas-e-coli-ec-gua-de-interpretacin.pdf>
- 3M Food Safety. (2017). *Guía de interpretación de Placas Petriefilm™ Staph Express*. Recuperado el diciembre de 2019, de Placas Petriefilm Staph Express para Recuento de Staphylococcus aureus: <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409682O/guia-interpretacion-petriefilm-staph-express.pdf>
- Administracion Nacional de medicamentos, A. y. (2017). *Administracion Nacional de medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*. Recuperado el 9 de Julio de 2019, de <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/ETA.pdf>
- Asociacion de bebidas refrescantes ANFRABRA. (2015). Recuperado el 08 de Agosto de 2019, de Refrescos Funciones: <http://www.cibr.es/salud-refrescos-funciones>
- Bardales, T. M., & Rojas, M. A. (2016). *Determinación de la calidad microbiológica de refrescos artesanales comercializados en los principales mercados del distrito de Ventanilla, Callao - 2016*. Obtenido de <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4589>
- Barron, J., Chávez, m., & Saucedo, E. (2012). Listeria monocytogenes en jugos de frutas frescas como vehículos de transmisión de listeriosis humana. *revista ciencia y tecnología, IX(2)*, 1-2. Recuperado el 7 de Agosto de 2019, de <http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/267/268>
- Bentos Peña, A. M., & Rengifo Cenepo, F. (2019). *Calidad bacteriológica de refrescos de Mauritia flexuosa "aguaje" y Hordeum vulgare "cebada" que se expenden en el Mercado Belén, Iquitos-2017*. Recuperado el 15 de julio de 2021, de <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6620>

- Bertó, R. (2015). *Staphylococcus aureus en la industria alimentaria*. Recuperado el 23 de Julio de 2019, de <http://www.betelgeux.es/blog/2015/07/09/staphylococcus-aureus-en-la-industria-alimentaria/>
- Castañeda, B. J., & Chicas, E. A. (2017). *Comparación de la calidad microbiológica de refrescos naturales comercializados en cafeterías formales e informales del municipio de Amatitlán*. Obtenido de <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1170.pdf>
- Castellon, K., & Isidpra, M. (2009). *Determinación de la Inocuidad Microbiológica de Refrescos Artesanales a Base de Frutas Comercializados en los Diferentes Mercados del Centro Histórico de San Salvador (Licenciatura en Química y Farmacia)*. San Salvador, El Salvador, Centro América: Univers. Obtenido de <http://ri.ues.edu.sv/2558/1/16101508.pdf>
- Flores, M., & Lancha, S. (2016). *Relación entre la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica en jugos de frutas surtidos de dos mercados de la ciudad de Iquitos, 2015*. Recuperado el 18 de Julio de 2019, de [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4109/Miguel\\_Tesis\\_Titulo\\_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4109/Miguel_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Galarza, S. K. (2018). *Evaluación microbiológica de alimentos*. Recuperado el 28 de Febrero de 2021, de <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2656/TESIS%20%20Galarza%20Katherine.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- maps, g. (2020). *vista satelital pro mapa*. Recuperado el 11 de Julio de 2019, de MUNICIPALIDAD PROVINCIAL DE JAEN: <https://docplayer.es/75330013-Municipalidad-provincial-de-jaen.html>
- Mejía, D., Madero, C., & Pabón, P. (2015). *Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria*. Recuperado el 15 de Julio de 2019, de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
- MINSA. (2008). *Resolucion ministerial*. Recuperado el 13 de Julio de 2019, de [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf)

