

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE JUGOS NATURALES COMERCIALIZADOS  
EN LOS ALREDEDORES DEL CAMPUS CENTRAL DE LA UNIVERSIDAD DE  
EL SALVADOR.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

ENRIQUE JAVIER ESCOBAR RUIZ  
KEIRY ARMIDA RODRIGUEZ CHAVARRIA

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO(A) EN QUÍMICA Y FARMACIA

OCTUBRE 2016

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR INTERINO**

LIC. JOSE LUIS ARGUETA ANTILLON

**SECRETARIA GENERAL INTERINA**

DRA. ANA LETICIA ZA VALETA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

**SECRETARIO**

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez.

**TRIBUNAL EVALUADOR**

**COORDINADORA DE AREA DE MICROBIOLOGÍA**

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez.

**COORDINADORA DE AREA DE INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y  
TOXICOLOGIA**

MAE. Nancy Zuleyma González Sosa.

**DOCENTE ASESORA**

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS TODO PODEROSO**

Por habernos dado la capacidad de alcanzar una de nuestras tantas metas propuestas. Por darnos la sabiduría para seguir adelante y poder enfrentar situaciones adversas en las cuales hemos fallado, por que nos ha dado las fuerzas para poder levantarnos de los tropiezos, y de los momentos difíciles en nuestra vida.

### **A NUESTROS CATEDRATICOS**

Por brindarnos los conocimientos necesarios para nuestra vida profesional.

### **A NUESTRA ASESORA**

- MSc. Coralia González de Díaz.

Por habernos brindado el tiempo, la dedicación y paciencia en el ordenamiento de ideas necesarias para la elaboración y estructuración de nuestro trabajo de graduación.

### **A NUESTRAS COMPAÑERAS**

- Andrea Landaverde
- Rocio Amaya

Por habernos brindado su valiosa colaboración a lo largo de nuestro trabajo de graduación.

Finalmente queremos agradecer al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), en especial a la jefa del Laboratorio de Control de Calidad Microbiológico

- MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez.

Por prestación de las instalaciones de los Laboratorios de Microbiología para la realización de nuestros análisis durante el tiempo requerido.

A TODAS LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA NOS  
BRINDARON SU APOYO EN TODO MOMENTO

“GRACIAS”

## DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de graduación a **DIOS**, por darme enormes bendiciones y por darme la sabiduría para sobrellevar todos los obstáculos que se presentaron durante la carrera, responder siempre a mis suplicas darme la guianza a lo largo de mi vida, y darme las fuerzas para poder culminar mi carrera.

A mi familia **especialmente a mi madre**, que con sacrificio y esfuerzo me ayudo con mis estudios, por estar pendiente siempre de mis necesidades, por enseñarme a no rendirme y seguir adelante a pesar de las dificultades, por decirme que no me olvidara que Dios es el que da la sabiduría.

A mi hermana, por darme el apoyo, estar pendiente de mi en toda mi carrera profesional, por darme ánimos en momentos difíciles.

A mi **amiga y compañera de tesis** por tenerme paciencia, por su apoyo, por compartir sus conocimientos, por ser una buena compañera en la carrera y en este trabajo.

A **Jaime Ernesto García**, por brindarme su apoyo, estar pendiente de mi en toda mi carrera profesional, por decirme que nunca me olvidara de Dios, por darme palabras de aliento y ayudarme a ser una mejor persona.

Enrique

## DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de graduación **a Dios todo poderoso** por haberme brindado la sabiduría necesaria y poder triunfar en mi carrera profesional, además de llenarme de sabiduría para enfrentar cualquier reto presentado.

**A mis padres** Persides Chavarría Flores y Adolfo Pineda Sánchez por ser los pilares importantes en mi vida y brindarme su apoyo incondicional en cada momento.

**A mis hermanos** Tatiana, Asael, Adolfo y Marcela por su apoyo y por qué de una y otra manera, me brindaron siempre las fuerzas para seguir adelante.

**A mi esposo** Wilmar Arnoldo Alvarado por su apoyo y comprensión aun en los momentos más difíciles.

**A mi hijo** Daniel Alejandro Alvarado por ser la inspiración más grande en mi vida.

**A mi amigo** y compañero de tesis, Enrique Javier Escobar por tenerme paciencia y haber compartido experiencias juntos.

## INDICE GENERAL

Capítulo I	
1.0 Introducción	xx
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	26
3.1. Historia sobre microbiología de alimentos.	26
3.2. Aspectos microbiológicos.	27
3.3. Definición de zumo (jugo) de fruta.	28
3.4. Los beneficios de los jugos naturales.	28
3.5. Medidas de higiene y sanidad.	29
3.6. Limpieza.	30
3.7. La sanitización del equipo, utensilios y superficies.	31
3.8. Higiene personal del manipulador.	32
3.8.1 Procedimiento para el lavado de manos.	32
3.9. Contaminación de los alimentos durante la preparación.	33
3.10. Enfermedades de transmisión alimentaria.	34
3.11. Microorganismos de Interés según RTCA 67.04.50:08, Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.	36
3.11.1 Organismos coliformes.	36
3.11.1.1 <i>Escherichia coli</i> .	36
3.11.1.2 Presencia en alimentos.	37
3.11.1.3 Determinación de Coliformes por medio del método de Número Más Probable (NMP).	37

3.11.1.4 Determinación de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> , por la técnica de tubos múltiples (NMP), utilizando un sustrato fluorogénico.	38
3.11.2 <i>Salmonella</i> .	39
3.11.2.1 Morfología típica de colonias de <i>Salmonella</i> .	39
3.11.2.2. Fuentes de contaminación.	40
3.11.2.3 <i>Salmonella</i> en jugos.	40
3.12. Pruebas Bioquímicas.	40
3.12.1 Prueba TSI.	41
3.12.2 Indol.	41
3.12.3 Rojo Metilo.	41
3.12.4 Prueba de Movilidad.	42
3.12.6 Vogues Proskahuer.	42
3.12.6 Agar Citrato.	42
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	45
4.1 Tipo de estudio	45
4.1.1 Campo	45
4.1.2 Experimental	45
4.1.3 Prospectivo	45
4.2 Investigación bibliográfica	45
4.3 Investigación de campo	45
4.3.1 Universo	45
4.3.2 Muestra	46
4.3.3 Diagnóstico de los puntos de venta de jugos naturales a analizar	46
4.4 Toma de muestra	46

4.5 Parte experimental	47
4.5.1 Selección recolección e identificación de muestras	47
4.5.2 Preparación de las diluciones de la muestra	47
4.5.3 Determinación de coliformes totales	48
4.5.4 Determinación y confirmación de <i>Escherichia coli</i>	48
4.5.5 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	49
4.5.6 Pruebas de Identificación Bioquímica	49
4.5.7. Comparación de resultados con el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.	51
4.5.8. Entrega de boletín informativo a los comerciantes de jugos naturales de naranja y zanahoria.	52
 Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados	54
 Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	83
 Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	86
Bibliografía	
Anexos	

## INDICE DE FIGURAS

Figuras N°	Pág. N°
1. Puestos ubicados en acera frente a ANDA y en acera de la calle San Antonio Abad fuera del Campus Central de la Universidad de El Salvador.	57
2. Vendedores de jugos naturales.	58
3. Condiciones bajo las cuales comercializan los jugos naturales de naranja y zanahoria.	59
4. Malas prácticas higiénicas de vendedores de jugos naturales e inadecuada limpieza de puestos que comercializan jugos naturales.	60
5. Presencia de fluorescencia con luz ultra violeta en la determinación de <i>Escherichia coli</i> en muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria, utilizando caldo fluorogénico (LMX) como sustrato por el método de Número Más Probable.	65
6. Presencia de anillo color rojo en la determinación de <i>E. coli</i> en muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria utilizando caldo fluorogénico (LMX) como sustrato por el método de NMP.	66
7. Confirmación de <i>E.coli</i> en muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.	67
8. Colonias de <i>Salmonella spp</i> en agar Salmonella-Shigela de muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.	70

9. Colonias de <i>Salmonella spp</i> en agar Bismuto Sulfito de muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.	71
10. Colonias de <i>Salmonella spp</i> en agar Mackonkey de muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.	71
11. Pruebas Bioquímicas para <i>Salmonella spp</i> .	77
12. Resultado de muestras de jugos de naranja y zanahoria analizadas con respecto al RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.	80
13. Entrega de hoja volante a los comerciantes de jugos naturales de naranja y zanahoria, en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.	81

## INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág. N°
1. Resultado positivo y negativo de pruebas bioquímicas.	43
2. Guía de observación de los puestos de venta de jugos naturales de naranja y zanahoria seleccionados ubicados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador.	54
3. Resultados Número Más Probable para <i>Escherichia. coli</i> .	63
4. Identificación de patógenos ( <i>Salmonella spp</i> ).	68
5. Resultados pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i>	74
6. Resumen de parámetros evaluados en los jugos naturales de naranja y de zanahoria.	78

## INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Resultados teóricos positivos de pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i> .	51

## INDICE DE ANEXOS

### ANEXO N°

1. Mapa ubicación de puestos que comercializan jugos en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.
2. Lista de chequeo para la verificación de las condiciones Higiénicas del personal y de los puestos que comercializan Jugos naturales.
3. Esquema para la dilución de muestras de jugos (de naranja y de zanahoria).
4. Esquema para la determinación de coliformes totales.
5. Esquema para la determinación y Confirmación de *Escherichia coli*.
6. Esquema para la determinación de *Salmonella spp.*
7. Pruebas Bioquímicas.
8. Criterios Microbiológicos de RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.
9. Hoja Volante.
10. Ejemplo lista de chequeo.
11. Etiqueta Identificación de jugos naturales de naranja y zanahoria.
12. Tabla de Número Más Probable para una serie de tres tubos (NMP).
13. Tablas de casos de enfermedades gastrointestinales atendidas en Bienestar Universitario entre el año 2014 al 2016.
14. Carta de solicitud a Bienestar Universitario para brindar información sobre pacientes atendidos por enfermedades gastrointestinales en el Campus Central de la Universidad de El Salvador.
15. Material y Cristalería.
16. Equipos, Medios de Cultivo y Reactivos.

## RESUMEN

## RESUMEN

Actualmente las enfermedades gastrointestinales asociadas a la ingestión de alimentos contaminados han aumentado debido a que la mayoría son causadas por microorganismos los cuales se transmiten a través de los alimentos contaminados.

El objetivo de este trabajo fue la evaluación de la calidad microbiológica de jugo natural de naranja y de jugo natural de zanahoria provenientes de doce puestos de venta de jugos naturales, ubicados en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador, teniendo como finalidad si estos son aptos para el consumo humano así como también si son una fuente importante en enfermedades gastrointestinales.

Por lo anterior, se realizó una lista de chequeo en la cual se observaron las condiciones de higiene y limpieza bajo las cuales se comercializan los jugos naturales, se realizaron muestreos durante dos semanas, la primer semana de muestreo se realizó en el mes de mayo de 2016, del 16 al 20 de mayo y la segunda semana de muestreo se realizó en junio, del 06 al 10 de junio, teniendo un total de 48 muestras obteniéndose los resultados de los análisis microbiológicos fueron: el 100% de las muestras que presentan *Escherichia coli*, el 87.50% que representa a 42 muestras de 48 muestras, presentan *Salmonella spp*, este porcentaje de muestras exceden los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, grupo alimentario 14, subgrupo 14.3 Subgrupo de alimento: Jugos y bebidas artificiales no pasteurizados.

Se identificaron como fuentes de contaminación a los manipuladores por la poca higiene que estos tienen, los utensilios que se utilizan, el agua utilizada, la ubicación de los puestos de venta de jugos naturales, las condiciones de limpieza de los puestos de venta de jugos naturales, demostrándose así que las

muestras no son aptas para el consumo humano, por lo que se recomienda a las autoridades de la Universidad de El Salvador, que trabajen en conjunto con la Alcaldía de San Salvador, así mismo con el Ministerio de Salud Pública, para tener un mejor control sobre estos puestos para que cumplan las condiciones mínimas para la preparación de jugos naturales, así como impartir charlas por medio de personal del Ministerio de Salud Pública al personal que está en contacto directo con los jugos naturales, para así estos puedan ser aptos para el consumo humano, y que puedan cumplir con la calidad que el Reglamento Técnico Centroamericano exige.

CAPITULO I  
INTRODUCCION

## 1.0. INTRODUCCION

En El Salvador, las enfermedades transmitidas por la ingesta de los alimentos son el resultado del consumo de una variedad de comidas y bebidas, contaminadas principalmente por microorganismos patógenos, los cuales son causantes de enfermedades al ser humano.

Por medio de los alimentos se pueden transmitir enfermedades que afectan la salud del consumidor, inclusive en algunos casos hasta pueden llevar a la hospitalización o la muerte. Las diarreas, el parasitismo, alergias y las intoxicaciones son algunos ejemplos de enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados. Las enfermedades son generadas por virus, bacterias, hongos y parásitos <sup>(1)</sup>.

Para poder prevenir la transmisión de este tipo de enfermedades es necesario realizar una cuidadosa manipulación de los alimentos.

Los 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, además de los utensilios utilizados para su elaboración.<sup>(26)</sup>

En base a una lista de chequeo se realizó una observación de las condiciones de limpieza e higiene que presentan tanto los establecimientos como el personal donde se comercializan jugos naturales.

Para poder evaluar la calidad microbiológica de los jugos naturales de naranja y de zanahoria los cuales no tenían hielo, el muestreo comprendió de lo siguiente: la recolección de 4 muestras de jugos naturales 2 muestras de jugo natural de naranja y 2 muestras de jugo natural de zanahoria de cada uno de los 12

puestos haciendo un total de 48 muestras, 24 muestras de jugo natural de naranja y 24 muestras de jugo natural de zanahoria, el muestreo se realizó en un total de cuatro semanas solo en 2 de ellas se tomaron muestras, 24 en cada una que fueron alternas para el tratamiento de estas, la primer semana de muestreo se realizó en el mes de mayo de 2016, del 16 al 20 de mayo y la segunda semana de muestreo se realizó en junio, del 06 al 10 de junio, se trabajó mañana y tarde es decir una muestra de jugo natural de naranja y una muestra de jugo natural de zanahoria en la mañana y de igual manera una muestra de cada uno de los jugos naturales por la tarde del mismo punto de venta, que se codificaron como Muestra 01 y Muestra 02, identificándolas con una etiqueta, para ver cuál es la variable que pueden presentar los datos en cuanto a carga microbiana por la diferencia en las horas que fueron comercializados, se recolectaron así como los comercializan ya sea en bolsas plásticas o en vasos descartables para evitar agregar una carga microbiana mayor al producto y se colocaron en bolsas de cierre hermético e inmediatamente se transportaron en hielera hasta el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) para sus respectivos análisis de los microorganismos siguientes: *E. coli* y *Salmonella spp*, en un periodo que comprendido entre el mes de mayo y junio del año 2016.

Se aceptará o se rechaza con base a los criterios microbiológicos dados en el RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, grupo alimentario 14, subgrupo 14.3

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis, se brindó información a través de una hoja volante, a los dueños de los puestos de venta de jugos, el

cual contenía una serie de recomendaciones, en el cual se les dio conocer la importancia de vender jugos de buena calidad microbiológica.

## CAPITULO II

### OBJETIVOS

## 2.0. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica de jugos naturales que se comercializan, en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. Verificar por medio de una lista de chequeo las condiciones de limpieza e higiene que presentan los establecimientos donde se comercializan jugos naturales.

2.2.2. Determinar la presencia de microorganismos como: *Salmonella spp* y *Escherichia coli*, en las muestras de jugos naturales de naranja y jugos naturales de zanahoria.

2.2.3. Comparar los resultados obtenidos con los límites permitidos en el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08, Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

2.2.4. Proporcionar a los comerciantes de jugos naturales una hoja volante, sobre las buenas prácticas higiénicas y buenas prácticas de elaboración, que se deben seguir para la preparación de jugos naturales.

CAPITULO III  
MARCO TEORICO

### 3.0 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Historia sobre microbiología de alimentos. <sup>(15)</sup>

Los modelos de predicciones generados por el Análisis de riesgo microbiológico(ARM) se expresan como la probabilidad de adquirir una Enfermedad de Origen Alimentario y/o el número de muertes atribuidas a una Enfermedad Transmitida por Alimentos(ETA) en una población, en un período dado. El Análisis de Riesgo Microbiológico se está usando cada vez más para la toma de decisiones que apuntan al manejo de los riesgos de patógenos de origen alimentario y como un método estándar para regular el comercio internacional de alimentos.

El análisis de riesgo tuvo su origen en la década de los 60 y 70 en donde varios compuestos químicos fueron conocidos como cancerígenos, esto cambio por completo los procesos de la evaluación en los riesgos para la salud, fue hasta la década de los 80 cuando tiene nacimiento la formación del Consejo Nacional de Investigación en los Estados Unidos. En los años recientes se han adoptado varios procesos de Análisis de Riesgo Microbiológico (ARM) para evaluar los riesgos de exposición a una Enfermedad de Transmisión Alimentaria (ETA). Más específicamente en 1994, el Acuerdo General de Tarifas y Comercio estableció el Acuerdo en la Aplicación de Medidas Fitosanitarias y el Acuerdo a Barreras Técnicas para el Comercio. Estos dos acuerdos intentaron asegurar: que ningún Estado miembro esté impedido de adoptar e implementar medidas para proteger la salud a los humanos, animales y plantas y facilitar el libre comercio internacional de alimentos asegurando la protección de la salud pública. Es un hecho, el establecimiento de líneas de trabajo y de procedimientos por los cuales la conducta de los países miembros y de sus determinaciones de

riesgo para garantizar la Seguridad Alimentaria están bajo los auspicios de la Organización Mundial de la Salud(OMS), Organización de Agricultura y Alimentos(FAO), Programa de Alimentos Standard, Comisión Codex Alimentarius (Codex). Hoy en día las determinaciones de Análisis de Riesgo Microbiológico (ARM) son un componente estándar, en el esfuerzo de proteger la salud pública y facilitar el libre comercio.

