

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura

**DETERMINACION MICROBIOLOGICA, pH, ACIDEZ Y GRADOS BRUX EN
BEBIDAS CARBONATADAS DE MAQUINAS DISPENSADORAS EN LOS
FOOD COURT DE METROCENTRO, SAN SALVADOR**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
VANESSA LISSETTE BLANCO MEJIA
SARA NOHEMY CARBAJAL TORRES**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

SEPTIEMBRE, 2013

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE ANALISIS MICROBIOLOGICO

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

ASESORA DE AREA QUIMICA AGRICOLA

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

DOCENTES DIRECTORAS

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

Licda. María Elsa Romero de Zelaya

AGRADECIMIENTOS

Primeramente le agradezco a Dios todopoderoso por darme fortaleza, valentía, perseverancia y la capacidad necesaria para poder culminar satisfactoriamente mi carrera, por ayudarme a enfrentar las dificultades, los problemas y porque siempre ha estado conmigo en las situaciones más difíciles que se han presentado en el transcurso de mi carrera.

Agradezco a mi padre por estar siempre apoyándome en lo material, emocional y por su ayuda incondicional, por estar presente en cada uno de mis logros, por orientarme en mis decisiones y por permitirme seguir adelante en mis estudios para poder terminar mi carrera.

Le doy gracias a mi madre por tenerme paciencia, por estar siempre conmigo, en mis logros, en las tristezas y alegrías, por sus consejos, por ayudarme emocionalmente para poder enfrentar las dificultades, por sus palabras de aliento y por animarme siempre a seguir en mis estudios y en el trayecto de mi carrera. Le doy gracias a mis hermanos por ser tolerantes conmigo, por su apoyo emocional, por animarme siempre a ser perseverante, a no rendirme y enfrentar los problemas, la presión y el estrés en mis estudios y a lo largo de mi carrera

A nuestras docentes directoras: MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez Licda. María Elsa Romero de Zelaya, por apoyarnos, tenernos paciencia brindarnos confianza y orientarnos en la realización de nuestra tesis. A nuestra Coordinadora general Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo, asesoras de área: MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez, MSc. Ena Edith Herrera Salazar, por guiarnos en el desarrollo de nuestra tesis. Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por darnos la oportunidad de realizar nuestro trabajo experimental.

SARA NOHEMY CARBAJAL TORRES

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi Padre Dios por siempre brindarme la paciencia y sabiduría necesaria para llegar a alcanzar mi mayor sueño que era el terminar mi carrera con mucho éxito, porque siempre estuvo a mi lado en los momentos mas difíciles para mí, siempre dándome luz en mi camino para tomar buenas decisiones en mi vida.

A mi buena Madre María, por siempre ser mi guía y mi luz en mi caminar, por siempre darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y enfrentar las dificultades que día a día se presentan.

A mis bellos y amados padres, porque siempre han estado conmigo apoyándome a lo largo de la carrera, por sus buenos consejos, y porque depositaron su confianza en mí para poder lograr culminar mi carrera.

A mis hermanos, por ser siempre mis amigos fieles, mis consejeros. Por brindarme su confianza y su amor en todo momento.

A nuestras docentes directoras: MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez Licda. María Elsa Romero de Zelaya, por apoyarnos, tenernos paciencia brindarnos confianza y orientarnos en la realización de nuestra tesis.

A nuestra Coordinadora general Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo, asesoras de área: MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez, MSc. Ena Edith Herrera Salazar, por guiarnos en el desarrollo de nuestra tesis

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por darnos la oportunidad de realizar nuestro trabajo experimental.

VANESSA LISSETTE BLANCO MEJIA

DEDICATORIAS

A mi Padre Dios, por siempre brindarme sabiduría, inteligencia, fuerza y paciencia para llegar a alcanzar mi mayor meta de obtener el Título de Licenciatura en Química y Farmacia.

A mi mamita Virgen María, por siempre darme luz y ser mi guía en mi camino e interceder por mí en todo momento.

A mis padres, por darme el amor y apoyo incondicional para seguir siempre adelante y haber puesto su confianza en mí hasta la culminación de mi carrera.

A mis hermanos, por siempre brindarme su apoyo y estar presente en todos los momentos de mi vida, compartiendo alegrías, tristezas y buenos consejos que siempre me brindaron para no darme por vencida y siempre seguir adelante.

A mi abuelita, que siempre me brindó buenos consejos para siempre dar lo mejor de mí y sé que desde el cielo siempre me siguió ayudando para alcanzar mi meta.

A mis amigas y hermanas, Sara Nohemy Carbajal Torres y Katya Lucila Henríquez Guerra, por brindarme su amistad incondicional en los momentos buenos y malos y por siempre tenerme paciencia.

VANESSA LISSETTE BLANCO MEJIA

ABREVIATURAS

BVB: Verde Bilis Brillante

CENSALUD: Centro de Investigación y Desarrollo en Salud

EC: *Escherichia coli*

EMB: Eosina Azul de metileno (agar)

ETAS: Enfermedades transmitidas por alimentos

MINSAL: Ministerio de Salud

NSO: Norma Salvadoreña Obligatoria

NTON: Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonias por mililitros

INDICE

| | Pág. |
|---|-------------|
| Resumen | |
| Capítulo I | |
| 1.0 Introducción | xxii |
| Capítulo II | |
| 2.0 Objetivos | |
| Capítulo III | |
| 3.0 Marco Teórico | 28 |
| 3.1 Bebidas Carbonatadas | 28 |
| 3.2 Historia | 29 |
| 3.3 Requisitos para las bebidas carbonatadas | 29 |
| 3.3.1 Características generales de las Bebidas Carbonatadas | 29 |
| 3.3.2 Requisitos Físicos y Químicos | 29 |
| 3.4 Materias Primas | 30 |
| 3.4.1 Agentes espumantes | 30 |
| 3.4.2 Edulcorantes | 30 |
| 3.4.3 Acidulantes | 31 |
| 3.4.4 Agentes enturbiantes | 31 |
| 3.4.5 Reguladores de acidez | 31 |
| 3.4.6 Sabores naturales y/o artificiales | 31 |
| 3.4.7 Colorantes | 31 |
| 3.4.8 Antiespumante | 32 |
| 3.4.9 Agentes Estabilizadores | 32 |
| 3.4.10 Ingredientes y aditivos | 32 |
| 3.4.11 Sustancias conservadoras | 33 |

| | |
|---|----|
| 3.4.12 Agentes antioxidantes y secuestrantes | 33 |
| 3.5 Inocuidad de las bebidas carbonatadas | 34 |
| 3.5.1 Requisitos microbiológicos | 35 |
| 3.6 Manipulador de alimentos | 36 |
| 3.6.1 Medidas higiénicas por un manipulador de alimentos a considerar | 36 |
| 3.7 Limpieza de las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas | 38 |
| 3.7.1 Limpieza y desinfección | 39 |
| 3.7.2 Etapas de la limpieza y desinfección | 40 |
| 3.8 Microorganismos a determinar de acuerdo a La Norma Técnica Obligatoria Denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de bebidas carbonatadas y la Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO13.07.04.00) Hielo. Especificaciones y buenas prácticas de fabricación | 41 |
| 3.8.1 Microorganismos mesófilos aerobios | 41 |
| 3.8.2 Mohos | 41 |
| 3.8.2.1 Método de recuento total para mohos | 42 |
| 3.8.2.2 Método de filtración por membrana para microorganismos mesófilos aerobios, coliformes, <i>Escherichia Coli</i> y <i>Pseudomona aureginosa</i> | 43 |
| 3.8.3 Coliformes totales y coliformes fecales | 43 |
| 3.8.4 <i>Escherichia coli</i> | 44 |
| 3.8.5 Microorganismos patógenos: Grupo <i>Pseudomonas</i> | 45 |
| 3.9 Análisis fisicoquímico de las bebidas carbonatadas | 45 |
| 3.9.1 Determinación de la acidez en las bebidas carbonatadas | 45 |
| 3.9.2 Determinación de pH en las bebidas carbonatadas | 47 |
| 3.9.3 Grados brix | 47 |

| | |
|---|----|
| Capítulo IV | |
| 4.0 Diseño metodológico | 50 |
| 4.1 Tipo de estudio | 50 |
| 4.1.1 Campo | 50 |
| 4.1.2 Experimental | 50 |
| 4.2 Investigación bibliográfica | 50 |
| 4.3 Investigación de campo | 51 |
| 4.3.1 Métodos e instrumentos de recolección de datos | 51 |
| 4.3.2 Universo y muestra | 51 |
| 4.3.3 Tipo de muestreo | 52 |
| 4.3.4 Tamaño de la muestra | 52 |
| 4.4 Procedimiento para la recolección y preparación de la muestra | 53 |
| 4.5 Parte Experimental | 54 |
| 4.5.1 Determinaciones microbiológicas para muestras de bebidas carbonatadas | 54 |
| 4.5.1.1 Preparación de diluciones para muestras de bebidas carbonatadas | 54 |
| 4.5.1.2 Determinación de mohos en bebidas carbonatadas | 54 |
| 4.5.1.3 Determinación y recuento de microorganismos mesófilos aerobios | 55 |
| 4.5.1.4 Determinación de coliformes totales | 55 |
| 4.5.1.5 Confirmación de coliformes totales | 56 |
| 4.5.1.6 Confirmación de coliformes fecales | 56 |
| 4.5.2 Determinaciones microbiológicas para muestras de hielo | 56 |
| 4.5.2.1 Determinación y recuento de microorganismos mesófilos aerobios | 56 |
| 4.5.2.2 Determinación de coliformes totales | 57 |
| 4.5.2.3 Confirmación de coliformes totales | 57 |
| 4.5.2.4 Confirmación de coliformes fecales | 57 |

| | | |
|-----------------|--|----|
| 4.5.2.5 | Determinación y recuento de <i>E. coli</i> | 58 |
| 4.5.2.6 | Determinación de <i>Pseudomona aureginosa</i> | 58 |
| 4.5.3 | Determinaciones microbiológicas para muestras de vasos vacíos | 58 |
| 4.5.3.1 | Determinación y recuento de microorganismos mesófilos aerobios | 58 |
| 4.5.3.2 | Determinación de coliformes totales | 59 |
| 4.5.3.3 | Confirmación de coliformes totales | 59 |
| 4.5.3.4 | Confirmación de coliformes fecales | 60 |
| 4.5.4 | Determinaciones fisicoquímicas para muestras de bebidas carbonatadas | 60 |
| 4.5.4.1 | Determinación de acidez por el método de valoración ácido – base | 60 |
| 4.5.4.2 | Determinación de pH | 61 |
| 4.5.4.3 | Determinación de grados brix | 61 |
| Capítulo V | | |
| 5.0 | Resultados y Discusión de Resultados | 63 |
| 5.1 | Determinaciones para bebidas carbonatadas | 65 |
| 5.2 | Determinaciones para hielo | 70 |
| 5.3 | Determinaciones para vasos vacíos | 74 |
| Capítulo VI | | |
| 6.0 | Conclusiones | 80 |

Capítulo VII

7.0 Recomendaciones

84

Bibliografía

Glosario

Anexos

INDICE ANEXOS

ANEXO N°

1. Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas.
2. Decodificación de bebidas carbonatadas y restaurantes muestreados.
3. Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO 13.07.04.00) Hielo. Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación. Valores Máximos Admisibles para Calidad Microbiológica del Hielo.
4. Encuesta para conocer la bebida carbonatada que mas prefieren los consumidores de los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador.
5. Resultados de Encuesta.
6. Lista de chequeo para verificar las condiciones sanitarias y ambientales en que se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas muestreadas.
7. Etiqueta para identificación de muestras de bebidas Carbonatadas sin hielo, muestras de hielo y vasos vacíos.
8. Materiales, reactivos y medios de cultivo.
9. Metodologías utilizadas.
10. Cálculos para cuantificar la cantidad de gramos de Acido Cítrico presente en las muestras de bebidas carbonatadas.
11. Cuadro de resultados totales de muestras de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos.
12. Placas con Agar Plate Count con crecimiento de levaduras.
13. Placas con Agar Endo con crecimiento de coliformes totales.
14. Equipo utilizado para la determinación de pH.
15. Preparación de reactivos.
16. Informe y Documentación para El Ministerio de Salud (MINSAL).

INDICE DE CUADROS

| CUADRO N° | Pág. |
|--|-------------|
| 1. Requisitos fisicoquímicos de las aguas gaseosas con sabor | 29 |
| 2. Requisitos microbiológicos. (Según la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria de bebidas carbonatadas Nicaragüense) | 35 |
| 3. Relación de la vida útil del producto con el resultado de recuento total | 42 |
| 4. Resumen de resultados de bebidas carbonatadas primer muestreo | 75 |
| 5. Resumen resultados de bebidas carbonatadas segundo muestreo | 75 |
| 6. Resumen de resultados de hielo primer muestreo | 76 |
| 7. Resumen de resultados de hielo segundo muestreo | 76 |
| 8. Resumen de resultados de vasos vacíos primer muestreo | 76 |
| 9. Resumen de resultados de vasos vacíos segundo muestreo | 77 |
| 10. Requisitos fisicoquímicos de las aguas gaseosas con sabor | 94 |
| 11. Requisitos microbiológicos de las aguas gaseosas con sabor | 94 |
| 12. Contaminantes metales tóxicos | 94 |
| 13. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de bebidas carbonatadas | 128 |
| 14. Resultados de Microorganismos coliformes totales en muestras de bebidas carbonatadas | 128 |
| 15. Resultados de Microorganismos coliformes fecales en muestras de bebidas carbonatadas | 129 |
| 16. Resultados de Mohos en muestras de bebidas carbonatadas | 129 |
| 17. Resultados de acidez en muestras de bebidas carbonatadas | 129 |
| 18. Resultados de pH en muestras de bebidas carbonatadas | 130 |
| 19. Resultados de grados brix en muestras de bebidas carbonatadas | 130 |

| | |
|--|-----|
| 20. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de hielo | 131 |
| 21. Resultados de Microorganismos coliformes totales en muestras de hielo | 131 |
| 22. Resultados de Microorganismos coliformes fecales en muestras de hielo | 131 |
| 23. Resultados de <i>Escherichia coli</i> en muestras de hielo | 131 |
| 24. Resultados de <i>Pseudomona aureginosa</i> en muestras de hielo | 132 |
| 25. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de vasos vacíos | 132 |
| 26. Resultados de Microorganismos coliformes totales en muestras de vasos vacíos | 132 |

INDICE DE FIGURAS

| FIGURA N° | Pág. |
|---|-------------|
| 1. Diferentes marcas de bebidas carbonatadas | 28 |
| 2. Gráfico que muestra el porcentaje del total de muestras conformes y no conformes de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos en los análisis microbiológicos | 77 |
| 3. Gráfico que muestra el porcentaje del total de muestras conformes de bebidas carbonatadas en los análisis fisicoquímicos. | 78 |

INDICE DE TABLAS

| TABLA N° | Pág. |
|---|------|
| 1. Resumen de los resultados obtenidos de las listas de chequeo visuales | 63 |
| 2. Promedio de resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de bebidas carbonatadas | 65 |
| 3. Promedio de resultados de Microorganismos coliformes totales en muestrasde bebidas carbonatadas | 66 |
| 4. Promedio de resultados de Microorganismos coliformes fecales en muestras de bebidas carbonatadas | 67 |
| 5. Promedio de resultados de mohos en muestras de bebidas carbonatadas | 68 |
| 6. Promedio de resultados de acidez en muestras de bebidas carbonatadas | 68 |
| 7. Promedio de resultados de pH en muestras de bebidas carbonatadas | 69 |
| 8. Promedio de resultados de grados brix en muestras de bebidas carbonatadas | 70 |
| 9. Promedio de resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de hielo | 71 |
| 10. Promedio de resultados de Microorganismos coliformes totales en muestras de hielo | 71 |
| 11. Promedio de resultados de Microorganismos coliformes fecales en muestras de hielo | 72 |
| 12. Promedio de resultados de <i>Escherichia coli</i> en muestras de hielo | 73 |
| 13. Promedio de resultados de <i>Pseudomona aureginosa</i> en muestras de hielo | 73 |
| 14. Promedio de resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de vasos vacíos | 74 |

| | |
|---|-----|
| 15. Promedio de resultados de Microorganismos coliformes totales en muestras de vasos vacíos | 74 |
| 16. Decodificación de los sabores de bebidas carbonatadas muestreadas | 96 |
| 17. Decodificación de los restaurantes muestreados ubicados los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador con su correspondiente sabor de bebida carbonatada seleccionada | 96 |
| 18. Mililitros de hidróxido de sodio gastados en las diferentes titulaciones del primer muestreo | 126 |
| 19. Mililitros de hidróxido de sodio gastados en las diferentes titulaciones del segundo muestreo | 127 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo de determinar la calidad microbiológica y fisicoquímica (pH, Acidez y Grados Brix) de las bebidas carbonatadas sin hielo de máquinas dispensadoras que se encuentran en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador ya que es importante conocer si la población que visita estos restaurantes está poniendo en riesgo su salud, al consumir bebidas carbonatadas que no presentan la inocuidad necesaria para su consumo. En el diseño metodológico se describe el tipo de estudio, así como el tipo de muestreo, también las fases en las que se desarrolló la investigación de campo, en la fase I se identificaron las marcas de bebidas carbonatadas de mayor consumo por la población que visita los restaurantes de comida rápida en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador, en la que se utilizó como instrumento una encuesta (Ver Anexo N° 4) y, según los resultados obtenidos(Ver Anexo N° 5) de las 30 personas encuestadas, 21 personas prefirieron los sabores de C-C y P-C (Ver Anexo N° 2).

En la Fase II se identificaron los puntos de muestreo ya que por medio de una observación visual se reconocieron que existían restaurantes de comida rápida, que se encontraban tanto en la Octava y Décima etapa de los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador, por lo que se definieron que estos serían los restaurantes que se muestrearían.

Para la presente investigación se tomaron 20 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo, 4 muestras de hielo y 4 muestras de vasos vacíos conformando un total de 28 muestras, en donde la toma de muestras se llevó a cabo en un período de dos semanas, en dos diferentes períodos de tiempo, los cuales fueron: La primer semana se realizó de 9:30- 10:00 a.m y la segunda semana se realizó de 12:00- 12:30 p.m., que son horas de mayor consumo o

afluencia de la población, con el objeto de verificar alguna diferencia en el resultado de los análisis.

Para los análisis microbiológicos, del total de las 20 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo al ser comparadas con la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, el 80% resultaron conformes para microorganismos mesófilos aerobios, mohos y coliformes fecales, y el porcentaje restante resultó contaminado lo que puede dar un indicio de que no a todas las máquinas dispensadoras se les da un mantenimiento de limpieza y desinfección, por lo que, pueden albergar microorganismos que causen la contaminación de las bebidas carbonatadas. De las 4 muestras de hielo al ser comparadas con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”, el 100% resultó conforme para microorganismos mesófilos aerobios y *Pseudomona aureginosa*. El porcentaje de muestras que resultó contaminado puede indicar que, el agua que utilizan para la elaboración del hielo está contaminada con heces fecales o los manipuladores no hacen uso de las medidas higiénicas al momento de su manipulación. De las 4 muestras de vasos vacíos el 100% resultaron conformes, descartando que estos pudieran ser la fuente de contaminación. Para los análisis fisicoquímicos, del total de las 20 muestras de bebidas carbonatadas resultaron 100% conformes para acidez, pH y grados Brix.

Por lo anterior se recomienda que las instituciones competentes monitoreen periódicamente los restaurantes ubicados en los dos Food Court para que cumplan las buenas prácticas de higiene por parte del personal manipulador y la higiene con respecto a la limpieza y desinfección de las máquinas dispensadoras, deben realizar análisis microbiológicos periódicos a las bebidas y agua utilizada para hielo, con el objetivo de que los restaurantes mantengan y mejoren sus estándares de calidad según exigen las normas establecidas.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION (4, 6, 20, 39)

Pese a las buenas prácticas de higiene empleadas por parte de las industrias que elaboran bebidas carbonatadas, estas no siempre son tomadas en cuenta por los manipuladores de los dispensadores de las mismas, facilitando la contaminación de las bebidas carbonatadas después del procesamiento.

En la actualidad existe una gran demanda de bebidas carbonatadas y una de las formas en que se presentan es en máquinas dispensadoras ubicadas en restaurantes de comida rápida, que a diario son visitados por la población salvadoreña. Debido a la demanda que presentan este tipo de bebidas carbonatadas es de gran importancia conocer si la salud de los consumidores se encuentra en riesgo, al estar consumiendo un producto que no presenta las características de un alimento inocuo ya sea por la presencia de bacterias en las bebidas o en las máquinas dispensadoras, el comportamiento inadecuado de los clientes (reutilización de los vasos) y del personal que maneja las máquinas dispensadoras de bebidas que tienen un contacto físico y directo con las boquillas de dosificación.

Es por ello, que en la presente investigación se determinó la presencia de microorganismos mesófilos aerobios, mohos, coliformes totales y fecales, y se analizó la acidez, pH y grados Brix en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo en los restaurantes de comida rápida de los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador. Por no existir una Normativa en nuestro país de Bebidas Carbonatadas se utilizó como referencia la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, para verificar que los resultados se encontraban dentro de los límites establecidos.

También se determinó la presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli* y *Pseudomona aureginosa* en muestras de hielo de las máquinas dispensadoras y los resultados se

compararon con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”. Y además se analizaron vasos vacíos con el objetivo de descartar si éste es la causa de contaminación de las bebidas carbonatadas.

Por medio de 30 encuestas (Anexo N° 4) se determinó cuáles son las marcas de bebidas carbonatadas que más prefieren los consumidores y se definieron que estas serían las bebidas que se muestrearían para realizarles por duplicado análisis microbiológicos y físicoquímicos, además por medio de una observación visual se observó que hay cinco de restaurantes que se encuentran en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador, por lo que se definieron que estos serían los puntos de muestreo.

La parte experimental de este trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y en el Laboratorio de Bioquímica y Contaminación Ambiental de la Facultad de Química y Farmacia en la Universidad de El Salvador, la cual se desarrolló en el período de Mayo - Julio del 2013 para el posterior análisis de datos y la elaboración del informe final.

Se deben llevar a cabo estudios acerca de la contaminación de las máquinas dispensadoras en diferentes puntos críticos como boquillas de dosificación, mangueras, etc, haciéndoles un seguimiento constante para evidenciar la presencia de posibles patógenos que afectarían la calidad de las bebidas y por lo tanto la calidad de vida de los consumidores. Lo que permitiría exigir a estos establecimientos que cumplan con las buenas normas y prácticas de manipulación de esos alimentos.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar la determinación microbiológica, pH, acidez y grados Brix en bebidas carbonatadas sin hielo de máquinas dispensadoras en los Food court de Metrocentro San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Verificar las condiciones sanitarias y ambientales en que se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas mediante una lista de chequeo.
- 2.2.2 Analizar la presencia de microorganismos mesófilos aerobios, mohos, coliformes totales y pH, acidez, Grados Brix en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo de máquinas dispensadoras.
- 2.2.3 Analizar la presencia de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Pseudomona aureginosa* en muestras de hielo de las máquinas dispensadoras.
- 2.2.4 Comparar los resultados obtenidos en los diferentes análisis realizados a las muestras de bebidas carbonatadas sin hielo con la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas y los resultados de las muestras de hielo con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo. Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”.

2.2.5 Dar a conocer los resultados obtenidos al Ministerio de Salud (MINSAL).

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO



Fig. N° 1. Diferentes marcas de bebidas carbonatadas

3.1 BEBIDAS CARBONATADAS

Las bebidas carbonatadas son, hoy en día, una de las bebidas más consumidas en todo el mundo, especialmente entre la población joven. El consumo comienza a muy temprana edad y aumenta durante la adolescencia. Se las conoce en diferentes países como gaseosa, refresco, refresco con gas, soda o softdrink. Son bebidas saborizadas, efervescentes sin contenido de alcohol (17, 4).

Estas bebidas representan un problema importante para nuestra salud, no sólo por lo que contienen, sino también por los alimentos que desplaza de la dieta.

El consumo importante de estas bebidas se asocia a una ingesta más baja de numerosas vitaminas, minerales y fibra. Son un factor de riesgo importante para la salud en general, ya que contribuyen, sin lugar a dudas, con el sobrepeso y la obesidad. A su vez, aumentan el riesgo de osteoporosis, problemas dentales, renales y cardíacos entre otras enfermedades (4).

3.2 HISTORIA ⁽¹⁷⁾.

La fabricación de bebidas carbonatadas comienza en Nueva York en 1832, cuando John Matthews inventa un aparato para mezclar agua con dióxido de carbono, y además de agregar sabor.

De la popularidad de la bebida nacen negocios que mezclan el agua carbonatada con sabores a elección, llamadas fuentes de soda. Sabores como naranja, limón, uva eran muy demandados. En aquella época la gaseosa también se vendía en farmacias como remedio para curar diversos males.

En 1885, W.B. Morrison un farmacéutico propietario de "Old CornerDrugStore" en Waco, Texas, desarrolló un distinguido sabor en su fuente de soda. Su nombre Dr. Pepper, la más antigua gaseosa, que aún se vende en Estados Unidos. Casi por la misma época (1886), otro farmacéutico, llamado John S. Pemberton, experimenta con hierbas y especies como nuez de kola africana y la hoja de coca en la ciudad de Atlanta. El resultado, una bebida que bautizó como Coca Cola. Pemberton muere a sólo un año y medio de haber introducido al mercado el nuevo producto.

En 1898, un farmacéutico de Carolina del Norte, Caleb Bradham, busca un tónico para el dolor de cabeza a la que le agrega pepsina. En 1903, registró la marca de esta bebida como "Pepsi".