- MINSA. (2019). *Boletín Epidemiológico del Perú*. Recuperado el febrero de 2020, de Reporte de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en el Perú,2019: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>
- Orosco, O., & Vílchez, B. (2012). *Calidad microbiológica de los frutos de Mauritia flexuosa (AGUAJE) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto 2012*. Recuperado el 8 de Agosto de 2019, de [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4255/Oscar\\_Tesis\\_Titulo\\_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4255/Oscar_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Rico, I., & Rivas, M. (2012). *Determinación de la calidad microbiológica de bebidas refrescantes dispensadas en maquinas de restaurantes de comida rápida del distrito 1 de la zona metropolitana de san salvador*. Recuperado el 13 de Julio de 2019, de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2762/1/Tesis.pdf>
- Sibrian, B. (2014). *Evaluación Microbiológica y Sanitaria en Manipuladores de Alimentos de Venta Ambulante, Municipio Girardot, estado Aragua*. Recuperado el 16 de Julio de 2019, de <http://riuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/123456789/5836/1/sbethelgeuse.pdf>

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios por la vida, por concluir con nuestra investigación, por ayudarnos a superar las dificultades que se nos presentaron a lo largo de este itinerario y lograr cumplir con este objetivo.

A nuestra querida Universidad Nacional de Jaén, a nuestros docentes que cada día nos transfirieron sus conocimientos.

A la Dra. Luz Azucena Torres por su apoyo brindado, por sus observaciones y correcciones durante el desarrollo del trabajo, por su tiempo, amistad y paciencia.

Agradecer de antemano al Ing. Jorge Eli Benavides Cieza por sus conocimientos brindados para la culminación de esta investigación.

Agradecemos a nuestra asesora la M. Sc. Yuriko Muriyo Sumillo Domen, por aceptar acompañarnos en la etapa final de nuestra tesis.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi querida madre, Nelly Yajahuanca, por creer en mí, por incentivar-me a luchar por mis sueños y por su apoyo incondicional para poder concluir mi carrera profesional. No existirá manera de devolverte todo el esfuerzo brindado, espero seguir teniendo logros para que estés muy orgullosa de mí como yo lo estoy de ti.

A mi bella hija Ashly Llanos por ser el motor y motivo de mi superación profesional, a mis abuelitos maternos Don Agustín y Doña Ricardina por ser entes fundamentales para seguir superándome, a mis hermanos, amigos y familiares que siempre me incentivaron a seguir adelante.

***Lesly Josely Molocho Yajahuanca***

Esta tesis se la dedico a mi madre Luisa Ipanaque con todo mi corazón, por ella soy otro en la vida y eres mi guía a ser un gran profesional, en recompensa te doy mi trabajo y toda mi gratitud.

Se lo dedico a mi abuelo Alejandro Ipanaque Acaro, mi padre Enofre rojas, a mis tíos Pedro y Jasinto Ipanaque y hermano Jerry F. Rojas Ipanaque, por ser un brazo derecho en todos los momentos que más necesité y así lograr mis metas.

***Diego Coll Rojas Ipanaque***

Esta tesis va dedicada en memoria a la Dr. Luz Azucena Torres García, quien en vida nos dirigió y apostó por nuestra tesis en calidad de asesora y lamentablemente tuvo que partir al lado de nuestro Dios, tras una lucha constante con esta covid-19, tuvimos la esperanza de su recuperación y esperamos hasta el último momento para poder concluir con usted, un abrazo hasta el cielo doctora.

***Lesly Molocho y Diego Rojas***

## **ANEXOS**

**Figura 10**

*Procedimiento en Placas Petrifilm™ para el recuento de **E. Coli** / Coliformes.*

**Almacenamiento**



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura 4°C (40°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



**2** Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



**3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura 25°C (77°F) y una humedad relativa <math>\leq 50\%</math>. **No refrigere** los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

**Preparación de la muestra**



**4** Prepare una dilución de una muestra de alimento.\* Pese o pipeteo la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado. \*Vea las indicaciones para Productos Lácteos y Jugos.



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptonas al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo lotheen libre de bisulfato o agua destilada.