El Análisis de Riesgo Microbiológico comprende dos categorías:

- Cualitativa
- Cuantitativa

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. Por tanto, no se puede lograr un aumento de la calidad microbiológica mediante el análisis microbiológico sino que lo que hay que hacer es determinar en la Industria cuáles son los puntos de riesgo de contaminación o multiplicación microbiana (los llamados Puntos Críticos del proceso) y evitarlos siguiendo un código estricto de Buenas Prácticas de Elaboración y Distribución del alimento (BPE). <sup>(14)</sup>

En el desarrollo de las Buenas Prácticas de Elaboración (BPE) hay que hacer un análisis del riesgo consistente en determinar el peligro para la salud humana de un factor patógeno presente en un alimento y el medio como puede reducirse ese riesgo hasta valores infinitesimales. <sup>(14)</sup>

### 3.2 Aspectos microbiológicos. <sup>(27)</sup>

El primer aspecto que se debe considerar al estudiar la seguridad de un alimento para el consumo humano, es la microbiología, es decir, el estudio de

los microorganismos que potencialmente pueden desarrollarse en las condiciones específicas que presenta el alimento en particular.

### 3.3 Definición de zumo (jugo) de fruta. <sup>(2)</sup>

Zumo (jugo) de fruta se entiende 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.

### 3.4 Los beneficios de los jugos naturales. <sup>(17)</sup>

El organismo necesita de vitaminas y minerales para desarrollarse en forma sana, y las frutas y vegetales aportan gran cantidad de ellos. Preparar jugos caseros proporciona una buena cuota de vitalidad, sobre todo si los consumimos a diario.

Es lógico que resulte más fácil y cómodo el consumo de jugos ya elaborados, pero la cantidad de colorante y conservantes que contienen estos productos pueden provocar intoxicaciones, y ni que hablar de la calidad del sabor es imposible comparar un jugo natural y fresco elaborado al momento con uno de estos productos. Además, cada vez más niños son alérgicos a todo tipo de alimento o bebida elaborada con colorantes.

Los jugos naturales gozan de la ventaja de ser mucho más fácil de absorber y digerir, ya que los nutrientes ingresan mucho más rápido. Por eso, es imprescindible que los jugos frescos de fruta y verdura no falten en una dieta diaria. Estos proporcionan, minerales, vitaminas y nutrientes esenciales que generalmente se consumen por medio de tabletas o pastillas, en lugar de hacerlo en forma natural.

Las frutas y verduras contienen mucha cantidad de agua. Esta agua es muy pura y no reviste ninguna carga para el sistema digestivo, al contrario, ayudan a eliminar toxinas y de esta manera se transforman en una buena manera de desintoxicarnos.

Siempre que se vaya a preparar un jugo, se deben utilizar verduras y frutas frescas, ya que son las que conservan más intactas y en mayor cantidad los minerales y vitaminas. Si hay alguna parte en mal estado, habrá que retirarla para que no forme parte del jugo.

Se debe tener la precaución de lavarlas muy bien antes de comenzar la preparación, cortarlas justo antes de utilizarlas para evitar la oxidación de la fruta y la pérdida de vitamina C.

Para que el jugo conserve todas sus propiedades, se tiene que consumir inmediatamente después de prepararlo. Si se consume luego de unas horas no hará daño, pero habrá perdido parte de su frescura y nutrientes. Cuando se guarde en la heladera, lo mejor será utilizar una jarra de vidrio con tapa.

### 3.5 Medidas de higiene y sanidad. <sup>(27)</sup>

El procesamiento de alimentos es una actividad bastante especial, en que aquellos se están envasando para que los consuma el público en general, el cual normalmente hace fe de los procesadores sobre las condiciones en que el producto fue manipulado y procesado. Por lo tanto la confianza del consumidor y la aceptación de los productos alimenticios elaborados son algunas de las razones por las cuales la actividad puede prosperar.

Para lograr un producto seguro y confiable, es necesario realizar un correcto programa de limpieza, donde el objetivo principal es eliminar toda la suciedad, y

luego, por medio de la somatización realizada sobre la superficie limpia, disminuir la actividad microbiana, asegurando la destrucción de los organismos patógenos que puedan estar presentes.

### 3.6 Limpieza. <sup>(27)</sup>

Para realizar con éxito un programa de limpieza se deben considerar al menos los siguientes aspectos:

- Existencia de un adecuado suministro de agua de buena calidad.
- Elección correcta del detergente a usar
- Aplicación del método de limpieza que más se adapte a las condiciones del establecimiento específico.

La clase o tipo de detergente que se emplee está determinado por la naturaleza química de las sustancias que deben ser removidas, los materiales y la construcción de los equipos en el área de limpieza y la clase de técnica usada para llevarla a cabo.

El material a remover en las superficies del lugar de trabajo está generalmente compuesto por grasas, proteínas, hidratos de carbono también están los minerales que se encuentran en los alimentos y quedan como residuos de suciedad, además de residuos transmitida a la fruta desde su lugar de origen y en el proceso de recolección y transporte. La cantidad y tipo de componente varía según el tipo de fruta y su lugar de origen aunque es necesario conocer la naturaleza de la suciedad. Conocida esta naturaleza, la elección del detergente no es una tarea difícil.

En el caso específico de las de frutas, hortalizas, la mayor parte de los residuos están compuestos por hidratos de carbono y minerales, la mayoría de ellos son solubles en agua.

### 3.7 La sanitización del equipo, utensilios y superficies. <sup>(27)</sup>

La sanitización del equipo y utensilios es una labor que debe realizarse para controlar la actividad microbiana, una vez que por aplicación de los detergentes, se haya eliminado cualquier fuente de alimento para los microorganismos. Existen básicamente tres métodos para sanitizar los equipos y superficies de trabajo aplicación de calor, aplicación de luz ultravioleta y aplicación de sanitizadores químicos.

En esta ocasión se referirá al último punto, pues es el sistema más aplicado por ser más fácil y accesible para los vendedores, aunque la aplicación de vapor vivo también constituye un sistema de común ocurrencia que mayormente se pone en práctica en algunos hogares.

En este grupo de los sanitizadores químicos, los más aplicados son los clorados, utilizándose los hipocloritos de sodio y calcio, las cloraminas. En general, estos sanitizantes deben aplicarse con un pH entre 6 y 7 por un tiempo de 5 minutos, con temperaturas no superiores a los 30°C y con baja luminosidad.

Existen, sin embargo, muchas frutas sensibles a la aplicación directa de un sanitizado clorado. Así, por ejemplo, manzanas, frutillas y duraznos son muy sensibles al cambio de su sabor natural.

La sanidad en la industria de los alimentos se puede definir como la mantención planificada del medio en el cual se realiza el trabajo y con el cual tiene contacto el producto, con el fin de prevenir y minimizar alteraciones en este último, evitando así que se produzcan condiciones adversas para el consumidor. Además, deben procurarse condiciones de trabajo seguro, limpio y saludable.

Se ha mencionado la actitud de los trabajadores, debido a que es importante, en orden de que ello se refleje en el producto y ambiente laboral. En realidad, se está relacionando el producto y su medio con el consumidor.

### 3.8 Higiene personal del manipulador. <sup>(27)</sup>

Los trabajadores deben seguir una serie de normas de higiene, de manera de no contaminar el producto que se está elaborando. Estas son las siguientes:

- Deben lavarse cuidadosamente las manos y uñas antes de cualquier proceso.
- Para trabajar deben utilizar ropa adecuada, limpia y un delantal, de manera de aislar su ropa diaria de posible contacto con el producto.
- Deben utilizar gorro, o algún sistema que evita la caída de cabello sobre el producto en preparación.
- En lo posible se recomienda el uso de mascarillas, eliminando así cualquier contaminación por vía oral.
- Cada vez que abandonen o no su lugar de trabajo, deben ponerse y sacarse el delantal y lavarse las manos cada vez que vuelvan al proceso.
- Deben mantener la zona de trabajo en condiciones de perfecta limpieza.
- Deben mantener sus uñas cortas y sin barniz, y evitar usar joyas durante su trabajo.

#### 3.8.1 Procedimiento para el lavado de manos. <sup>(3)</sup>

Para el lavado de manos utilizar jabón desinfectante, un cepillo adecuado para lavarse las uñas y toallas desechables; siguiendo el procedimiento descrito a continuación:

- Abrir la llave del chorro; enjuagar desde las palmas y el dorso de ambas manos, entre los dedos; hasta los codos.
- Cerrar la llave del chorro y depositar jabón líquido sobre la palma de la mano.
- Frotar las palmas de las manos entre sí y entrelazar los dedos.
- Frotar cada palma contra el dorso de la otra mano y entrelazar los dedos.
- Frotar la punta de los dedos, alrededor de los pulgares y sobre las muñecas.
- Abrir el chorro y enjuagar desde los codos, hacia las manos hasta retirar la espuma y el jabón sin volver a tocar las partes lavadas.
- Con la palma de las manos, tomar agua para enjuagar la llave del chorro retirando toda la espuma.
- Secar las manos y los brazos suavemente, con toallas desechables y con las mismas cerrar la llave del chorro.
- Aplicar solución desinfectante en las manos y dejar secar

### 3.9 Contaminación de los alimentos durante la preparación. <sup>(11)</sup>

Los alimentos y materias primas se contaminan de las formas siguientes:

- a) Contaminación Física: Se produce cuando cae algún elemento u objeto en el alimento durante su preparación o distribución y se corre el riesgo de ingerirlo (ejemplo: anillos, cadenas, espinas, huesecillos y cabellos, entre otros).
- b) Contaminación Química: Ocurre cuando el alimento entra en contacto con una sustancia tóxica o un veneno. Por ello, no se deben usar envases de productos de limpieza para guardar alimentos, ya que pueden quedar restos del producto. Además se debe evitar almacenar sustancias químicas en las

áreas de procesamiento de alimentos. Se debe observar bien las latas de alimentos en conserva ya que si estas se encuentran oxidadas pueden transmitir esta sustancia tóxica a los mismos.

- c) Contaminación Biológica: Es producida por microorganismos como virus, bacterias, parásitos y hongos que se encuentran en los alimentos, en el aire o son transmitidos por el manipulador, insectos (moscas, cucarachas), roedores y otra fauna nociva.
  
- d) Contaminación Cruzada: Ocurre cuando un alimento contaminado entra en “contacto directo” con un alimento sano. Cuando se mezclan alimentos cocidos con crudos, en platos que no requieren posterior cocción, como ensaladas, platos fríos, tortas con crema, postres y otros. Se produce también por la transferencia de contaminantes de un alimento a otro a través de las manos, utensilios, equipos, tablas de cortar. Además generalmente ocurre por el uso de utensilios sucios y por la falta de higiene de quien manipula o vende alimentos.

### 3.10 Enfermedades de transmisión alimentaria. <sup>(6)</sup> (16)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001), las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como: “El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas” (OPS/OMS, 1997).

Se conoce con las siglas ETAs a las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos, que corresponden a un grupo de afecciones que tienen al alimento como responsable de vehicular a los agentes desencadenantes de las mismas, con sintomatología visible, predominando síntomas gastroentéricos (vómitos, diarreas y cólico abdominal), a los que se suman aquellos que son propios de la enfermedad.

#### Clasificación de las ETAs

##### a) De acuerdo a su origen (tipo de peligro):

- Químicas: son producidas por algún tipo de sustancia química, tales como productos de limpieza, residuos de medicamentos, plaguicidas, entre otros.
- Físicas: pueden ser producidas por diferentes tipos de elementos, tales como trozos de metal, de vidrio, de madera, entre otros.
- Biológicas: son producidas por agentes biológicos, pudiendo ser de origen parasitario, bacteriano y vírico, entre otros.

##### b) De acuerdo al mecanismo de acción del agente:

- Infecciones Alimentarias: son aquellas producidas por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes infecciosos. Ejemplos: Hepatitis, Salmonelosis, Brucelosis, Colibacilosis y Triquinelosis, entre otros.
- Intoxicaciones Alimentarias: son aquellas producidas por la ingestión de sustancias tóxicas (toxinas) formadas en tejidos de plantas o animales,

productos metabólicos de los microorganismos (toxinas) o sustancias químicas incorporadas en cualquiera de los eslabones de la cadena alimentaria. Ejemplos: intoxicación por la toxina de estafilococo, Botulismo, por plaguicidas, por ciguatera y mariscos, entre otros.

- Toxiinfecciones alimentarias: son aquellas que ocurren cuando los agentes infecciosos ingeridos con alimentos contaminados, producen toxinas dentro del huésped. Ejemplos: Cólera y Botulismo Infantil, entre otros.

3.11. Microorganismos de Interés según RTCA 67.04.50:08, Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

#### 3.11.1 Organismos coliformes. <sup>(8) (29)</sup>

Los organismos Coliformes se definen como bacilos no esporulados, Gram negativos, de crecimiento aeróbico o anaeróbico facultativo, y que fermentan la lactosa con producción de gas a 37 °C en un lapso de 24 a 48 horas.

##### 3.11.1.1 *Escherichia coli*. <sup>(1) (3) (10) (30)</sup>

Se caracteriza por ser un patógeno intestinal de la familia Enterobacteriaceae, es capaz de causar enfermedad diarreica en el hombre y en los animales.

La *Escherichia coli* es una bacteria que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales de sangre caliente. Microscópicamente es una bacteria en forma de bacilo, aerobia y aerobia facultativa, que consta de una pared celular delgada debido a una capa de péptidoglucano, por lo que impide que el reactivo de tinción (cristal violeta), sea retenido en el interior de la célula clasificándose como gram negativa;

estructuralmente la mayoría forma fimbrias y pilis los cuales le sirven para desplazarse, así como también microcápsulas. Macroscópicamente forma colonias puntiformes, convexas, mucosas y cremosas. Esta bacteria sólo se encuentra en forma vegetativa, no forma esporas.

La transmisión de estas bacterias a los humanos puede ocurrir por medio de la leche, refrescos y los jugos sin pasteurizar, por alimentos contaminados, por manipuladores de alimentos infectados que practican una defectuosa higiene personal o por contacto con agua contaminada de aguas residuales humanas.

#### 3.11.1.2 Presencia en alimentos. <sup>(8)</sup> <sup>(30)</sup>

La presencia de organismos coliformes en alimentos es por lo general el resultado de su exposición a los desperdicios orgánicos, cadáveres y desechos animales, heces, tierra, fauna nociva, aguas negras, residuos de alimento en utensilios y equipo, aunado a esto, la posibilidad de desarrollo que encuentren en tales sustratos. En consecuencia su hallazgo en un alimento no involucra necesariamente a la materia fecal.

Los seres humanos pueden contraer una infección con cepas patógenas mediante el consumo de alimentos y agua directamente contaminados con heces o contaminados como consecuencia de la contaminación cruzada con otras fuentes alimentarias. Además, existe la posibilidad de contaminación a partir del contacto humano directo durante la preparación de los alimentos.

#### 3.11.1.3 Determinación de Coliformes por medio del método de Número Más Probable (NMP). <sup>(18)</sup>

El método del número más probable consiste de una prueba presuntiva y confirmativa. La serie de tres tubos generalmente se utiliza para la mayoría de los alimentos.

Se basa en la dilución de la muestra en tubos múltiples, de tal forma que todos los tubos de la menor dilución sean positivos y todos los tubos de la mayor dilución sean negativos. 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  $35 \pm 0.5$  °C (coliformes) y a  $45.5 \pm 0.2$  °C (coliformes fecales y *E.coli*)

3.11.1.4 Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*, por la técnica de tubos múltiples (NMP), utilizando un sustrato fluorogénico. <sup>(3)</sup>

El método consta de una sola etapa que consiste en colocar volúmenes determinados de muestras de jugo en una serie de tubos conteniendo medio de cultivo fluorogénico y luego son incubados a  $35 \pm 0.5$  °C durante 24 horas.

El caldo fluorogénico contiene un cromógeno, 5-bromo-4-cloro-3-indol- $\beta$ -D-galactopiranosido (X-GAL), el cual es hidrolizado por la enzima  $\beta$ -Dgalactosidasa que es producida por las bacterias coliformes totales, ocasionando un cambio de color en el caldo de amarillo claro a azul-verde que indica y confirma prueba positiva para coliformes totales durante 24 a 48 horas.

Así mismo, el caldo contiene un fluorógeno, 4-metilumberiferil- $\beta$ -D-glucoronido (MUG), el cual es hidrolizado por la enzima  $\beta$ -D-glucoronidasa que es producida por la bacteria *Escherichia coli*, ocasionando una fluorescencia en el caldo bajo la luz ultravioleta de onda larga (336 nm) que indica la presencia de esta bacteria.