Y de ahí nace una gran nueva industria: la de las bebidas carbonatadas y por ende empieza la aparición de diversas marcas de bebidas de cola, las cuales han ido incorporando diferentes ingredientes para darles un toque particular

3.3 REQUISITOS PARA LAS BEBIDAS CARBONATADAS ⁽²⁰⁾.

Por no existir una Normativa en nuestro país de Bebidas Carbonatadas se utilizará como referencia la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, la cual fue aprobada el 11 de Julio de 2000 por la Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad en la Ciudad de Managua, Nicaragua, y publicada en la Gaceta N° 177, el 19 de Septiembre del 2001.

3.3.1 CARACTERISTICAS GENERALES DE BEBIDAS CARBONATADAS ⁽²⁰⁾.

- La gaseosa con o sin sabor deberá presentar el color, olor y sabor característico del producto, el sabor no deberá ser añejo, mohoso, ni fermentado que son característica que denotan procesos defectuosos de fabricación y se declaran no aptas para el consumo humano.
- El producto final no deberá contener materias extrañas a su composición normal tales como fragmentos metálicos, partícula de vidrio u otros sedimentos.
- El producto final no deberá contener insectos o fragmentos de estos, huevos ni larvas de insectos.

3.3.2 REQUISITOS FISICOS Y QUIMICOS ⁽²⁰⁾.

El agua mineral o soda deberá contener un mínimo de un volumen de gas absorbido en un volumen de agua. El volumen de gas, es el volumen dióxido de carbono (anhídrido carbónico) que absorbe el agua a la presión atmosférica normal (101, 133 Kpa = 760 mm Hg) y a temperatura de 15.56 °C.

Cuadro N° 1. Requisitos fisicoquímicos de las aguas gaseosas con sabor ⁽²⁰⁾.

| CARACTERÍSTICAS | MINIMO | MÁXIMO |
|--|-------------|---------------|
| Grado Brix (porcentaje de sólidos solubles como sacarosa). | 8.0 | 15.0 |
| Alcohol en porcentaje en volumen a 15.56 °C | 0% | 0.5% |
| Dióxido de carbono (anhídrido carbónico) en volumen de gas absorbido por cada volumen de agua. | 1.0 volumen | 5.0 volúmenes |
| Acidez expresada en gramos de ácido cítrico anhídrido por cada 100 cm ³ de muestra. | 0.003 | 0.5 |
| pH | 2.4 | 4.5 |

3.4 MATERIAS PRIMAS⁽²⁰⁾.

Según la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas los ingredientes y aditivos utilizados en la preparación del producto deberán cumplir con los requisitos establecidos en las disposiciones sanitarias correspondientes o en su defecto por las normas de identidad y pureza para Aditivos Alimentarios del CODEX ALIMENTARIUS.

3.4.1 Agentes Espumantes: Sustancia química con propiedades surfactantes (tensoactivo) que cuando se encuentra presente en pequeñas dosis en una disolución facilita la generación de espuma.

Se permitirá el uso de glicerina amoniacal, proteína de soya modificada en un soporte de propilénglicol, extracto de líquido, yuca, regaliz.

3.4.2 Edulcorantes: Se permitirá la adición de los siguientes edulcorantes nutritivos: dextrosa, fructosa, jarabe de fructosa de maíz, miel, sacarosa y sacarosa invertida, y la adición de los siguientes edulcorantes intensos: isomalta, manitol, sorbitol, aspártame, sacarina, entre otros.

3.4.3 Acidulantes: Son sustancias químicas que modifican el sabor y el pH de los productos.

Se permite la adición de uno o más ácidos:

- Ácido Cítrico, adipico, fumárico, tartárico, láctico, málico y acético en cantidad no mayor a 5000.0 mg/Kg en producto terminado.
- Ácido Fosfórico, en cantidad no mayor de 700.0 mg/Kg en el producto terminado.

3.4.4 Agentes Enturbiantes: Se podrán usar los agentes que producen turbiedad, tales como: goma acacia, aceite vegetal, aceite esenciales cítricos.

3.4.5 Reguladores de Acidez: Son usados para alterar y controlar la acidez o alcalinidad para el procesamiento, sabor y seguridad alimenticia.

Se permitirá el uso de las siguientes sales de calcio, magnesio, potasio y sodio: acetatos, bicarbonatos, carbonatos, cloruros, citratos, fosfatos, gluconatos, lactatos y sulfatos.

3.4.6 Sabores Naturales y/o Artificiales: Se podrá usar sabores naturales y/o artificiales en cantidades suficientes para lograr el efecto deseado en el producto.

3.4.7 Colorantes: Son un tipo de aditivos alimentarios que proporcionan color a los alimentos.

Colorantes Artificiales. Se permitirá la adición en cantidad no mayor a 100.0 mg/kg en producto terminado de los siguientes colorantes:

- Amaranto (FD & C rojo N° 2)
- Azul Brillante (FD & C azul N° 1)
- Indigotina (FD & C azul N° 2)
- Amarillo Ocaso F.C.F (FD & Camarillo N° 6)

- Tartrazina (FD & C amarillo N° 5)
- Verde (FD & C verde N° 3)
- Negro brillante PN

Colorantes Naturales: Se permitirá la adición en cantidades limitadas por práctica correctiva de fabricación, de los siguientes colorantes:

- Amarillo Carotenoides tales como Cúrcuma, Onoto, Betacaroteno.
- Rojo: Remolacha, Uva, Cantaxantina
- Verdes: Clorofila
- Marrón: Caramelo

3.4.8 Antiespumante: Evitan la formación de espuma ya formada y previene la formación de nuevas burbujas.

Se permitirá la adición de dimetilpolisiloxanol o metilfenilpolisiloxanol en cantidad no mayor a 10.0 mg/kg en el producto terminado.

3.4.9 Agentes Estabilizadores: Se podrán usar los siguientes aditivos cuando sea necesario estabilizar una emulsión: almidón modificado alimenticio, goma arábiga, goma karaya, goma de algarrobo, goma Ester, goma tragacanto, goma xantánica, celulosa modificada, dextrinas, pectinas, aceite vegetal bromado (dosis máxima de 15.0 mg/l), lecitina, acetato isobutirato de sacarosa (dosis máxima de 300.0 mg/kg), almidones modificado.

3.4.10 Ingredientes y Aditivos:

- Cafeína. Se permitirá su presencia en el producto terminado en cantidad no mayor a 200.0 mg/kg en producto terminado.
- Sales de Quinina no mayor a 100.0 mg/kg en producto terminado expresado como quinina.
- Sal, Vitaminas, Bicarbonato de Sodio, minerales.

3.4.11 Sustancias Conservadoras:

- Ácido Benzoico y ácido Sórbico o sales correspondientes en una dosis máxima de 1000.0 mg/kg en producto terminado expresados como ácido benzoico para sales de este ácido y 1500.0 mg/kg en producto terminado como ácido sórbico para las sales de este ácido.
- Dióxido de azufre, en cantidad no mayor a 115.0 mg/kg en producto terminado.
- Sulfito, bisulfito y metabisulfito de sodio, potasio calcio en una dosis máxima de 115.0 mg/kg en producto terminado expresados como dióxido de azufre.
- p-metil y p-propilhidroxibenzoato en cantidad no mayor a 1000.0 mg/kg en producto terminado.
- Ácido fórmico y sus sales de sodio y calcio en cantidad no mayor a 100.0 mg/kg en producto terminado.

3.4.12 Agentes Antioxidantes y Secuestrantes:

Se permitirá la adición de las siguientes sustancias:

- Cloruro Estañoso: En bebidas enlatadas en cantidad no mayor a 30.0 mg/Kg en el producto terminado, calculados como estaño.
- Ácido Ascórbico y sus respectivas sales de sodio, calcio y potasio.
- Sales disódicas y cálcicas del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) en cantidad no mayor a 100.0 mg/Kg en el producto terminado.
- Propilgalato en cantidad no mayor a 200.0 mg/kg en producto terminado.
- Tocoferol en cantidad no mayor a 200.0 mg/kg en producto terminado.
- Carboximetilcelulosa, en cantidades limitadas a prácticas correctas de fabricación.
- Enzima glucoxidasa, catalasa, en cantidad limitada por práctica correcta de fabricación.
- Palmitato de ascorbilo, en cantidad no mayor a 200.0 mg/kg en producto terminado.

- Estereato de ascorbilo, en cantidad no mayor a 200.0 mg/kg en producto terminado.
- Hidroxianisolbutilado (BHA) en cantidad no mayor a 0.2 mg/kg en producto terminado.
- Citrato isopropílico en cantidad limitada por práctica correcta de fabricación.
- Hidroquinona terbutílica en cantidad no mayor a 0. 2 mg/kg en producto terminado.

3.5 INOCUIDAD DE LAS BEBIDAS CARBONATADAS

Para conocer si un producto que se comercializa es inocuo, hay que observar ciertas características Organolépticas, Fisicoquímicas y Microbiológicas, ya que un producto que esté contaminado podría causar daños a la salud de las personas que los consumen⁽¹⁵⁾.

La calidad de los alimentos constituye uno de los elementos más importantes en la industria alimentaria, ya que las características que éstas poseen hacen apetecible su consumo, o todos los atributos que influyen en el valor de un producto para el consumidor, tales atributos pueden ser negativos como estado de descomposición, contaminación con suciedad, decoloración y olores desagradables, pero también atributos positivos, como origen, color, aroma, textura y métodos de elaboración de los alimentos⁽¹⁵⁾.

Existen enfermedades transmitidas por los alimentos que se conocen como ETAS y se originan por el consumo de alimentos que contienen agentes contaminantes en cantidad lo suficiente como para afectar la salud del consumidor. Los agentes contaminantes pueden ser patógenos como bacterias, virus, hongos, parásitos o componentes químicos (toxinas) que se encuentran en el alimento. Pese a las buenas prácticas de higiene que son empleadas en la elaboración de las bebidas, éstas no siempre son tomadas en cuenta por los

manipuladores de los dispensadores de las mismas, lo que facilita de gran manera la contaminación después de su proceso de elaboración (15, 28).

Algunas causas que pueden ocasionar contaminación a las bebidas carbonatadas son las siguientes:

- Temperatura inadecuada de almacenamiento.
- Inadecuada higiene y limpieza de contenedores.
- Contaminación cruzada por el uso de los mismos contenedores con sabores diferentes.
- Calidad deficiente de materias primas que se utilizan para la elaboración de este tipo de bebidas.

Si se logra un mejor cuidado en todos estos aspectos se pueden evitar bebidas contaminadas y lo mejor es que la calidad del producto que se comercializa en los restaurantes de comida rápida incrementa de gran manera (11).

3.5.1 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS

Cuadro N° 2. Requisitos Microbiológicos. (Según la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas) (20).

| Punto de Muestreo | Microorganismos | Recuento Máximo Permitido |
|--|--------------------------------------|---------------------------|
| Agua de Lavado de los contenedores y equipos | Recuento total de bacterias (UFC/ml) | 50 |
| Agua de proceso | Recuento total de bacterias (UFC/ml) | 50 |
| Jarabe simple | Levaduras (UFC/ml) | 3 |
| Jarabe terminado | Levaduras (UFC/ml) | 3 |
| Bebida terminada | Recuento total de bacterias (UFC/ml) | 50 |
| Bebida terminada | Mohos (UFC/ml) | 5 |
| Bebida terminada | Coliformes (UFC/100ml) | 2 |

3.6 MANIPULADOR DE ALIMENTOS ^(21, 22, 19).

Se puede definir como manipulador de alimentos a toda aquella persona que por su actividad laboral tiene contacto directo con los alimentos durante su preparación, fabricación, transformación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, venta, suministro y servicio.

El personal que manipula alimentos también desempeña una función primordial en la tarea de preservar la higiene de los alimentos durante las etapas de preparación, transformación, envasado, almacenamiento, distribución, venta y servicio.

Si no observa un comportamiento higiénico puede transmitir microorganismos patógenos a los alimentos, de la siguiente manera ⁽²¹⁾:

- Transmisión directa: a veces los manipuladores transfieren a los alimentos microorganismos de los que pueden ser portadores, a través de las secreciones de la boca y de la nariz, de la piel y heridas, y a través de las manos si no se lavan adecuadamente después de haber hecho uso del servicio sanitario.
- Transmisión indirecta: pueden contaminar los alimentos a través de las manos después de haber manipulado alimentos crudos, basuras, y objetos ajenos a la actividad de cocina; por haberse lavado las manos con trapos o toallas de tela; o a través de la ropa de trabajo si no está limpia.

3.6.1 MEDIDAS HIGIENICAS POR UN MANIPULADOR DE ALIMENTOS A CONSIDERAR ⁽¹⁹⁾.

La formación específica e higiene son dos de los pilares fundamentales en la manipulación de alimentos:

Algunos de los requisitos para los manipuladores de alimentos hacen referencia a la formación en higiene alimentaria. En este contexto, las empresas del sector alimentario deben garantizar, mediante programas de formación continuada adecuados a su actividad, que los manipuladores de alimentos dispongan de los conocimientos necesarios para desarrollar correctas prácticas de manipulación. Estos programas de formación los debe impartir una entidad autorizada por la autoridad sanitaria competente que puede ser, en su caso, la propia empresa.

Además, se deben cumplir las normas de higiene en cuanto a actitudes, hábitos y comportamiento. Las manos son el vehículo principal de transmisión, por lo que se han de lavar tan a menudo como sea necesario y en un lugar especialmente preparado para este fin. Se deben lavar entre la manipulación de diferentes tipos de alimentos o alimentos crudos y cocinados, después de manipular desperdicios o basuras, después de tocar utensilios sucios o ajenos a la actividad desarrollada, después de un periodo de descanso y muy especialmente después de comer o fumar y por supuesto tras usar el servicio sanitario o sonarse la nariz y siempre antes de incorporarse al puesto de trabajo.

Estas normas de higiene incluyen no fumar, comer ni masticar chicle mientras se manipulan alimentos, y tampoco estornudar o toser sobre los alimentos: la saliva es un excelente vehículo de transmisión de microorganismos. Tampoco deben llevarse anillos o pulseras durante el desarrollo de la actividad, ya que se evitará que puedan entrar en contacto directo con los alimentos y contaminarlos.

Una herida o corte que pueda ponerse en contacto directa o indirectamente con los alimentos es un peligroso foco de contaminación por lo que siempre ha de ser desinfectado y protegido con un vendaje impermeable apropiado. Por

último, debe evitarse la presencia no justificada de personas ajenas a la actividad de la empresa en los locales donde ésta se desarrolle y en cualquier caso estas personas deberán en todo momento respetar las normas relativas a la higiene.

Si se sufre cualquier enfermedad susceptible de contaminar o ser transmitida a través de los alimentos (heridas infectadas, infecciones de la piel, diarrea o trastornos gastrointestinales, entre otros), debe informarse a los responsables para valorar el riesgo y establecer las pautas que se seguirán.

Además de todo lo descrito, se debe de llevar una vestimenta limpia y de uso exclusivo y utilizar cubrecabeza y calzado adecuado. En este sentido, debe ponerse especial cuidado con la higiene de manos, uñas, nariz, boca, pelo y piel ya que estas zonas transmiten fácilmente microorganismos. La indumentaria, que será preferiblemente de color claro, debe estar permanentemente limpia y cambiarse tantas veces como sea necesario, incluso a lo largo de una misma jornada de trabajo. Será además de uso exclusivo para esta actividad y es recomendable que no disponga de bolsillos.

El calzado, además de ser el adecuado y de fácil limpieza y desinfección, deberá tener suela antideslizante para evitar posibles resbalones y accidentes. En algunos casos y debido al alto riesgo sanitario generado por la actividad, será necesario el uso de mascarillas y/o guantes higiénicos. Conocer y cumplir las instrucciones de trabajo establecidas por la empresa es clave para garantizar la seguridad y salubridad de los alimentos.

3.7 LIMPIEZA DE LAS MAQUINAS DISPENSADORAS DE BEBIDAS CARBONATADAS ⁽¹⁸⁾.

La limpieza y la desinfección tienen como fin asegurar una buena higiene, tanto a nivel de los locales, los materiales, el personal y el ambiente. La limpieza

regular y periódica permite mantener una flora microbiana ambiental reducida necesaria y suficiente para ciertas actividades.

A continuación se mencionan algunas definiciones relacionadas con el proceso de limpieza y desinfección:

3.7.1 LIMPIEZA Y DESINFECCION₍₁₈₎.

Limpieza: Es el conjunto de operaciones que permiten eliminar la suciedad visible o microscópica. Estas operaciones se realizan mediante productos detergentes elegidos en función del tipo de suciedad y las superficies donde se deposita.

Desinfección: Es el conjunto de operaciones que tiene como objetivo la reducción temporal del número total de microorganismos vivos y la destrucción de los patógenos y alterantes; sin embargo, la esterilización busca la obtención definitiva de un medio completamente exento de gérmenes.

No solamente depende de los manipuladores de las bebidas carbonatadas mantenerlas inocuas, sino que también depende mucho la limpieza que se les debe de dar a las máquinas dispensadoras de estas bebidas. La limpieza y desinfección de este tipo de máquinas es bastante específica ya que generalmente se basan en manuales del equipo y lo deben de realizar personas capacitadas en eso. Para la limpieza de estos equipos generalmente se debe desmontar el equipo y lavar por individual cada una de las partes por las que están compuestas y luego se vuelven amontar para continuar su uso.

En algunas ocasiones cuando la máquina no se ha limpiado o desinfectado de manera correcta ocurre la formación de Biofilm o Biopelícula que se define como una comunidad microbiana sésil, funcional y coordinada. Caracterizada por células irreversiblemente unidas a un sustrato o interfase y entre sí,

embebidas en una matriz extracelular de sustancias polimerizadas por ellas producidas y que exhiben un fenotipo alterado con respecto al grado de multiplicación celular y transcripción de genes.

3.7.2 ETAPAS DE LA LIMPIEZA Y DESINFECCION⁽¹⁸⁾.

LIMPIEZA:

- Recoger y desechar los residuos del producto, polvo o cualquier otra suciedad presentes en el lugar a limpiar.
- Humedecer con suficiente agua potable el lugar o superficie que se va a limpiar.
- Preparar la solución de detergente que se va a usar.
- Enjabonar la superficie por limpiar, esparciendo la solución de detergente con esponja o cepillo.
- Restregar la superficie fuertemente con ayuda de un paño o cepillo, eliminando toda la suciedad posible.
- Dejar la solución de detergente aplicada por un tiempo corto para que este actúe.
- Enjuagar con suficiente agua asegurándose de que todo el detergente se elimine.
- Observar detenidamente el lugar que se limpio para verificar que haya sido eliminada toda suciedad.

DESINFECCION:

- Asegurarse de que la superficie este limpia, si no es así limpiar como se explico anteriormente.
- Antes de proceder a desinfectar se debe tener lista la solución desinfectante.
- Aplicar la solución desinfectante sobre el lugar o superficie que se va a desinfectar.

- La solución desinfectante se deja sobre el lugar que se está desinfectando por un tiempo mínimo de un minuto, dependiendo de la sustancia utilizada.
- Durante este tiempo, se está logrando eliminar la mayor cantidad posible de microorganismos, de modo que la superficie a limpiar quede desinfectada.

3.8 Microorganismos a determinar de acuerdo a la norma técnica obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas y La Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 Hielo. Especificaciones y buenas prácticas de fabricación ^(6, 20).

3.8.1 MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS ⁽¹²⁾.

Bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30° C, pero pueden hacerlo en rangos bien amplios de temperaturas inferiores y mayores a los 30° C. Todas las bacterias patogénicas de origen alimenticio son mesófilas. Grado de contaminación de una muestra y las condiciones que han favorecido o reducido la carga microbiana Indica la calidad sanitaria del alimento y se utiliza para monitorear la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura.

Los recuentos elevados indican:

- Excesiva contaminación de la materia prima
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración
- La inmediata alteración del producto
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos

3.8.2 MOHOS ⁽³⁰⁾.

La mayoría de los hongos pueden ser considerados mesófilos, con temperaturas óptimas de crecimiento entre 22 y 30 °C. Algunos hongos patógenos para el hombre y animales tienen una temperatura óptima un poco más elevada, entre 30 y 37°C.

Además, existe un pequeño grupo de hongos termófilos, es decir, que tienen una temperatura óptima elevada. Algunos pueden crecer a temperaturas tan altas como 62 °C. Los cultivos de hongos se incuban, generalmente, a temperatura ambiente y bajo condiciones aerobias, ya que la mayoría son aerobios y mesófilos.

El aspecto general del hongo en un medio de cultivo es muchas veces suficiente para que un especialista pueda indicar su género. Algunos son algodonosos, otros son secos y pulverulentos. El color que presenta la colonia es también característico: verde, rojo, negro, gris, etc.

3.8.2.1 METODO DE RECuento TOTAL PARA MOHOS ^(2, 30).

El recuento es una prueba de rutina en el laboratorio de microbiología de alimentos, con la cual se puede estimar la vida útil de productos.

Cuadro N° 3. Relación de la vida útil del producto con el resultado de Recuento Total.

| Recuento total aerobio UFC / g o mL | Interpretación |
|-------------------------------------|--|
| $< 10 - 10^6$ | Se puede almacenar (a mayor recuento, menor será este tiempo) |
| $10^6 - 10^7$ | Ingerir de inmediato |
| $< 10^8$ | Desechar |

El recuento se puede realizar por vaciado o por esparcimiento. Teóricamente a partir de cada célula presente en la muestra, se obtendrá una colonia. Aunque esto no es totalmente real, ya que resulta imposible separar grumos de bacterias. Debido a esto es que se reporta como UFC (unidades formadoras de colonias) / g o mL.

3.8.2.2 METODO DE FILTRACION POR MEMBRANA PARA MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS, COLIFORMES, *Escherichia coli* Y *Pseudomona aureginosa* (23).

Los filtros de membrana son filtros de superficie, que muestran una estructura microporosa precisa. Durante la filtración las partículas mayores que los poros de la membrana son retenidas de forma fiable en la superficie de la misma. Las partículas más pequeñas pueden pasar el filtro.

Los filtros de membrana por lo general, están compuestos de ésteres de celulosa, típicamente con poros de 0,45 mm de diámetro que retienen los coliformes totales y otras clases de bacterias presentes en la muestra. Después se incuban las membranas vueltas hacia arriba en un medio selectivo. En la práctica, la técnica de filtración de membrana ofrece resultados comparables a los que se obtienen con el método de tubos múltiples.

Una de las ventajas del método de filtración a través de membrana es la prontitud con que pueden obtenerse los resultados y, en consecuencia, se pueden llevar a cabo rápidamente acciones. Esta técnica puede aplicarse en el análisis de casi todos los tipos de agua, también se utiliza en el análisis de leche y otros alimentos líquidos.

3.8.3 COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES (23).

Los coliformes totales son las *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas y constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un periodo de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C.

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana ya que los coliformes son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente.

- Están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades.
- Permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas.
- Se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes totales, capaz de fermentar la lactosa a 44.5°C. Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces fecales, están formados por ***Escherichia coli***.

3.8.4 *Escherichia coli* (25).

La ***Escherichia coli* (*E.coli*)** es un tipo de bacteria que forma parte de la flora intestinal habitual en animales y humanos. Existen diversas cepas de ***E.coli***, que se diferencia básicamente por su poder patógeno. Así, la agresividad de una cepa se mide en función de esta capacidad potencial de producir infecciones. La mayoría de las cepas de ***Escherichia coli*** son inofensivas. Otras pueden provocar infecciones en el hombre, fundamentalmente gastrointestinales y del aparato urinario.

La ***Escherichia coli*** también produce frecuentemente lo que se conoce como “diarrea del viajero”, que se manifiesta por fiebre y deposiciones acuosas, suele curar espontáneamente en unos 3-5 días y el tratamiento es básicamente con reposición de líquidos.

Caso aparte son las infecciones producidas por una cepa muy agresiva de la ***E.coli***, la O157:H7, que produce un cuadro de diarrea inflamatoria de mayor gravedad y que puede complicarse con un síndrome hemolítico-urémico (una anemia grave aguda acompañado de un fracaso en la función renal). Afortunadamente son poco frecuentes.

Su tratamiento dependerá de su gravedad y del tipo de cepa que lo provoque, requiriendo en términos generales tratamiento sintomático que incluye: reposición de líquidos e hidratación del paciente, antitérmicos y otras medidas de soporte (como diálisis en caso de insuficiencia renal en los casos más graves).

3.8.5 MICROORGANISMOS PATOGENOS: Grupo *Pseudomonas* (34, 35).

Son bacilos gram negativos, móviles con flagelos polares, aerobios estrictos, metabolismo oxidativo no fermentativo. La principal especie es la *Pseudomonas aeruginosa*, crecen entre 10 y 42°. Muy repartidas por el medio: suelo, agua y de aquí pasan a las plantas o animales. En el hombre son oportunistas. Los alimentos implicados: vegetales crudos, agua, leche no pasteurizada. Crece, generalmente, en sitios húmedos y con mucha frecuencia se ha ligado a infecciones adquiridas en el hospital, por ello se denominan infecciones nosocomiales.

Pseudomonas aeruginosa puede causar diversos tipos de infecciones pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis.

3.9 ANALISIS FISICOQUIMICO DE LAS BEBIDAS CARBONATADAS

3.9.1 DETERMINACION DE LA ACIDEZ EN LAS BEBIDAS CARBONATADAS (1, 9).

La acidez se expresa como la “concentración en miliequivalentes por gramo” de iones hidrógeno o como la cantidad equivalente de carbonato de calcio requerida para neutralizar dicha acidez.

La medición de la acidez tiene por objeto “cuantificar las sustancias ácidas presentes en un determinado cuerpo de agua o en un residuo líquido”. Existen muchos sistemas químicos y biológicos en los que aparecen ácidos débiles o bases débiles, cuya concentración es necesario determinar en muchas ocasiones. En alimentos el grado de acidez indica el contenido en ácidos libres.

Esta medición se realiza mediante una titulación, la cual implica siempre tres agentes o medios: el titulante, el titulado (o analito) y el indicador. Cuando un ácido y una base reaccionan, se produce una reacción; reacción que se puede observar con un indicador. Un ejemplo de indicador, y el más común, es la fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), que vira (cambia) de color a rosa cuando se encuentra presente una reacción ácido-base.