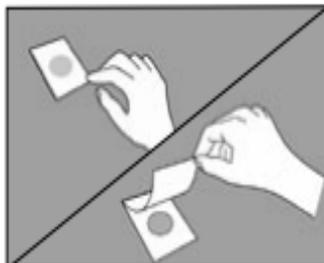
**6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

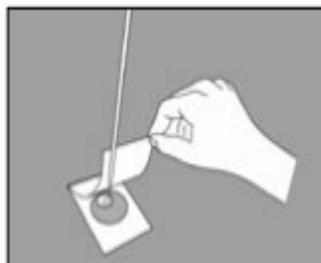
- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

## Inoculación

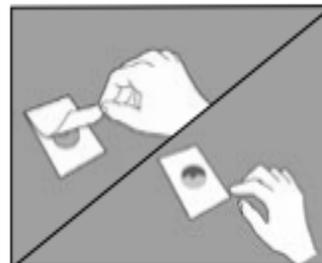
No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.



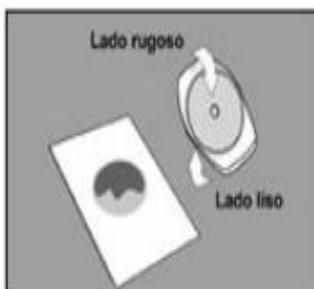
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



8 Con la Pipeta Electrónica 3M<sup>®</sup>, o una pipeta equivalente **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



9 Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No** la deje caer.



10 Con el lado **liso** hacia abajo, coloque el dispersor en la película superior sobre el inóculo.



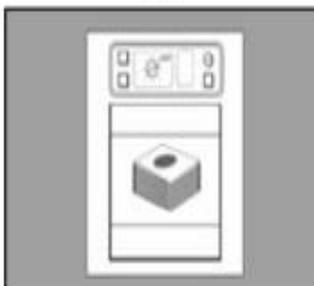
11 Presione **suavemente** el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire Ni deslice el dispersor.



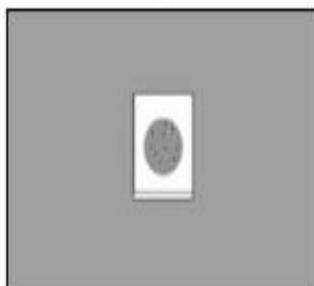
12 Levante el dispersor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

## Incubación

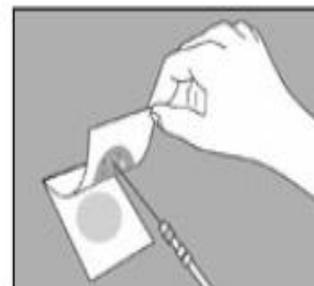
## Interpretación



13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.



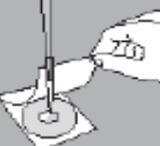
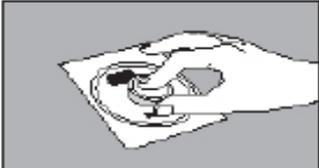
14 Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



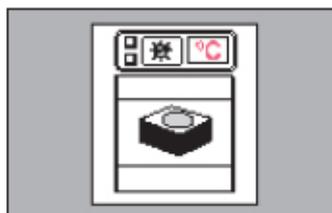
15 Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

**Figura 11**

*Procedimiento en Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de S. aureus.*

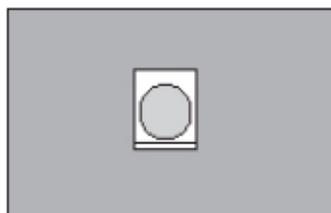
<p><b>Almacenamiento</b></p> 		
<p><b>1</b> Almacene los paquetes cerrados a una temperatura <math>\leq 8^{\circ}\text{C}</math> (<math>\leq 46^{\circ}\text{F}</math>). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 10 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.</p>	<p><b>2</b> Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y selle con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.</p>	<p><b>3</b> Placas y Discos: para prevenir la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas. Guarde las bolsas selladas en un lugar fresco y seco. Utilice las placas en un plato de un mes después de abrirlos. Utilice los discos en un plato de seis meses después de abrirlos. Evite la exposición de placas y de discos a temperatura <math>\geq 25^{\circ}\text{C}</math> (<math>\geq 77^{\circ}\text{F}</math>) y/o a humedad relativa <math>\geq 50\%</math>.</p>
<p><b>Preparación de la muestra</b></p>		
		