Para confirmar la presencia de *Escherichia coli* debe comprobarse la producción de indol en los tubos que presentan fluorescencia, utilizando el reactivo de Kovac indol (solución de p-dimetilaminobenzaldehído en alcohol

amílico); por medio del desarrollo de un anillo color violeta que indica una reacción positiva.

### 3.11.2 *Salmonella*.<sup>(8)</sup>

Fue descubierta hace más de un siglo por el científico norteamericano Dr. D.E. Salmón, en cuyo laboratorio se aisló en 1885 una de las variedades más agresivas.

El género *Salmonella* pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*. Son bacilos gram negativos y su tamaño oscila entre 1 y 3  $\mu\text{m}$  de longitud y entre 0.5 y 0.7  $\mu\text{m}$  de diámetro. Generalmente poseen flagelos peritricos que les dan movilidad. Son bacterias anaerobias facultativas que fermentan la glucosa, produciendo ácido sulfhídrico y gas. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y la actividad de agua (aw) mínima de desarrollo es de 0.93

#### 3.11.2.1 Morfología típica de colonias de *Salmonella*.<sup>(21)</sup>

- a) Agar Hektoen Entérica (HE): Colonias Azul-verde a colonias azules con o sin centro negro. Muchos cultivos de *Salmonella* pueden producir colonias con centros negros grandes, brillantes o pueden aparecer como colonias casi completamente negros.
- b) Agar Desoxicolato Xilosa Lisina (XLD): Colonias de color rosa con o sin centro negro. Muchos cultivos de *Salmonella* pueden producir colonias con centros negros grandes, brillantes o pueden aparecer como colonias casi completamente negros.
- c) Agar Sulfito de Bismuto (BS): Colonias color, marrón, gris o negras; a veces tienen un brillo metálico. medio circundante es generalmente de

color marrón al principio, pero puede aparecer en negro en el tiempo con el aumento de la incubación, produciendo el llamado efecto de halo.

#### 3.11.2.2. Fuentes de contaminación. <sup>(25,26)</sup>

La bacteria vive en el intestino humano o animal y se transmite a otras personas por el contacto con heces contaminadas. Los casos más comunes de salmonelosis se dan por comer alimentos de origen animal contaminado: pollo, huevos, carne vacuna, leche, y en general cualquier alimento incluidos frutas y vegetales. Las mascotas también pueden estar infectadas y transmitir la infección al entrar en contacto con ellas. También puede ser fuente el agua contaminada con materia fecal de aves, insectos, etc. Son fuentes las personas que no se lavan las manos con agua y jabón antes de tocar los alimentos y son portadores sanos, es decir que aparentan estar sanos y no tienen síntomas, pero eliminan bacterias por la materia fecal. Esta bacteria también puede estar en equipos y utensilios de la cocina

#### 3.11.2.3 *Salmonella* en jugos. <sup>(8)</sup>

En julio de 1999 se estudió un brote de salmonelosis, con varios incidentes en EUA y Canadá, todos asociados al consumo de jugos de naranja no pasteurizados preparados en una planta procesadora. El producto se distribuía en hoteles restaurantes y supermercados en vasos individuales como jugo recién extraído.

#### 3.12 Pruebas Bioquímicas. <sup>(13)</sup>

Las pruebas bioquímicas son un conjunto de reacciones que determinan la actividad de una vía metabólica de la bacteria a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no. Para ello, hay que partir de un cultivo puro obtenido en el aislamiento,

subcultivando de una colonia bien aislada. Es aconsejable realizar una comprobación efectuando una siembra en placa en la que crezcan únicamente colonias del mismo tipo.

### 3.12.1 Prueba TSI

(Triple Sugar Iron o Triple Azúcar Hierro) El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. También permite la identificación de la producción de H<sub>2</sub>S. Esta es una prueba específica para la identificación a nivel de género en la familia Enterobacteriaceae, con objetivo de diferenciar entre: -bacterias fermentadoras de la glucosa -bacterias fermentadoras de la lactosa -bacterias fermentadoras de sacarosa bacterias aerogénicas -bacterias productoras de H<sub>2</sub>S a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre.

### 3.12.2 Indol

El indol es uno de los productos de degradación metabólica del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. La producción de indol es una característica importante para la identificación de muchas especies de microorganismos. La prueba de indol está basada en la formación de un complejo rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo de los reactivos de Kovacs y Ehrlich. El medio de cultivo utilizado debe ser rico en triptófano.

### 3.12.3 Rojo Metilo

Una de las características taxonómicas que se utilizan para identificar los diferentes géneros de enterobacterias lo constituyen el tipo y la proporción de

productos de fermentación que se originan por la fermentación de la glucosa. Se conocen 2 tipos generales: La fermentación ácido-mixta y la fermentación del 2,3 butanodiol. En la fermentación ácido mixta se forman fundamentalmente láctico, acético y succínico, además de etanol, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. En la vía del butanodiol se forman cantidades menores de ácido (acetato y succinato) y los principales productos son el butanodiol, etanol, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. El rojo de metilo es un indicador de pH con un intervalo entre 6,0 (amarillo) y 4,4 (rojo), que se utiliza para visualizar la producción de ácidos por la vía de fermentación ácido mixta.

#### 3.12.4 Prueba de Movilidad

Esta prueba bioquímica permite identificar bacterias de acuerdo a su movilidad a la reacción de Indol a la descarboxilación de la ornitina.

#### 3.12.5 Vogues Proskahuer

En la prueba de Vogues-Proskahuer se determina la vía de fermentación del butanodiol descrita en la prueba de rojo de metilo. El acetilmetilcarbinol (o acetoína) es un producto intermediario en la producción de butanodiol. En medio alcalino y en presencia de oxígeno la acetoína es oxidada a diacetilo. Este se revela en presencia de alfa-naftol dando un color rojo-fucsia.

#### 3.12.6 Agar Citrato

La utilización de citrato como única fuente de carbono es una prueba útil en la identificación de enterobacterias. La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta en un medio de cultivo con citrato como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6.

Cuadro N°1. Resultado positivo y negativo de pruebas bioquímicas. <sup>(22)</sup>

Prueba o sustrato	Resultado Positivo	Resultado Negativo
TSI	de fondo amarillo	de fondo rojo
Prueba de Indol	Anillo de color rojo en la superficie	Anillo de color amarillo en la superficie
Movilidad	Aglutinación	No hay aglutinación
Prueba de Voges Proskauer	Color rosa a color rojo	No hay cambio de color
Prueba de Rojo de Metilo	Color rojo difuso	Color amarillo difuso
Citrato Simmons	Crecimiento: color azul	No hay crecimiento: no hay cambio de color

CAPITULO IV  
DISEÑO METODOLOGICO

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 Tipo de estudio:

4.1.1 Campo: se visitaron los diferentes puestos de venta de jugos naturales en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

4.1.2 Experimental: las muestras recolectadas se analizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El salvador.

4.1.3 Prospectivo: basado en investigación bibliográfica de hechos actuales respaldados mediante análisis experimentales.

### 4.2 Investigación bibliográfica:

Se realizó una investigación bibliográfica de libros, trabajos de graduación y revistas en las diferentes bibliotecas.

- Dr. Benjamín Orozco de la facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador
- Central de la Universidad de El Salvador
- Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador
- Internet

### 4.3 Investigación de campo

4.3.1 Universo: se encuentra conformado por los jugos naturales de naranja y zanahoria que se comercializan, en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador. (Ver anexo N° 1)

4.3.2 Muestra: Están constituidas por los jugos de naranja y Zanahoria que se comercializan en los 12 puestos de venta.

#### 4.3.3 Diagnóstico de los puntos de venta de jugos naturales a analizar

Se realizó un recorrido por los alrededores del Campus Central de la Universidad en donde se observó de manera minuciosa cada uno de los puestos en donde se comercializan los jugos naturales de naranja y zanahoria, por medio de una lista de chequeo elaborada (Ver anexo N° 2) para determinar cada una de las condiciones de higiene bajo las cuales opera cada uno de los establecimientos, a cada puesto se le asignó un código que va desde el 01 al 12 seguido de un guión y el número 16 correspondiente al año del análisis. Posteriormente se procederá a determinar el porcentaje de puestos que cumplen con las condiciones mínimas de higiene para comercializar sus jugos.

4.4 Toma de muestra: se recolectaron 4 muestras de jugos naturales 2 de naranja y 2 de zanahoria de cada uno de los 12 puestos haciendo un total de 48 muestras, 24 muestras de jugo natural de naranja y 24 muestras de jugo de natural de zanahoria, el muestreo se realizó en un total de cuatro semanas solo en 2 de ellas se tomaron muestras, 24 en cada una que serán alternas para el tratamiento de estas, la primer semana de muestreo se realizó en el mes de mayo de 2016, del 16 al 20 de mayo y la segunda semana de muestreo se realizó en junio, del 06 al 10 de junio, se trabajó mañana y tarde es decir un jugo de naranja y uno de zanahoria en la mañana y de igual manera uno de cada uno por la tarde del mismo punto de venta las muestras recolectadas en la mañana se codificaron como Muestra 01, y las muestras recolectadas en la tarde fueron codificadas como Muestra 02, para ver cuál es la variable que presentaría los datos en cuanto a carga microbiana por la diferencia en las horas que fueron comercializados, se recolectaron así como los comercializan ya sea en bolsas plásticas o en vasos descartables para evitar agregar una carga microbiana mayor al producto y se colocaran en bolsas de cierre

hermético e inmediatamente se transportaron en hielera hasta el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) para sus respectivos análisis.

#### 4.5 Parte experimental

##### 4.5.1 Selección recolección e identificación de muestras

De cada uno de los 12 puestos de venta se recolectaron cuatro muestras dos muestras de jugo natural de naranja y dos muestras de jugo natural de zanahoria haciendo un total de 48 muestras, en bolsa plástica o como se comercializados en cada uno de los negocios, colocándolas posteriormente en bolsas plásticas transparentes con cierre hermético en la cual se le coloca su respectiva etiqueta de identificación.

Inmediatamente se colocan en una hielera, limpia y desinfectada, y se transportan al laboratorio de microbiología de alimentos.

##### 4.5.2 Preparación de las diluciones de la muestra de jugos naturales

de naranja y zanahoria (Anexo N° 3) <sup>(19)</sup> <sup>(20)</sup>

- Desinfectar el exterior de la bolsa que contiene la muestra, homogenizar la muestra hasta que todas las partículas de refresco estén suspendidas.
- Primera dilución ( $10^{-1}$ ): Medir asépticamente 25.0 mL de la muestra, con una pipeta estéril y adicionar a un frasco que contiene 225.0 mL de agua peptonada, agitar para homogenizar.
- Segunda dilución ( $10^{-2}$ ): Medir con pipeta estéril 10.0 mL de la dilución anterior y se adicionar a otro frasco de dilución que contiene 90.0 mL de agua peptonada, agitar para homogenizar.

- Tercera dilución ( $10^{-3}$ ): Medir con pipeta estéril de la dilución anterior 10.0 mL y adicionar a un frasco de dilución que contiene 90.0 mL de agua peptonada y luego agitar para homogenizar.
- Asegurando la agitación de cada dilución, antes de su inoculación, se procura que no transcurra un tiempo mayor de 15 minutos entre la dilución de la muestra y su inoculación.

#### 4.5.3 Determinación de coliformes totales (Anexo N° 4) (19) (20)

Tomar 1.0 mL de la dilución  $10^{-1}$  con pipeta estéril y transferir a cada uno de tres tubos que contengan 9.0 mL de caldo Fluorogénico, repetir este procedimiento para las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ .

Incubar los tubos por 24 horas a  $35 \pm 2$  °C.

Un cambio de coloración a azul-verdoso para prueba positiva

#### 4.5.4 Determinación y confirmación de *Escherichia coli* (Anexo N° 5) (19) (20)

Se observan los tubos positivos de coliformes totales con luz UV, para ver la fluorescencia.

Tomar una asada de los tubos positivos con fluorescencia y sembrar en agar EMB, incubar a una temperatura de  $35 \pm 2$  °C por 24-48 horas.

Adicionar 2 o 3 gotas de reactivo de kovac a cada uno de los tubos con fluorescencia y observar coloración rojiza, lo que indica prueba positiva para *Escherichia coli*.

Las colonias con brillo metálico en el agar EMB confirman la presencia de *Escherichia coli*.

#### 4.5.5 Determinación de *Salmonella spp* (Anexo N° 6) <sup>(21) (22)</sup>

Dilución ( $10^{-1}$ ): Tomar 25.0 mL de muestra y colocar en un frasco con 225.0 mL de caldo lactosado e incubar a  $35\pm 2$  °C por 24 horas.

Después de la incubación:

Tomar 1.0 mL de la dilución  $10^{-1}$  y colocar en un tubo que contiene 10.0 mL de tetracionato, en otro tubo colocar 0.10 mL de la dilución  $10^{-1}$  en 10.0 mL de caldo Rappaport.

Incubar el tubo con Tetracionato a 35°C por 24 horas y el tubo con rappaport a 43°C por 24 horas

De cada uno de los tubos se sembrar por el método de estrías en agar bismuto sulfito (BS), Salmonella-Shigela (SS) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) e incubar a 37°C por 24-48 horas.

Se debe de observar para prueba positiva el crecimiento de colonias con las características siguientes:

(BS): colonias cafés, grises o negras.

(SS): Colonias traslucidas con centro negro.

(XLD): colonias rosadas con o sin centro negro.

Para confirmar la presencia de *Salmonella spp* o identificar a otros posibles microorganismos, se realizan las siguientes determinaciones:

#### 4.5.6 Prueba de Identificación Bioquímica (Anexo N° 7) <sup>(21) (22)</sup>

Se realizarón los siguientes análisis bioquímicos, prueba de triple-azúcar-hierro y sulfuro de hidrogeno (TSI y H<sub>2</sub>S), prueba de Indol, prueba de rojo de metilo, prueba de movilidad, prueba de Vogues Proskauer y prueba de citrato, a colonias seleccionadas que presentan coloración y cambios de color en el medio, en agar Salmonella-Shigela, colonias traslucidas con centro negro, en agar Bismuto Sulfito, colonias café con brillo metálico y agar XLD, colonias

rosadas con centro negro, o colonias que presente colonias presuntivas de *Salmonella spp*, sembrar en agar Mackonkey e incubar por 24 horas a 35°C, tomar de las colonias presuntivas de *Salmonella spp*, colonias amarillas realizar las pruebas bioquímicas para confirmar o descartar la presencia de dicho microorganismo.

a) Prueba de Triple-Azúcar-Hierro y Sulfuro de Hidrogeno (TSI y H<sub>2</sub>S) <sup>(21) (22)</sup>

Las colonias seleccionadas se deben inocular haciendo una picada en el centro hasta el fondo del medio triple azúcar hierro (TSI); con la ayuda de un asa en punta, posteriormente se estrían suavemente sobre el bisel. Incubar los tubos por 24 horas a 35°C.

b) Prueba de Indol <sup>(21) (22)</sup>

Inocular una asada de colonias seleccionadas, en un tubo con caldo triptófano y se incuba por 24 horas a 37°C. Luego se extrae el triptófano añadiendo 4 gotas de éter, dejar reposar durante 5 minutos, posteriormente añadir 10 gotas de reactivo de Kovac lentamente por las paredes del tubo, observar formación de un anillo violáceo en la superficie.

c) Prueba de Rojo de Metilo <sup>(21) (22)</sup>

Inocular una asada de colonias seleccionadas, en un tubo con caldo MR-VP, incubar durante 24 horas a 37°C. Luego agregar 4 gotas de reactivo rojo de metilo, observar la coloración final del medio. Coloración roja indica prueba positiva.

d) Prueba de Movilidad <sup>(21) (22)</sup>

Tomar una asada de colonia sospechosa con la ayuda de un asa en punta, inocular verticalmente en un tubo con medio agar SIM (sulfuro-indol-movilidad), picando hasta la mitad del tubo. Incubar por 24 horas a 37°C.

e) Prueba de Voges Proskauer <sup>(21) (22)</sup>

Tomar una asada de colonias seleccionadas, e inocular en caldo MR- VP (Rojo de Metilo-Voges Proskauer), incubar durante 24 horas a 37°C. Agregar 0.6 mL de solución de alfa naftol, agitar, posteriormente añadir 0.2 gotas de hidróxido de potasio al 40%, agitar, dejar en reposo durante 1 hora.

f) Prueba de Citrato <sup>(21) (22)</sup>

Con la ayuda de un asa en punta, tomar una asada de colonias seleccionadas, se inocula en medio Citrato Simmons incubar a 37°C durante 24 horas. Observar el cambio de coloración del medio de verde a azul que indica prueba positiva, en caso de no ser positiva no se observara cambio de coloración.

Tabla N° 1. Resultados teóricos positivos de pruebas bioquímicas para

*Salmonella* <sup>(4) (19)</sup>

Prueba	TSI	Gas	H <sub>2</sub> S	Rojo de Metilo	Voges Proskauer	Indol	Citrato	Movilidad
Resultado	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	v	+

(+): Positivo, (-): Negativo, v: variable

4.5.7 Se compararon los resultados con el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimento. (Ver Anexo N° 8), y así se pudo evaluar la calidad microbiológica de los jugos naturales de naranja y de zanahoria.