El agente titulante es una base, y el agente titulado es el ácido o la sustancia que contiene el ácido. El procedimiento se realiza con un equipo de titulación que consiste en una bureta, un vaso de precipitado, un soporte universal y un anillo con su nuez. Se adicionan dos o tres gotas de fenolftaleína (o colorante) y se comienza a titular (dejar caer gota a gota del agente titulante sobre el titulado) hasta obtener un ligero vire a rosa (en el caso de la fenolftaleína) que dure 30 segundos cuando mínimo. Si es muy oscuro, la titulación ha fracasado. Se mide la cantidad de agente titulante gastado y se utiliza la normalidad de la sustancia.

La acidez del producto se expresa en gramos del ácido predominante por 100 mL de muestra, en este caso como gramos de ácido cítrico:

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{N \times V_1 \times \text{P}_{\text{eq}}}{V_2 (1000)} \times 100$$

V_1 = volumen de NaOH consumidos (mL).

N = normalidad del NaOH (mEq/ mL).

P_{eq} = peso equivalente del ácido (mg/ mEq).

V_2 = Volumen de la muestra (mL)

1000= Factor para convertir mg a gramos (mg/ g).

3.9.2 DETERMINACION DE pH EN LAS BEBIDAS CARBONATADAS ⁽⁸⁾.

El pH o potencial de hidrogeniones es un parámetro que sirve para medir o expresar la acidez o la alcalinidad de un líquido. Se define como el exponente positivo de la concentración de los iones del Hidrógeno (hidrogeniones). El pH suele tomar valores entre 0 y 14, un pH de 7 es neutro y no es ni ácido ni básico. Un pH entre 0 y 7 indica que la sustancia es ácida. Un pH entre 7 y 14 le denomina básica. Cuanto más alejado este el valor de 7, mas ácida o básica será la sustancia.

La medida experimental del pH de una disolución se realiza mediante un pH-metro. Este instrumento consta de una sonda de medida (generalmente se trata de un electrodo combinado) la cual se conecta a un potenciómetro que está calibrado en unidades de pH. El pH-metro mide la diferencia de potencial que existe entre la disolución interior de referencia y la concentración de protones exterior y a través de su calibración interna la convierte en una lectura de pH.

3.9.3 GRADOS BRIX ^(1, 13).

Por definición, los grados Brix son una medida de densidad. Un grado Brix es la densidad que tiene, a 20° C, una solución de sacarosa al 1%.

Los grados °Brix miden la cantidad de sólidos solubles presentes en un jugo o pulpa, refrescos entre otros, expresados en porcentaje de sacarosa. Los sólidos solubles están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y demás compuestos solubles en agua presentes en los jugos de las células de una fruta, o en las bebidas gaseosas. Se determinan empleando un refractómetro calibrado y a 20 °C. Si las muestras se hallan a diferente temperatura se podrá realizar un ajuste en °Brix, según la temperatura en que se realice la lectura.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

4.1.1 Estudio de Campo: Se realizaron visitas de campo a los restaurantes de comida rápida ubicados en los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador previo a la toma de muestras.

4.1.2 Estudio Experimental: Se realizaron análisis microbiológicos y fisicoquímicos a las muestras que se recolectaron de bebidas carbonatadas sin hielo, mientras que a las muestras de hielo y vaso vacío, se le realizaron únicamente análisis microbiológicos. Estos análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y en el Laboratorio de Bioquímica y Contaminación Ambiental de la Facultad de Química y Farmacia ambos de la Universidad de El Salvador.

4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

En este trabajo se realizó la investigación bibliográfica, visitando las bibliotecas siguientes:

- Biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas (UES).
- Biblioteca Central, Universidad de El Salvador (UES).
- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM)
- Biblioteca de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA)
- Internet.

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

4.3.1 METODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.

Se realizó una visita de campo a los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador con el objetivo de verificar si existían máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas.

La investigación de campo se desarrolló en dos fases debido a la naturaleza del trabajo:

Fase I: Identificación de las marcas de bebidas carbonatadas de mayor consumo por la población que visita los restaurantes de comida rápida en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador. Para determinar cuáles serían las marcas de bebidas carbonatadas sin hielo que se muestrearían realizamos una encuesta (Ver Anexo N° 4) a consumidores de 18 años en adelante y, según los resultados obtenidos (Ver Anexo N° 5) de las 30 personas encuestadas, 21 personas prefirieron los sabores de C-Cy P-C (Ver Anexo N° 2).

Fase II: Identificación de los puntos de muestreo.

Por medio de una observación visual se reconocieron que existían restaurantes de comida rápida, que se encontraban tanto en en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador, por lo que se definieron que estos serían los restaurantes que se muestrearían.

4.3.2 UNIVERSO Y MUESTRA

- **UNIVERSO:** Está constituido por todas las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas de las diferentes marcas comerciales de diez restaurantes muestreados en los los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador.

- **MUESTRA:** Bebidas carbonatadas sin hielo (C-C y P-C), hielo y vasos vacíos tomadas de los restaurantes seleccionados de comida rápida ubicados en los

los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador.

- **TOMA DE MUESTRAS:** Se tomaron 20 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo de las máquinas dispensadoras ubicadas en cinco de los restaurantes que se encuentran en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador (Ver Anexo N° 2). A la vez se tomaron 4 muestras de hielo y 4 muestras de vasos vacíos. Conformando un total de 28 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo, hielo y vasos vacíos.

4.3.3 TIPO DE MUESTREO

El muestreo se realizó en dos fases:

FASE I: El muestreo fué estratificado, porque se tuvo como base la preferencia que tienen los consumidores de 18 años en adelante, en cuanto a la marca comercial de bebida carbonatada que prefieren, para esto nos ayudamos con una encuesta (Anexo N° 4) y los resultados indicaron que las marcas de mayor consumo por la población son la marcas de C-C y la marca P-C.

FASE II: Para proceder al muestreo de las bebidas carbonatadas sin hielo, muestras de hielo y vasos vacíos en los restaurantes que se encuentran los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador, realizamos dos muestreos aleatorios simples, y los llevamos a cabo durante dos semanas en dos diferentes períodos de tiempo los cuales fueron: La primer semana se realizó de 9:30- 10:00 a.m y la segunda semana se realizó de 12:00- 12:30 p.m., que son horas de mayor consumo o afluencia de la población, con el objeto de verificar alguna diferencia en el resultado de los análisis.

4.3.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA ⁽³⁹⁾.

El tamaño de la muestra se determinó en base a lo especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano, en donde especifica que para la

vigilancia de cualquier tipo de alimento se deben de tomar cinco muestras para analizar. Por lo que se tomaron 10 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo para cada muestreo, haciendo un total de 20 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo. La primera semana de muestreo se tomaron cinco muestras de bebidas carbonatadas sin hielo de C-C y cinco de P-C, y la segunda semana de muestreo se siguió la misma metodología. A cada una de las muestras de bebidas carbonatadas sin hielo se le realizaron por duplicado análisis microbiológicos y físicoquímicos, además se tomaron 4 muestras de hielo de máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas y 4 muestras de vasos vacíos, 2 por cada semana de muestreo y se le realizaron análisis microbiológicos por duplicado. Las muestras de hielo y de vasos vacíos se recolectaron con el objetivo de descartar que estos fueran la fuente de contaminación de las bebidas carbonatadas.

4.4 PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA ⁽³⁾.

- Se procedió primero a la compra de las muestras en los restaurantes seleccionados, se identificaron con su correspondiente viñeta (Ver Anexo N° 6) y se transportaron en una hielera hermética, limpia y desinfectada al laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y al Laboratorio de Bioquímica y Contaminación Ambiental de la Facultad de Química y Farmacia ambos de la Universidad de El Salvador, para los correspondientes análisis.
- En el caso de las muestras de vasos vacíos, luego de su identificación se colocaron dentro de una bolsa plástica para evitar su contaminación externa. Y luego se colocó en la hielera para transportarla al laboratorio.
- Ya en el laboratorio se procedió a la desinfección del exterior de cada vaso de muestra, con ayuda de una torunda impregnada de alcohol isopropílico.
- Se agitó la muestra en el caso de bebida carbonatada sin hielo en el vaso con un agitador de vidrio estéril, antes de ser analizada, para asegurar una

homogenización adecuada. En el caso del hielo, primero se dejó descongelar, para luego ser agitada para una homogenización adecuada.

4.5 PARTE EXPERIMENTAL

4.5.1 DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA MUESTRAS DE BEBIDAS CARBONATADAS

4.5.1.1 PREPARACION DE DILUCIONES ⁽²⁾.

- Se realizaron dos diluciones para las muestras de bebidas carbonatadas:
- Primera dilución (10^{-1}): Se midió con pipeta estéril 10 mL de la muestra de bebida carbonatada, y se adicionó a un frasco de dilución que contenía 90 mL de agua peptonada. Se agitó para homogenizar.
- Segunda dilución (10^{-2}): De la dilución 10^{-1} realizada anteriormente se midió con pipeta estéril 10 mL y se adicionó a un frasco de dilución que contenía 90mL de agua peptonada y luego se agitó para homogenizar.
- Procurar que no transcurriera un tiempo mayor de 15 minutos entre la dilución de la muestra y su inoculación (Ver Anexo N° 9).

4.5.1.2 DETERMINACION DE MOHOS ⁽²⁾.

- De cada dilución 10^{-1} y 10^{-2} se tomó 1.0 mL por separado y se colocó en placas de petri plásticas vacías estériles (se realizó por duplicado) y a cada una de las placas, conteniendo la muestra, se adicionaron aproximadamente 20 mL de agar Papa dextrosa para recuento total de hongos.
- Se homogenizó por medio de la técnica de ocho y se dejó solidificar.
- Ya solidificado el medio de cultivo, se colocó alrededor de la placa de petri cinta adhesiva para evitar la contaminación externa. Se incubó a temperatura ambiente por 7 días.
- Se determinó el número de hongos con ayuda de un cuenta colonias (Ver Anexo N° 9).

a) PREPARACION DEL EQUIPO DE FILTRACION POR MEMBRANA ⁽²⁾.

- Se colocó una membrana filtrante estéril de 0,45 µm de tamaño de poro sobre el portafiltros con una pinza estéril, con la superficie cuadrículada hacia arriba.
- Se colocó el embudo sobre la base, y se tuvo el cuidado de no dañar la membrana y que quedara bien centrada. La membrana filtrante quedó situada entre el embudo y la base-soporte del filtro y se aseguró el equipo con su correspondiente pinza (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.1.3 DETERMINACION Y RECuento DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS₍₂₎.

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Plate Count.
- Se incubó por 24-48 horas a 35 ± 2 °C.
- Se determinó el número de colonias con ayuda de un cuenta colonias(Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.1.5 DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES ₍₂₎.

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Endo.
- Se incubó por 22-24 horas a 35 ± 0.5 °C.

- Se determinó el número de colonias de color rojo con brillo metálico con ayuda de un cuenta colonias (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.1.6 CONFIRMACION DE COLIFORMES TOTALES ⁽²⁾.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.1.5) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo Verde Bilis Brillante (BVB).
- Se incubaron los tubos de caldo BVB por 48 horas a 35 ± 2 °C. Observar la presencia de gas y crecimiento lo que confirma la presencia de Coliformes Totales (Ver Anexo N° 9).

4.5.1.7 CONFIRMACION DE COLIFORMES FECALES ⁽²⁾.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.1.5) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo *Escherichia coli* (EC).
- Se incubaron los tubos de caldo EC en baño de agua a 44.5 ± 0.2 °C durante 24 horas. Observar la formación de gas lo que confirma la presencia de Coliformes Fecales (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.2 DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA MUESTRAS DE HIELO

4.5.2.1 DETERMINACION Y RECuento DE BACTERIAS MESÓFILAS AEROBIAS ⁽²⁾.

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Plate Count.
- Se incubó por 24-48 horas a 35 ± 2 °C.

- Se determinó el número de colonias con ayuda de un cuenta colonias (Ver Anexo N° 9).

4.5.2.2 DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES₍₂₎.

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Endo.
- Se incubó por 22-24 horas a 35 ± 0.5 °C.
- Se determinó el número de colonias de color rojo con brillo metálico con ayuda de un cuenta colonias (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.2.3 CONFIRMACION DE COLIFORMES TOTALES ₍₂₎.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.2.2) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo Verde Bilis Brillante (BVB).
- Se incubaron los tubos de caldo BVB por 48 horas a 35 ± 2 °C. Observar la presencia de gas y crecimiento lo que confirma la presencia de Coliformes Totales (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.2.4 CONFIRMACION DE COLIFORMES FECALES₍₂₎.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.2.2) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo ***Escherichia coli*** (EC).
- Se incubaron los tubos de caldo EC en baño de agua a 44.5 ± 0.2 °C durante 24 horas. La formación de gas confirmó la presencia de Coliformes Fecales (Ver Ver Anexo N° 9).

4.5.2.5 DETERMINACION Y RECuento DE *E. coli* (2).

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar eosina Azul de metileno (EMB).
- Se incubó por 22-48 horas a 35 ± 2 °C.
- Se determinó el número de colonias con brillo metálico con ayuda de un cuenta colonias (Ver Anexo N° 9).

4.5.2.6 Determinación de *Pseudomona aureginosa* (2).

- Se tomó 1 mL de la muestra de hielo descongelada con una pipeta Mohr estéril y se inoculó en un tubo que contenía 10 mL de Caldo Casoy.
- Se incubó por 22-24 horas a 35 ± 2 °C. Se observó si existía crecimiento en los tubos.
- De los tubos positivos en caldo casoy se toma una asada con asa estéril y se estria en agar Cetrimide.
- Se incuba por 22-24 horas a 35 ± 2 °C.
- La presencia de colonias verdosas con fluorescencia, confirman la presencia de *Pseudomona aureginosa* (Ver Anexo N° 9).

4.5.3 DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA MUESTRAS DE VASOS VACIOS

4.5.3.1 DETERMINACION Y RECuento DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS (2).

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Plate Count.
- Se incubó por 24-48 horas a 35 ± 2 °C.
- Se determinó el número de colonias con ayuda de un cuenta colonias (Ver Anexo N° 9).

4.5.3.2 DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES ⁽²⁾.

- Después de realizar el procedimiento descrito para la preparación del quipo de filtración por membrana (a), se tomó 1 mL de la muestra con una pipeta Mohr estéril y proceder a filtrar.
- Una vez filtrada toda la muestra, se separó el embudo de la base del filtro.
- Se retiró con pinza estéril la membrana filtrante.
- Se colocó la membrana con pinza estéril en una placa de petri de vidrio preparada previamente con aproximadamente 10 mL de agar Endo.
- Se incubó por 22-24 horas a 35 ± 0.5 °C.
- Se determinó el número de colonias de color rojo con brillo metálico con ayuda de un cuenta colonias (Ver Anexo N° 9).

4.5.3.3 CONFIRMACION DE COLIFORMES TOTALES ⁽²⁾.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.3.2) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo Verde Bilis Brillante (BVB).
- Se incubaron los tubos de caldo BVB por 48 horas a 35 ± 2 °C. Observar la presencia de gas y crecimiento lo que confirma la presencia de Coliformes Totales (Ver Anexo N° 9).

4.5.3.4 CONFIRMACION DE COLIFORMES FECALES ⁽²⁾.

- De las colonias con color rojo con brillo metálico de la prueba de Coliformes Totales (4.5.3.2) se inocularon al menos 5 colonias con asa estéril en caldo *Escherichia coli* (EC).
- Se incubaron los tubos de caldo EC en baño de agua a 44.5±0.2 °C durante 24 horas. La formación de gas confirmó la presencia de Coliformes Fecales (Ver Anexo N° 9).

4.5.4 DETERMINACIONES FISICOQUIMICAS PARA MUESTRAS DE BEBIDAS CARBONATADAS

4.5.4.1 DETERMINACION DE ACIDEZ POR EL METODO DE VALORACION ACIDO – BASE ^(1, 7).

- 1) Se tomaron 50 mL de la muestra (bebida carbonatada) y se calentó hasta ebullición y se mantuvo así durante 30 segundos.
- 2) Se llenó una bureta de 25.0 mL con solución valorante de hidróxido de sodio 0.1 N al aforo.
- 3) Se colocaron 10.0 mL de la muestra previamente hervida en un matraz Erlenmeyer.
- 4) Se adicionaron 5 gotas de indicador de fenofaleína al 1%.
- 5) Valoración: Desde la bureta se añade lentamente, el reactivo valorante en el erlenmeyer con la muestra manteniendo agitación continua hasta que se detecta el punto final de la valoración a través del viraje del indicador de incoloro a rosa (Ver Anexo N° 9).
- 6) A partir del volumen consumido de solución valorante se calcula la concentración de acidez de la muestra.
- 7) Se calculó la acidez presente en cada muestra utilizando la siguiente fórmula: (Ver Anexo N° 10)

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{N \times V_1 \times \text{Peg} \times 100}{V_2 (1000)}$$

Dónde:

V_1 = Volumen de NaOH 0.1 N consumidos (mL).

N = Normalidad del NaOH 0.1 N (mEq/ mL).

Peq = Peso equivalente de ácido cítrico (mg/ mEq).

V_2 = Volumen de la muestra (mL)

1000= Factor para convertir mg a gramos (mg/ g).

4.5.4.2 DETERMINACION DE pH ⁽⁸⁾.

- 1) Se calibró el potenciómetro con las soluciones buffer de pH 4.0 y 7.0.
- 2) Se enjuagó el electrodo con agua destilada.
- 3) Se secó el electrodo con un papel absorbente.
- 4) Se introdujo el electrodo en la muestra de bebida carbonatada sin tocar las paredes del beaker.
- 5) Se tomó la lectura de pH.
- 6) Después de cada medición del pH es necesario enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo con un papel absorbente (Ver Anexo N° 9).

4.5.4.3 DETERMINACION DE GRADOS BRIX ⁽¹⁾.

- 1) Se limpió el porta muestra del brixómetro usando algodón impregnado con alcohol.
- 2) Se verificó si el brixómetro estaba calibrado usando una gota de agua destilada.
- 3) Se colocó una gota del filtrado obtenido de la bebida carbonatada sin hielo en el porta muestra.
- 4) Se procedió a realizar la lectura de grados Brix orientando el brixómetro hacia la luz para observar mejor la escala (Ver Anexo N° 9).

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En la visita de campo que se realizó a los restaurantes de comida rápida, se observó que existían restaurantes que se encontraban en la Octava y Décima etapa de los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador (Ver Tabla N° 1), por lo que se definieron que estos serían los restaurantes a muestrear. Por medio de los resultados de 30 encuestas (Ver Anexo N° 4) se lograron definir que las marcas de bebidas carbonatadas sin hielo que se muestrearían serían de Coca Cola y Pepsi Cola por lo que, según el Reglamento Técnico Centroamericano se tomaron 20 muestras de bebidas carbonatadas sin hielo, y además se tomaron 4 muestras de hielo de máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas y 4 muestras de vasos vacíos para los análisis microbiológicos. Conformando un total de 28 muestras entre bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos.

Con una lista de chequeo (Ver Anexo N° 5) se verificaron visualmente las condiciones sanitarias y ambientales en que se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas en los restaurantes seleccionados ubicados en los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador (Octava y Décima Etapa de Metrocentro), y se verificaron las condiciones higiénicas e indumentaria del personal que manipula este tipo de bebidas.

Tabla N° 1 Resumen de los resultados obtenidos de las listas de chequeo visuales.

| Nº | Preguntas | SI (%) | NO (%) | Observación |
|----|--|--------|--------|---|
| 1 | ¿La máquina se encuentra en un área despejada? | 100 | 0 | Las máquinas se encontraban en un área despejada. |
| 2 | ¿Se encuentra limpia la maquina dispensadora? | 100 | 0 | Las máquinas se encontraban limpias. |

| Tabla N° 2 Continuación | | | | |
|-------------------------|---|------------|------------|---|
| 3 | ¿Está limpia el área donde se encuentra la maquina dispensadora? | 100 | 0 | El área se encontraba limpia. |
| 4 | ¿Las Maquinas que contienen las bebidas se encuentran en funcionamiento? | 100 | 0 | Las máquinas se encontraban en funcionamiento. |
| 5 | ¿La persona hace uso de alcohol gel antes de manipular la maquina dispensadora? | 0 | 100 | Ninguna de las personas hacía uso de alcohol gel. |
| 6 | ¿Se utiliza gorro para cubrir el cabello? | 60 | 40 | Algunas de las personas utilizaban gorro o redecilla para el cabello. |
| 7 | ¿Los utensilios (vasos, tapaderas) para servir la bebida están expuestos al ambiente? | 80 | 20 | Solo dos restaurantes mantienen los utensilios en un compartimiento |
| 8 | ¿Se utilizan guantes para servir la bebida? | 0 | 100 | Ninguna de las personas utilizaba guantes. |
| 9 | ¿La indumentaria del manipulador se encuentra limpia? | 100 | 0 | Todos los manipuladores tenían indumentaria limpia. |

En la tabla N° 1 se puede observar que el 100% de las máquinas se encontraban en un área totalmente despejada ya que no se encontraban otro tipo de utensilios o máquinas en esta área. El 100% de las máquinas se encontraban visiblemente limpias al igual que el área donde ésta se encontraba por lo que cumplen con una buena limpieza. El 100% de las las máquinas se encontraban en funcionamiento al momento de la toma de muestra. Ninguna de las personas hacía uso de alcohol gel al momento de servir la bebida, en donde cabe recalcar que la misma persona que cobra es la que despacha, pudiendo generar una contaminación a las bebidas. También el 60% de las personas utilizaba gorro o redecilla para el cabello, el 40% restante no lo

utilizaba, pudiendo generar algún tipo de contaminación al momento de despachar la bebida. El 80% de los restaurantes mantienen los utensilios como vasos y tapaderas expuestos al ambiente a excepción de dos restaurantes que cumplen ya que los mantienen dentro de un compartimiento. El 100% de los manipuladores de las bebidas carbonatadas no hacían uso de guantes pudiendo generar contaminación al momento de su despacho. El 100% de los manipuladores presentaban una indumentaria limpia pero no completa según las buenas prácticas de higiene.

5.1 DETERMINACIONES PARA BEBIDAS CARBONATADAS

- DETERMINACION DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS EN BEBIDAS CARBONATADAS

Esta determinación se realizó por medio del método de Filtración por membrana, en donde del total de las 20 muestras (10 por cada muestreo) resultaron negativas para esta prueba, dando únicamente crecimiento de levaduras.

Tabla N° 2 Promedio de resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Recuento de Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Recuento de Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/mL) |
|--|---|--|---|
| TA-10 | 0 | PO-8 | 0 |
| PO-10 | 0 | CHI-8 | 0 |
| SUB-10 | 0 | PI-8 | 0 |
| CHI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |
| PO-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| SUB-8 | 0 | PO-10 | 0 |
| PI-10 | 0 | PI-10 | 0 |
| PI-8 | 0 | TA-8 | 0 |
| SUB-8 | 0 | TA-10 | 0 |
| TA-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| Recuento Máximo Permitido según NTON 03 030-00: 50 UFC/mL | | | |

Los resultados que se observan en la Tabla N° 2 indican que hay ausencia de Microorganismo Mesófilos Aerobios en todas las muestras de bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos por lo que cumplen con la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas (Anexo N° 1).

- DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES EN BEBIDAS CARBONATADAS

Esta determinación también se realizó por medio del método de Filtración por membrana, en donde del total de las 20 muestras (10 por cada muestreo) 16 resultaron negativas para esta prueba, dando únicamente positivas 4 del total de los restaurantes muestreados.

Tabla N° 3 Promedio de resultados de Microorganismos Coliformes Totales en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Determinación de Coliformes Totales (UFC/100mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Determinación de Coliformes Totales (UFC/100mL) |
|---|---|--|---|
| TA-10 | 0 | PO-8 | 0 |
| SUB-8 | 0 | CHI-8 | 0 |
| SUB-10 | 0 | PI-8 | 0 |
| SUB-8 | 12 | SUB-8 | 24 |
| PO-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| PO-10 | 6 | PO-10 | 74 |
| PI-10 | 0 | PI-10 | 0 |
| PI-8 | 0 | TA-8 | 0 |
| CHI-10 | 0 | TA-10 | 0 |
| TA-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| Recuento Máximo Permitido según NTON 03 030-00: 2 UFC/ 100mL | | | |

En la Tabla N° 3 se observan los resultados obtenidos para la prueba de Coliformes Totales, el resultado de las muestras de los Restaurantes PO-10, SUB-8 del primer muestreo y segundo muestreo sobrepasa lo declarado en la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas (Anexo N°1) ya que el Recuento máximo permitido es de 2 UFC/100 mL, esto indica que a las

máquinas dispensadoras no se les da un mantenimiento adecuado de lavado interno como lo indica el manual de limpieza de dichas máquinas, o que el personal no tiene buenas prácticas de higiene al momento de la manipulación de éstas como el uso de guantes o alcohol gel al momento de despachar las bebidas carbonatadas. Por lo que las bebidas carbonatadas no presentan la inocuidad adecuada para su consumo.

- DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES EN BEBIDAS CARBONATADAS

Esta determinación se realizó a partir del método de Filtración por membrana, en donde de cada una de las muestras de bebidas carbonatadas que salieron positivas en la prueba de Coliformes Totales tomadas en ambos muestreos, se tomó una asada de las colonias y se inocularon en tubos conteniendo Caldo EC, la presencia de turbidez y de gas en las campanas de Durham nos confirmaría la presencia de Coliformes Fecales.

Tabla N° 4 Promedio de resultados de Microorganismos Coliformes Fecales en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Determinación de coliformes fecales | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Determinación de coliformes fecales |
|--|--|---|--|
| PO-10 | -- | SUB-8 | -- |
| SUB-8 | -- | PO-10 | -- |

En la Tabla N° 4, podemos observar que los resultados fueron negativos para estas muestras lo que nos indica que no hay contaminación fecal presente en las bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos.