<p><b>4</b> Prepare una dilución de la muestra de alimento. Pese o pipete la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.</p>	<p><b>5</b> Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón DF fortificado, 0,0425 g/L de <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math> y con pH ajustado a 7,2; agua de peptona al 0,1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6578); solución salina (0,85 a 0,90%); caldo Lethen libre de bisulfito o agua destilada.</p> <p>No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.</p>	<p><b>6</b> Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.</p> <p>Para una recuperación y crecimiento óptimo de los microorganismos, ajuste el pH de la muestra diluida entre 6,5 y 7,5.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.</li> <li>• Para productos básicos: use solución 1N de HCl.</li> </ul>
<p><b>Inoculación</b></p>		
		
<p><b>7</b> Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior. En forma perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrada inferior, con la Placa Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).</p>	<p><b>8</b> Deslice cuidadosamente la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.</p>	<p><b>9</b> Aplique suavemente presión con el separador para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el separador sin doblarlo o deslizarlo. Espere por lo menos un minuto para que se solidifique el gel. Nota: Espere la muestra en cada placa individual antes de inocular la siguiente. Esto es muy importante, puesto que en la Placa Petrifilm Staph Express el gel se forma rápidamente.</p>

**Incubación**



**10** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

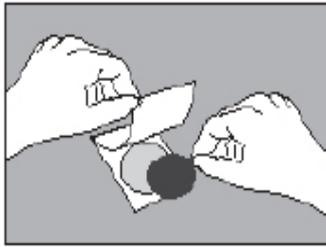
**Interpretación**



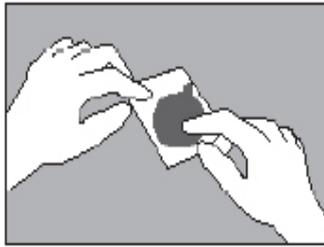
**11** Si no hay colonias presentes después de  $24 \pm 2$  horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.



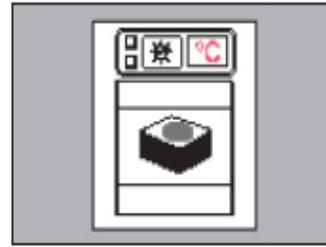
**12** Cuente las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**13** Remueva el Disco de su empaque individual tomándolo de la pestaña. Levante la película superior de la Placa Petrifilm y coloque el Disco en la cavidad de la placa. Bajo la película superior.



**14** Aplique presión gentilente al área del Disco, incluyendo sus bordes, deslizando un dedo firmemente a lo largo de la película superior. Esto garantizará un contacto uniforme del Disco con el gel y eliminará cualquier burbuja de aire.

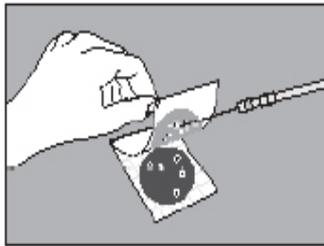


**15** Incube las placas con los Discos insertados cara arriba, en grupos de no más de 20 placas, por 1 a 3 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ó  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### Identificación adicional



**16** Cuento todas las zonas rosadas aunque no se encuentre presente una colonia.



**11** Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

**Figura 12**

*Preparación de agua peptonada*



**Figura 13**

*Muestras de bebidas refrescantes a base de soya.*



**Figura 14**

*Preparación de las diluciones de las bebidas refrescantes a base de soya con agua peptonada.*



**Figura 15**

*Sembrado de la dilución 10<sup>-3</sup> en Placas Petrifilm recuento de *E. coli*/Coliformes.*