4.5.8. Entrega de hoja volante a los comerciantes de jugos naturales de Naranja y zanahoria.

- Se realizó la entrega de una hoja volante (Ver Anexo N° 9), a los comerciantes de jugos naturales de naranja y zanahoria, en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

## 5.0 Resultados y Discusión de Resultados

### 5.1. Lista de Chequeo

Previo a la recolección y al procesamiento de muestras se realizó un diagnóstico por medio de la observación a los 12 puestos que comercializan jugos naturales de naranja y de zanahoria ubicados en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador, los puestos se codificaron del 01 al 12 seguido de guión 16 que corresponde al año en que se recolectaron las muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, el diagnóstico incluía diferentes variables como la ubicación de los puestos, entre otros (Ver anexo N° 2).

Dichas variables permitieron recolectar información de los parámetros que están relacionados con las condiciones higiénicas bajo las cuales operan dichos puestos. Obteniéndose los siguientes resultados de los puestos no conformes con los requerimientos mínimos de higiene esto según las Buenas Prácticas Higiénicas y las Buenas Prácticas de Manufactura. Los resultados se presentan en el cuadro N° 2:

Cuadro N° 2. Guía de observación de los puestos de venta de jugos naturales de naranja y de zanahoria seleccionados ubicados en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

Parámetros	Puestos que cumplen	Puestos que no Cumplen
1. ¿Los puestos están ubicados donde no hay contaminación, de automóviles, fauna nociva, aves, polvo?	2	10

Cuadro N° 2 (Continuación)

Parámetros	puestos que cumplen	puestos que no cumplen
2. ¿Los puestos son exclusivos para la venta de jugos naturales?	0	12
3. ¿El personal se lava las manos periódicamente?	2	10
4. ¿Lavan adecuadamente los utensilios utilizados antes y después de preparar el jugo?	1	11
5. ¿El personal ocupa la indumentaria adecuada, como guantes, redecillas o gorro en la cabeza, delantal?	1	11
6. ¿Poseen recipientes con tapadera para los desechos sólidos?	5	7
7. ¿El personal no utiliza objetos personales o maquillaje a la hora de la preparación de los jugos?	2	10
8. ¿El puesto cuenta con suministro de agua potable?	3	9
9. ¿Las frutas son lavadas antes de preparar los jugos?	1	11
10. ¿El personal lava sus manos antes de manipular las frutas para preparar los jugos?	2	10

El cuadro N° 2 muestra los resultados de la lista de chequeo al momento de observar los puestos que comercializan jugos naturales de naranja y de zanahoria, en los cuales se puede observar que la mayoría de puestos no cumplen con los parámetros que fueron evaluados por medio de la lista de chequeo, se observó que 10 de los 12 puestos están ubicados cerca de paradas de autobuses, y donde transitan muchos automóviles, además de estar expuestos a polvo, fauna nociva como las moscas, siendo estos una fuente de contaminación.

Se observó que en todos los puestos, además de comercializar jugos naturales, también comercializan otro tipo de alimentos, como boquitas, tortas de distintas

clases, fruta, papas fritas, el personal que manipula las frutas para la preparación o extracción del jugo de naranja o jugo de zanahoria, es el que manipula los demás alimentos, y al momento de la recolección de las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria, se observó por un tiempo aproximado de 15 minutos que el personal no se lavaba las manos luego de manipular otro alimento o después de la elaboración o extracción de un jugo, al momento de la preparación de jugos el personal no lava adecuadamente los utensilios utilizados, ya que se observó que en algunos de estos puestos el extraían el jugo por medio de extractor manual para el caso del jugo de naranja pero este no se encontraba cubierto para protegerlo del ambiente, y los desechos de naranja no eran removidos de inmediato, para el caso del jugo de zanahoria utilizaban un extractor eléctrico y de igual manera los restos no eran removidos después de la extracción del jugo, además las frutas no son lavadas adecuadamente, en la mayoría de los puestos no tienen un contenedor con tapadera para los desechos sólidos, si no que tienen bolsas plásticas grandes, en la mayoría de estos puestos el personal que labora, utiliza objetos personales como anillos, relojes, y las mujeres utilizan lo que es maquillaje, además de no utilizar la indumentaria adecuada a la hora de preparar los jugos naturales, en muchos de los puestos no tienen un suministro de agua potable, teniendo el agua en recipientes grandes, y en la mayoría estos están sin tapa para proteger el agua.

Un ejemplo de una lista de chequeo en la evaluación de los parámetros anteriores se muestra en el Anexo N° 10.

5.2 Imágenes de los puestos que comercializan jugos naturales de naranja y zanahoria.



Figura N° 1. Puestos ubicados en acera frente a ANDA y en acera de la calle San Antonio Abad fuera del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

La figura N° 1 muestra las condiciones en las que los puestos comercializan jugos, exponiendo los jugos a contaminación de automóviles, autobuses, polvo de la calle, hojas de los arboles, aves, esto debido a que los puestos no poseen las condiciones adecuadas para proveer una suficiente protección contra agentes externos, y estos agentes son una fuente de contaminación a la hora de la preparación de los jugos naturales de naranja y de zanahoria.



Figura N° 2. Vendedores de jugos naturales.

La figura N° 2 muestra personal que labora en los puestos que comercializan jugos naturales de naranja y zanahoria, en su mayoría no utilizan la indumentaria adecuada, como guantes, redecillas o gorro para el cabello, para la apropiada manipulación de las frutas a la hora de preparar los jugos, así como la manipulación de los jugos. Además portan objetos personales como anillos, relojes, aretes, estos pueden acumular residuos de alimentos y suciedad, que posteriormente se convierten en fuentes de contaminación a la hora de la preparación de los jugos naturales de naranja y de zanahoria.



Figura N° 3. Condiciones bajo las cuales comercializan los jugos naturales de naranja y zanahoria.

La figura N° 3 muestra las condiciones de como se comercializan los jugos naturales de naranja y de zanahoria, las cuales no son las adecuadas ya que la mayoría de estos los tienen en hieleras, en recipientes plásticos o en vasos de vidrio tapados con una bolsa plástica transparente, e incluso en un huacal el cual esta nada mas cubierto con una manta, estos se encuentran a temperatura ambiente, lo cual no es una buena práctica de elaboración de jugos, ya que además de estar expuestos los jugos a contaminación externa, estas malas condiciones en las cuales se comercializan los jugos son adecuadas para el crecimiento de bacterias patógenas como la *Salmonella spp* y la *Escherichia coli*.



Figura N° 4. Malas prácticas higiénicas de vendedores de jugos naturales inadecuada limpieza de puestos que comercializan jugos naturales.

La figura N° 4 muestra la falta de prácticas higiénicas que los vendedores de jugos naturales realizan, dicha falta de prácticas higiénicas se observó en diez de los doce puestos que se observaron, ya que no poseen un suministro de agua potable que les permita realizar la adecuada limpieza de los utensilios periódicamente, no cuentan con un área para lavarse las manos cada vez que sea necesario, además en su mayoría no cuentan con recipientes con tapa para los desechos sólidos como cascaras de frutas, por medio de estos desechos hay insectos los cuales pueden ser un vector para la contaminación de jugos, no hay una buena limpieza en los pisos, estos no son exclusivos para la venta de jugos naturales, en muchos de estos puestos se comercializan también

comidas que llevan pollo, embutidos, otro tipo de jugos que llevan huevo, alimentos que pueden estar contaminados con *Salmonella spp* y que por las malas prácticas higiénicas se puede dar una contaminación cruzada.

Además de observar las condiciones de higiene de los establecimientos que comercializan jugos naturales de naranja y zanahoria, se evaluaron muestras de jugos provenientes de los 12 puestos de venta ubicados en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador para determinar su calidad microbiológica, se analizaron 24 muestras de jugos naturales de naranja y 24 muestras de jugo de zanahoria. Los análisis que se realizaron a las muestras son específicos y nos brindan información sobre la manipulación de las frutas, si los manipuladores cumplen con las buenas prácticas higiénicas, si las condiciones en que son almacenados son las ideales y si el establecimiento es capaz de brindar una protección adecuada contra la contaminación del ambiente de aéreas aledañas a este.

Los parámetros evaluados según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 67.04.50:08 Alimentos, Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, fueron los siguientes: Determinación de *Escherichia coli* por medio del método Número Más Probable (NMP), también se determinó la presencia de *Salmonella spp*, lo cual nos indica una contaminación por medio de la exposición de los utensilios a desperdicios de alimentos, a la exposición de fauna nociva, heces, tierra, desechos orgánicos, por la mala higiene del manipulador, la transmisión de estas bacterias puede ocurrir por medio de los jugos sin pasteurizar.

5.3. Resultados Obtenidos para *Escherichia coli* en las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria.

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de la determinación de *Escherichia coli*, comparando los resultados con el

Reglamento Técnico Centro Americano 67.04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, las 48 muestras de jugos naturales, 24 muestras de jugo natural de naranja y 24 muestras de jugo natural de zanahoria, 12 de cada una fueron recolectadas por la mañana y 12 por la tarde, la muestra 01 de jugo de natural de naranja y de jugo natural de zanahoria es como se identifican en la tabla y estas fueron recolectadas en la mañana, y la muestra 02 de jugo natural de naranja y jugo natural de zanahoria fueron recolectadas en la tarde, ninguna muestra cumple con el límite establecido, pero presentan una mayor contaminación las que fueron recolectadas por la tarde asumiendo que por la hora estas muestras ya se encuentran expuestas a una mayor contaminación, ya sea porque los utensilios han sido mal lavados o el ambiente que está más contaminado.

En base a observaciones de los puestos que comercializan jugos naturales de naranja y de zanahoria, el bajo resultado en el Número Más Probable se debe a que estos puestos como el puesto con el código 10-16 el cual presenta un resultado de 20 NMP/mL en las muestras de jugo natural de naranja debido a que el personal ocupa guantes a la hora de la preparación de los jugos, cuenta con recipientes para desechos sólidos, el jugo natural estaba guardado en un recipiente con tapa y en refrigeración, el jugo fue licuado, esto podría ser causa de la carga microbiana con respecto a la *Escherichia coli*, lo cual indica que la posible fuente de contaminación es el agua con el lavan los utensilios, en la muestra de jugo natural de zanahoria en el mismo puesto se observa un aumento en el Número Más Probable con resultado de 240 NMP/mL en la muestra uno y esto debido a que al momento de la preparación también fue licuado y la licuadora no fue lavada después de haber preparado el jugo natural de naranja estas muestras fueron recolectadas en la mañana, de esta forma se da una contaminación cruzada, en la segunda muestra del jugo natural de zanahoria la cual fue recolectada en horas de la tarde, con un resultado de 150

NMP/mL, en este momento la licuadora después de haber preparado el jugo de naranja fue enjuagada con agua.

En los puestos en que dicho resultado es >1100 NMP/mL, como el puesto con el código 02-16 en el cual tanto las muestras de jugo natural de naranja como las muestras de jugo natural de zanahoria las cuales presentan dicho resultado, es debido a que en la observación realizada en estos puestos, a la hora de la preparación de los jugos el personal no ocupaba la indumentaria adecuada como guantes, redecías para el cabello, además de utilizar objetos personales como anillos, relojes, no contar con recipientes con tapa para los desechos sólidos, las naranjas estaban ya peladas y partidas en una bandeja de metal la cual estaba descubierta exponiendo las naranjas al polvo y otros tipos de contaminantes, utilizando en varios de estos puestos un extractor manual el cual no era lavado después de la extracción del jugo, el jugo de zanahoria era extraído por medio de un extractor eléctrico el cual no tenía la adecuada limpieza. Estas malas prácticas higiénicas son un factor de importancia en la contaminación de los jugos naturales de naranja y zanahoria.

En los puestos en los que la carga microbiana es menor, algunos de los manipuladores ocupan cierta indumentaria, en algunos casos utilizan delantal, zapatos cerrados, o guantes.

Cuadro N° 3. Resultado Número Más Probable para *Escherichia coli*.

Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08				< 3.0 NMP/mL			
Muestras recolectadas en la mañana (01)				Muestras recolectadas en la tarde (02)			
Código de puesto	Tipo de muestra	NMP/mL	Resultado	Código de puesto	Tipo de muestra	NMP/mL	Resultado
01-16	Jugo de naranja	20	No conforme	01-16	Jugo de naranja	20	No conforme
	Jugo de zanahoria	240	No conforme		Jugo de zanahoria	150	No conforme
02-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme	02-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme

Cuadro N° 3 (Continuación)

Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08				< 3.0 NMP/mL			
Muestras recolectadas en la mañana (01)				Muestras recolectadas en la tarde (02)			
Código de puesto	Tipo de muestra	NMP/mL	Resultado	Código de puesto	Tipo de muestra	NMP/mL	Resultado
03-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme	03-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme
04-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme	04-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme
	Jugo de zanahoria	43	No conforme		Jugo de zanahoria	150	No conforme
05-16	Jugo de naranja	23	No conforme	05-16	Jugo de naranja	43	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme
06-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme	06-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme
07-16	Jugo de naranja	20	No conforme	07-16	Jugo de naranja	20	No conforme
	Jugo de zanahoria	240	No conforme		Jugo de zanahoria	150	No conforme
08-16	Jugo de naranja	28	No conforme	08-16	Jugo de naranja	28	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme
09-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme	09-16	Jugo de naranja	>1100	No conforme
	Jugo de zanahoria	93	No conforme		Jugo de zanahoria	15	No conforme
10-16	Jugo de naranja	20	No conforme	10-16	Jugo de naranja	200	No conforme
	Jugo de zanahoria	240	No conforme		Jugo de zanahoria	150	No conforme
11-16	Jugo de naranja	9.4	No conforme	11-16	Jugo de naranja	64	No conforme
	Jugo de zanahoria	>1100	No conforme		Jugo de zanahoria	>1100	No conforme
12-16	Jugo de naranja	3.0	No conforme	12-16	Jugo de naranja	3.0	No conforme
	Jugo de zanahoria	6.1	No conforme		Jugo de zanahoria	93	No conforme



Figura N° 5. Presencia de fluorescencia con luz ultravioleta en la determinación de *Escherichia coli* en muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, utilizando caldo fluorocult (LMX) como sustrato, por el método de Número Más Probable.

La figura N° 5 muestra resultados positivos para *Escherichia coli* en muestras de jugo natural de naranja y jugo natural de zanahoria, esto indica una contaminación de los jugos naturales la cual puede ser por medio del manipulador, los utensilios utilizados a la hora de la extracción del jugo, o por medio de una contaminación cruzada, para determinar si cumplen o no con el límite establecido en el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos par la Inocuidad de Alimentos, se utilizó el método el Número Más Probable, utilizando una serie de tres diluciones con tres tubos por dilución (Ver cuadro N° 3).



Figura N° 6. Presencia de anillo color rojo en la determinación de *Escherichia coli* en muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria utilizando caldo fluorocult (LMX) como sustrato, por el método de Número Más Probable.

La figura N° 6 muestra la confirmación de la presencia de *Escherichia coli* en muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, por medio de la aparición de un anillo color rojo, después de observar fluorescencia, en dicha prueba se utilizó reactivo de Kovac, confirmando así la posibilidad de una contaminación por medio del personal que comercializa los jugos naturales de naranja y de zanahoria, como también una contaminación cruzada, así como también una contaminación por medio del agua con la que se lavan los utensilios, se utilizó el método del Número Más Probable para determinar si cumple con el límite establecido en el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos par la Inocuidad de Alimentos (Ver cuadro N° 3)

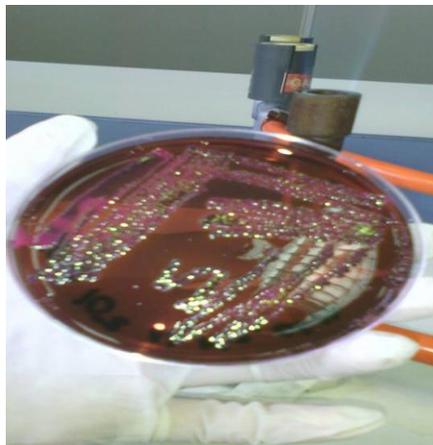


Figura N° 7. Confirmación de *Escherichia coli* en muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.

La figura N° 7 muestra la presencia de *Escherichia coli* en las muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, el resultado positivo son colonias verdes con brillo metálico en agar EMB, dicha prueba es cualitativa.

5.4. Resultados obtenidos para *Salmonella spp* en las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria.

A continuación se presentan los resultados para la determinación de *Salmonella spp* en muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria, comparando los resultados obtenidos con el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos par la Inocuidad de Alimentos, los resultados conformes se muestran resaltados en negrita.