- DETERMINACION DE MOHOS EN BEBIDAS CARBONATADAS

Esta determinación se realizó a partir de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} realizadas a las muestras de bebidas carbonatadas.

Tabla N° 5 Promedio de resultados de Mohos en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Recuento de Mohos (UFC/mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Recuento de Mohos (UFC/mL) |
|--|----------------------------|--|----------------------------|
| TA-10 | 0 | PO-8 | 0 |
| PO-10 | 0 | CHI-8 | 0 |
| SUB-10 | 0 | PI-8 | 0 |
| PI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |
| PO-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| SUB-8 | 0 | PO-10 | 0 |
| PI-10 | 0 | PI-10 | 0 |
| PI-8 | 0 | TA-8 | 0 |
| SUB-8 | 0 | TA-10 | 0 |
| TA-8 | 0 | SUB-10 | 0 |
| Recuento Máximo Permitido según NTON 03 030-00: 5 UFC/100mL | | | |

Los resultados que se observan en la Tabla N° 5 nos indican que hay ausencia de Mohos en todas las bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos por lo que el resultado se encuentran dentro del recuento máximo permitido por la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria de Bebidas Carbonatadas (Anexo N° 1).

- DETERMINACION DE ACIDEZ EN BEBIDAS CARBONATADAS

Esta determinación se realizó por medio del método de Valoración Ácido- Base y, la acidez expresada como ácido cítrico se determinó utilizando una ecuación matemática (Anexo N° 10).

Tabla N° 6 Promedio de resultados de Acidez en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Acidez (g Ácido Cítrico/100 mL de muestra) | Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Acidez (g Ácido Cítrico/100 mL de muestra) |
|---|--|---|--|
| TA- 10 | 0.115 | PO- 8 | 0.07 |
| PO- 10 | 0.05 | CHI- 8 | 0.09 |

| Tabla N° 7 Continuación | | | |
|---|-------|----------------|-------|
| SUB- 10 | 0.12 | PI- 8 | 0.08 |
| CHI-10 | 0.075 | SUB- 8 | 0.09 |
| PO- 8 | 0.08 | SUB- 10 | 0.11 |
| SUB- 8 | 0.07 | PO- 10 | 0.075 |
| PI- 10 | 0.065 | PI- 10 | 0.08 |
| PI- 8 | 0.08 | TA- 8 | 0.08 |
| SUB- 8 | 0.075 | TA- 10 | 0.075 |
| TA- 10 | 0.07 | SUB- 10 | 0.09 |
| Valor Mínimo y Valor Máximo según NTON 03 030-00: 0.003- 0.5 g Ácido Cítrico/ 100 mL | | | |

Los resultados que se observan en la Tabla N° 6 nos indican que todas las bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos se encuentran dentro del rango establecido de Acidez permitido por la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas (Anexo N° 1), el cual es de 0.003- 0.5 g de ácido cítrico/ 100 mL de muestra.

- DETERMINACION DE pH EN BEBIDAS CARBONATADAS

Tabla N° 7 Promedio de resultados de pH en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | pH | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | pH |
|---|-----------|---|-----------|
| TA- 10 | 2.955 | PO- 8 | 3.105 |
| PO- 10 | 3.12 | CHI- 8 | 3.055 |
| SUB- 10 | 3.1 | PI- 8 | 3.12 |
| CHI-10 | 3.225 | SUB- 8 | 3.025 |
| PO- 8 | 3.06 | SUB- 10 | 3.08 |
| SUB- 8 | 3.08 | PO- 10 | 3.22 |
| PI- 10 | 2.96 | PI- 10 | 2.905 |
| PI- 8 | 3.05 | TA- 8 | 2.98 |
| SUB- 8 | 3.155 | TA- 10 | 2.96 |
| TA- 10 | 3.04 | SUB- 10 | 2.96 |
| Valor Mínimo y Valor Máximo según NTON 03 030-00: 2.4- 4.5 | | | |

Los resultados que se observan en la Tabla N° 7 nos indican que todas las bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos se encuentran dentro del rango permitido por la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03

030-00 Norma Técnica Obligatoria de Bebidas Carbonatadas (Anexo N° 1), el cual es de 2.4- 4.5.

- DETERMINACION DE GRADOS BRUX EN BEBIDAS CARBONATADAS

Tabla N° 8 Promedio de resultados de Grados Brix en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Código de Restaurante | Grados Brix | Código de Restaurante | Grados Brix |
|--|-------------|-----------------------|-------------|
| TA- 10 | 10 | PO- 8 | 10 |
| PO- 10 | 10 | CHI- 8 | 11 |
| SUB- 10 | 11 | PI- 8 | 11 |
| CHI-10 | 11 | SUB- 8 | 11 |
| PO- 8 | 10 | SUB- 10 | 11 |
| SUB- 8 | 10 | PO- 10 | 11 |
| PI- 10 | 11 | PI- 10 | 11 |
| PI- 8 | 10 | TA- 8 | 10 |
| SUB- 8 | 10 | TA- 10 | 10 |
| TA- 10 | 10 | SUB- 10 | 10 |
| Valor Mínimo y Valor Máximo según NTON 03 030-00: 8.0- 15.0 | | | |

Los resultados que se pueden observar en la Tabla N° 9 nos indican que los valores de Grados Brix se encuentran dentro del rango permitido por la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas (Anexo N° 1), el cual es de 8.0- 15.0 por lo que los resultados de todas las bebidas carbonatadas recolectadas en ambos muestreos se encuentran dentro del rango establecido de Grados Brix.

5.2 DETERMINACIONES PARA HIELO

Para que el hielo sea conforme debe cumplir con todas las determinaciones que especifica la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 "Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación" (Anexo N° 3). Así se asegura la inocuidad para su consumo.

- DETERMINACION DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS EN MUESTRAS DE HIELO

Se realizó la determinación por medio del método de Filtración por membrana, en donde del total de las 4 muestras que se tomaron (2 por cada muestreo) resultaron negativas para esta prueba, solo presentó crecimiento de levaduras.

Tabla N° 9 Promedio de resultados de microorganismos mesófilos aerobios en muestras de hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Recuento Bacterias Mesofilas (UFC/mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Recuento Bacterias Mesofilas (UFC/mL) |
|---|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| PO-10 | 0 | PI-8 | 0 |
| CHI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |
| Límite Máximo Permitido según NSO 13.07.04.00: 100 UFC/ mL | | | |

En la Tabla N° 9 se pueden observar los resultados obtenidos para la prueba de Microorganismo mesófilos aerobios en las muestras de hielo, en donde el resultado de las cuatro muestras en ambos muestreos, se encuentran dentro de lo declarado en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación” (Anexo N° 3) debido a que el límite establecido de Recuento máximo permitido es de 100 UFC/ mL, por lo que las muestras cumplen con lo que especifica la norma.

- DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES EN MUESTRAS DE HIELO

Se realizó esta determinación por medio del método de Filtración por membrana, en donde las dos muestras recolectadas en los restaurantes PO-10 y CHI-10 del primer muestreo dieron prueba positiva, para el segundo muestreo presentó prueba positiva para una muestra, que corresponde al restaurante PI-8.

Tabla N° 10 Promedio de resultados de microorganismos coliformes totales en muestras de hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Coliformes Totales UFC/100mL | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Coliformes Totales UFC/100mL |
|---|------------------------------|--|------------------------------|
|---|------------------------------|--|------------------------------|

| Tabla N° 11 Continuación | | | |
|---|---|--------------|----|
| PO-10 | 4 | PI-8 | 11 |
| CHI-10 | 2 | SUB-8 | 0 |
| Límite Máximo Permitido según NSO 13.07.04.00: 0 UFC/ 100 mL | | | |

En la Tabla N° 10 se pueden observar los resultados obtenidos para la prueba de Coliformes Totales en las muestras de hielo, en donde el resultado de tres de cuatro muestras en ambos muestreos, sobrepasa lo declarado en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación” (Anexo N° 3) debido a que el límite establecido de Recuento máximo permitido es de 0 UFC/100 mL.

- DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES EN MUESTRAS DE HIELO

Esta determinación se realizó a partir del método de Filtración por membrana en donde se tomó una asada de las colonias positivas y se inocularon en tubos conteniendo Caldo EC, la presencia de turbidez y de gas en las campanas de Durham nos confirmaría la presencia de Coliformes Fecales en la muestras de hielo.

Tabla N° 11 Promedio de resultados de microorganismos coliformes fecales en muestras de hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Coliformes Fecales UFC/100 mL | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Coliformes Fecales UFC/ 100 mL |
|---|--------------------------------------|---|---------------------------------------|
| PO-10 | 0 | PI-8 | 11 |
| CHI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |
| Límite Máximo Permitido según NSO 13.07.04.00: 0 UFC/ 100 mL | | | |

En la Tabla N° 11 podemos observar que los resultados fueron positivos para las muestra del restaurante PI-8 del segundo muestreo, lo que nos indica que hay contaminación fecal presente en las muestras recolectadas en el segundo muestreo, esto puede deberse que el agua con que se elabora el hielo se encuentra contaminada o los manipuladores no hacen uso de las medidas higiénicas al momento de su manipulación.

- DETERMINACION DE *Escherichia coli* EN MUESTRAS DE HIELO

Esta determinación se realizó a partir del método de Filtración por membrana en donde se confirmó la presencia de este microorganismo por la evidencia de las colonias con brillo metálico.

Tabla N° 12 Promedio de resultados de *Escherichia coli* en muestras de hielo.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | <i>Escherichia coli</i> (UFC/100 mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | <i>Escherichia coli</i> (UFC/ 100 mL) |
|---|--------------------------------------|--|---------------------------------------|
| PO-10 | 0 | PI-8 | 24 |
| CHI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |
| Límite Máximo Permitido según NSO 13.07.04.00: 0 UFC/ 100 mL | | | |

Según los resultados que se presentan en la Tabla N° 12 hay contaminación de origen fecal presente en la muestra del restaurante PI-8 recolectada en el segundo muestreo, en donde se puede deducir que el agua que utilizan para la elaboración del hielo está contaminada con heces fecales o el personal no toma las medidas higiénicas necesarias para la correcta manipulación de estas bebidas.

- DETERMINACION DE *Pseudomona aureginosa* EN MUESTRAS DE HIELO

Esta determinación se realizó colocando 1 mL de la muestra en caldo casoy, no hubo presencia de turbidez por lo que hay ausencia de este microorganismo en las muestras de hielo analizadas.

Tabla N° 13 Promedio de resultados de *Pseudomona aureginosa* en muestras de hielo.

| Código de Restaurante | <i>Pseudomona aureginosa</i> | Código de Restaurante | <i>Pseudomona aureginosa</i> |
|--|------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| PO-10 | Ausencia | PI-8 | Ausencia |
| CHI-10 | Ausencia | SUB-8 | Ausencia |
| Límite Máximo Permitido según NSO 13.07.04.00: Ausencia | | | |

En la Tabla N° 13 se pueden observar los resultados obtenidos para la prueba de *Pseudomona aureginosa* en las muestras de hielo, en donde el resultado de las cuatro muestras en ambos muestreos, se encuentran dentro de lo declarado en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación” (Anexo N° 3) debido a que debe de haber ausencia de este microorganismo, por lo que las muestras cumplen la normativa.

5.3 DETERMINACIONES PARA VASOS VACIOS

- DETERMINACION DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS Y COLIFORMES TOTALES EN VASOS VACIOS

Se realizó la determinación por medio del método de Filtración por membrana, en donde del total de las 4 muestras que se tomaron (2 por cada muestreo) no se presentaron crecimiento por lo tanto resultaron negativas para estas pruebas. Lo que indica que los vasos no son la fuente de contaminación de las bebidas.

Tabla N° 14 Promedio de resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de vasos vacíos.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Recuento Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/100mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Recuento Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/100mL) |
|---|---|--|---|
| PO-10 | 0 | CHI-8 | 0 |
| PI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |

Tabla N° 15 Promedio de resultados de Microorganismos Coliformes Totales en muestras de vasos vacíos.

| Código de Restaurante (Primer Muestreo) | Coliformes Totales (UFC/100mL) | Código de Restaurante (Segundo Muestreo) | Coliformes Totales (UFC/100mL) |
|---|--------------------------------|--|--------------------------------|
| PO-10 | 0 | CHI-8 | 0 |
| PI-10 | 0 | SUB-8 | 0 |

Los resultados de las muestras de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos, se presentan en los siguientes cuadros resumen:

PRIMER MUESTREO (Inicio: Viernes, 24/05/13; Final: Viernes 31/05/13, HORA: 9:30—10:00 a.m.)

Cuadro N° 4 RESUMEN DE RESULTADOS DE BEBIDAS CARBONATADAS

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Mohos | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | Acidez (g Ácido Cítrico/ 100 mL) | pH | Grados Brix |
|---------------------------|-------------------|--|----------|--------------------|--------------------|----------------------------------|----------|-------------|
| Recuento Máximo Permitido | --- | 50 UFC/ mL | 5 UFC/mL | 2 UFC/100 mL | 2 UFC/100 mL | --- | --- | --- |
| Rango Físicoquímico | --- | --- | --- | --- | --- | 0.003- 0.5 | 2.4- 4.5 | 8.0- 15.0 |
| TA- 10 | 1 | --- | --- | --- | --- | 0.11 | 2.95 | 10 |
| PO-10 | 2 | --- | --- | 6 | --- | 0.05 | 3.12 | 10 |
| SUB- 10 | 3 | --- | --- | --- | --- | 0.12 | 3.10 | 11 |
| CHI-10 | 4 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.22 | 11 |
| PO-8 | 5 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.06 | 10 |
| SUB- 8 | 6 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.08 | 10 |
| PI-10 | 7 | --- | --- | --- | --- | 0.06 | 2.96 | 11 |
| PI-8 | 8 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.05 | 10 |
| SUB- 8 | 9 | --- | --- | 12 | --- | 0.07 | 3.16 | 10 |
| TA- 10 | 10 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.04 | 10 |

SEGUNDO MUESTREO (Inicio: Lunes, 03/06/13; Final: Miércoles, 05/06/13, HORA: 12:00—12:30 p.m.)

Cuadro N° 5 RESUMEN DE RESULTADOS DE BEBIDAS CARBONATADAS

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Mohos | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | Acidez (g Ácido Cítrico/ 100 mL) | pH | Grados Brix |
|---------------------------|-------------------|--|----------|--------------------|--------------------|----------------------------------|----------|-------------|
| Recuento Máximo Permitido | --- | 50 UFC/ mL | 5 UFC/mL | 2 UFC/100 mL | 2 UFC/100 mL | --- | --- | --- |
| Rango Físicoquímico | --- | --- | --- | --- | --- | 0.003- 0.5 | 2.4- 4.5 | 8.0- 15.0 |
| PO-8 | 1 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.11 | 10 |
| CHI-8 | 2 | --- | --- | --- | --- | 0.09 | 3.06 | 11 |
| PI-8 | 3 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.12 | 11 |
| SUB- 8 | 4 | --- | --- | 24 | --- | 0.09 | 3.03 | 11 |
| SUB- 10 | 5 | --- | --- | --- | --- | 0.11 | 3.08 | 11 |
| PO-10 | 6 | --- | --- | 74 | --- | 0.07 | 3.22 | 11 |
| PI-10 | 7 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 2.91 | 11 |
| TA- 8 | 8 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 2.98 | 10 |
| TA- 10 | 9 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 2.96 | 10 |
| SUB- 10 | 10 | --- | --- | --- | --- | 0.09 | 2.96 | 10 |

**PRIMER MUESTREO (Inicio: Viernes, 24/05/13; Final: Viernes 31/05/13,
HORA: 9:30—10:00 a.m.)**

Cuadro N° 6 RESUMEN DE RESULTADOS DE HIELO

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomona aureginosa</i> |
|---|-------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------|
| Límite Microbiológico NSO 13.07.04.00 (Hielo) | | 100 UFC/mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | Ausencia |
| PO-10 | 1 | --- | 4 | --- | --- | Ausencia |
| CHI-10 | 2 | --- | 2 | --- | --- | Ausencia |

**SEGUNDO MUESTREO (Inicio: Lunes, 03/06/13; Final: Miércoles, 05/06/13,
HORA: 12:00—12:30 p.m.)**

Cuadro N° 7 RESUMEN DE RESULTADOS DE HIELO

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomon a aureginosa</i> |
|---|-------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Límite Microbiológico NSO 13.07.04.00 (Hielo) | | 100 UFC/mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | Ausencia |
| PI-8 | 1 | --- | 11 | 11 | 24 | Ausencia |
| SUB- 8 | 2 | --- | --- | --- | --- | Ausencia |

**PRIMER MUESTREO (Inicio: Viernes, 24/05/13; Final: Viernes 31/05/13,
HORA: 9:30—10:00 a.m.)**

Cuadro N° 8 RESUMEN DE RESULTADOS DE VASOS VACIOS.

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales |
|--------------|-------------------|--|--------------------|--------------------|
| PO-10 | 1 | --- | --- | --- |
| PI-10 | 2 | --- | --- | --- |

**SEGUNDO MUESTREO (Inicio: Lunes, 03/06/13; Final: Miércoles, 05/06/13,
HORA: 12:00—12:30 p.m.)**

Cuadro N° 9 RESUMEN DE RESULTADOS DE VASOS VACIOS

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales |
|---------------|-------------------|--|--------------------|--------------------|
| CHI-8 | 1 | --- | --- | --- |
| SUB- 8 | 2 | --- | --- | --- |

Analizando los cuadros N° 4 y 5 podemos notar que del total de las 20 muestras de bebidas carbonatadas, 4 muestras (20%) resultaron NO CONFORMES debido a la presencia de microorganismos coliformes y el 80% resultaron CONFORMES. Del total de las 4 muestras de hielo , tres muestras (75%) resultaron NO CONFORMES por la presencia de microorganismos coliformes, y el 25% restante resultó CONFORME. De las 4 muestras tomadas de los vasos vacíos el 100% de ellas resultaron CONFORMES, descartando que estos podrían ser la fuente de contaminación.

En resumen del total de 28 muestras entre bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos, el 25% de las muestras resultaron NO CONFORMES y el 75% restante resultaron CONFORMES. (Ver Figura N° 2)

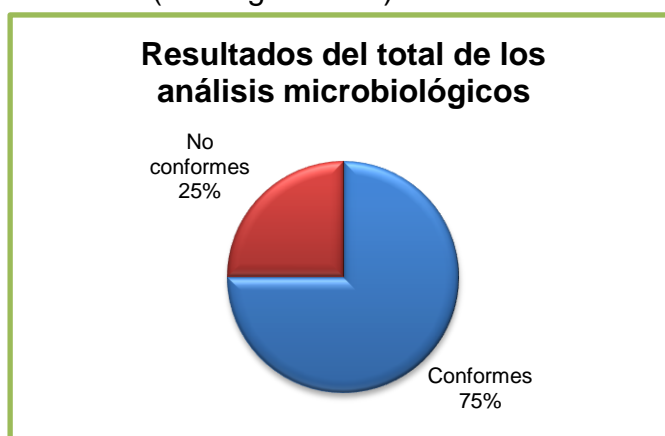


Figura N° 2. Porcentaje total de muestras conformes y no conformes en los análisis microbiológicos.

Con los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a las 20 muestras de bebidas carbonatadas, el 100% resultaron CONFORMES ya que se encuentran dentro de los rangos establecidos en la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas.

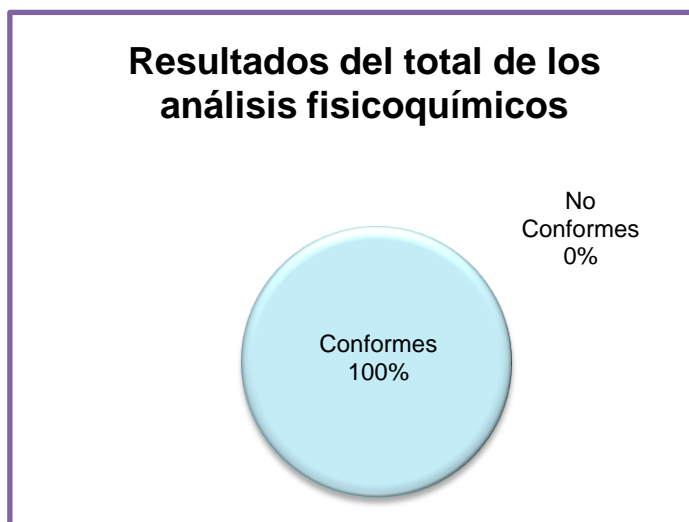


Figura N° 4. Porcentaje total de muestras conformes de bebidas carbonatadas en los análisis fisicoquímicos.

**CAPITULO VI
CONCLUSIONES**

6.0 CONCLUSIONES

1. A través de la lista de chequeo, se observó las condiciones ambientales y sanitarias, en las cuales se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas y se observó que el personal que manipula las bebidas no cumple, con el uso correcto de medidas higiénicas, por lo que al consumir estas bebidas, pueden generar enfermedades gastrointestinales y afectar la salud de la población.
2. Los resultados de los análisis fisicoquímicos de acidez expresada como Ácido cítrico, pH y grados Brix, de cada una de las muestras de bebida carbonatada sin hielo, cumplen con los límites especificados en la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas.
3. Al comparar los resultados de las muestras de bebidas carbonatadas sin hielo del restaurante PO-10 y SUB-8 en el Primer y Segundo muestreo de bebidas carbonatadas con la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, estas sobrepasan el recuento de coliformes totales. Y aunque no hay hongos, ni bacterias mesofilas aerobias, estas bebidas no son aptas para el consumo humano, debido a la contaminación de coliformes totales.
4. En las muestras de bebidas carbonatadas sin hielo, se presentó crecimiento de levaduras, esto puede dar un indicio de que a las máquinas dispensadoras, no se les da un mantenimiento adecuado de limpieza y desinfección, debido al crecimiento de este tipo de microorganismo.

5. En las muestras de bebidas carbonatas sin hielo, 16 muestras cumplen con los valores permitidos en la normativa, lo que puede indicar que el 80% de los restaurantes, el personal lleva a cabo una correcta limpieza de las máquinas dispensadoras
6. Se presentó prueba positiva para coliformes totales en muestra de hielo del restaurante PO-10, la muestra del restaurante CHI-10 (ambas del primer muestreo) y la muestra del restaurante PI-8 (segundo muestreo), esto puede deberse a la contaminación del agua o a los manipuladores, que no hacen uso de las medidas higiénicas.
7. La muestra de hielo del segundo análisis del restaurante PI-8 (segundo muestreo), presentó prueba positiva para coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, por lo que no es apta para el consumo humano, debido a que indican que hay contaminación fecal, ya sea por contaminación del agua con que se elabora el hielo o las practicas inadecuadas de higiene que realiza el manipulador.
8. En las muestras de hielo de todas las máquinas dispensadoras, no se observó la presencia de ***Pseudomona aureginosa*** por lo que las muestras se encuentran ausentes de este microorganismo.
9. Al comparar los resultados obtenidos en las muestras de hielo, con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo. Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”, solo una de las cuatro muestras cumple con lo que especifica dicha norma.

10. Con respecto a las muestras de vasos vacíos, no se determinó la presencia de microorganismos, por lo que se descarta que sean la fuente de contaminación de las bebidas carbonatadas.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que la dirección general de los restaurantes establezcan un programa de buenas prácticas de manufactura que incluya manuales, procedimientos, así como capacitaciones para garantizar la inocuidad de las bebidas carbonatadas y otros alimentos.
2. Que la empresa establezca normas de higiene, que debe cumplir el personal y que verifique el cumplimiento de las prácticas adecuadas de limpieza durante el desarrollo de las actividades realizadas por los manipuladores.
3. Que el Ministerio de Salud realice un monitoreo para supervisar la higiene y limpieza así como capacitaciones en cada uno de los restaurantes que venden este tipo de producto, para verificar el cumplimiento de las buenas prácticas de manipulación y garantizar la salud en los consumidores.
4. Que el ente competente (OSR) gestione la creación de una Normativa Salvadoreña de bebidas carbonatadas, para promover la vigilancia de las bebidas que consume la población.
5. Que en futuros trabajos de investigación se realicen análisis microbiológicos y fisicoquímicos a otros sabores de bebidas carbonatadas que se comercializan.
6. Realizar muestreos de las bebidas carbonatas en los demás restaurantes que se encuentran en los Food Court de Metrocentro de San Salvador.

BIBLIOGRAFIA

1. Alonso I, Quintanilla D. Experimentación en Química Analítica. Editorial DYKINSON, Año 2007.
2. AOAC. (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist). Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (BAM). 7ed. Estados Unidos de America. 1992.
3. Camacho A, M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano, O. Velázquez. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos, Procedimientos para la toma, transporte y manejo de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 2009. Disponible en: http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/TeCnicBasicas-Toma-de-uestras_6524.pdf.
4. García V., Introduccion a La Microbiologia Euned Editorial Universidad Estatal A Distancia, Euned, Casa del Libro, Año 2003.
5. Iris Ibeth Rodríguez Rico, Mabel Guadalupe Urbano Rivas, trabajo de graduación realizado en La Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, año 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" [Consultado 09 de mayo 2013]
6. Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 Hielo. Especificaciones y buenas prácticas de fabricación. Disponible en : http://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/HIELO/nso_13.07.04.00%20HIELO.pdf[Consultado 17 de mayo 2013]
7. Tablas del ICAITI: Bebidas fermentadas- Bebidas destiladas. Volumen 2. Año 1986 [Consultado 17 de mayo 2013]
8. http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16739/1/acidez_ph.pdf. Acidez y pH. Disponible en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16739/1/acidez_ph.pdf. [Consultado 16 de mayo 2013].