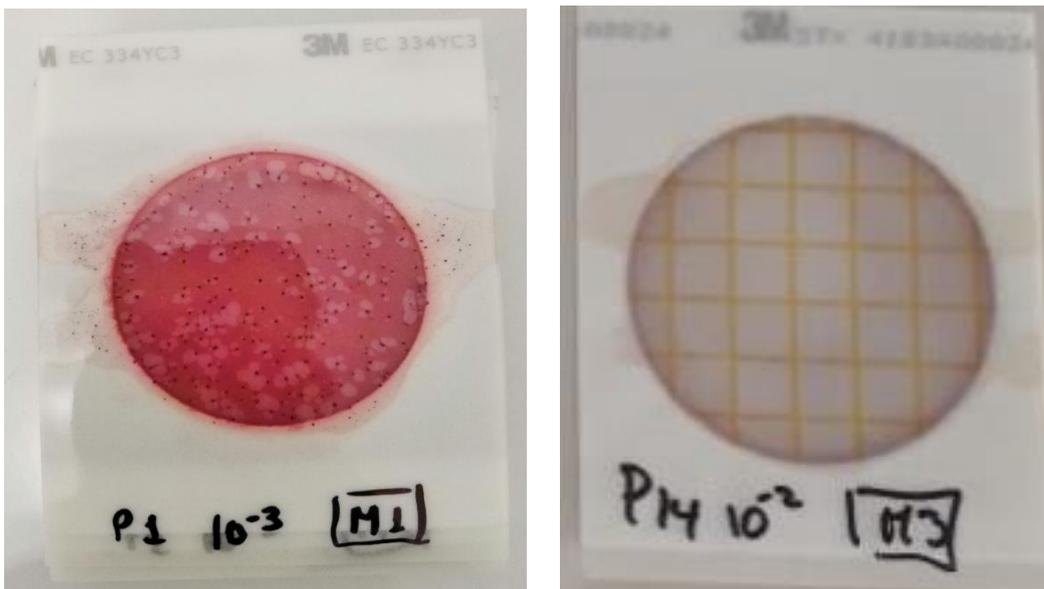
**Figura 16**

*Sembrado de la dilución  $10^{-2}$  en Placas Petrifilm Staph Express para recuento de *S. aureus*.*



**Figura 17**

*Interpretación del crecimiento bacteriano en placas petrifilm *E. coli* y *S. aureus*.*



## Figura 18

*Conteo de las unidades formadoras de colonias con ayuda del contador de colonias.*