Cuadro N° 4. Identificación de Patógenos (*Salmonella spp*)

Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08				Ausencia		
Muestras recolectadas en la mañana (01)				Muestras recolectadas en la tarde (02)		
Código de puesto	Tipo de muestra	Identificación de <i>Salmonella spp</i>	Resultado	Tipo de muestra	Identificación de <i>Salmonella spp</i>	Resultado
01-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
02-16	Jugo de naranja	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>	Jugo de naranja	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>
	Jugo de zanahoria	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>	Jugo de zanahoria	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>
03-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
04-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
05-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
06-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
07-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
08-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
09-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
10-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme

Cuadro N° 4 (Continuación)

Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08				Ausencia		
Muestras recolectadas en la mañana (01)				Muestras recolectadas en la tarde (02)		
Código de puesto	Tipo de muestra	Identificación de <i>Salmonella spp</i>	Resultado	Tipo de muestra	Identificación de <i>Salmonella spp</i>	Resultado
11-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	Presencia	No conforme
12-16	Jugo de naranja	Presencia	No conforme	Jugo de naranja	Presencia	No conforme
	Jugo de zanahoria	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>	Jugo de zanahoria	<b>Ausencia</b>	<b>conforme</b>

En el cuadro N° 4 se muestran los resultados para la determinación de *Salmonella spp* en jugos naturales de naranja y zanahoria comparando los resultados con el límite establecido en el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos

En el puesto 02-16 el resultado es conforme para las dos muestras de jugo natural de naranja como para las dos muestras de jugo natural de zanahoria, la ausencia de *Salmonella spp* en este puesto, por medio de las observaciones hechas, es debido a que no utilizan los mismos utensilios a la hora de la preparación de los jugos naturales, el personal utiliza redecillas para el cabello, guantes, además de no preparar alimentos, como pollo, u otro tipo de jugos los cuales llevan huevo, puesto que dichos alimentos son fuentes de contaminación de *Salmonella spp*, en el puesto 12-16 se observa que el jugo de zanahoria es el único que tiene ausencia de dicha bacteria patógena, en base a las observaciones realizadas a la hora de extraer el jugo el extractor estaba limpio, el personal utiliza redecillas en la cabeza, guantes, en el jugo natural de naranja hay presencia de de *Salmonella spp*, esto debido a una contaminación cruzada, pues conforme a las observaciones realizadas, a la hora de extraer el jugo natural, las naranjas son partidas con cuchillo, y en dicho puesto solo tiene

uno, y se preparan alimentos que contienen pollo, la forma de limpieza del cuchillo es con una toalla de tela y este no es lavado, en cambio para la extracción de jugo natural de zanahoria, esta es lavada, y la zanahoria entera es la que se ocupa para extraer el jugo en un extractor automático.

En los demás puestos hay presencia de *Salmonella spp* en las muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, ya que en estos puestos también se preparan otro tipo de alimentos que llevan pollo, u otro tipo de jugos que llevan huevo, y los jugos son pasados por una licuadora, que en muchas ocasiones solo es enjuagada con agua, lo cual no garantiza una buena limpieza de esta, además de tener un solo cuchillo, el cual no tiene una adecuada limpieza debido a que se utiliza una toalla de tela, el personal utiliza lo que son objetos personales como anillos, relojes, no utilizar la indumentaria adecuada como guantes, redecillas en la cabeza.



Figura N° 8. Colonias de *Salmonella spp* en agar Salmonella-Shigela de muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria.

La figura N° 8 muestra la presencia de *Salmonella spp*, en jugos naturales de naranja y de zanahoria, confirmando la presencia de esta en agar Salmonella-Shigela, dando colonias características translúcidas con punto negro.

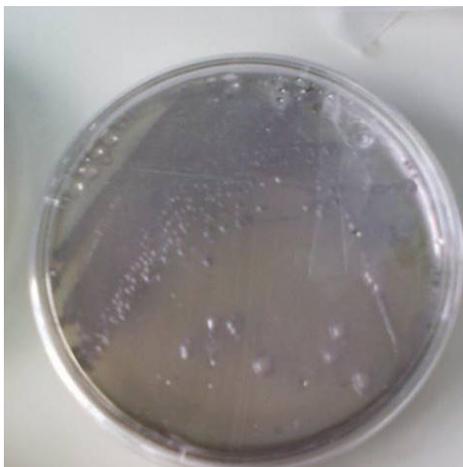


Figura N° 9. Colonias de *Salmonella spp* en agar Bismuto Sulfito de muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria.

La figura N° 9 muestra la presencia de *Salmonella spp*, en jugos naturales de naranja y de zanahoria, dando colonias características en agar Bismuto Sulfito (BS), las cuales son cafés o grises con brillo metálico.



Figura N° 10. Colonias de *Salmonella spp* en agar Mackonkey de muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria.

En la figura N° 10 se muestran los resultados de sembrar colonias seleccionadas en agar Mackonkey en el cual crecen colonias de color amarillo las cuales son de *Salmonella spp*, confirmando así la presencia o ausencia de dicha bacteria.

Para confirmar la presencia o ausencia de la *Salmonella spp* se realizaron pruebas bioquímicas, las colonias de color amarillo las cuales son de *Salmonella spp*, las pruebas bioquímicas realizadas son las siguientes: triple-azucar-hierro y sulfuro de hidrogeno (TSI y H<sub>2</sub>S), prueba de Indol, prueba de rojo de metilo, prueba de movilidad, prueba de Vogues Proskauer y prueba de citrato, los resultados se muestran a continuación en el cuadro N° 5.

#### 5.5. Resultados obtenidos en pruebas bioquímicas en la identificación de *Salmonella spp*.

El cuadro N° 5 muestra los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria, y así confirmar la presencia o ausencia de *Salmonella spp*, en el puesto 02-16, se observa ausencia de *Salmonella spp*, debido a que las pruebas bioquímicas de TSI, en desprendimiento de H<sub>2</sub>S es negativo, siendo esta una prueba en la que dicha bacteria desprende H<sub>2</sub>S, otra prueba la cual determina la presencia o ausencia de dicha bacteria es la de Indol, y en las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria de dicho puesto, esta prueba es positiva se forma un anillo color rojo en la superficie, y el resultado esperado para *Salmonella spp* tiene que ser negativo, la siguiente prueba en la cual se basó para poder dar el resultado de ausencia en las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria fue la del citrato, la cual en presencia de *Salmonella spp* hay un cambio de coloración del medio, en este caso no hubo cambio de coloración del

medio, el cambio es de verde a un color azul, las pruebas de Rojo de Metilo fue positiva, el medio presento un color rojo, la prueba de Vogues Proskauer, fue negativa, ya que no hubo cambio de coloración en el medio, y la prueba de movilidad fue positiva, esto a que se observó una expansión de la bacteria, de la misma manera son los resultados para las pruebas bioquímicas en las muestras de jugo natural de zanahoria del puesto con el código 12-16.

En los demás puestos y las muestras de jugo natural de naranja del puesto con el código 12-16, estas pruebas bioquímicas TSI, Indol, Citrato, dan el resultado esperado en presencia de *Salmonella spp*, ya que hay desprendimiento de gas  $H_2S$ , la prueba de Indol es negativa, no se da la formación de un anillo color rojo en la superficie, y la prueba de citrato es positiva, se da un cambio de color en el medio de color verde a una coloración azul, la prueba de Rojo de Metilo es positiva, esto porque se observó un cambio en el medio, una coloración roja, la prueba de Vogues Proskauer es negativa, no se observó cambio de color en el medio, la prueba de movilidad positiva, se observó un desplazamiento de la bacteria en incluso desprendimiento de gas  $H_2S$ .

Cuadro N° 5. Resultados pruebas bioquímicas para *Salmonella*.

Muestras recolectadas en la mañana (01)										Muestras recolectadas en la tarde (02)								
Código de puesto	Tipo de muestra	Prueba								Tipo de muestra	Prueba							
		TSI	G as	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M		TSI	G as	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M
01-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	Jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
02-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+
03-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
04-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+

(+): Positivo, (-): Negativo, (I): Indol, (C): Citrato, (M): Movilidad, (RM): Rojo de Metilo, (VP): Voges Proskauer

Cuadro N° 5. (Continuación)

Muestras recolectadas en la mañana (01)										Muestras recolectadas en la tarde (02)								
Código de puesto	Tipo de muestra	Prueba								Tipo de muestra	Prueba							
		TSI	G a s	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M		TSI	G a s	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M
05-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	Jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
06-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
07-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
08-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	-	+	-	+	-	+

(+): Positivo, (-): Negativo, (I): Indol, (C): Citrato, (M): Movilidad, (RM): Rojo de Metilo, (VP): VogesProskauer

Cuadro N° 5. (Continuación)

Muestras recolectadas en la mañana (01)										Muestras recolectadas en la tarde (02)								
Código de puesto	Tipo de muestra	Prueba								Tipo de muestra	Prueba							
		TSI	G a s	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M		TSI	G a s	H <sub>2</sub> S	R M	V P	I	C	M
09-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	Jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
10-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
11-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
12-16	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de naranja	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+
	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+	jugo de zanahoria	De fondo amarillo	+	+	+	-	-	+	+

(+): Positivo, (-): Negativo, (I): Indol, (C): Citrato, (M): Movilidad, (RM): Rojo de Metilo, (VP): Voges Proskauer



Figura N° 11. Pruebas Bioquímicas positivas para *Salmonella spp*, para los jugos naturales de naranja y zanahoria.

La figura N° 11 muestra la confirmación de *Salmonella spp* por medio de pruebas bioquímicas como: Prueba de TSI, Prueba de Movilidad, Prueba de Citrato, Prueba de Indol, Prueba de Rojo de Metilo y Prueba de Vogues Proskauer, los resultados de estas pruebas son específicas para esta bacteria patógena, con las cuales se confirma con una mayor certeza la presencia de esta, con presencia en un 42 de las muestras de jugo natural de naranja y zanahoria no cumpliendo el límite establecido en el RTCA 04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos cuya especificación es Ausencia, cumpliendo con esta especificación 6 de las muestras de jugo natural de naranja y zanahoria.

#### 5.6. Cuadro resumen de resultados.

A continuación se presenta un cuadro resumen de los resultados obtenidos en el análisis de muestras de jugo natural de naranja y de jugo natural de zanahoria.

Cuadro N° 6. Resumen de parámetros evaluados en los jugos naturales de naranja y de zanahoria.

Muestras recolectadas en la mañana (01)					Muestras recolectadas en la tarde (02)			
Código de puesto	Tipo de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	Resultado final	Tipo de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	Resultado final
Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08		<3.0 NMP/mL	Ausencia	-----	-----	<3.0 NMP/mL	Ausencia	-----
01-16	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	240	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	150	Presencia	No conforme
02-16	jugo de naranja	>1100	Ausencia	No conforme	jugo de naranja	>1100	Ausencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Ausencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Ausencia	No conforme
03-16	jugo de naranja	>1100	Presencia	No Conforme	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme
04-16	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	43	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	150	Presencia	No conforme
05-16	jugo de naranja	23	Presencia	No conforme	jugo de naranja	43	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme
06-16	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme

Cuadro N° 6 (Continuación)

Muestras recolectadas en la mañana (01)					Muestras recolectadas en la tarde (02)			
Código de puesto	Tipo de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	Resultado final	Tipo de muestra	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp</i>	Resultado final
Límite establecido en el RTCA 67.04.50:08		<3.0 NMP/mL	Ausencia	-----	-----	<3.0 NMP/mL	Ausencia	-----
07-16	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	240	Presencia	No conforme	Jugo de zanahoria	150	Presencia	No conforme
08-16	jugo de naranja	28	Presencia	No conforme	jugo de naranja	28	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme
09-16	jugo de naranja	>1100	Presencia	No Conforme	jugo de naranja	>1100	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	93	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	15	Presencia	No conforme
10-16	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme	jugo de naranja	20	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	240	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	150	Presencia	No conforme
11-16	jugo de naranja	9.4	Presencia	No conforme	jugo de naranja	64	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme	jugo de zanahoria	>1100	Presencia	No conforme
12-16	jugo de naranja	3.0	Presencia	No conforme	jugo de naranja	3.0	Presencia	No conforme
	jugo de zanahoria	6.1	Ausencia	No conforme	jugo de zanahoria	93	Ausencia	No conforme

Representación gráfica de los microorganismos encontrados en jugos

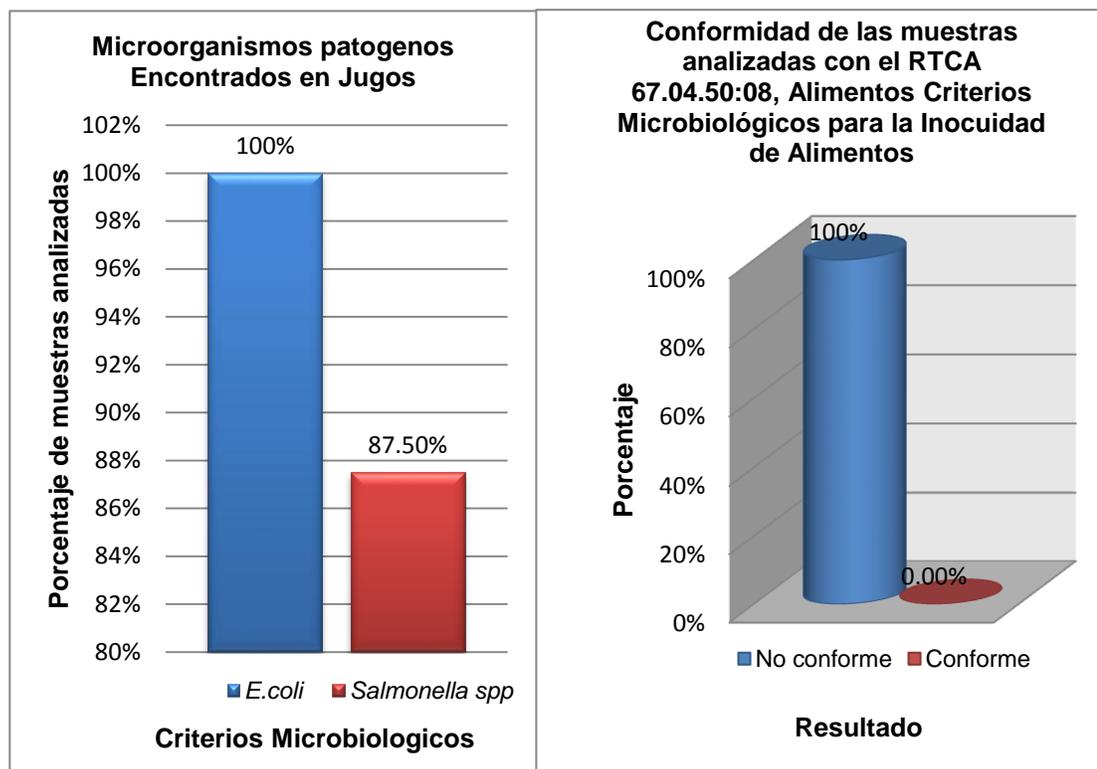


Figura N° 12. Resultado de muestras de jugos de naranja y zanahoria analizadas con respecto al RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

La figura N° 12 muestra el porcentaje de muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria conformes y no conformes con el RTCA 64.04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos por parámetros y en general. Debido a que el 100% de las muestras no cumplen con los límites de los criterios microbiológicos que se encuentran establecidos en el RTCA 64.04.50:08, Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, Grupo de Alimento 14.0, Subgrupo de alimento, 14.3 para Jugos y bebidas artificiales no pasteurizados, por lo cual ninguna muestra es apta para el consumo humano (ver cuadro N° 6).

Posteriormente a la realización de los análisis correspondientes a las muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria, se entregó una hoja volante (Ver Anexo N° 9), a los comerciantes de cada uno de los doce puestos donde se comercializan jugos naturales de naranja y de zanahoria.



Figura N° 13. Entrega de hoja volante a los comerciantes de jugos naturales de naranja y zanahoria, en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

La figura N° 13 muestra la entrega de una hoja volante (Ver Anexo N° 2), a los comerciantes de jugos naturales de naranja y zanahoria, el día 22 de septiembre del año 2016, en la mayoría de los establecimientos la entrega de la hoja volante fue a los propietarios, esto se hizo con el propósito que las personas que comercializan los jugos naturales, conozcan las Buenas Prácticas Higiénicas que deben seguir a la hora de la preparación de los jugos naturales.

CAPITULO VI  
CONCLUSIONES

## 6.0 CONCLUSIONES

1. De acuerdo a los resultados obtenidos con la lista de chequeo, se identificó 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.
2. Con respecto a lo observado en cada uno de los puestos que comercializan jugos naturales, las condiciones en las que estos conservan la fruta no es la adecuada, debido a que exponen la fruta a contaminación como el polvo, humo de automóviles, contaminación por insectos nocivos, los sacos o bolsas con fruta se encuentran directamente en el suelo, no tiene tarimas sobre cuales poner los sacos o bolsas con fruta.
3. Para la determinación de *Escherichia coli*, según el método de NMP ninguna de las muestras de jugos naturales de los diferentes puestos ubicados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador se encuentran dentro de los parámetros permitidos (<3.0 NMP/mL), establecido por el RTCA 67.04.50:08, los resultados obtenidos en cada una de las muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria por lo tanto estos jugos no son aptos para el consumo humano.
4. Para la determinación de *Salmonella spp*, en las 48 muestras de jugos analizados solamente 6 muestras de jugo de natural de naranja

y de jugo natural de zanahoria de un total de 48 muestras de jugos naturales, cumplen con el límite establecido en el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos, la presencia de *Salmonella spp*, se debe a una contaminación cruzada, por la utilización de utensilios corto-punzantes que son requeridos en varias de las actividades que realiza cada uno de los puestos, ya que la mayoría de estos no son exclusivos para la venta de jugos naturales.

5. Los resultados obtenidos de *Escherichia coli* y *Salmonella spp* en las 48 muestras de jugos naturales de naranja y de zanahoria, el 100.0% de las muestras analizadas no cumplen con las especificaciones que exige el RTCA 67.04.50:08 Alimentos Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos ya que esta contaminación podría deberse a contaminación cruzada u otros factores en la elaboración de estos productos por lo tanto los jugos naturales de naranja y zanahoria no son aptos para el consumo humano.