9. http://atenea.udistrital.edu.co/grupos/fluoreciencia/capitulos_fluoreciencia/calaguas_cap9.pdf. Acidez. Disponible en:
http://atenea.udistrital.edu.co/grupos/fluoreciencia/capitulos_fluoreciencia/calaguas_cap9.pdf. [Consultado 27 de enero 2013]
10. <http://www.itp.gob.pe/normatividad/demos/doc/Normas%20Internacionales/Argentina/BPM.PDF>. Buenas prácticas de manufactura (BPM) boletín de difusión. Disponible en:
<http://www.itp.gob.pe/normatividad/demos/doc/Normas%20Internacionales/Argentina/BPM.PDF> [Consultado 21 de febrero 2013]
11. <http://www.apa.cl/archivos/CONTAMINACIONCRUZADA.pdf>. Contaminación cruzada. Disponible en:
<http://www.apa.cl/archivos/CONTAMINACIONCRUZADA.pdf> [Consultado 10 de marzo 2013]
12. <http://es.scribd.com/doc/108993112/DETERMINACION-DE-BACTERIAS-AEROBIOS-MESOFILOS-VIABLES>. Determinación de bacterias aerobios mesófilos viables. Disponible en:
<http://es.scribd.com/doc/108993112/DETERMINACION-DE-BACTERIAS-AEROBIOS-MESOFILOS-VIABLES> [Consultado 7 de marzo 2013]
13. http://ufro.cl/~explora/index_archivos/refractometro.pdf. El refractómetro. Disponible en: http://ufro.cl/~explora/index_archivos/refractometro.pdf [Consultado 15 de mayo 2013]
14. <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm>. Agar E.M.B.. Disponible en:
<http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm> [Consultado 10 de marzo 2013]
15. <http://www.monografias.com/trabajos41/inocuidad-alimentos/inocuidad-alimentos.shtml>. Inocuidad de alimentos. Disponible en:
<http://www.monografias.com/trabajos41/inocuidad-alimentos/inocuidad-alimentos.shtml> [Consultado 16 de febrero 2013]

16. <http://portal.facyt.uc.edu.ve/pasantias/informes/P95264958.pdf>. Informe de Pasantías Trabajo realizado en el Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas (CIMA – UC). Disponible en: <http://portal.facyt.uc.edu.ve/pasantias/informes/P95264958.pdf> [Consultado 15 de mayo 2013]
17. <http://es.scribd.com/doc/52456457/LA-HISTORIA-DE-LAS-BEBIDAS-CARBONATADAS>. LA HISTORIA DE LAS BEBIDAS carbonatadas. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/52456457/LA-HISTORIA-DE-LAS-BEBIDAS-CARBONATADAS> [Consultado 16 de mayo 2013]
18. http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallG/home_9/recursos/01_general/contenidos/laboratorios/guiasyfichas/25022008/manualdelimpiezaydesinfeccion.pdf. Manual de limpieza y desinfección. Disponible en: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallG/home_9/recursos/01_general/contenidos/laboratorios/guiasyfichas/25022008/manualdelimpiezaydesinfeccion.pdf [Consultado 19 de febrero 2013]
19. <http://www.controlcanario.com/archivos/MANUAL%20ALUMNO%20CARNET%20MANIPULADOR.pdf>. Manual de formación básica para manipuladores de alimentos. Disponible en: <http://www.controlcanario.com/archivos/MANUAL%20ALUMNO%20CARNET%20MANIPULADOR.pdf> [Consultado 28 de febrero 2013]
20. <http://legislacion.asamblea.gob.ni/Normaweb.nsf/bbe90a5bb646d50906257265005d21f8/3098b5c5a7be1dda0625735d007a87c4?OpenDocument>. Norma Técnica de Bebidas Carbonatas. Disponible en: <http://legislacion.asamblea.gob.ni/Normaweb.nsf/bbe90a5bb646d50906257265005d21f8/3098b5c5a7be1dda0625735d007a87c4?OpenDocument> [Consultado 25 de enero 2013]
21. <http://www.consumoteca.com/alimentacion/seguridadalimentaria/normas-de-higiene-de-los-manipuladores-de-alimentos>. Normas de higiene de los

manipuladores de alimentos. Disponible en:

<http://www.consumoteca.com/alimentacion/seguridadalimentaria/normas-de-higiene-de-los-manipuladores-de-alimentos>

[Consultado 16 de febrero 2013]

22. <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/06/175191.php>. Requisitos y obligaciones del manipulador de alimentos. Disponible en:

<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/06/175191.php> [Consultado 19 de febrero 2013]

23. http://virus.usal.es/Web/demo_fundacua/demo2/FiltraMembColiT_auto.html. Recuento de Coliformes Totales Filtración a través de membrana.

Disponible en:

http://virus.usal.es/Web/demo_fundacua/demo2/FiltraMembColiT_auto.html [Consultado 21 de febrero 2013]

24. <http://www.monografias.com/trabajos37/acido-base/acido-base.shtml>.

Titulación ácido-base. Disponible en:

<http://www.monografias.com/trabajos37/acido-base/acido-base.shtml> [Consultado 7 de marzo 2013]

25. <http://www.mapfre.com/salud/es/cinformativo/infeccion-e-coli.shtml>

[Consultado 21 de febrero 2013]

26. <http://www.definicion.org/biopelicula> [Consultado 21 de febrero 2013]

27. <http://www.cricyt.edu.ar/lahv/xoops/html/modules/wordbook/entry.php?entryID=306> [Consultado 21 de febrero 2013]

28. <http://www.slideshare.net/mavigudi/etas> [Consultado 24 de febrero 2013]

29. <http://www.sagardoetxea.com/index.php?id=69> [Consultado 24 de febrero 2013]

30. <http://www.definicion-de.es/moho/> [Consultado 28 de febrero 2013]

31. <http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p4nmpenumeracion.pdf> [Consultado 28 de febrero 2013]

32. <http://www.solociencia.com/biologia/microbiologiaglosario.htm>
[Consultado 28 de febrero 2013]
33. <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/aguapep.htm>
[Consultado 10 de marzo 2013]
34. <http://pseudomonaeruginosa.blogspot.com/> [Consultado 16 de mayo 2013]
35. http://www.bvsde.paho.org/cdgdwq/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Pseudomonas.pdf [Consultado 17 de mayo 2013]
36. <http://avoga.wordpress.com/2013/03/27/caldo-de-bilis-y-verde-brillante/>
[Consultado 18 de mayo 2013]
37. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_AgarEndo.pdf [Consultado 18 de mayo 2013]
38. http://www.britanialab.com/productos/304_hoja_tecnica_es.pdf
[Consultado 18 de mayo 2013]
39. http://www.cacia.org/documentos/Criterios_microbiologicos.pdf
[Consultado 18 de mayo 2013]

GLOSARIO

Biopelícula: Población de varios microorganismos, contenidos en una capa de productos de excreción, unida a una superficie ⁽²⁶⁾.

Buenas prácticas de manufactura: Herramienta básica para la obtención de productos seguros para el consumo humano, que se centralizan en la higiene y forma de manipulación ⁽¹⁰⁾.

Contaminación Cruzada: Transferencia de bacterias de un alimento a otro. Se produce cuando microorganismos patógenos, generalmente bacterias, son transferidos por medio de alimentos crudos, manos, equipo, y utensilios a los alimentos sanos ⁽¹¹⁾.

Coliformes Fecales: Grupo bacteriano presentes en los intestinos de los mamíferos y los suelos, que representan una indicación de la contaminación fecal del agua. Son fáciles de identificar y contar en laboratorio por su capacidad de fermentar la lactosa ⁽²³⁾.

Coliformes Totales: Enterobacteriaceae lactosa-positivas y constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un periodo de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C ⁽²³⁾.

Carga microbiana: Es el número y tipo de microorganismos viables presentes en un elemento determinado ⁽²⁷⁾.

Cepas: Conjunto de virus, bacterias u hongos que tienen el mismo patrimonio genético ⁽²⁷⁾.

ETAS: Conjunto de enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos o agua contaminados en cantidades suficientes como para afectar la salud del consumidor ⁽²⁸⁾.

Levaduras: Organismos anaeróbicos facultativos, significa que pueden vivir sin oxígeno. Cuando hay oxígeno lo utilizan para la respiración, es decir para oxidar la glucosa completamente y así obtener ATP ⁽²⁹⁾.

Manipulador: todas aquellas personas que por su actividad laboral, tienen contacto directo con los alimentos durante su preparación, fabricación, transformación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, venta, suministro y servicio ⁽²²⁾.

Mohos: Hongo filamentoso formado por una serie de filamentos tubulares rígidos y ramificados llamados hifas ⁽³⁰⁾.

Número más probable: Estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de suelo u otros ambientes ⁽¹⁶⁾.

Patógenos: productor o causante de enfermedad ⁽³¹⁾.

Recuento Total de Bacterias: Método útil para obtener una idea del grado de frescura o pronta alteración de los alimentos dependiendo de la cantidad de bacterias presentes ⁽¹²⁾.

Valoración acido- base: reacciones ácido-base son reacciones de equilibrio homogéneo (neutralización) entre los iones, que se producen al estar en contacto un ácido con una base obteniéndose una sal más agua ⁽²⁴⁾.

Unidades Formadoras de Colonias (UFC): el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes. Las UFC pueden ser pares (diplococos), cadena (estreptococos) o racimos (estafilococos), así como células individuales ⁽¹²⁾.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas ⁽²⁰⁾

CUADRO N° 10. Requisitos fisicoquímicos de las aguas gaseosas con sabor.

| CARACTERÍSTICAS | MINIMO | MÁXIMO |
|--|--------|--------|
| Grado Brix (porcentaje de sólidos solubles como sacarosa. | 8.0 | 15.0 |
| Acidez expresada en gramos de ácido cítrico anhídrido por cada 100 cm ³ de muestra. | 0.003 | 0.5 |
| pH | 2.4 | 4.5 |

CUADRO N° 11. Requisitos Microbiológicos.

| Punto de Muestreo | Microorganismos | Recuento Máximo Permitido |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| Bebida terminada | Recuento total de bacterias (UFC/mL) | 50 |
| Bebida terminada | Mohos (UFC/mL) | 5 |
| Bebida terminada | Recuento total de bacterias (UFC/mL) | 50 |
| Bebida terminada | Coliformes (UFC/100mL) | 2 |

CUADRO N° 12. Contaminantes Metales Tóxicos.

| Metales Tóxicos | Máximo en mg/ Kg |
|-------------------|------------------|
| Arsénico, como As | 0.2 |
| Plomo, como Pb | 0.3 (*) 0.03 |
| Cobre, como Cu | 1.5 |
| Hierro, como Fe | 5.0 (*) 0.5 |
| Zinc, como Zn | 5.0 |
| Mercurio, como Hg | 0.05 |
| Estaño | 125 |

ANEXO N° 2
DECODIFICACION DE BEBIDAS CARBONATADAS Y RESTAURANTES
MUESTREADOS

Tabla N° 16. Decodificación de los sabores de bebidas carbonatadas muestradas

| Sabor de bebida carbonatada | Código |
|-----------------------------|--------|
| Coca-Cola | C-C |
| Pepsi- Cola | P-C |
| Fanta | F-T |
| 7- Up | 7-U |
| Mirinda Fresa | M-F |
| Mirinda Naranja | M-N |
| Mirinda Uva | M-U |
| Mirinda Limón | M-L |
| Sprite | S-P |
| Fresca | F-C |
| Fresa | F-R |
| Uva | U-V |

Tabla N° 17 Decodificación de los restaurantes muestrados ubicados en los dos Food Court de la Octava y Décima etapa de Metrocentro de San Salvador con su correspondiente sabor de bebida carbonatada Seleccionada.

| Restaurante | Código (Octava Etapa) | Código (Décima Etapa) | Sabor de bebida carbonatada |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Subway | SUB-8 | SUB-10 | C-C |
| Pollo Campero | PO-8 | PO-10 | P- C |
| China Wok | CHI-8 | CHI-10 | P- C |
| Taco Inn | TA-8 | TA-10 | C- C |
| Pizza Hut | PI-8 | PI-10 | P- C |

ANEXO N° 3

NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA (NSO 13.07.04.00) HIELO. ESPECIFICACIONES Y BUENAS PRACTICAS DE FABRICACION ⁽⁶⁾.

**Tabla N° 18 Valores Máximos Admisibles para Calidad Microbiológica
del Hielo**

| Parámetro | Límite Máximo Permissible | | |
|---|---------------------------|-------------------|-----------------|
| | Técnicas | | |
| | Filtración por Membrana | Tubos Múltiples | Placa Vertida |
| Bacterias Coliformes Totales | 0 UFC/100 mL | < 1,1 NMP/ 100 mL | — |
| Bacterias Coliformes Fecales | 0 UFC/ 100 mL | Negativo | — |
| <i>E. coli</i> | 0UFC/100 mL | Negativo | — |
| Conteo de bacterias heterotrofas y aerobias mesófilas | 100 UFC/mL | — | 100 UFC/ 100 mL |
| Organismos Patógenos | AUSENCIA | | |

ANEXO N° 4

**ENCUESTA PARA CONOCER LA BEBIDA CARBONATADA QUE
MAS PREFIEREN LOS CONSUMIDORES DE LOS DOS FOOD COURT
DE METROCENTRO DE SAN SALVADOR**

ANEXO N° 4

ENCUESTA

Universidad de El Salvador

Facultad de Química y Farmacia

Objetivo: Realizar una encuesta en los FoodCourt de Metrocentro de San Salvador para determinar las marcas comerciales de bebidas gaseosas de mayor consumo por parte de las personas que visitan los restaurantes.

1. Edad.

18 – 20 años _____ 21 – 30 años _____ 31– más años _____

2. Sexo.

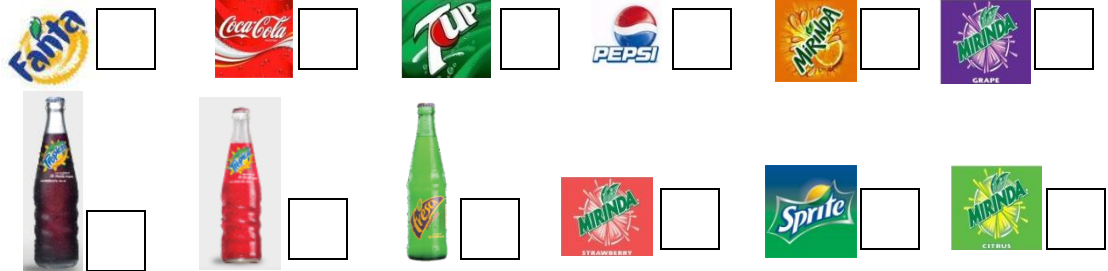
Masculino _____

Femenino _____

3. ¿Consume Bebidas Gaseosas?

Sí _____ No _____

4. ¿Cuál de las siguientes marcas de Bebidas es de su preferencia? Marcar.



5. ¿Consumes a diario estas bebidas?

Sí _____ No _____

6. ¿En alguna ocasión ha percibido un sabor desagradable en su bebida?

Sí _____ No _____

7. ¿En su bebida ha observado la presencia de alguna partícula o sustancia que normalmente no se debe encontrar?

Sí _____ No _____

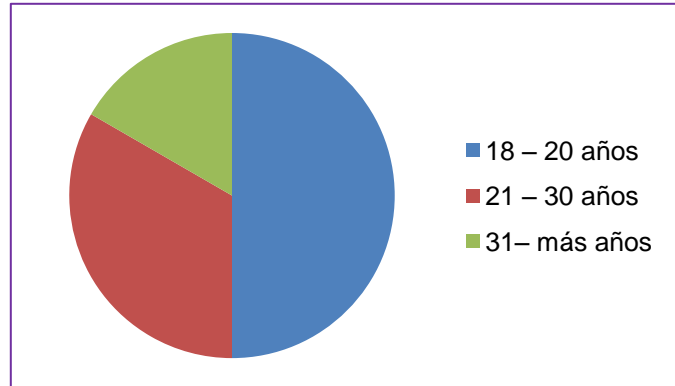
8. ¿Ha padecido alguna enfermedad después de haber consumido estas bebidas?

Sí _____ No _____

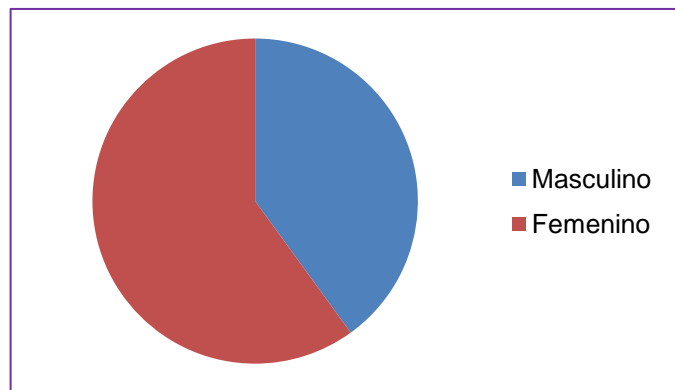
Cuales _____

ANEXO N° 5
RESULTADOS DE LA ENCUESTA

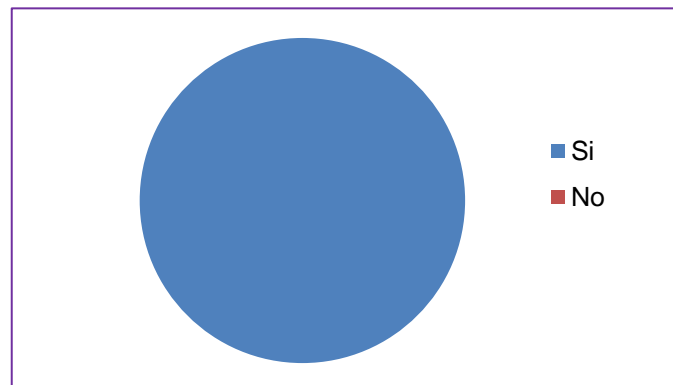
1. Edad.



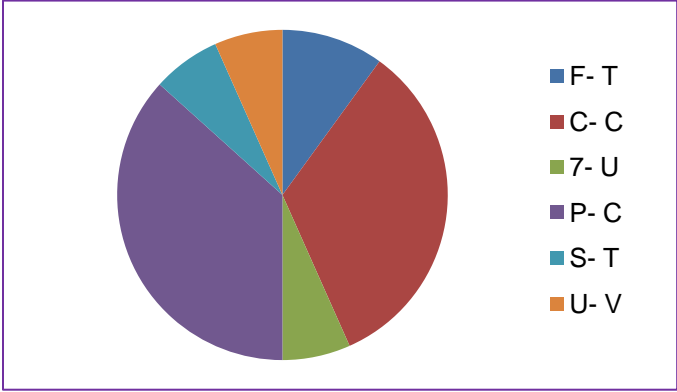
2. Sexo.



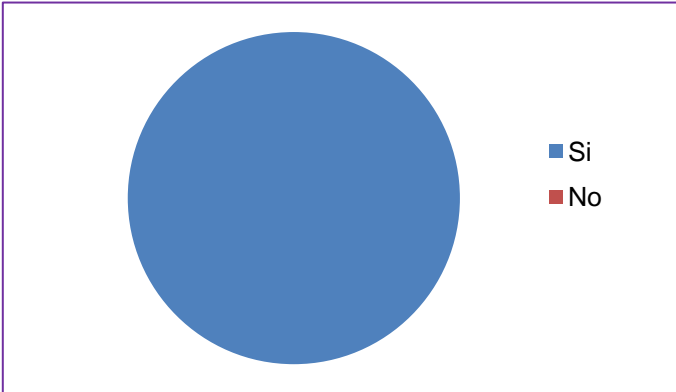
3. ¿Consume Bebidas Gaseosas?



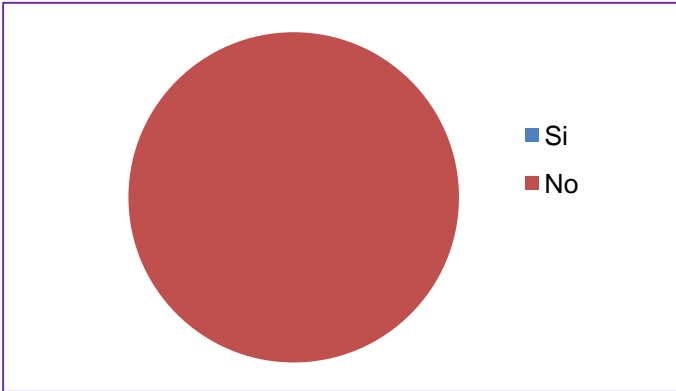
4. ¿Cuál de las siguientes marcas de Bebidas es de su preferencia? (Ver Anexo N° 2)



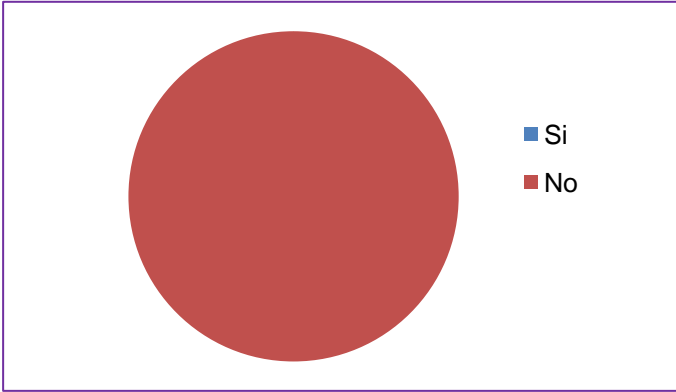
5. ¿Consumes a diario estas bebidas?



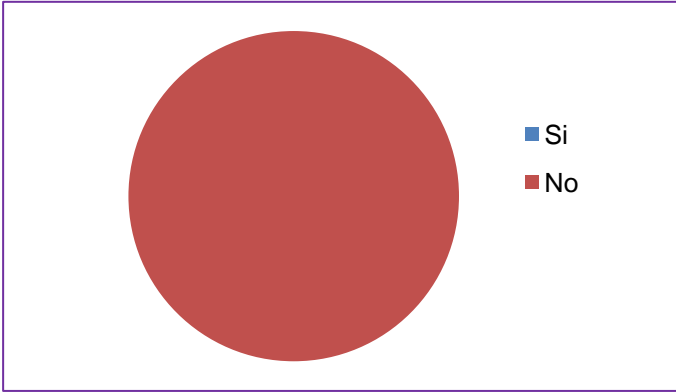
6. ¿En alguna ocasión ha percibido un sabor desagradable en su bebida?



7. ¿En su bebida ha observado la presencia de alguna partícula o sustancia que normalmente no se debe encontrar?



8. ¿Ha padecido alguna enfermedad después de haber consumido estas bebidas?



ANEXO N° 6

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

LISTA DE CHEQUEO

Objetivo: Verificar las condiciones sanitarias y ambientales en que se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas mediante una lista de chequeo.

RESTAURANTE: UBICACION _____ CODIGO _____

| Preguntas | Sí | No |
|---|----|----|
| ¿La máquina se encuentra en un área despejada? | | |
| ¿Se encuentra limpia la maquina dispensadora? | | |
| ¿Está limpia el área donde se encuentra la maquina dispensadora? | | |
| ¿Las Maquinas que contienen las bebidas se encuentran en funcionamiento? | | |
| ¿La persona hace uso de alcohol gel antes de manipular la maquina dispensadora? | | |
| ¿Los manipuladores utilizan gorro para cubrir el cabello? | | |
| ¿Los utensilios (vasos, tapaderas) para servir la bebida están expuestos al ambiente? | | |
| ¿Se utilizan guantes para servir la bebida? | | |
| ¿La indumentaria del manipulador se encuentra limpia? | | |

Observaciones: _____

ANEXO N° 7

| |
|--|
| Universidad de El Salvador Tesis Grupo 15-13 Etiqueta de muestra |
| Número de Muestra: _____ |
| Código de restaurante: _____ |
| Sabor de Bebida: _____ |
| Hora de toma de muestra: _____ |
| Fecha: _____ |
| Nombre del analista: _____ |

(a)

| |
|--|
| Universidad de El Salvador Tesis Grupo 15-13 Etiqueta de muestra |
| Número de Muestra: _____ |
| Código de restaurante: _____ |
| Hora de toma de muestra: _____ |
| Fecha: _____ |
| Nombre del analista: _____ |

(b)

Figura N° 5 (a): Etiqueta para identificación de muestras de bebidas Carbonatadas sin hielo.

(b): Etiqueta para identificación de muestras de hielo y vasos vacíos.