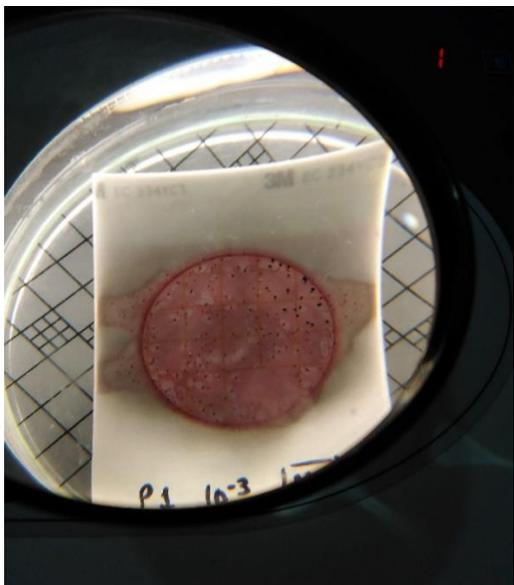
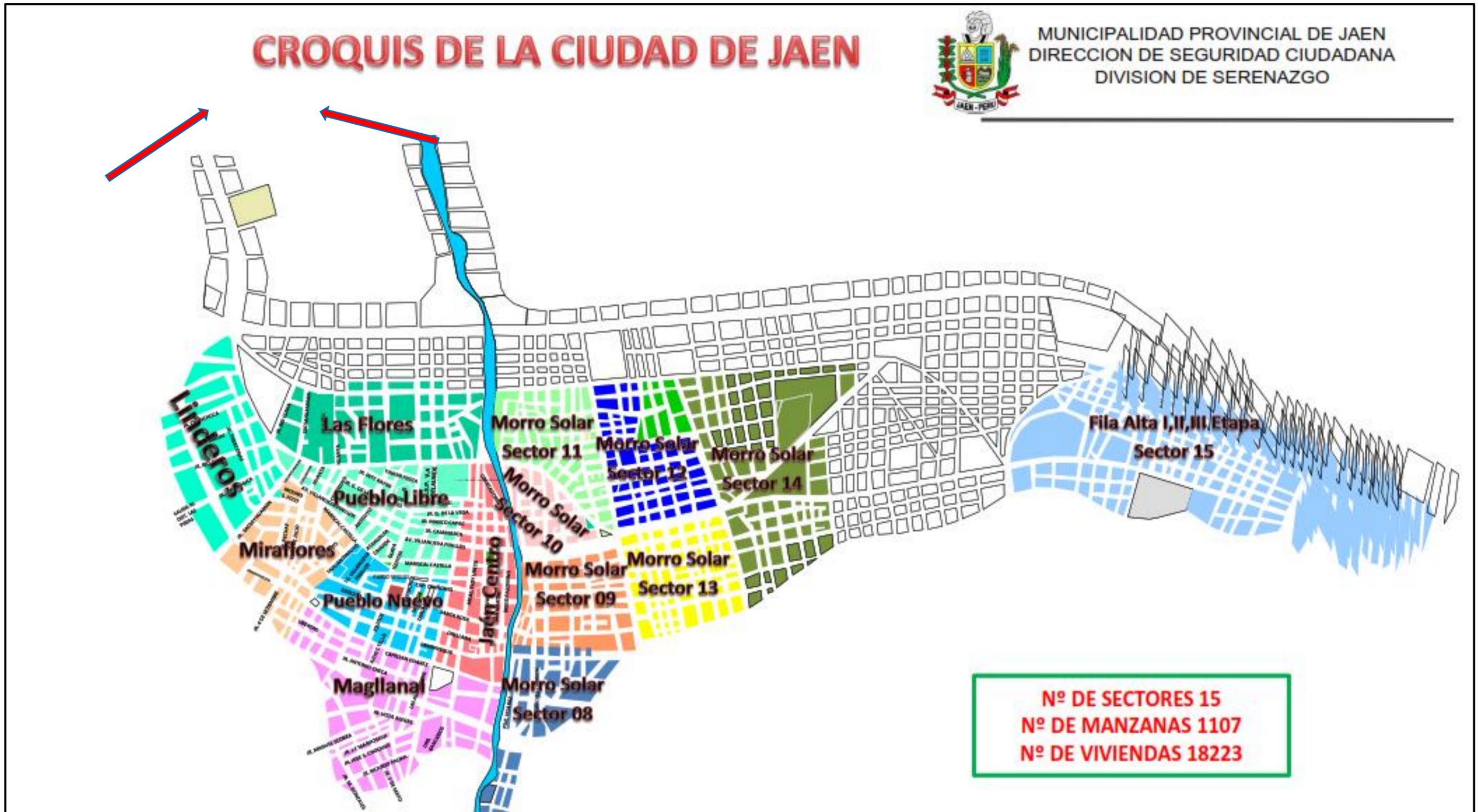