CAPITULO VII  
RECOMENDACIONES

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. A las autoridades de la Universidad de El Salvador se recomienda trabajar en conjunto con la Alcaldía de San Salvador, y con el Ministerio de Salud Pública, para tener un mejor control de estos puestos y que cumplan con las medidas de higiene y limpieza que son requeridas, así mismo que la Universidad por medio de ellos pueda implementar capacitaciones a los comerciantes de jugos naturales sobre las medidas de higiene que deben guardar los comerciantes de jugos naturales.
2. A los dueños y a las personas que manipulan y venden los jugos naturales, que practiquen medidas higiénicas necesarias para evitar una mayor contaminación en los alimentos lavando correctamente las frutas y los utensilios utilizados en la elaboración de los jugos naturales para reducir la carga microbiana.
3. A los manipuladores de jugos naturales se recomienda usar la indumentaria y equipo de seguridad entre estos reddecillas, delantal y si fuera posible mascarilla para reducir la posibilidad de que el producto sea contaminado por el mismo manipulador.
4. A los manipuladores y dueños de los puestos de venta de los jugos naturales implementar nuevas medidas en la elaboración de jugos naturales en las cuales los utensilios utilizados en la elaboración de estos productos sean exclusivos para la elaboración de los jugos naturales y así se pueda reducir el riesgo a contaminación cruzada.

5. A los estudiantes, y personas que consumen este tipo de bebidas naturales, que una de las mejores medidas de prevención es evitar en todo lo posible el consumo de este tipo de bebidas naturales, para no exponerse a enfermedades gastrointestinales en un futuro.

## BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ávila Pineda, G.T., y Fonseca Moreno, M.M., (2008). *Calidad microbiológica de jugos preparados en los hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca*, Trabajo de Grado para optar al título de Microbiólogo Industrial, Bogotá, Colombia. pp. 12
2. Codex Stan 247-2005, Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas, pp. 1.
3. Escalante Escobar, L.G., y Ortiz Hernández R.M., (2010). *Evaluación de la Calidad Microbiológica de Refrescos Naturales no Pasteurizados Comercializados en el Interior y los Alrededores de la Universidad de El Salvador*, Trabajo de Graduación Licenciatura Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, pp 25, 26, 38, 41, 42.
4. Koneman, E.W., Allen, SD., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., (2003), *Diagnostico Microbiológico Texto y Atlas Color*, 5<sup>th</sup> Edición, Buenos Aires, Argentina, Editorial Medica Panamericana, pp. 197
5. Landaverde Celarie, O.I., (2009). “*Estudios de Inocuidad y Buenas Prácticas de Manufactura en Restaurantes del Área Metropolitana, Desarrollado en los Municipios de Soyapango, Ilopango y Ciudad Delgado*”, para optar al grado de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Doctor José Matías Delgado, El Salvador, pp. 5

6. Martí, L.E., Sequeira, G., Rosmini, M., Repetto, H.A., Frizzo, L., Signorini, M., (2012), *La Seguridad Alimentaria como Política Pública*, OPS/OMS, Argentina, pp. 37
7. Merck Centro Americana S.A., Microbiology Manual 12<sup>th</sup> Edition, pp 192, 291, 341, 443, 513
8. Olvera Castelán, D.F., (2007) *Frecuencia y comportamiento de salmonella y microorganismos indicadores de higiene en jugos de zanahoria*, Tesis para obtener el título de químico en alimentos, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México, pp. 14-15, 23, 27.
9. Reglamento Técnico centroamericano 67.04.50:08, Alimentos, Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos, pp. 22.
10. Rodríguez Rico I.I., y Urbano Rivas M. G., (2012) *Determinación de la Calidad Microbiológica de Bebidas Refrescantes Dispensadas en Máquinas de Restaurantes de Comida Rápida del Distrito 1 de la Zona Metropolitana de San Salvador*, Trabajo de graduación Licenciatura Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, pp 31.
11. Vice Ministerio de Políticas de Salud, Unidad de Promoción de la Salud, Unidad de Salud Ambiental, (2012), *Manipulación de Alimentos, Guía Didáctica para Personal Técnico*, Ministerio de salud, El Salvador pp.10, 12-13.

12. Von Breymann J., Chaves C., y Arias M. L., (2013) *Análisis de la calidad microbiológica y potencial presencia de Listeria monocytogenes en pulpas de guanábana (Annona muricata), mango (Mangifera indica) y maracuyá (Passiflora edulis) costarricenses*, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
13. <https://sites.google.com/site/informeexamenpracticomicro/pruebas-bioquimicas>, *Informe de examen práctico*, [consultado el 17 de marzo de 2016], Disponible en: <https://sites.google.com/site/informeexamenpracticomicro/pruebas-bioquimicas>
14. <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/11-metodos%20analiticos%20generales.htm>, *Métodos Generales de Análisis Microbiológico de los Alimentos*, [consultado el 16 de Febrero de 2016], Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/11-metodos%20analiticos%20generales.htm>
15. [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182010000700004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182010000700004), (2010), *Enfermedades Transmitidas por alimentos: Análisis de Riesgo Microbiológico*, Universidad de Buenos Aires, Argentina, [consultado el 15 de febrero de 2016], Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182010000700004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182010000700004).
16. <http://www.fao.org/3/a-i0480s/i0480s03.pdf>, *Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador* [consultado el 15 de marzo de 2016] Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s/i0480s03.pdf>

17. <http://bebidas.itematika.com/articulo/b2658/los-beneficios-de-los-jugos-naturales.html>, *Los beneficios de los jugos naturales*, [consultado el 15 de marzo de 2016], disponible en: <http://bebidas.itematika.com/articulo/b2658/los-beneficios-de-los-jugos-naturales.html>
  
18. <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/ccayacm04.pdf>, *Método de Prueba para la Estimación de la Densidad Microbiana por la Técnica del Número Más Probable(NMP), Detección de coliformes totales, coliformes fecales y Escherichia coli CCAYAC-M-004/8* [consultado 30 abril de 2016] Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/ccayacm04.pdf>
  
19. <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/UCM467055.pdf>, (2015) *Testing Methodologies for E. coli O157:H7 and Salmonella species in Spent Sprout Irrigation Water (or Sprouts)* [consultado 30 abril de 2016], Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/UCM467055.pdf>.
  
20. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>, (2002), *BAM: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria* [consultado 30 abril de 2016] Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>.
  
21. <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM309839.pdf>, (2007), *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Salmonella* [consultado 30 abril de 2016] Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM309839.pdf>

22. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>, (2014) *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Salmonella* [consultado 30 abril de 2016], Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>
23. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm> (2010), *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Apendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions* [consultado 30 abril de 2016], Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>
24. [http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento\\_tecnico/2010/03/PRT-712.02-004%20V9%20NMP%20Colif%20y%20E.coli\\_.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/03/PRT-712.02-004%20V9%20NMP%20Colif%20y%20E.coli_.pdf), (2012, Enero 20) *NMP PARA LA DETERMINACION DE COLIFORMES Y ESCHERICHIA COLI EN ALIMENTOS* [consultado 30 de abril de 2016], Disponible en: [http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento\\_tecnico/2010/03/PRT-712.02-004%20V9%20NMP%20Colif%20y%20E.coli\\_.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/03/PRT-712.02-004%20V9%20NMP%20Colif%20y%20E.coli_.pdf)
25. <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/piezas%20comunicacionales/cdmanipulacion%20alimentos/manipuladoresmanualcontribuionsalmo.htm>, *Manipulación de alimentos/ Manuales y Recomendaciones* [consultado el 30 de abril de 2016] Disponible en: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/piezas%20comunicacionales/cdmanipulacion%20alimentos/manipuladoresmanualcontribuionsalmo.htm>
26. <http://www.msal.gov.ar/index.php/component/content/article/48/241-salmonella>, (2016), *Salmonella*, Buenos Aires, Argentina, [Consultado el 30 de abril 2016], Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/index.php/component/content/article/48/241-salmonella>

27. <http://www.fao.org/docrep/x5063S/x5063S03.htm>, *Manual para el curso sobre procesamiento de frutas y hortalizas a pequeña escala en Perú*, 5. *Capacitación teórico-práctica del personal*, [consultado el 30 de abril de 2016], disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x5063S/x5063S03.htm>
28. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-40652013000300007](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-40652013000300007), (2013), *La concentración de jugos de frutas: Aspectos básicos de los procesos sin y con membrana*, Caracas, Venezuela, [consultado el 02 de mayo de 2016], disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-40652013000300007](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-40652013000300007).
29. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/nmx-AA-05/proy-nmx-aa-042-scfi-2005.pdf>, CALIDAD DEL AGUA.-DETERMINACION DEL NUMERO MAS PROBABLE (NMP) DE COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES (TERMOTOLERANTES) Y Escherichia coli PRESUNTIVA, México D.F., [consultado el 03 de mayo de 2016], disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/nmx-AA-05/proy-nmx-aa-042-scfi-2005.pdf>.
30. <http://www.fao.org/3/a-i2530s/i2530s03.pdf>, Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales, [consultado el 03 de mayo de 2016], disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2530s/i2530s03.pdf>

ANEXOS

## ANEXO N° 1



Figura N° 14. Mapa ubicación de puestos que comercializan jugos en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

## ANEXO N° 2

Lista de chequeo para la verificación de las condiciones  
Higiénicas del personal y de los puestos que comercializan  
Jugos naturales.



Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE JUGOS NATURALES COMERCIALIZADOS EN LOS ALREDEDORES DEL CAMPUS CENTRAL DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Lista de chequeo para observar las condiciones de limpieza e higiene de los puestos que comercializan jugos naturales.

Código de puesto: \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Parámetros	Cumple	No Cumple	Observaciones
1. ¿Los puestos están ubicados donde no hay contaminación, de automóviles, de fauna nociva, aves, polvo?			
2. ¿Los puestos son exclusivos para la venta de jugos naturales?			
3. ¿El personal se lava las manos periódicamente?			
4. ¿Lavan adecuadamente los utensilios utilizados antes y después de preparar el jugo?			

5. ¿El personal ocupa la indumentaria adecuada, como guantes, redecillas o gorro en la cabeza, delantal?			
6. ¿Poseen recipientes con tapadera para los desechos sólidos?			
7. ¿El personal no utiliza objetos personales o maquillaje a la hora de la preparación de los jugos?			
8. ¿El puesto cuenta con suministro de agua potable?			
9. ¿Las frutas son lavadas antes de preparar los jugos?			
10. ¿El personal lava sus manos antes de manipular las frutas para preparar los jugos?			

ANEXO N° 3

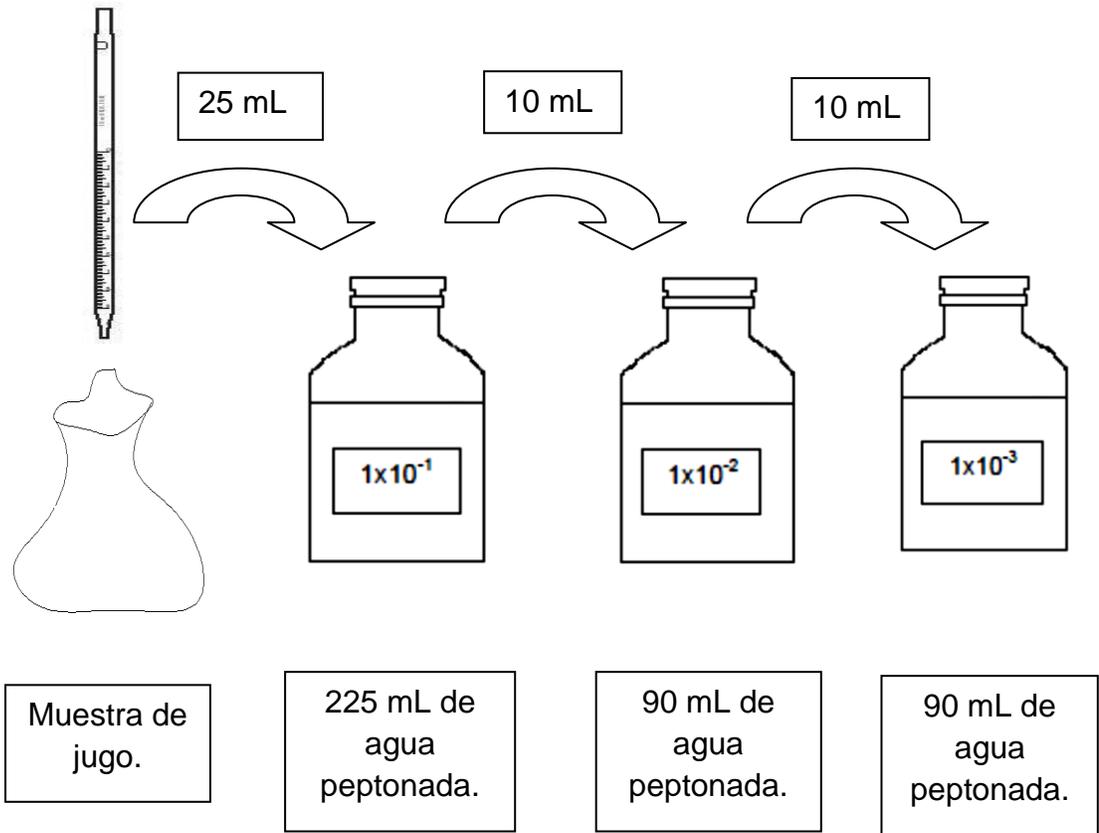


Figura N° 15. Esquema para la dilución de muestras de jugos (de naranja y de zanahoria)