ANEXO N° 8
MATERIALES, REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

METODOS MICROBIOLÓGICOS

Materiales

- Frascos de vidrio de 250 mL
- Pipetas de Mohr de 1 mL
- Probetas de 100 mL
- Tubos de Ensayo
- Asas de Platino
- Autoclave
- Campana de Durham
- Baño María
- Placas de Petri
- Incubadora
- Cuenta Colonias

Reactivos

- Agua Estéril

Medios de Cultivo

- Agar PlateCount
- Agar PapaDextrosa
- Agar EMB
- Caldo Verde Bilis Brillante
- Agar Endo LES
- Agar Cetrimida
- Caldo Casoy
- Caldo EC

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Materiales

- Vasos de precipitado de 100mL
- Vidrio reloj
- Agitadores de vidrio
- Buretas de 50.0 mL
- Pinzas para bureta
- Embudos

- Erlenmeyer de 250 mL
- Balanza
- Potenciómetro
- Cocina
- Refractómetro
- Frasco lavador

Reactivos

- NaOH 0.1N
- Solución Buffer de pH 4.0, 7.0 y 9.0
- Fenolftaleína 1%
- Alcohol isopropílico

ANEXO N° 9
METODOLOGIAS UTILIZADAS

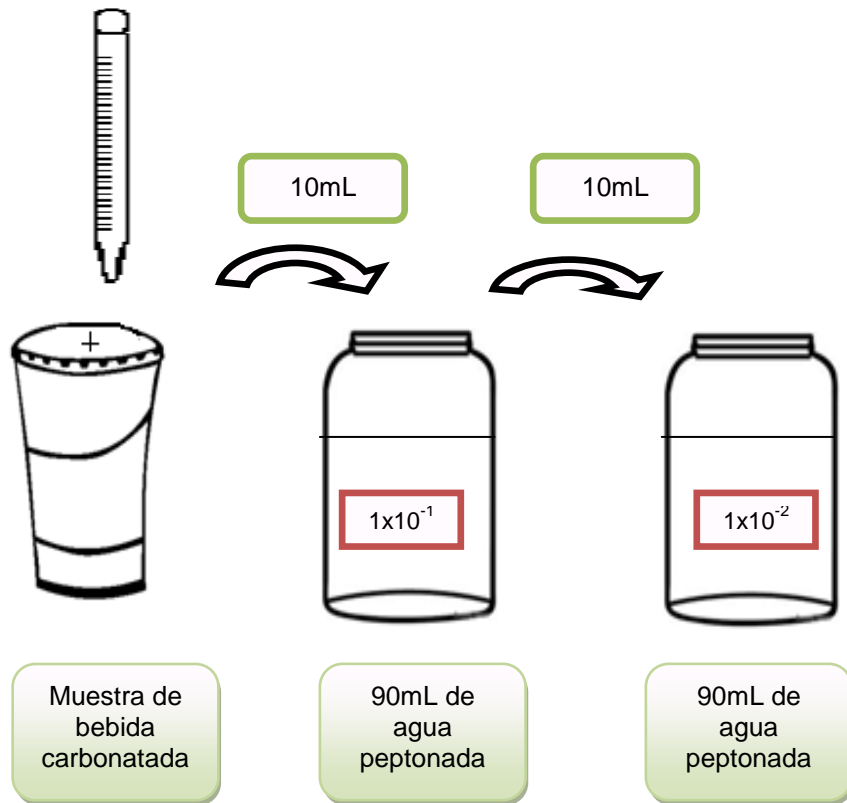


Figura N° 6 Procedimiento para las diluciones de muestras de bebidas carbonatadas (2).

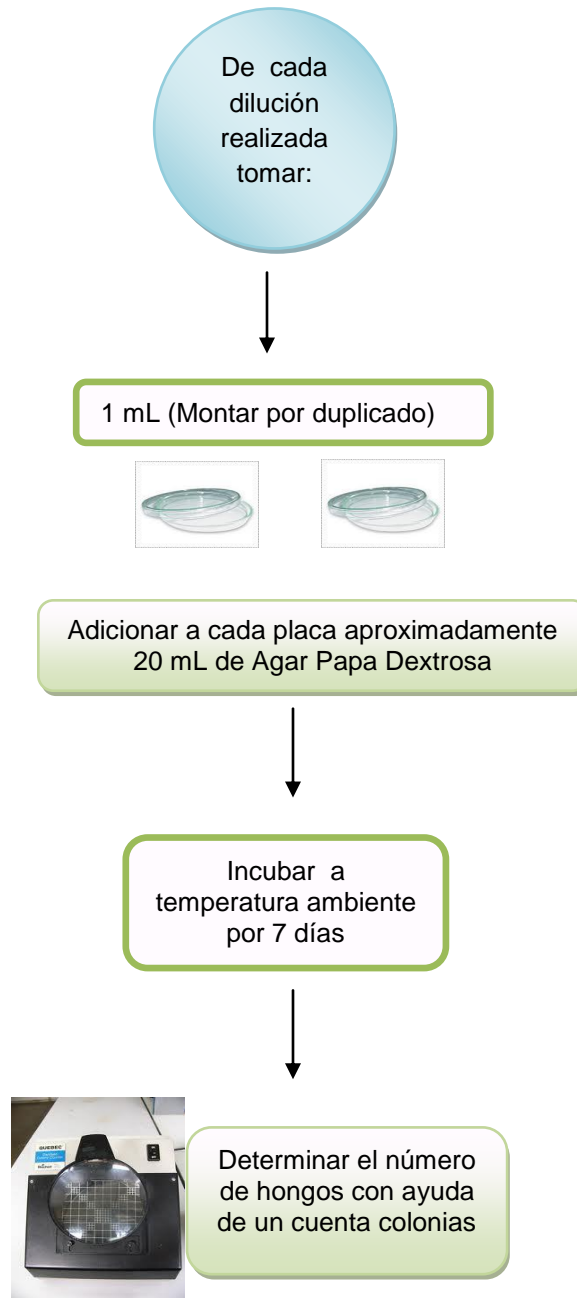


Figura N° 7 Procedimiento para la determinación y Recuento de Mohos para muestra de Bebidas Carbonatadas (2).



Desenvolver el filtro de la envoltura con la que se ha esterilizado.



Separar el embudo de la base del filtro.



Colocar la membrana filtrante de $0,45\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro sobre el portafiltros de las base del mismo.

El manejo de las membranas se debe realizar con pinzas estériles de punta plana.



Colocar el embudo sobre la base, teniendo cuidado de no lesionar la membrana y que esta quede bien centrada. La membrana filtrante queda ahora situado entre el embudo y la base-soporte del filtro

Figura N° 8 Procedimiento para montar el aparato de filtración por membrana (2).

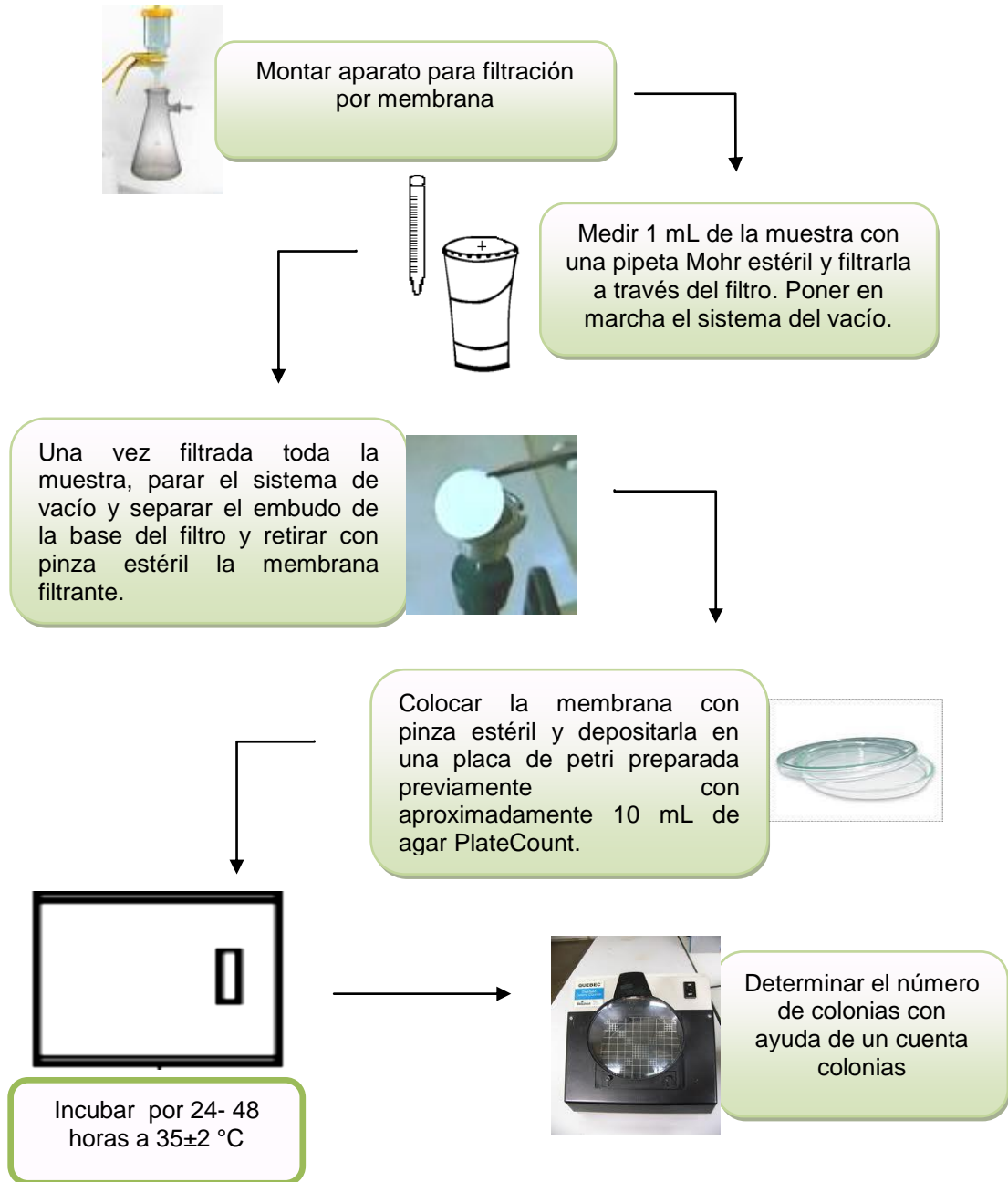


Figura N° 9 Procedimiento para la determinación y Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias para muestras de Bebidas Carbonatadas y hielo₍₂₎.

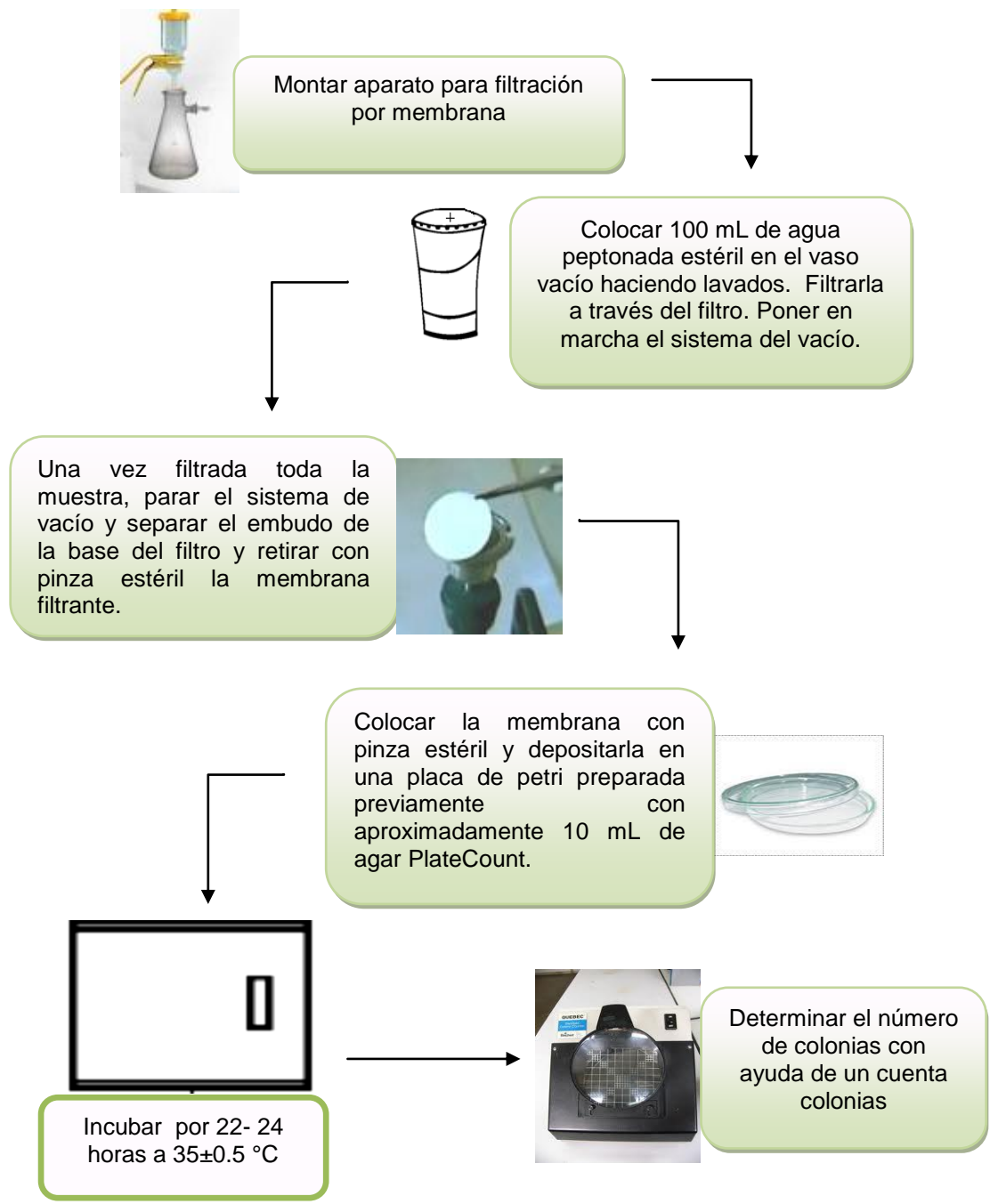


Figura N° 10 Procedimiento para la determinación y Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias para muestras devasos vacíos (2).

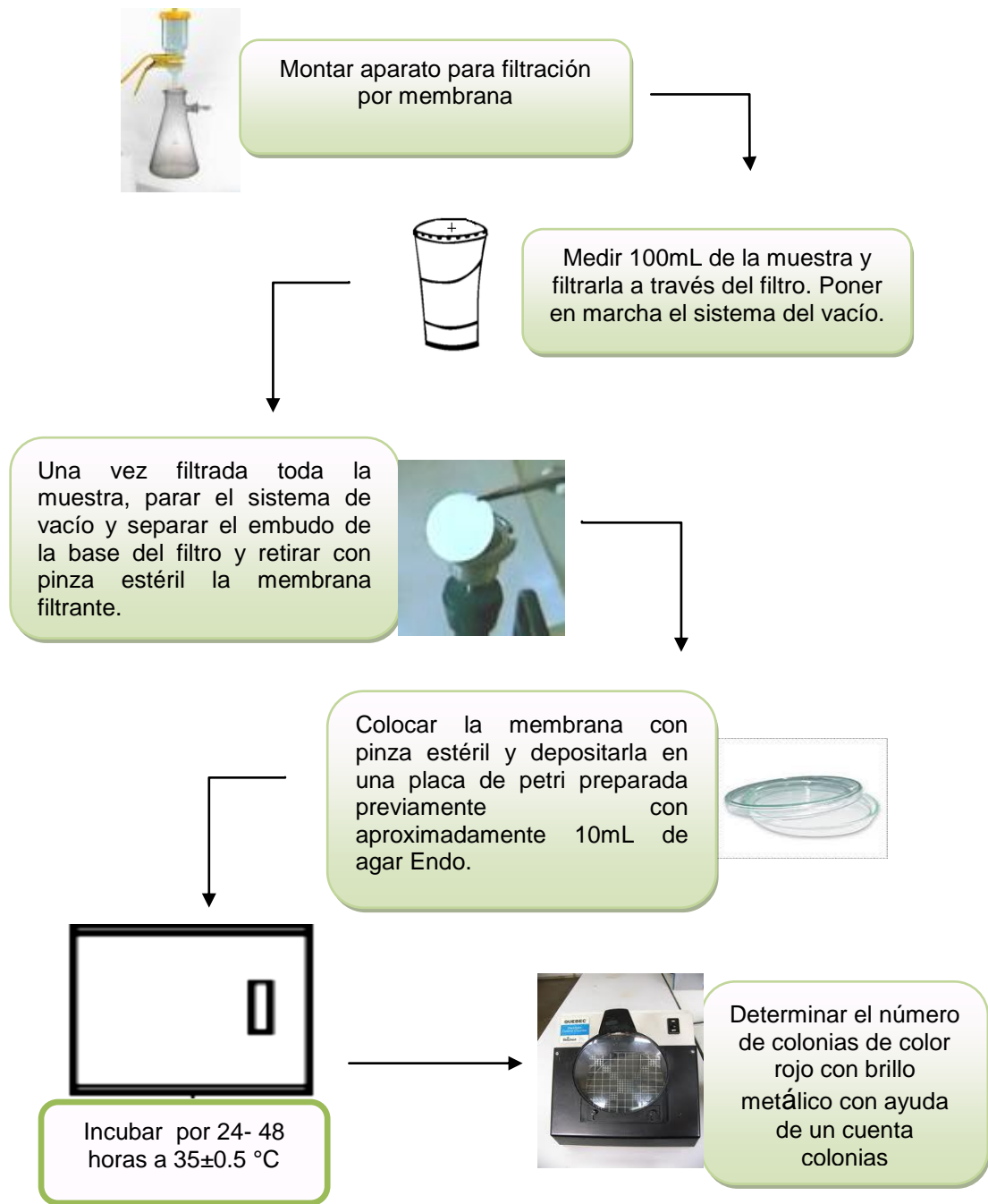


Figura N° 11 Procedimiento para la determinación de Coliformes Totales para muestras de bebidas carbonatadas y de hielo (2).

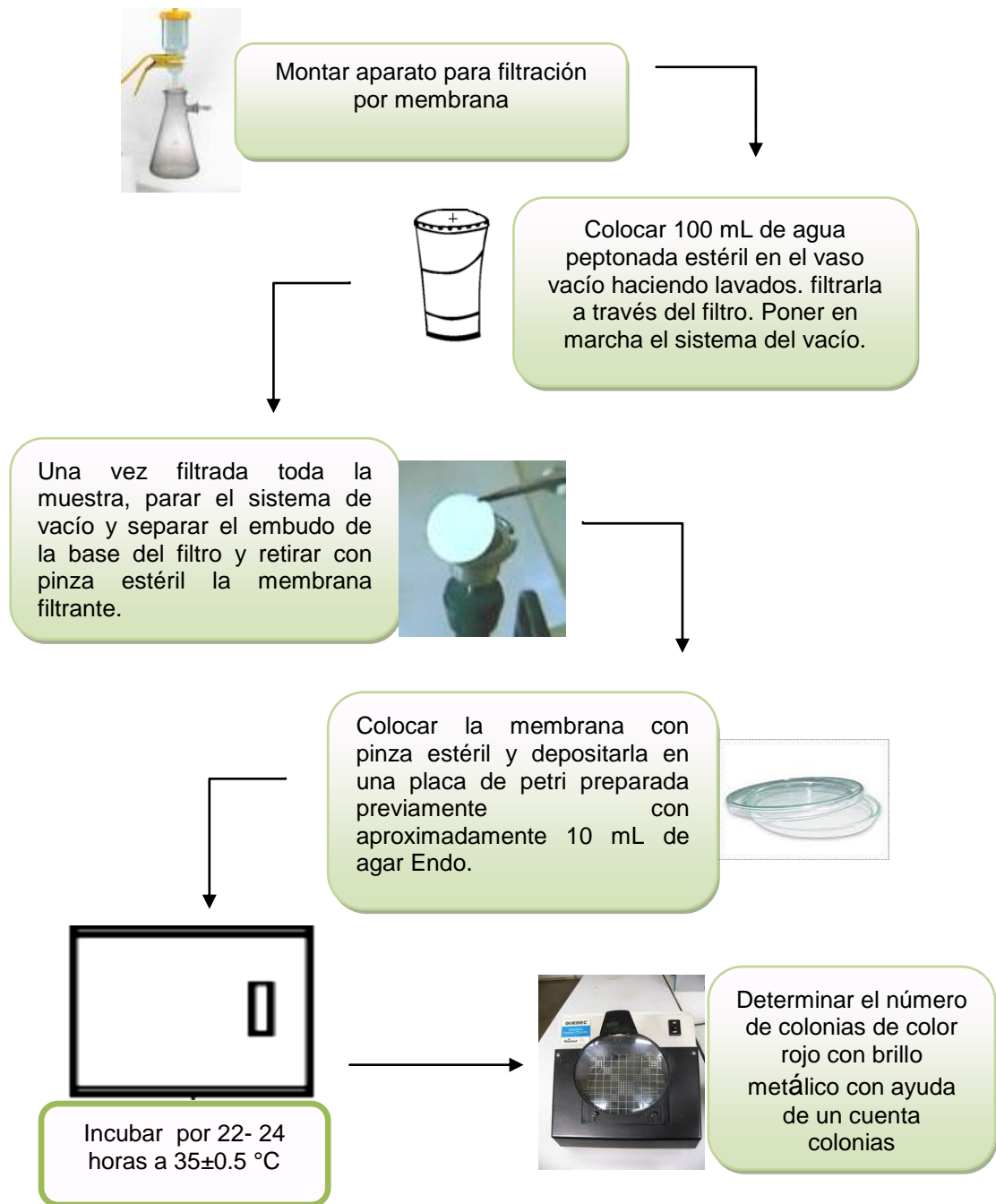


Figura N° 12 Procedimiento para la determinación Coliformes Totales para muestras devasos vacíos (2).

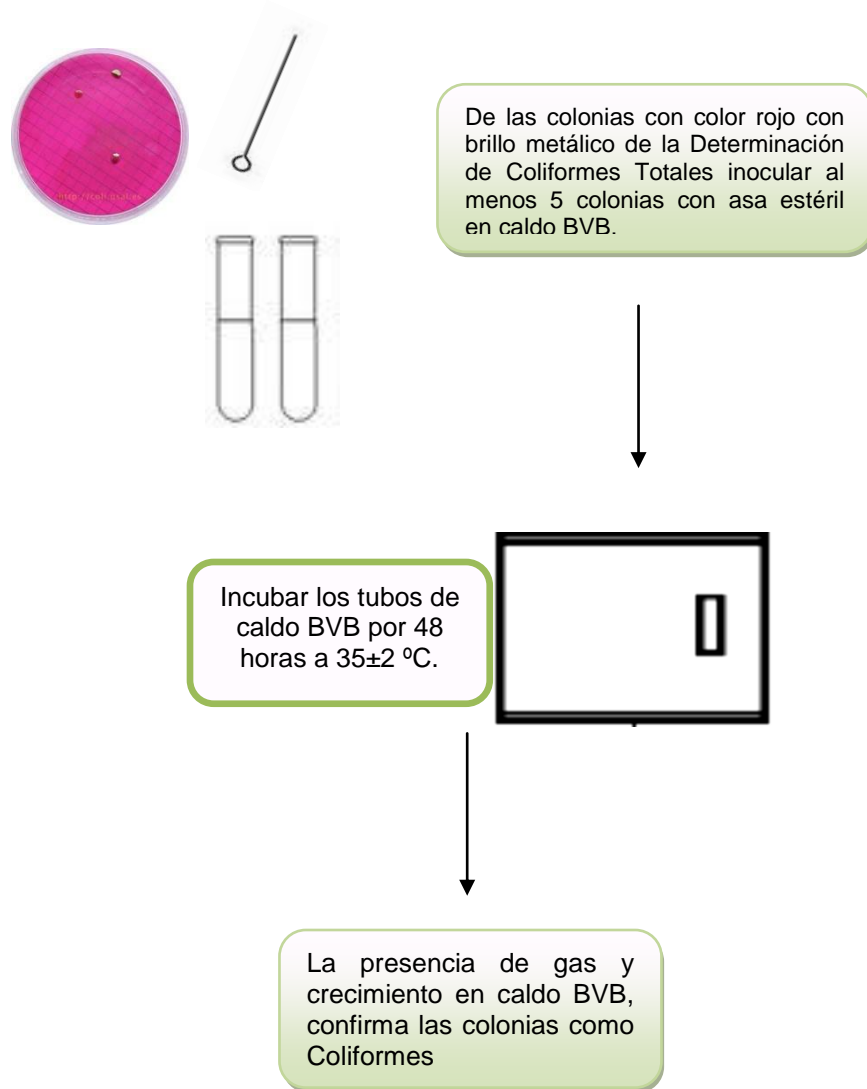


Figura N° 13 Procedimiento para la confirmación de Coliformes Totales para muestras de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos (2).

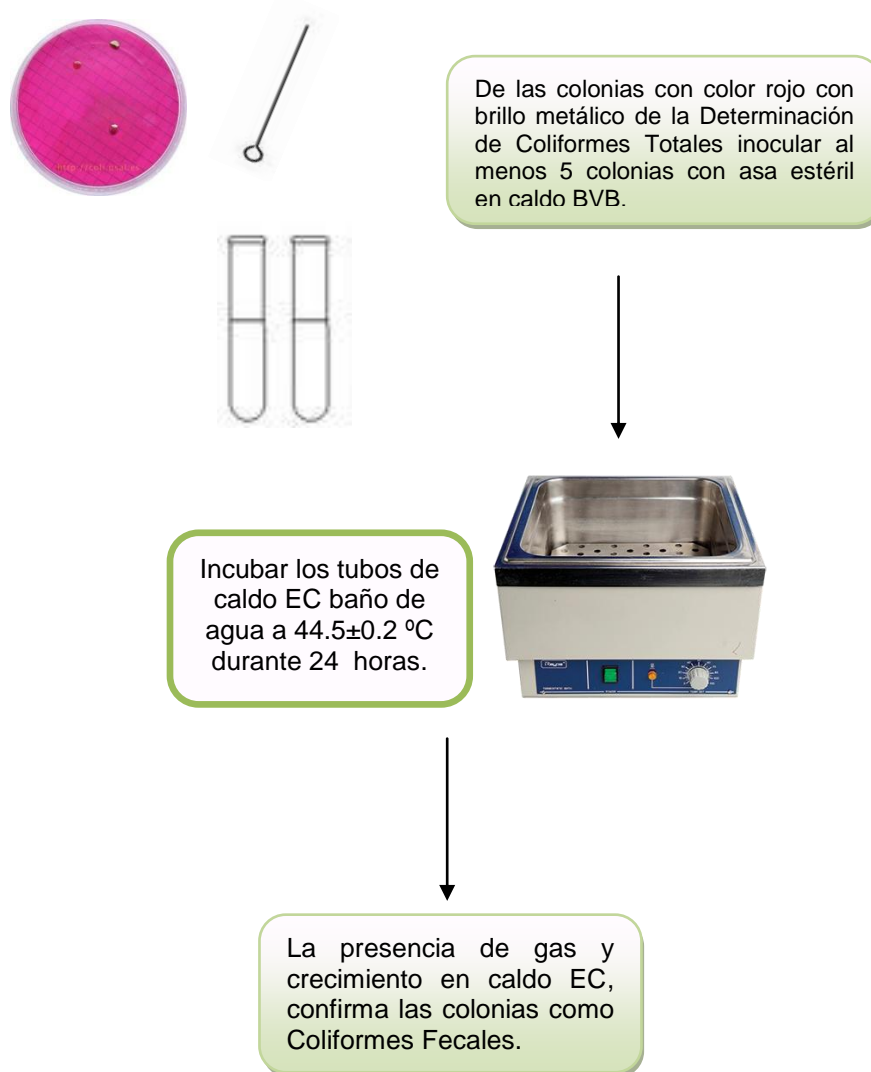


Figura N° 14 Procedimiento para la confirmación de Coliformes Fecales para muestras de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos (2).