Figura 19

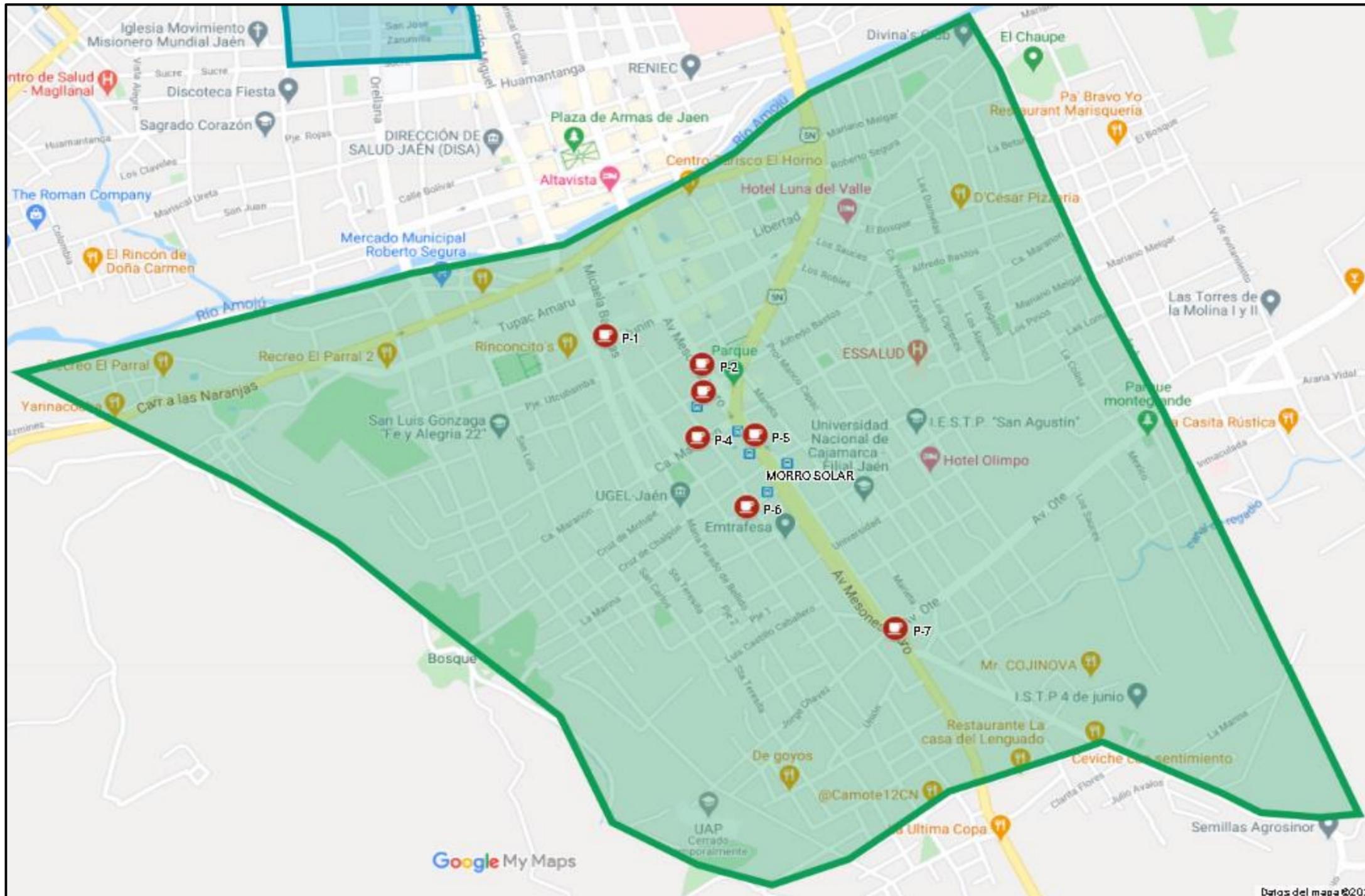
Ubicación geográfica del área de estudio.