ANEXO N° 4

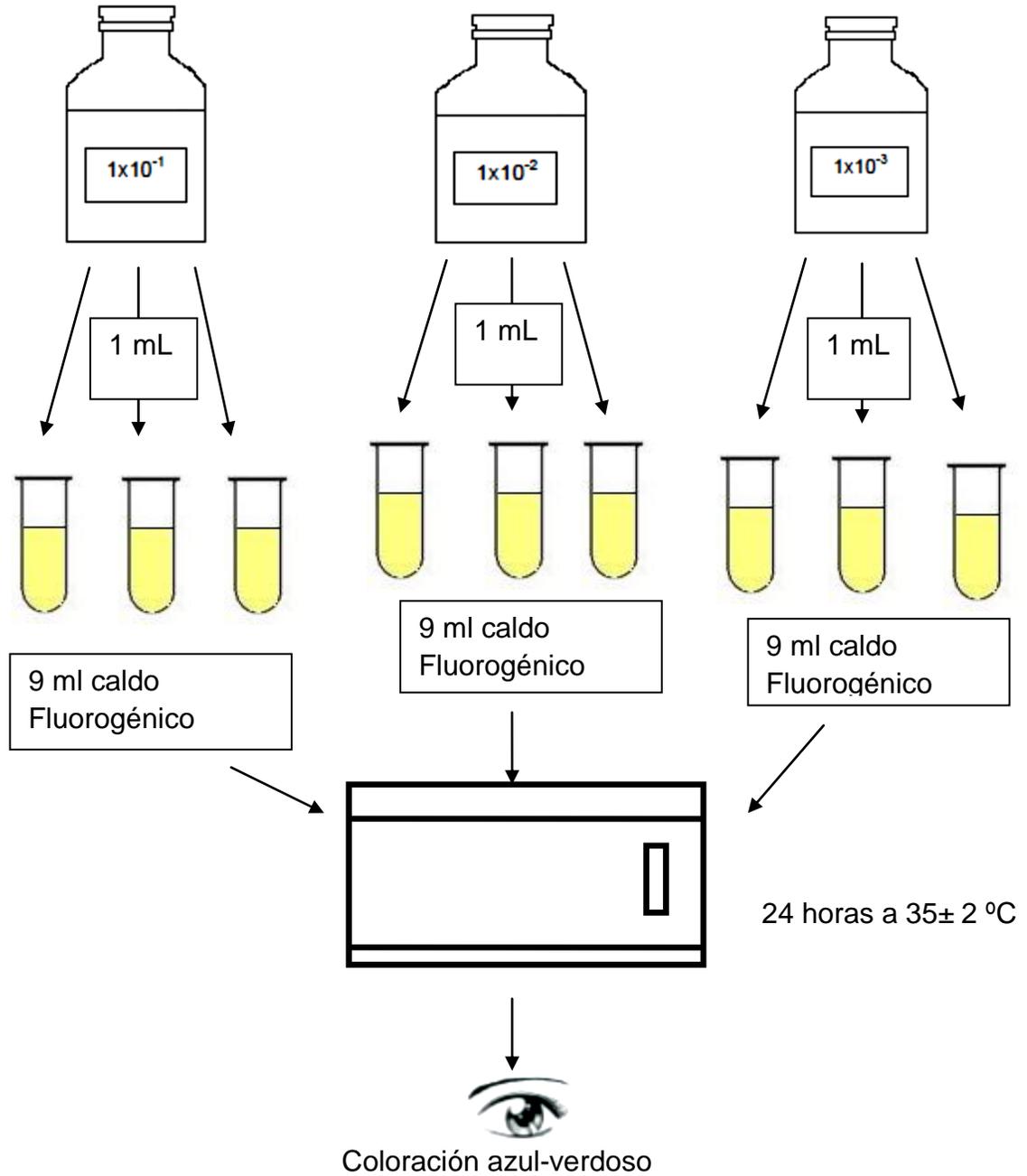


Figura N° 16. Esquema para la determinación de coliformes totales

ANEXO N° 5

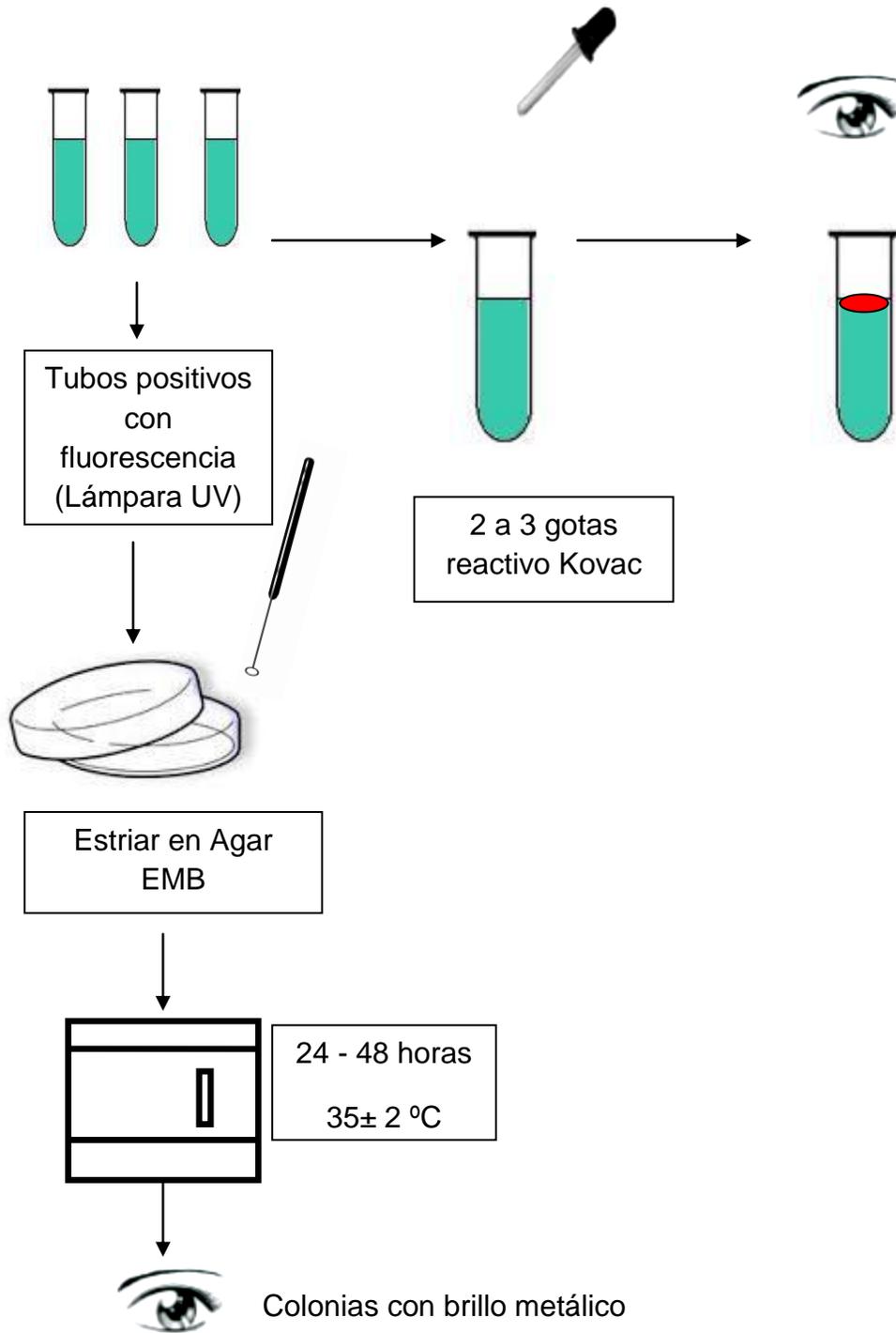
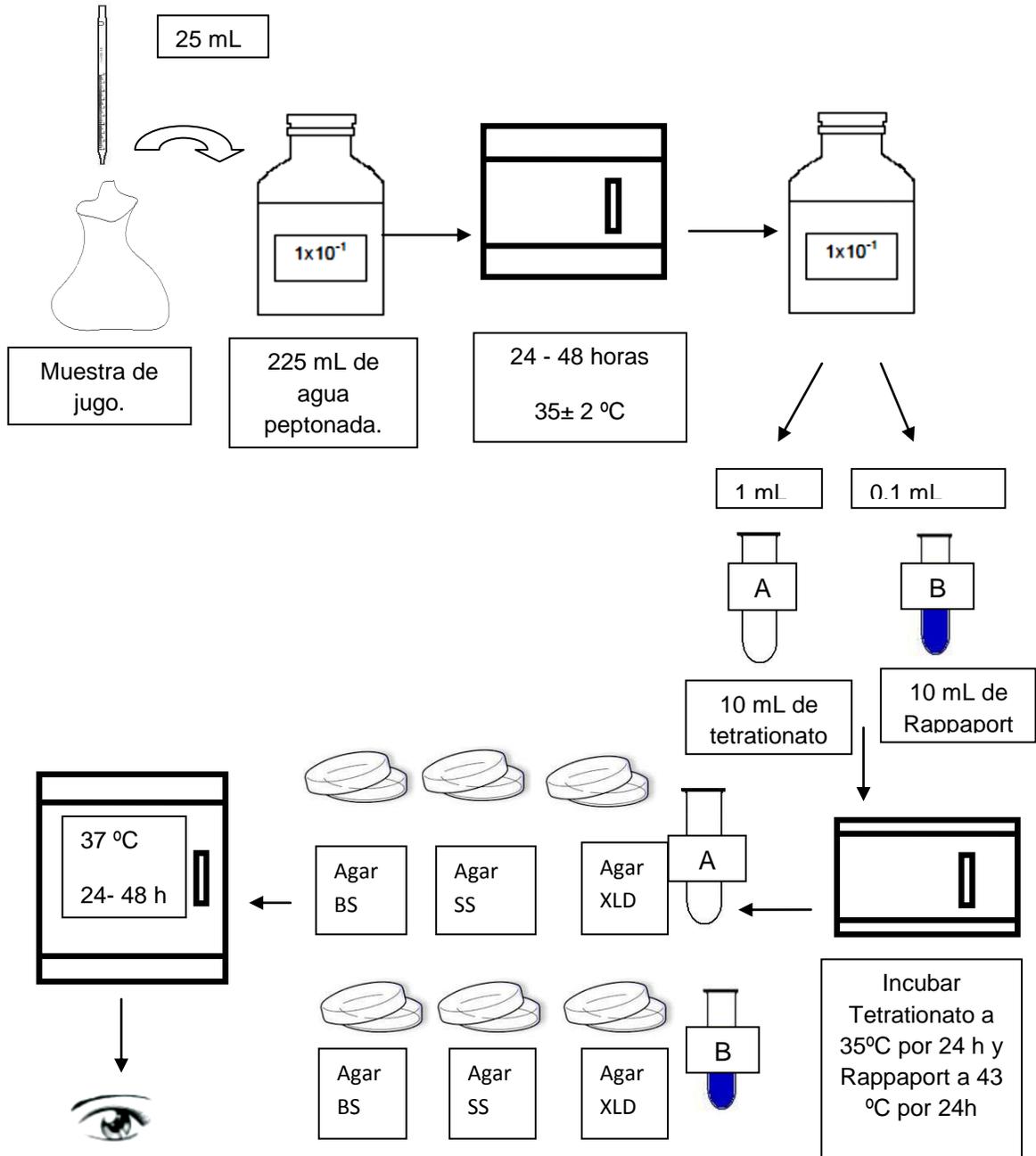


Figura N° 17. Esquema para la determinación y Confirmación de *Escherichia coli*.

ANEXO N° 6



(BS): Colonias cafés, grises o negras

(HE): Colonias azul-verdoso o colonias azules con centro negro.

(XLD): Colonias de color rosa con o sin centro negro.

Figura N° 18. Esquema para la determinación de *Salmonella spp.*

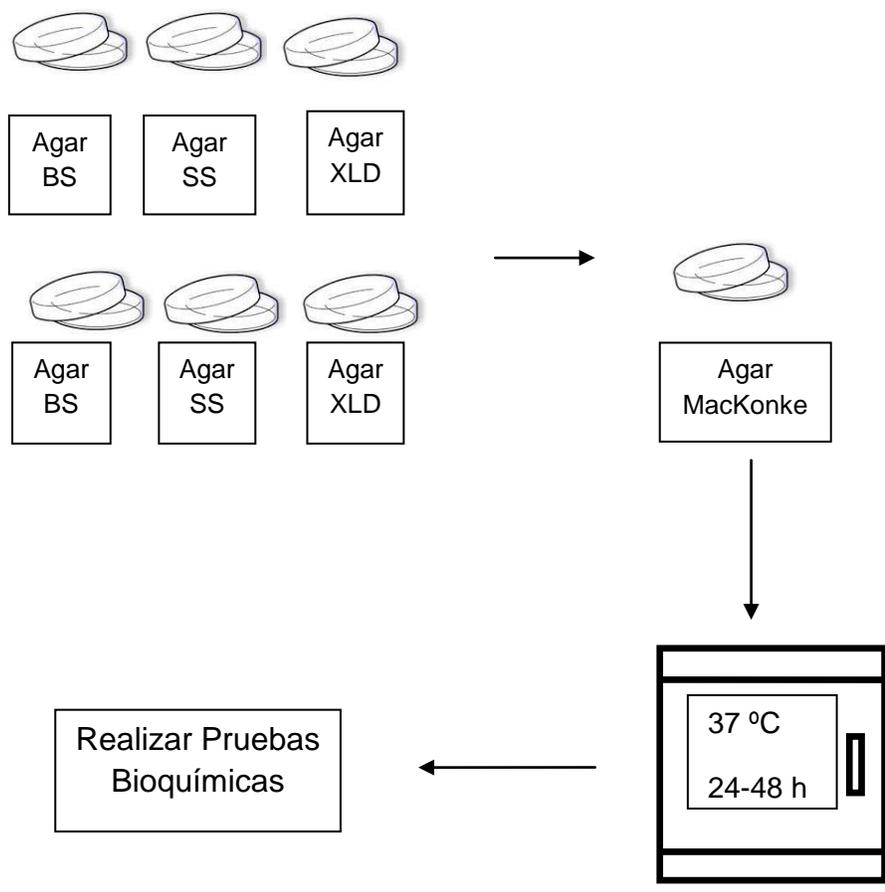


Figura N° 18 (Continuación)

ANEXO N° 7

Pruebas Bioquímicas

Inocular  
colonias  
seleccionadas  
en medio TSI

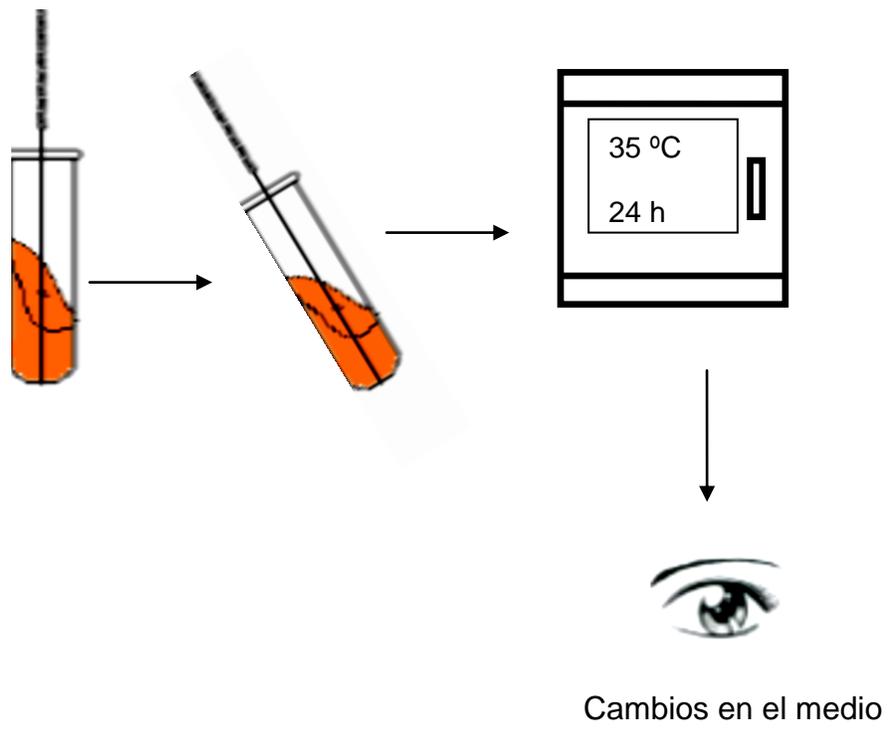


Figura N° 19. Esquema para la prueba de triple- azúcar- hierro y sulfuro de hidrogeno (TSI y H<sub>2</sub>S)



Inocular  
colonias  
seleccionadas  
en caldo  
MR-VP

4 gotas de  
reactivo  
Rojo de  
Metilo

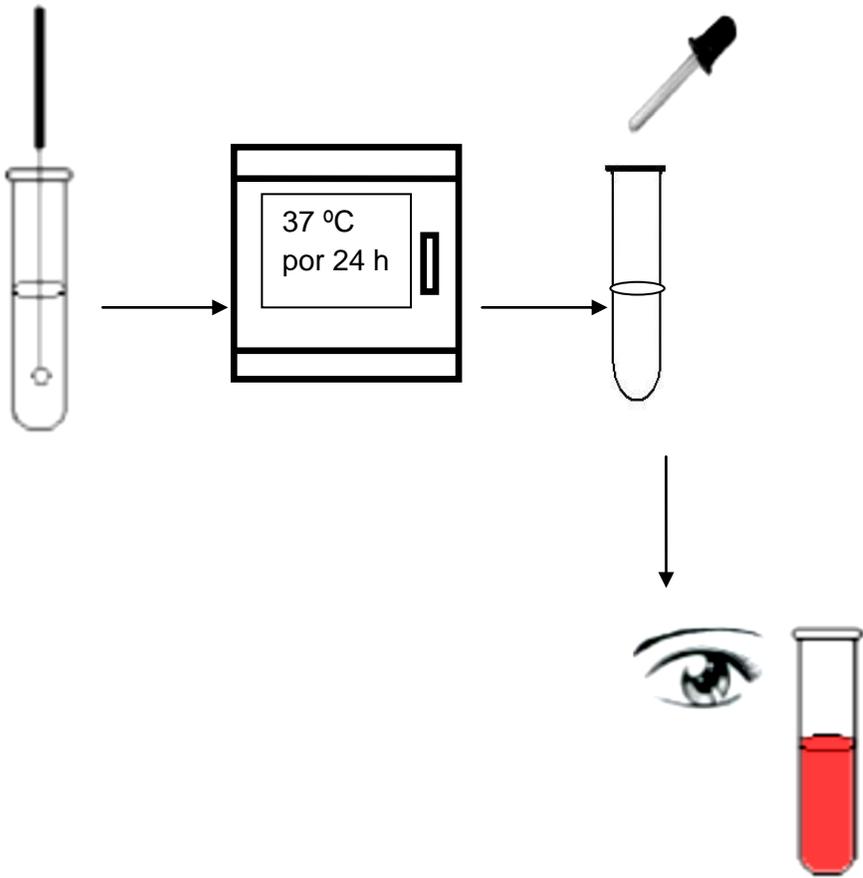


Figura N° 21. Esquema para la prueba de Rojo de Metilo

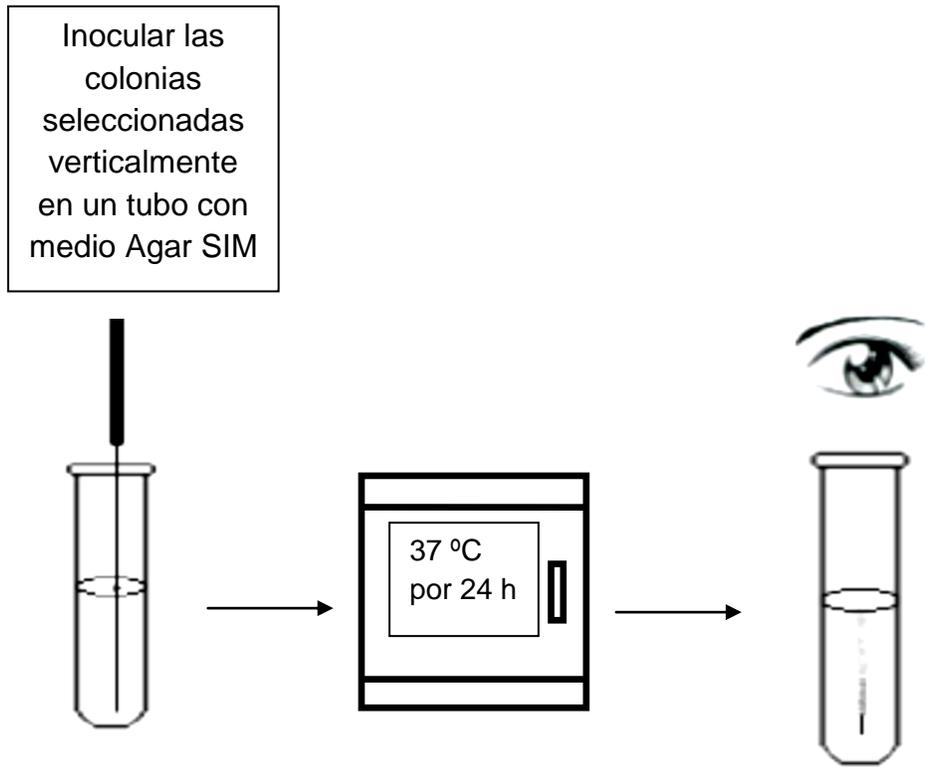


Figura N° 22. Esquema para la prueba de movilidad.