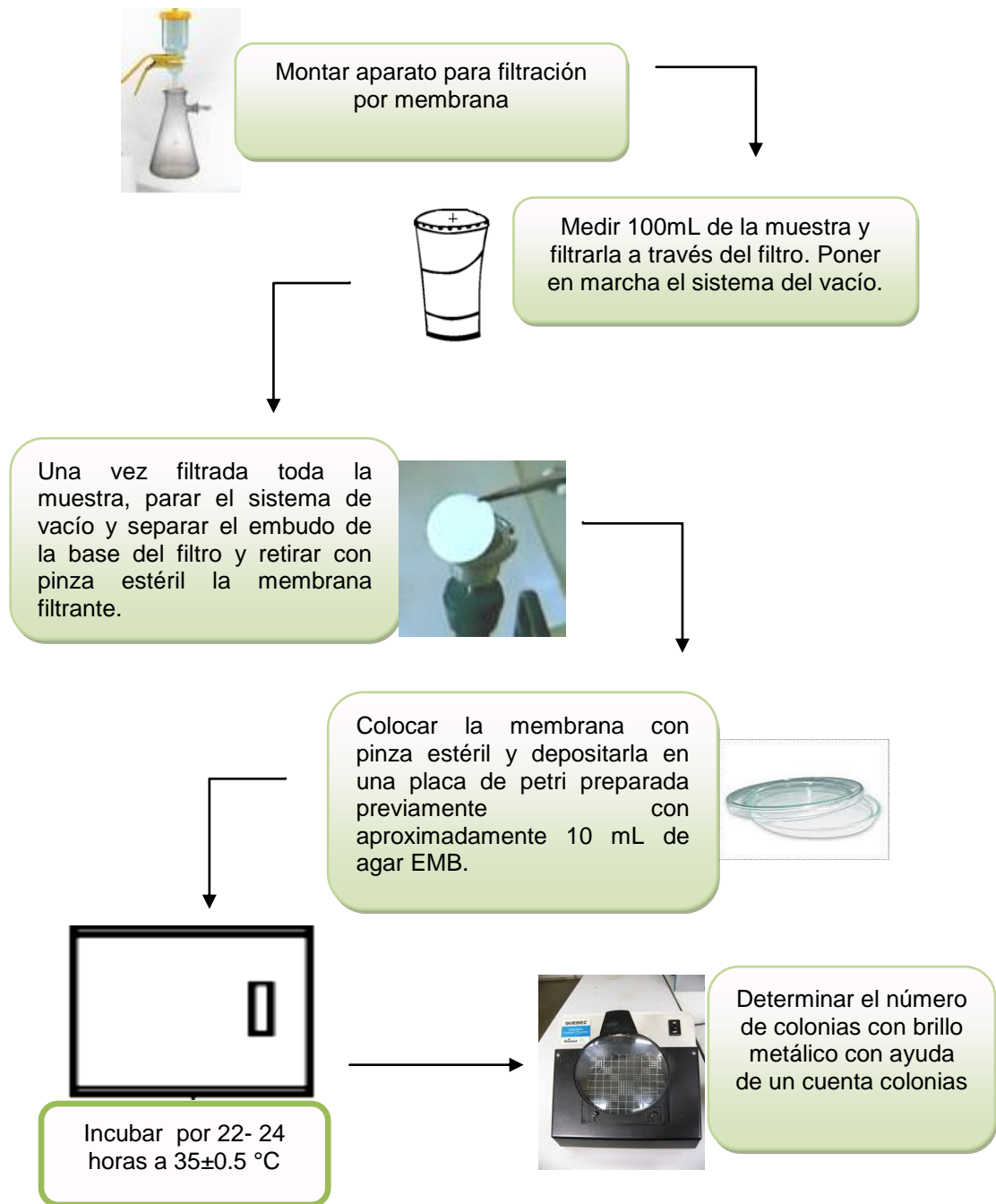


Figura N° 15 Procedimiento para la determinación de *Escherichia coli* para muestras de hielo (2).

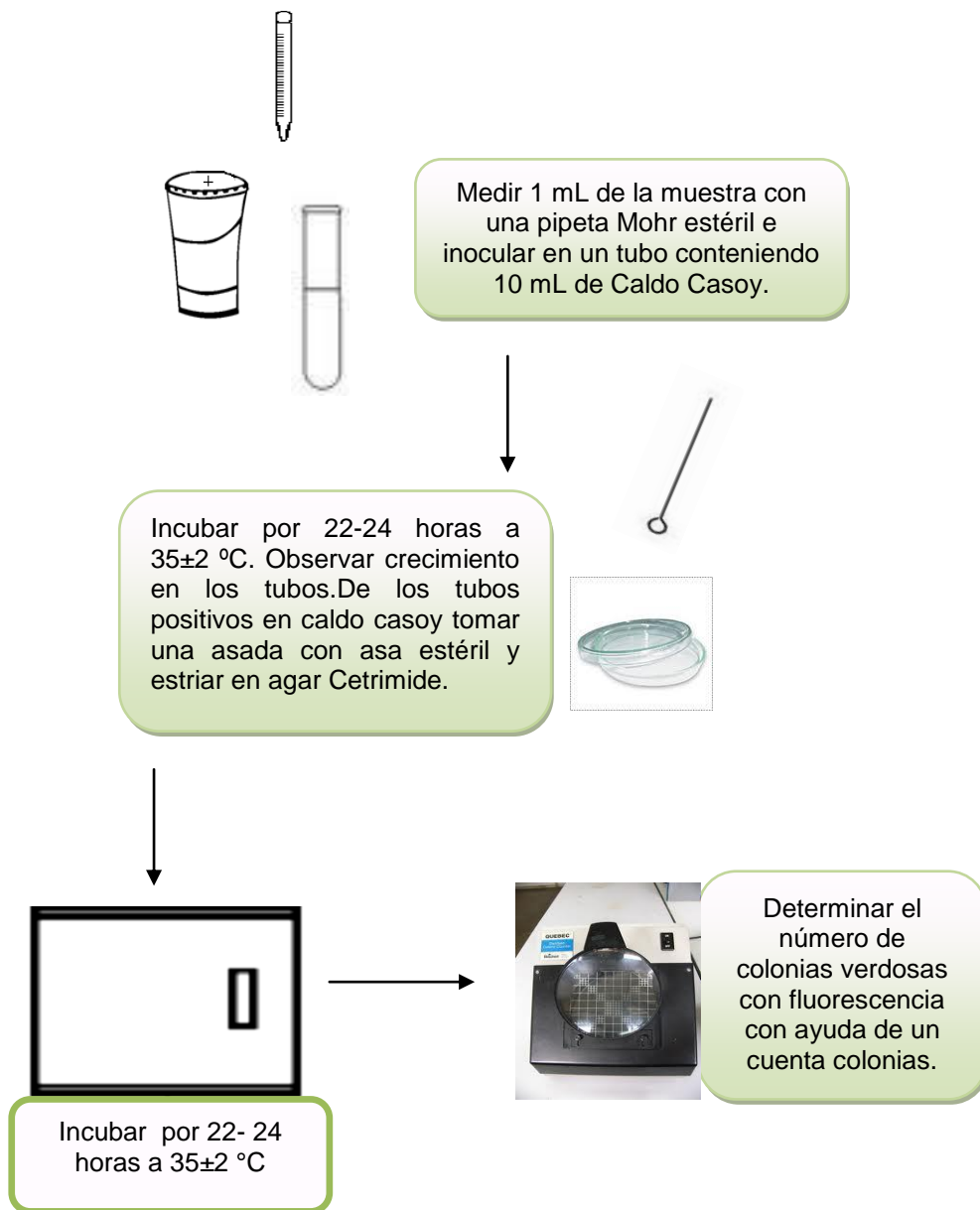


Figura N° 16 Procedimiento para la determinación de *Pseudomonas aureginosa* para muestras de hielo (2).



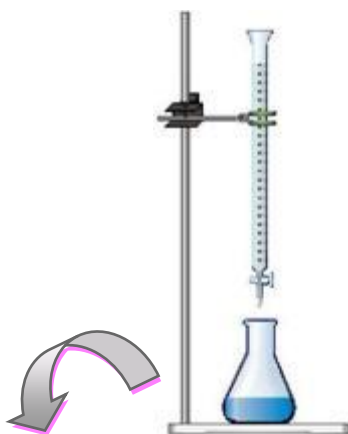
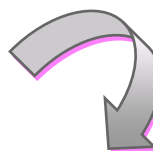
Calentar 50 mL muestra (bebida carbonatada) hasta ebullición y mantenerla así durante 30 segundos.



Llenar una bureta de 25.0 mL con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N al aforo.



Colocar 10.0 mL de la muestra previamente hervida en un matraz Erlenmeyer. Se adicionan 5 gotas de fenolftaleína al 1% como indicador.



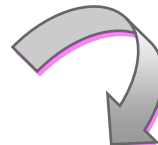
Valoración: Desde la bureta añadir lentamente, el reactivo valorante en el erlenmeyer con la muestra manteniendo agitación continua hasta que se detecta el punto final de la valoración a través del viraje del indicador de incoloro a rosa

A partir del volumen consumido de solución valorante se calcula la concentración de acidez de la muestra. Calcular la acidez presente en cada muestra.

Figura N° 17 Procedimiento para la determinación de acidez en muestra de Bebidas Carbonatadas (1,9).



Calibrar el potenciómetro con las soluciones buffer, dependiendo del rango de pH que se medirá en las muestras y de acuerdo con las instrucciones del equipo.



Enjuagar el electrodo con agua destilada y secarlo con un papel absorbente.



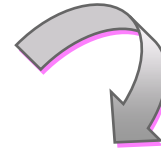
Introducir el electrodo en la muestra de bebida carbonatada. Tomar la lectura de pH



Después de cada Medición del pH es necesario enjuagar el electrodo con agua destilada y secar con un papel absorbente.

Figura N° 18 Procedimiento para la determinación de pH en muestra de Bebidas Carbonatadas (8).

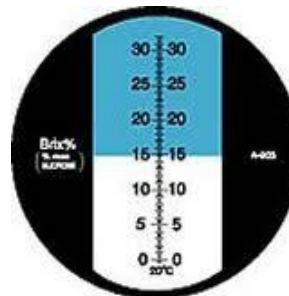
Calibrar el brixómetro con agua destilada a valor de cero y limpiar el prisma con una torunda de algodón impregnada con alcohol isopropílico



Tomar dos o tres gotas de la muestra previamente desgasificada y colocarlas sobre la parte cristalina del refractómetro.



Apuntar el refractómetro a un fuerte foco de luz y ajustar su ocular enfocable.



Tomar la lectura en la escala del refractómetro, en grados Brix.

Figura N° 19 Procedimiento para la determinación de Grados Brix en muestra de Bebidas Carbonatadas (1).

ANEXO N° 10

**CALCULOS PARA CUANTIFICAR LA CANTIDAD EN GRAMOS DE
ACIDO CITRICO PRESENTE EN LAS MUESTRAS DE BEBIDAS
CARBONATADAS**

Código de muestra: **1-A (Primer muestreo)**

Tabla N° 18 Mililitros de hidróxido de sodio gastados en las diferentes titulaciones del primer muestreo.

| Numero de Muestra | Volumen gastado de NaOH (mL) |
|-------------------|------------------------------|
| 1-A | 1.8 |
| 1-B | 1.9 |
| 2-A | 0.8 |
| 2-B | 0.8 |
| 3-A | 2.0 |
| 3-B | 2.0 |
| 4-A | 1.2 |
| 4-B | 1.1 |
| 5-A | 1.4 |
| 5-B | 1.4 |
| 6-A | 1.2 |
| 6-B | 1.2 |
| 7-A | 1.1 |
| 7-B | 1.0 |
| 8-A | 1.3 |
| 8-B | 1.3 |
| 9-A | 1.2 |
| 9-B | 1.3 |
| 10-A | 1.2 |
| 10-B | 1.2 |

Fórmula a utilizar:

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{N \times V_1 \times \text{Peg} \times 100}{V_2 (1000)}$$

$V_2 (1000)$

Dónde:

V_1 = Volumen de NaOH 0.1 N consumidos (mL)

N = Normalidad del NaOH 0.1 N (mEq/ mL)

Peg = Peso equivalente de ácido cítrico predominante en la muestra (mg/ mEq)

V_2 = Volumen de la muestra (mL)

1000 = Factor para convertir mg a gramos (mg/ g)

Volumen de Hidróxido de Sodio gastado en la valoración: **1.8 mL**

Normalidad de Hidróxido de Sodio: **0.1 N**

Peso equivalente de ácido cítrico: **64.04**

Volúmen de la muestra utilizado: **10 mL**

Sustituyendo en la fórmula:

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{0.1\text{N} \times 1.8 \text{ mL} \times 64.04}{10 \text{ mL} (1000)} \times 100$$

10 mL (1000)

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = 0.11$$

Código de muestra: **10-A (Segundo muestreo)**

Tabla N° 19 Mililitros de hidróxido de sodio gastados en las diferentes titulaciones del segundo muestreo.

| Numero de Muestra | Volumen gastado de NaOH (mL) |
|-------------------|------------------------------|
| 1-A | 1.2 |
| 1-B | 1.2 |
| 2-A | 1.5 |
| 2-B | 1.5 |
| 3-A | 1.3 |
| 3-B | 1.3 |
| 4-A | 1.5 |
| 4-B | 1.5 |
| 5-A | 1.8 |
| 5-B | 1.8 |
| 6-A | 1.2 |
| 6-B | 1.4 |
| 7-A | 1.4 |
| 7-B | 1.4 |
| 8-A | 1.4 |
| 8-B | 1.4 |
| 9-A | 1.2 |
| 9-B | 1.4 |
| 10-A | 1.5 |
| 10-B | 1.5 |

Fórmula a utilizar:

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{N \times V_1 \times \text{Peq}}{V_2} \times 100$$

V_2 (1000)

Dónde:

V_1 = Volumen de NaOH 0.1 N consumidos (mL)

N = Normalidad del NaOH 0.1 N (mEq/ mL)

Peq = Peso equivalente de ácido cítrico predominante en la muestra (mg/ mEq)

V_2 = Volumen de la muestra (mL)

1000 = Factor para convertir mg a gramos (mg/ g)

Volumen de Hidróxido de Sodio gastado en la valoración: **1.5mL**

Normalidad de Hidróxido de Sodio: **0.1 N**

Peso equivalente de ácido cítrico: **64.04**

VoLumen de la muestra utilizado: **10 mL**

Sustituyendo en la formula:

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = \frac{0.1\text{N} \times 1.5 \text{ mL} \times 64.04}{10 \text{ mL (1000)}} \times 100$$

$$\text{g Ácido Cítrico/ 100 mL} = 0.09$$

ANEXO N° 11

**RESULTADOS TOTALES DE MUESTRAS DE BEBIDAS
CARBONATADAS, HIELO Y VASOS VACIOS**

Cuadro N° 13. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias (UFC/mL) | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias (UFC/mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|---|--------------------------------------|-----------------------|---|
| 1-A | TA-10 | 0 | 1-A | PO-8 | 0 |
| 1-B | TA-10 | 0 | 1-B | PO-8 | 0 |
| 2-A | PO-10 | 0 | 2-A | CHI-8 | 0 |
| 2-B | PO-10 | 0 | 2-B | CHI-8 | 0 |
| 3-A | SUB-10 | 0 | 3-A | PI-8 | 0 |
| 3-B | SUB-10 | 0 | 3-B | PI-8 | 0 |
| 4-A | CHI-10 | 0 | 4-A | SUB-8 | 0 |
| 4-B | CHI-10 | 0 | 4-B | SUB-8 | 0 |
| 5-A | PO-8 | 0 | 5-A | SUB-10 | 0 |
| 5-B | PO-8 | 0 | 5-B | SUB-10 | 0 |
| 6-A | SUB-8 | 0 | 6-A | PO-10 | 0 |
| 6-B | SUB-8 | 0 | 6-B | PO-10 | 0 |
| 7-A | PI-10 | 0 | 7-A | PI-10 | 0 |
| 7-B | PI-10 | 0 | 7-B | PI-10 | 0 |
| 8-A | PI-8 | 0 | 8-A | TA-8 | 0 |
| 8-B | PI-8 | 0 | 8-B | TA-8 | 0 |
| 9-A | SUB-8 | 0 | 9-A | TA-10 | 0 |
| 9-B | SUB-8 | 0 | 9-B | TA-10 | 0 |
| 10-A | TA-8 | 0 | 10-A | SUB-10 | 0 |
| 10-B | TA-8 | 0 | 10-B | SUB-10 | 0 |

Cuadro N° 14. Resultados de Microorganismos Coliformes totales en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Determinación de Coliformes Totales (UFC/100mL) | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Determinación de Coliformes Totales (UFC/100mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|---|--------------------------------------|-----------------------|---|
| 1-A | TA-10 | 0 | 1-A | PO-8 | 0 |
| 1-B | TA-10 | 0 | 1-B | PO-8 | 0 |
| 2-A | PO-10 | 5 | 2-A | CHI-8 | 0 |
| 2-B | PO-10 | 6 | 2-B | CHI-8 | 0 |
| 3-A | SUB-10 | 0 | 3-A | PI-8 | 0 |
| 3-B | SUB-10 | 0 | 3-B | PI-8 | 0 |
| 4-A | CHI-10 | 0 | 4-A | SUB-8 | 23 |
| 4-B | CHI-10 | 0 | 4-B | SUB-8 | 25 |
| 5-A | PO-8 | 0 | 5-A | SUB-10 | 0 |
| 5-B | PO-8 | 0 | 5-B | SUB-10 | 0 |
| 6-A | SUB-8 | 0 | 6-A | PO-10 | 70 |
| 6-B | SUB-8 | 0 | 6-B | PO-10 | 75 |
| 7-A | PI-10 | 0 | 7-A | PI-10 | 0 |
| 7-B | PI-10 | 0 | 7-B | PI-10 | 0 |
| 8-A | PI-8 | 0 | 8-A | TA-8 | 0 |
| 8-B | PI-8 | 0 | 8-B | TA-8 | 0 |
| 9-A | SUB-8 | 12 | 9-A | TA-10 | 0 |
| 9-B | SUB-8 | 11 | 9-B | TA-10 | 0 |
| 10-A | TA-8 | 0 | 10-A | SUB-10 | 0 |
| 10-B | TA-8 | 0 | 10-B | SUB-10 | 0 |

Cuadro N° 15. Resultados de Microorganismos Coliformes Fecales en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Determinación de coliformes fecales | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Determinación de coliformes fecales |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| 2-A | PO-10 | -- | 4-A | SUB-8 | - |
| 2-B | PO-10 | -- | 4-B | SUB-8 | - |
| 9-A | SUB-8 | -- | 6-A | PO-10 | - |
| 9-B | SUB-8 | -- | 6-B | PO-10 | - |

Cuadro N° 16. Resultados de Mohos en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Recuento de Mohos (UFC/ml) | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Recuento de Mohos (UFC/ml) |
|-------------------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 1-A | TA-10 | 0 | 1-A | PO-8 | 0 |
| 1-B | TA-10 | 0 | 1-B | PO-8 | 0 |
| 2-A | PO-10 | 0 | 2-A | CHI-8 | 0 |
| 2-B | PO-10 | 0 | 2-B | CHI-8 | 0 |
| 3-A | SUB-10 | 0 | 3-A | PI-8 | 0 |
| 3-B | SUB-10 | 0 | 3-B | PI-8 | 0 |
| 4-A | PI-10 | 0 | 4-A | SUB-8 | 0 |
| 4-B | PI-10 | 0 | 4-B | SUB-8 | 0 |
| 5-A | PO-8 | 0 | 5-A | SUB-10 | 0 |
| 5-B | PO-8 | 0 | 5-B | SUB-10 | 0 |
| 6-A | SUB-8 | 0 | 6-A | PO-10 | 0 |
| 6-B | SUB-8 | 0 | 6-B | PO-10 | 0 |
| 7-A | PI-10 | 0 | 7-A | PI-10 | 0 |
| 7-B | PI-10 | 0 | 7-B | PI-10 | 0 |
| 8-A | PI-8 | 0 | 8-A | TA-8 | 0 |
| 8-B | PI-8 | 0 | 8-B | TA-8 | 0 |
| 9-A | SUB-8 | 0 | 9-A | TA-10 | 0 |
| 9-B | SUB-8 | 0 | 9-B | TA-10 | 0 |
| 10-A | TA-8 | 0 | 10-A | SUB-10 | 0 |
| 10-B | TA-8 | 0 | 10-B | SUB-10 | 0 |

Cuadro N° 17. Resultados de Acidez en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Acidez (g Ácido Cítrico/100 mL de muestra) | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Acidez (g Ácido Cítrico/100 mL de muestra) |
|-------------------------------------|-----------------------|--|--------------------------------------|-----------------------|--|
| 1-A | TA- 10 | 0.11 | 1-A | PO- 8 | 0.07 |
| 1-B | TA- 10 | 0.12 | 1-B | PO- 8 | 0.07 |
| 2-A | PO- 10 | 0.05 | 2-A | CHI- 8 | 0.09 |
| 2-B | PO- 10 | 0.05 | 2-B | CHI- 8 | 0.09 |
| 3-A | SUB- 10 | 0.12 | 3-A | PI- 8 | 0.08 |
| 3-B | SUB- 10 | 0.12 | 3-B | PI- 8 | 0.08 |
| 4-A | CHI-10 | 0.08 | 4-A | SUB- 8 | 0.09 |
| 4-B | CHI-10 | 0.07 | 4-B | SUB- 8 | 0.09 |
| 5-A | PO- 8 | 0.08 | 5-A | SUB- 10 | 0.11 |
| 5-B | PO- 8 | 0.08 | 5-B | SUB- 10 | 0.11 |
| 6-A | SUB- 8 | 0.07 | 6-A | PO- 10 | 0.07 |
| 6-B | SUB- 8 | 0.07 | 6-B | PO- 10 | 0.08 |
| 7-A | PI- 10 | 0.07 | 7-A | PI- 10 | 0.08 |
| 7-B | PI- 10 | 0.06 | 7-B | PI- 10 | 0.08 |
| 8-A | PI- 8 | 0.08 | 8-A | TA- 8 | 0.08 |
| 8-B | PI- 8 | 0.08 | 8-B | TA- 8 | 0.08 |
| 9-A | SUB- 8 | 0.07 | 9-A | TA- 10 | 0.07 |
| 9-B | SUB- 8 | 0.08 | 9-B | TA- 10 | 0.08 |
| 10-A | TA- 10 | 0.07 | 10-A | SUB- 10 | 0.09 |
| 10-B | TA- 10 | 0.07 | 10-B | SUB- 10 | 0.09 |

Cuadro N° 18. Resultados de pH en muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | pH | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | pH |
|-------------------------------------|-----------------------|------|--------------------------------------|-----------------------|------|
| 1-A | TA- 10 | 2.96 | 1-A | PO- 8 | 3.11 |
| 1-B | TA- 10 | 2.95 | 1-B | PO- 8 | 3.10 |
| 2-A | PO- 10 | 3.12 | 2-A | CHI- 8 | 3.05 |
| 2-B | PO- 10 | 3.12 | 2-B | CHI- 8 | 3.06 |
| 3-A | SUB- 10 | 3.09 | 3-A | PI- 8 | 3.12 |
| 3-B | SUB- 10 | 3.11 | 3-B | PI- 8 | 3.12 |
| 4-A | CHI-10 | 3.22 | 4-A | SUB- 8 | 3.02 |
| 4-B | CHI-10 | 3.23 | 4-B | SUB- 8 | 3.03 |
| 5-A | PO- 8 | 3.06 | 5-A | SUB- 10 | 3.08 |
| 5-B | PO- 8 | 3.06 | 5-B | SUB- 10 | 3.08 |
| 6-A | SUB- 8 | 3.07 | 6-A | PO- 10 | 3.10 |
| 6-B | SUB- 8 | 3.09 | 6-B | PO- 10 | 3.12 |
| 7-A | PI- 10 | 2.95 | 7-A | PI- 10 | 2.91 |
| 7-B | PI- 10 | 2.97 | 7-B | PI- 10 | 2.90 |
| 8-A | PI- 8 | 3.01 | 8-A | TA- 8 | 2.98 |
| 8-B | PI- 8 | 3.00 | 8-B | TA- 8 | 2.98 |
| 9-A | SUB- 8 | 3.16 | 9-A | TA- 10 | 2.97 |
| 9-B | SUB- 8 | 3.15 | 9-B | TA- 10 | 2.95 |
| 10-A | TA- 10 | 3.04 | 10-A | SUB- 10 | 2.96 |
| 10-B | TA- 10 | 3.04 | 10-B | SUB- 10 | 2.96 |

Cuadro N° 19. Resultados de Grados Brixen muestras de bebidas carbonatadas sin hielo.