Fuente: (Jaén, 2016)

Figura 20

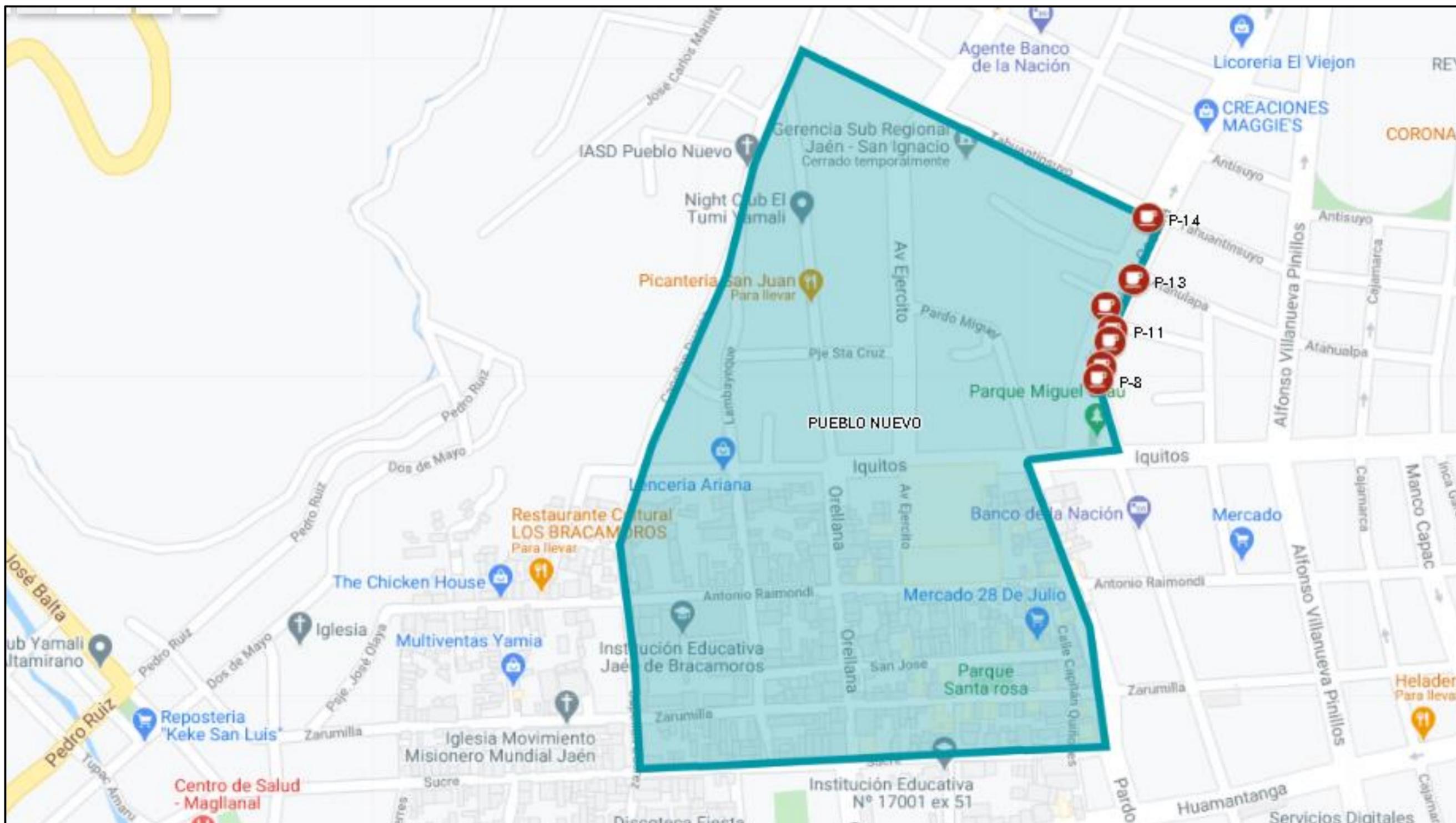
Vista satelital de Morro Solar.



Fuente: (maps, 2020)

Figura 21

Vista satelital de Pueblo Nuevo.



Fuente: (maps, 2020)