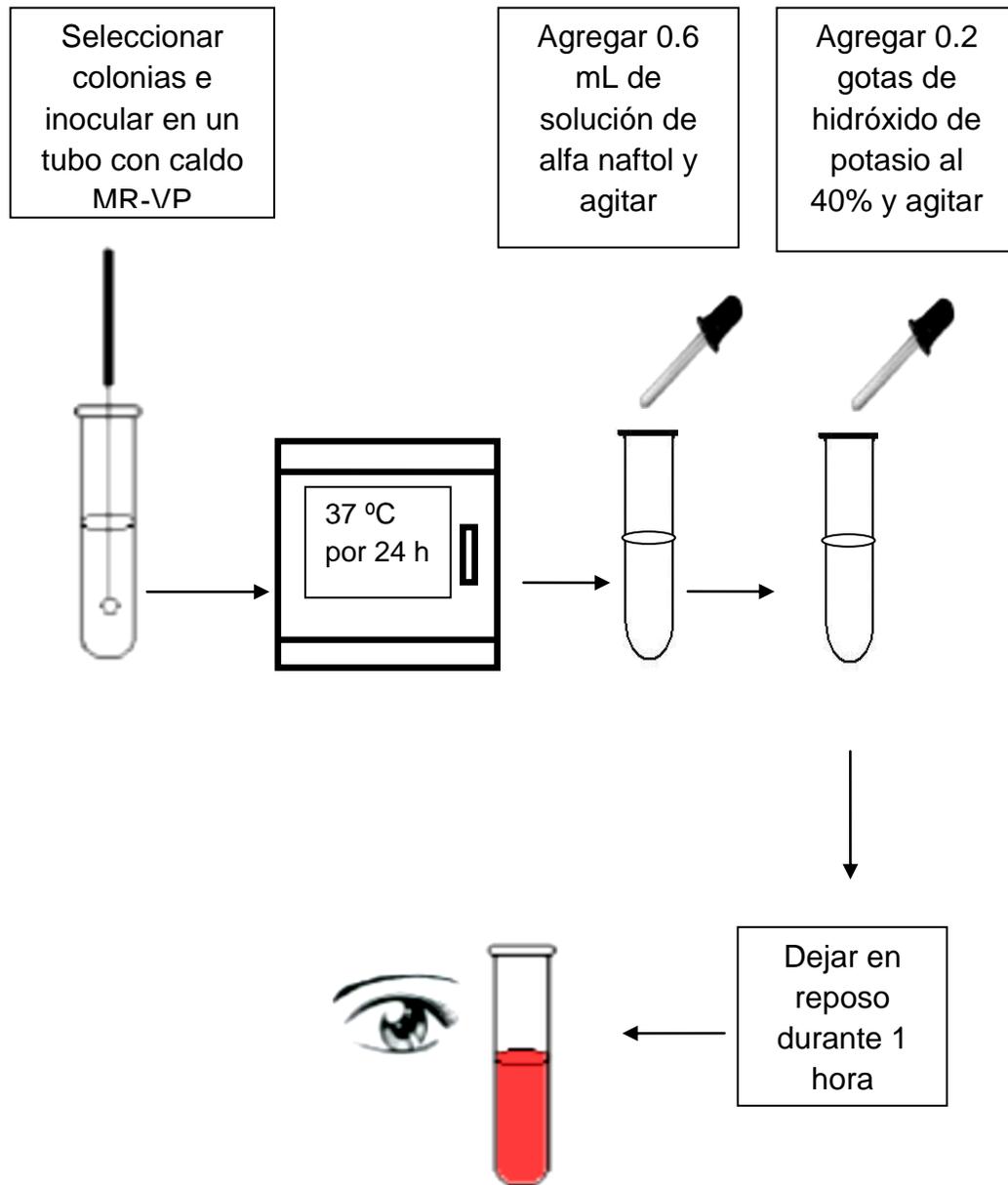


Figura N° 23. Esquema para la prueba de Voges Proskauer

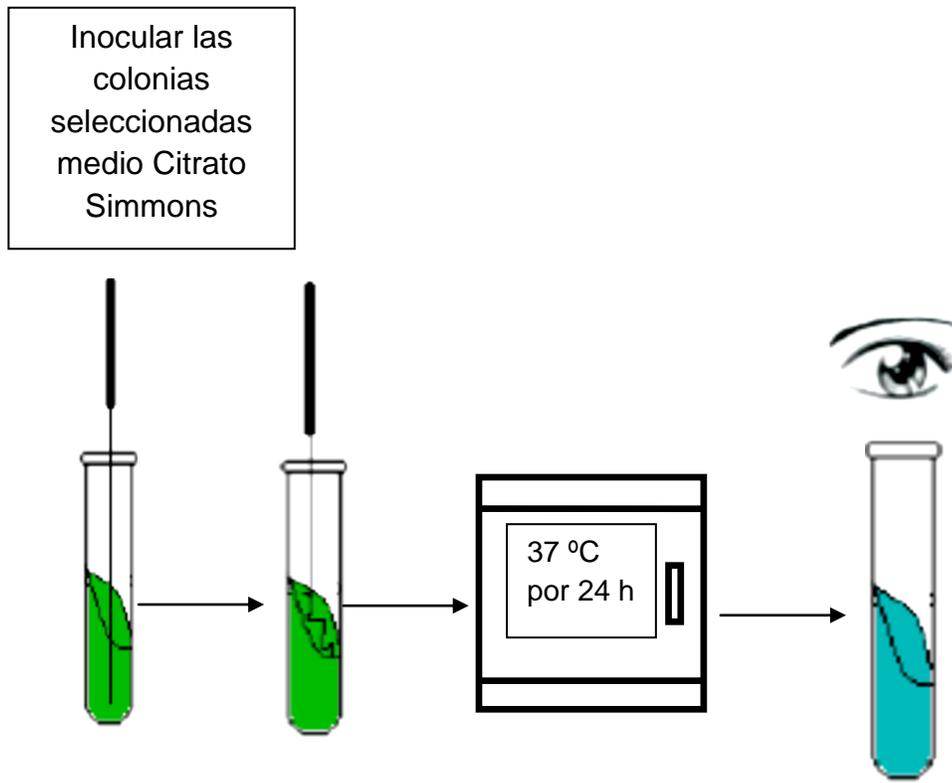


Figura N° 24. Esquema para la prueba de Citrato

ANEXO N° 8.

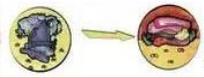
Cuadro N° 7. Criterios Microbiológicos de RTCA 67.04.50:08 Alimentos,  
Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos.

<p><b>14.0 Grupo de Alimento: Bebida.</b> Esta importante categoría se divide en las amplias categorías de bebidas no alcohólicas (14.1) y bebidas alcohólicas (14.2). Las bebidas lácteas figuran en la categoría 01.1.2</p>			
<p><b>14.3 Subgrupo de alimento: Jugos y bebidas artificiales no pasteurizados</b></p>			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo Permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	B	<3 NMP/ml
<i>Salmonella spp/25g(para jugos)</i>	10		Ausencia

Figura N° 25. Hoja volante entregada a comerciantes de jugos naturales

Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia  
Buenas Prácticas Higiénicas en la elaboración de jugos naturales



- Mantenga Cerrados los Basureros y lávese las manos después de manipularlos.  

- No fumar ni comer
- Evite la presencia de insectos roedores y otros animales.  

- Practique una higiene personal adecuada:
  - LAVESE LAS MANOS AL MANIPULAR ALIMENTOS.
  - PROTEJASE BIEN DE CORTES O HERIDAS.
  - LAVESE DESPUES DE TOCAR OBJETOS CONTAMINADOS O DESPUES DE UTILIZAR EL BAÑO.
  - MANTENGA LIMPIA SU INDUMENTARIA DE TRABAJO.
- Utilizar la indumentaria adecuada.



Gorro



Mascarilla



Guantes



Delantal



Zapatos cerrados
- No usar anillos, reloj ni aretes.  

- No uñas largas ni esmalte.  


- Pasos para un correcto lavado de manos



Mojáte las manos con suficiente agua



Usa jabón y trata de hacer espuma



Frótate bien las manos, entre los dedos y por debajo de las uñas



Cepille bien las uñas



Enjuague las manos con agua limpia hasta eliminar todo el jabón



Sécate bien con una toalla limpia.

## ANEXO N° 10

Ejemplo de lista de chequeo



Universidad de El Salvador  
Facultad de Química y Farmacia



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE JUGOS NATURALES COMERCIALIZADOS EN LOS ALREDEDORES DEL CAMPUS CENTRAL DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Lista de chequeo para observar las condiciones de limpieza e higiene de los puestos que comercializan jugos naturales.

Código de puesto: 05-16

Hora: 8:30 am

Fecha: 16-05-2016

Parámetros	Cumple	No Cumple	Observaciones
1. ¿Los puestos están ubicados donde no hay contaminación, de automóviles, de fauna nociva, aves, polvo?		X	El puesto está ubicado donde hay un tránsito fluido de automóviles además de estar al aire libre.
2. ¿Los puestos son exclusivos para la venta de jugos naturales?		X	Tiene a la venta papas fritas, boquitas
3. ¿El personal se lava las manos periódicamente?		X	En la espera de que se nos atendiera, el personal no se lavó las manos.
4. ¿Lavan adecuadamente los utensilios utilizados antes y después de preparar el jugo?		X	Los jugos los preparan pasando los por licuadora y estos no son lavados cuando se prepara uno y después el otro, y al final solo son enjuagados con agua.

Figura Nº 26. Lista de chequeo de observación del puesto 05-16.

5. ¿El personal ocupa la indumentaria adecuada, como guantes, redecillas o gorro en la cabeza, delantal?		X	No ocupa la indumentaria adecuada el personal.
6. ¿Poseen recipientes con tapadera para los desechos sólidos?		X	Lo que poseen son balsas plásticas grandes.
7. ¿El personal no utiliza objetos personales o maquillaje a la hora de la preparación de los jugos?		X	La persona que nos atendió, utiliza aretillos, reloj.
8. ¿El puesto cuenta con suministro de agua potable?		X	El puesto no cuenta con un suministro de agua potable, esta la tiene en recipientes tapados.
9. ¿Las frutas son lavadas antes de preparar los jugos?		X	—
10. ¿El personal lava sus manos antes de manipular las frutas para preparar los jugos?		X	Al momento de preparar los jugos la persona que atendió no se lava las manos.

Figura N° 26 (Continuación)

ANEXO N° 11

Etiqueta Identificación de jugos naturales de naranja y zanahoria.

Universidad de El Salvador	
Tesis Grupo 017-16	
Etiquetas de muestreo	
Número de puesto: _____	número de muestra: _____
Sabor de Jugo: _____	
Fecha: _____	Hora: _____
Realizado por: _____	Testigo: _____

Figura N° 27. Etiqueta para identificación de muestras de jugos naturales de naranja y zanahoria.

## ANEXO N° 12

Tabla de Número Más Probable para una serie de tres tubos (NMP)

Tabla N° 2. Índice de Numero más Probable (NMP) y límites de aceptación del 95 por 100 para distintas combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se emplean tres tubos por cada dilución. <sup>(20)</sup>

N° de Tubos positivos			NMP/g (mL)	Límite de confianza del 95%	
0.1	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	<3.0	-	9.5
0	0	1	3.0	0.15	9.6
0	1	0	3.0	0.15	11
0	1	1	6.1	1.2	18
0	2	0	6.2	1.2	18
0	3	0	9.4	3.6	38
1	0	0	3.6	0.17	18
1	0	1	7.2	1.3	18
1	0	2	11	3.6	38
1	1	0	7.4	1.3	20
1	1	1	11	3.6	38
1	2	0	11	3.6	42
1	2	1	15	4.5	42
1	3	0	16	4.5	42
2	0	0	9.2	1.4	38
2	0	1	14	3.6	42
2	0	2	20	4.5	42
2	1	0	15	3.7	42
2	1	1	20	4.5	42
2	1	2	27	8.7	94
2	2	0	21	4.5	42
2	2	1	28	8.7	94

Tabla Nº 2 (Continuación)

Nº de Tubos positivos			NMP/g (mL)	Límite de confianza del 95%	
0.1	0.01	0.001		Inferior	Superior
2	2	2	35	8.7	94
2	3	0	29	8.7	94
2	3	1	36	8.7	94
3	0	0	23	4.6	94
3	0	1	38	8.7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1,000
3	3	0	240	40	1,000
3	3	1	460	90	2,000
3	3	2	1100	180	4,100
3	3	3	>1100	420	-

## ANEXO N° 13

Tablas de casos de enfermedades gastrointestinales atendidas en  
Bienestar Universitario entre el año 2014 al 2016

CASOS DE ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES ATENDIDAS EN  
BIENESTAR UNIVERSITARIO ENTRE LOS AÑOS 2014 AL 2016 POR MES.

Tabla N° 3. Número de Casos de enfermedades gastrointestinales atendidas en el año 2014 en Bienestar Universitario.

MES	NUMERO DE PACIENTES ATENDIDOS
ENERO	0
FEBRERO	15
MARZO	0
ABRIL	0
MAYO	42
JUNIO	29
JULIO	29
AGOSTO	0
SEPTIEMBRE	0
OCTUBRE	0
NOVIEMBRE	0
DICIEMBRE	0
TOTAL	115

Tabla N° 4. Número de Casos de enfermedades gastrointestinales atendidas en el año 2015 en Bienestar Universitario.

MES	NUMERO DE PACIENTES ATENDIDOS
ENERO	0
FEBRERO	25
MARZO	40
ABRIL	57
MAYO	62
JUNIO	54

Tabla N° 4 (Continuación)

MES	NUMERO DE PACIENTES ATENDIDOS
JULIO	17
AGOSTO	0
SEPTIEMBRE	36
OCTUBRE	0
NOVIEMBRE	30
DICIEMBRE	0
TOTAL	321

Tabla N° 5 Número de casos de enfermedades gastrointestinales atendidas en el año 2016 en Bienestar Universitario.

MES	NUMERO DE PACIENTES ATENDIDOS
ENERO	0
FEBRERO	17
MARZO	37
TOTAL	108

## ANEXO Nº 14

Carta de solicitud a Bienestar Universitario para brindar información sobre pacientes atendidos por enfermedades gastrointestinales en el Campus Central de la Universidad de El Salvador.



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



Ciudad Universitaria, 12 de mayo de 2016.

Doctora  
Violeta Canales de Turcios  
Directora  
Bienestar Universitario  
Presente.



Estimada Dra. de Turcios:

Reciba un cordial saludo y sinceros deseos de éxito personal y profesional.

Por este medio y de la manera más atenta solicito su valiosa colaboración en el sentido de brindar a los estudiantes: ENRIQUE JAVIER ESCOBAR RUIZ y KEYRI ARMIDA RODIRUGEZ CHAVARRIA; información sobre pacientes atendidos por enfermedades gastrointestinales, a partir del año 2014 hasta el presente año; dicha información será utilizada para la realización del trabajo de graduación denominado "Calidad microbiológica de Jugos naturales comercializados en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador"; para optar el grado de Licenciados en Química y Farmacia.

Al suscribirme de usted, le expreso desde ya nuestros sinceros agradecimientos por su amable cooperación.

Muy atentamente,

"Hacia la Libertad por la Cultura"

MSc. CORALIA DE LOS ANGELES GONZALEZ  
ASESORA DE TESIS



ANEXO N° 15  
Material y Cristalería

Material

- Agitadores magnéticos
- Asa bacteriológica
- Cajas de petri descartables
- Fósforos
- Espátulas
- Gradillas
- Guantes
- Mecheros bunsen
- Pipeteador
- Hielera
- Papel aluminio
- Papel Kraft
- Papel toalla
- Tijeras
- Tirro
- Bandejas plásticas

Cristalería

- Frasco para dilución
- Beaker de 30, 100, 250, 5000 mL
- Erlenmeyer de 100, 250, 1000 mL
- Pipetas mohr de 1 y 10 mL
- Probetas de 25 y 100 mL
- Tubos de ensayo con rosca

## ANEXO N° 16

### Equipos, Medios de Cultivo y Reactivos

#### Equipo

- Autoclave
- Estufa
- Baño María
- Cabina de flujo laminar
- Hot plate/agitador magnético
- Lámpara de luz ultravioleta
- Incubadoras
- Refrigeradora

#### Medios de Cultivo

- Agua Peptonada
- Caldo Fluorocult (LMX)
- Caldo Rapaport
- Caldo Tetracionato
- Caldo Lactosado
- Medio TSI
- Caldo MR-VP
- Agar Citrato Simmons
- Agar EMB
- Agar XLD
- Agar Salmonella-Shigela
- Agar Bismuto Sulfito
- Agar Mackonkey
- Caldo triptófano
- Agar SIM

#### Reactivos

- Lugol
- Reactivo de Kovac
- Reactivo Rojo de Metilo
- Alfa naftol
- Hidróxido de potasio al 40%