| Total de muestras (Primer Muestreo) | Código de Restaurante | Grados Brix | Total de muestras (Segundo Muestreo) | Código de Restaurante | Grados Brix |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------|
| 1-A | TA- 10 | 10 | 1-A | PO- 8 | 10 |
| 1-B | TA- 10 | 10 | 1-B | PO- 8 | 10 |
| 2-A | PO- 10 | 10 | 2-A | CHI- 8 | 11 |
| 2-B | PO- 10 | 10 | 2-B | CHI- 8 | 11 |
| 3-A | SUB- 10 | 11 | 3-A | PI- 8 | 11 |
| 3-B | SUB- 10 | 11 | 3-B | PI- 8 | 11 |
| 4-A | CHI-10 | 11 | 4-A | SUB- 8 | 11 |
| 4-B | CHI-10 | 11 | 4-B | SUB- 8 | 11 |
| 5-A | PO- 8 | 10 | 5-A | SUB- 10 | 11 |
| 5-B | PO- 8 | 10 | 5-B | SUB- 10 | 11 |
| 6-A | SUB- 8 | 10 | 6-A | PO- 10 | 11 |
| 6-B | SUB- 8 | 10 | 6-B | PO- 10 | 11 |
| 7-A | PI- 10 | 11 | 7-A | PI- 10 | 11 |
| 7-B | PI- 10 | 11 | 7-B | PI- 10 | 11 |
| 8-A | PI- 8 | 10 | 8-A | TA- 8 | 10 |
| 8-B | PI- 8 | 10 | 8-B | TA- 8 | 10 |
| 9-A | SUB- 8 | 10 | 9-A | TA- 10 | 10 |
| 9-B | SUB- 8 | 10 | 9-B | TA- 10 | 10 |
| 10-A | TA- 10 | 10 | 10-A | SUB- 10 | 10 |
| 10-B | TA- 10 | 10 | 10-B | SUB- 10 | 10 |

Cuadro N° 20. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de hielo.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | Recuento Bacterias Mesofilas (UFC/mL) | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | Recuento Bacterias Mesofilas (UFC/mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| Hielo 1-A | PO-10 | 0 | Hielo 1-A | PI-8 | 0 |
| Hielo 1-B | PO-10 | 0 | Hielo 1-B | PI-8 | 0 |
| Hielo 2-A | CHI-10 | 0 | Hielo 2-A | SUB-8 | 0 |
| Hielo 2-B | CHI-10 | 0 | Hielo 2-B | SUB-8 | 0 |

Cuadro N° 21. Resultados de Microorganismos Coliformes Totales en muestras de hielo.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Totales UFC/100ml | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Totales UFC/100ml |
|-------------------------------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Hielo 1-A | PO-10 | 4 | Hielo 1-A | PI-8 | 10 |
| Hielo 1-B | PO-10 | 3 | Hielo 1-B | PI-8 | 11 |
| Hielo 2-A | CHI-10 | 1 | Hielo 2-A | SUB-8 | 0 |
| Hielo 2-B | CHI-10 | 2 | Hielo 2-B | SUB-8 | 0 |

Cuadro N° 22. Resultados de Microorganismos coliformes fecales en muestras de hielo.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Fecales UFC/100 mL | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Fecales UFC/ 100 mL |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Hielo 1-A | PO-10 | 0 | Hielo 1-A | PI-8 | 10 |
| Hielo 1-B | PO-10 | 0 | Hielo 1-B | PI-8 | 11 |
| Hielo 2-A | CHI-10 | 0 | Hielo 2-A | SUB-8 | 0 |
| Hielo 2-B | CHI-10 | 0 | Hielo 2-B | SUB-8 | 0 |

Cuadro N° 23. Resultados de *Escherichia coli* en muestras de hielo.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | <i>Escherichia coli</i> (UFC/100 mL) | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | <i>Escherichia coli</i> (UFC/ 100 mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| Hielo 1-A | PO-10 | 0 | Hielo 1-A | PI-8 | 20 |
| Hielo 1-B | PO-10 | 0 | Hielo 1-B | PI-8 | 25 |
| Hielo 2-A | CHI-10 | 0 | Hielo 2-A | SUB-8 | 0 |
| Hielo 2-B | CHI-10 | 0 | Hielo 2-B | SUB-8 | 0 |

Cuadro N° 24. Resultados de *Pseudomona aureginos* en muestras hielo.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | <i>Pseudomona aureginos a</i> | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | <i>Pseudomona aureginos a</i> |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Hielo 1-A | PO-10 | Ausencia | Hielo 1-A | PI-8 | Ausencia |
| Hielo 1-B | PO-10 | Ausencia | Hielo 1-B | PI-8 | Ausencia |
| Hielo 2-A | CHI-10 | Ausencia | Hielo 2-A | SUB-8 | Ausencia |
| Hielo 2-B | CHI-10 | Ausencia | Hielo 2-B | SUB-8 | Ausencia |

Cuadro N° 25. Resultados de Microorganismos mesófilos aerobios en muestras de vasos vacíos.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | Recuento Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/100mL) | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | Recuento Bacterias Mesofilas Aerobias (UFC/100mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|---|--------------------------------------|-----------------------|---|
| Vaso vacío 1-A | PO-10 | 0 | Vaso vacío 1-A | CHI-8 | 0 |
| Vaso Vacío 1-B | PO-10 | 0 | Vaso Vacío 1-B | CHI-8 | 0 |
| Vaso Vacío 2-A | PI-10 | 0 | Vaso Vacío 2-A | SUB-8 | 0 |
| Vaso Vacío 2-B | P1-10 | 0 | Vaso Vacío 2-B | SUB-8 | 0 |

Cuadro N° 26. Resultados de Microorganismos Coliformes Totales en muestras de vasos vacíos.

| Total de muestras (Primer muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Totales (UFC/100mL) | Total de muestras (Segundo muestreo) | Código de Restaurante | Coliformes Totales (UFC/100mL) |
|-------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Vaso vacío 1-A | PO-10 | 0 | Vaso vacío 1-A | CHI-8 | 0 |
| Vaso Vacío 1-B | PO-10 | 0 | Vaso Vacío 1-B | CHI-8 | 0 |
| Vaso Vacío 2-A | PI-10 | 0 | Vaso Vacío 2-A | SUB-8 | 0 |
| Vaso Vacío 2-B | P1-10 | 0 | Vaso Vacío 2-B | SUB-8 | 0 |

ANEXO N° 12

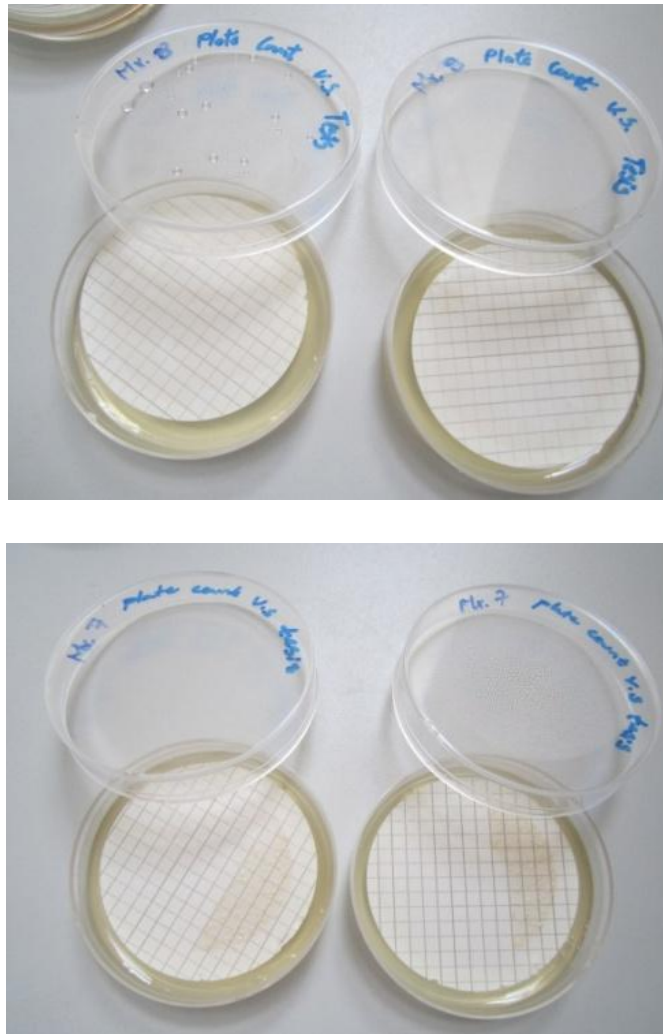


Figura N° 20 Placas con Agar PlateCount con crecimiento de levaduras.

ANEXO N° 13

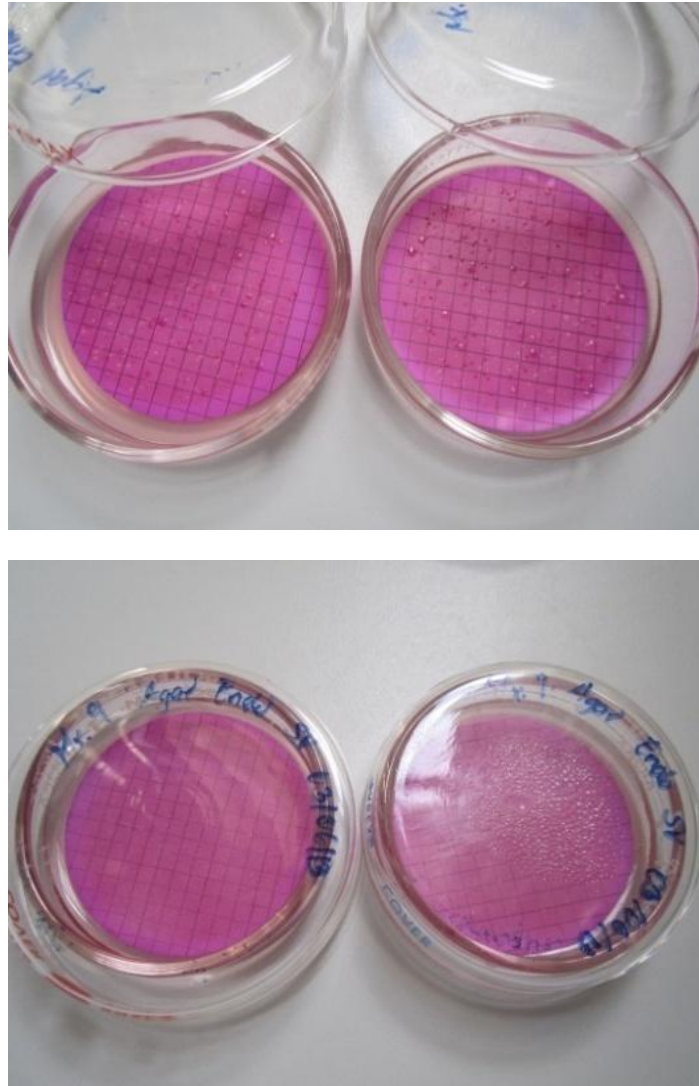


Figura N° 21 Placas con Agar Endo con crecimiento de Coliformes Totales.

ANEXO N° 14



Figura N° 22 Equipo utilizado para la determinación de pH.

ANEXO N° 15

PREPARACION DE REACTIVOS (14, 33, 34, 36, 37, 38)

Caldo *Esherichia coli* (EC)

Se emplea para el estudio de procesos de fermentación de la lactosa y en especial para la investigación de microorganismos Coliformes, especialmente *E. coli* en aguas, leches y productos alimenticios. No contiene indicadores ni inhibidores.

Fórmula (por litro)

Composición (g/L):

| | |
|--------------------------|-----|
| Lactosa..... | 5,0 |
| Peptona de Gelatina..... | 5,0 |
| pH: 6,9±0,2 | |
| Extracto de Carne..... | 3,0 |

Preparación

Disolver 13 g en 1 L de agua destilada. Distribuir en tubos de ensayo con campana de Durham y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar lo más rápidamente posible.

Modo de empleo

Utilizar el medio según los fines de aplicación previstos. Incubar a 37°C de 24 a 48 horas. La Farmacopea Europea 6.0 lo indica para preparar solución madre en el estudio de Enterobacterias. Habitualmente se incuba durante 2-5 horas a 35-37 °C y se resiembró una porción en Caldo EE (Cód.: 413829). Incubar a 35±2°C durante 18-48 horas y subcultivar en VRBGL Agar (Cód.: 416255).

Agar PlateCount

Se emplea para el recuento microbiano en leches, carnes, productos alimenticios en general, productos farmacéuticos, productos cosméticos y cualquier tipo de muestra.

Fórmula (por litro)

| | |
|---------------------------|------|
| Extracto de Levadura..... | 2,5g |
|---------------------------|------|

D(+)-Glucosa.....1,0g
Peptona de Caseína.....5,0g
Agar.....15,0g
pH final:7,0 ±0,2

Preparación

Suspender 23,5 g en 1 L de agua destilada. Calentar y agitar hasta disolución total. Distribuir y esterilizar a 121°C durante 15 minutos

Modo de empleo

Procédase según determinación y tipo de muestra que se analice.

Agar Papa Dextrosa

El Agar Dextrosa y Papa es un medio utilizado para el cultivo de hongos y levaduras a partir de muestras de alimentos, derivados de leche y productos cosméticos.

Composición (g/Litro)

Infusión de Papa200.0
Dextrosa.....20.0
Agar Bacteriológico.....15.0
pH 5.6 ± 0.2.

Preparación

Método: Suspender 39 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en placas de Petri estériles.

Agua Peptonada Estéril

Medio usado como diluyente y para enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario.

Fundamento

Medio de enriquecimiento no selectivo, recomendado para ser utilizado en lugar de solución fisiológica para recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos, a los que ha sido sometido el alimento. Si es utilizado como medio base para la fermentación de hidratos de carbono, se debe adicionar el indicador de Andrade y el hidrato de carbono en cuestión.

Fórmula (en gramos por litro)

Peptona de carne.....10.0

Cloruro de sodio.....5.0

Preparación

Suspender 15 g de polvo en 1 litro de agua destilada. Mezclar bien y distribuir.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

pH final: 7.2 ± 0.2

Siembra

Por inoculación directa del material en estudio.

Como diluyente: realizar las diluciones 1:10 y 1:100, dependiendo del uso que se le quiera dar.

Incubación

Aeróbica, a 35-37 °C durante 18-24 horas.

Características del medio:

Medio preparado: ámbar claro.

Almacenamiento:

Medio deshidratado: a 10-35 °C.

Medio preparado: a 2-8 °C.

Agar EMB

Este medio (también denominado E.A.M.) es utilizado para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias

nutricionales. Permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae.

Fundamento

Este medio combina las fórmulas de Holt-Harris y Teague con la de Levine, para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. Muchas cepas de *Escherichiacoli* y *Citrobacterspp.* presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras. Este medio permite el crecimiento de *Candidaspp.* como colonias rosadas y puntiformes; la siembra en profundidad permite el desarrollo de clamidosporas en *C. albicans.* *Enterococcusspp.* crece en este medio como colonias puntiformes y transparentes, mientras que *Acinetobacterspp.* y otras bacterias oxidativas pueden dar colonias de color azul lavanda; esto puede ocurrir aunque las cepas no sean capaces de acidificar a partir de lactosa al 0.5% y ello se debe a la incorporación de azul de metileno a sus membranas. En este medio se obtiene además, un buen desarrollo de especies de *Salmonella* y *Shigella.*

Fórmula (en gramos por litro)

| | |
|--------------------------|-------|
| Peptona..... | 10.0 |
| Lactosa..... | 5.0 |
| Sacarosa..... | 5.0 |
| Fosfato dipotásico | 2.0 |
| Agar..... | 13.5 |
| Eosina..... | 0.4 |
| Azul de metileno..... | 0.065 |

pH final: 7.2 ± 0.2

Instrucciones:

Suspender 36 g del polvo en un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos; mezclar, calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos hasta su disolución. Esterilizar en autoclave a no más de 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°C y distribuir agitando suavemente.

Caldo Verde Bilis Brillante (BVB)

Medio utilizado para el aislamiento e identificación de coliformes y es un indicador del grado de contaminación de la muestra.

Coliformes: Los coliformes se definen como bacterias de morfología bacilar o cocobacilar, Gram negativos aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa negativo, no formadores de esporas, fermentadores de lactosa, con producción de gas y ácido a 37°C.

Utilización:

El caldo bilis y verde brillante se utiliza como test de presunción para la investigación de coliformes en la leche y otros alimentos.

Este medio inhibe el crecimiento de las bacterias Gram + facilitando el crecimiento de coliformes. La aparición de gas en el medio antes de 48H indicará la fermentación de la lactosa y significará la presencia de coliformes. La presencia de gas se comprueba con la campana de Durham.

Composición

Peptona10 g
Lactosa10 g
Bilis de buey.....20 g
Verde brillante.....0,0133 g
Agua destilada.....1 litro

Autoclave 15 minutos a 121 ° C. PH final, 7.2 ± 0.1 .

Preparación:

Disolver peptona y lactosa en 500 ml de agua destilada. Añadir 20 g de bilis de buey deshidratada disuelto en 200 ml de agua destilada. El pH de esta solución debe ser 7,0-7,5. Mezclar y añadir agua hasta completar 975 ml. Ajustar el pH a 7,4. Añadir 13,3 ml de 0,1% de verde brillante acuosa en agua destilada. Añadir agua destilada hasta 1 litro.

Dispensar en tubos de fermentación, asegurándose de que el nivel del líquido cubre viales invertidos.

Agar Endo

El agar Endo es un medio de cultivo diferencial y ligeramente selectivo utilizado para la detección de coliformes y otros microorganismos entéricos.

Fundamento

La selectividad del agar Endo se debe a la combinación de sulfito de sodio y fucsina básica que inhibe ligeramente el crecimiento de los microorganismos gram positivos.

Colonias típicas

Los coliformes fermentadores de lactosa producen colonias rosadas a rojas, mientras que las colonias de los microorganismos que no pueden fermentar este carbohidrato son incoloras o rosado pálido. Las colonias típicas de E. coli en el Agar Endo son rosadas con un brillo verde metálico característico, debido a la elevada producción de ácidos y aldehídos como producto de la fermentación de la lactosa.

Composición

| | |
|-----------------------------|--------|
| Extracto de levadura..... | 1,2 g |
| Casitona otripticasa..... | 3,7 g |
| Thiopeptone o thiotone..... | 3,7 g |
| Triptosa..... | 7, 5 g |

| | |
|---|--------|
| Lactosa..... | 9,4 g |
| Hidrógeno fosfato dipotásico, K ₂ HPO ₄ | 3,3 g |
| El potasio dihidrógeno fosfato, KH ₂ PO ₄ | 1,0 g |
| Cloruro de sodio, NaCl..... | 3,7 g |
| Desoxicolato de sodio..... | 0,1 g |
| Lauril sulfato de sodio..... | 0,05 g |
| Sulfito de sodio, Na ₂ SO ₃ | 1,6 g |
| Fucsina básica..... | 0,8 g |
| Agar..... | 15,0 g |
| Agua de grado reactivo..... | 1 L |

Preparación:

Rehidrate producto en 1 litro de agua que contiene 20 ml de etanol al 95%. No use etanol desnaturalizado, que reduce el crecimiento del fondo y coliformes tamaño de la colonia. Llevar a ebullición cerca de disolver el agar, a continuación, retire inmediatamente del fuego y enfriar a 45 a 50 ° C. No esterilizar por autoclave. PH final 7,2 ± 0,2. Prescindir de 5 - a 7 - cantidades mL en la sección inferior de 60 mm placas de Petri estériles. Si se utilizan platos de cualquier otro tamaño, ajustar la cantidad para dar una profundidad equivalente de 4-5 mm. No exponga placas vertidas a la luz solar directa y refrigera en los oscuros preferiblemente en bolsas de plástico selladas para reducir la pérdida de humedad. Descartar medio sin usar después de 2 semanas o más pronto si hay evidencia de la pérdida de humedad, contaminación o el deterioro del medio (oscurecimiento del medio).

Agar Cetrimida

Uso

Medio utilizado para el aislamiento selectivo de *Pseudomonasaeruginosa* y de otras especies del género

Fundamento

Su formulación permite el crecimiento selectivo de *Pseudomonasaeruginosa* y estimula la formación de pigmentos. Es éste un medio muy semejante al King A, en el cual la peptona de gelatina aporta los nutrientes para el desarrollo microbiano. el cloruro de magnesio y el sulfato de potasio promueven la formación de piocianina, pioverdina, piomelanina y fluoresceína de *P. aeruginosa*. La cetrimida es un detergente catiónico que actúa como agente inhibidor, libera el nitrógeno y el fósforo de las células de casi toda la flora acompañante, aunque inhibe también algunas especies de *Pseudomonas*. El agar es el agente solidificante.

Fórmula (en gramos por litro)

| | |
|--------------------------|------|
| Peptona de gelatina..... | 20.0 |
| Cloruro de magnesio..... | 1.4 |
| Sulfato de potasio..... | 10.0 |
| Cetrimida..... | 0.3 |
| Agar..... | 13.6 |

pH final: 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 45,3 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Agregar 10 ml de glicerina. Dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto para disolución total.

Distribuir en tubos u otros recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Almacenamiento

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

Interpretación de los resultados

Observar el crecimiento microbiano, las características de las colonias y la producción de pigmentos.

La presencia de un color verde-azulado corresponde a producción de piocianina, mientras que un color verde corresponde a la producción de pioverdina y un color rosa claro, rojizo o marrón oscuro corresponde a la producción de piorrubina.

Examinar las placas bajo luz ultravioleta, ya que la producción de fluoresceína se observa de color amarillo verdoso brillante que difunde en el agar a partir del crecimiento microbiano.

Caldo Casoy

Medio de cultivo universal, exento de sustancias inhibidoras y de indicadores, concebidas para su utilización en un amplio espectro de aplicaciones. Por su rica y abundante base nutritiva, este medio de cultivo es adecuado para el cultivo de microorganismos exigentes.

Fórmula (gramos por Litro)

| | |
|---------------------------------|------|
| Peptona de caseína..... | 17.0 |
| Peptona de harina de soja..... | 3.0 |
| D (+) Glucosa..... | 2.5 |
| Cloruro sódico..... | 5.0 |
| Hidrogenofosfatodipotásico..... | 2.5 |

Preparación

Disolver 30 g/Litro y esterilizar en autoclave (15min. A 121 °C) pH: 7.3± 0.1

Hidróxido de Sodio, Normal (1N)
NaOH, 40,00

40,00 g en 1000 mL

Disolver 162 g de hidróxido de sodio en 150 mL de agua libre de dióxido de carbono, enfriar la solución a temperatura ambiente y filtrar a través de papel de filtro endurecido. Transferir 54,5 mL del filtrado transparente a un recipiente de poliolefina hermético y diluir con agua libre de dióxido de carbono a 1000 mL.

Pesar con exactitud aproximadamente 5 g de biftalato de potasio, previamente triturados y secados a 120° durante 2 horas, y disolver en 75 mL de agua libre de dióxido de carbono. Agregar 2 gotas de fenolftaleína SR y valorar con la solución de hidróxido de sodio hasta obtener un color rosa permanente. Cada 204,2 mL de biftalato de potasio equivalen a 1 mL de hidróxido de sodio 1N.

$$N = \frac{\text{g KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4}{0,20423 \times \text{mL NaOH Solución}}$$

NOTAS—(1) Las soluciones de hidróxidos alcalinos absorben dióxido de carbono cuando se exponen al aire. Deben conservarse en frascos con tapones adecuados bien ajustados con un tubo relleno de una mezcla de hidróxido de sodio y cal (tubos de cal sodada) que absorbe el dióxido de carbono, para que el aire que ingrese en el recipiente pase a través de este tubo. (2) Preparar las soluciones de menor concentración (por ejemplo, 0,1N; 0,01N) diluyendo cuantitativamente volúmenes medidos con exactitud de la solución 1N con suficiente agua exenta de dióxido de carbono para obtener la concentración deseada. Volver a normalizar la solución con frecuencia.

Fenolftaleína 1%

Pesar 10 g de fenolftaleína y adicionar en un litro de alcohol isopropílico.

ANEXO N° 16

**INFORME Y DOCUMENTACION PARA EL MINISTERIO DE SALUD
(MINSAL)**



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



San Salvador, Septiembre de 2013

Ing. Arnoldo Rafael Cruz López
Jefe de Saneamiento Ambiental
Ministerio de Salud
MINSAL
Presente



Reciba un cordial saludo, esperando que tenga éxitos durante sus labores diarias. El motivo de la presente es para presentar a usted los resultados de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos realizados a 28 muestras entre bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos, comercializados en restaurantes de comida rápida ubicados en los dos Food Court de Metrocentro de San Salvador, ya que fue el objetivo de nuestro trabajo de graduación el cual lleva el título de **“DETERMINACION MICROBIOLÓGICA, pH, ACIDEZ Y GRADOS BRIX EN BEBIDAS CARBONATADAS DE MAQUINAS DISPENSADORAS EN LOS FOOD COURT DE METROCENTRO, SAN SALVADOR”** y para dar cumplimiento a uno de nuestros objetivos específicos que era el de dar a conocer a las autoridades del Ministerio de Salud (MINSAL), los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos y fisicoquímicos de las muestras realizadas con la finalidad de que ustedes los conozcan y puedan tomar las consideraciones necesarias. Los resultados obtenidos de las bebidas carbonatadas se compararon con la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, y las muestras de hielo se analizaron según la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”.

Consideramos que los resultados obtenidos son de mucha importancia, para que puedan vigilar la inocuidad de las bebidas carbonatadas y hielo en los restaurantes de comida rápida ubicados en estos establecimientos de Metrocentro.

Agradeciendo de antemano su atención.
Atentamente

F. Mardi Zelaya
Lic. Maria Elsa Romero de Zelaya

F. Mardi
MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez
Docentes Directoras

F. Sara
Sara Nohemy Carbajal Torres

F. Vanessa
Vanessa Lissette Blanco Mejía

Analistas Egresadas de la Facultad de Química y Farmacia

RESUMEN

Nuestro trabajo de graduación trata sobre la **“DETERMINACION MICROBIOLOGICA, pH, ACIDEZ Y GRADOS BRUX EN BEBIDAS CARBONATADAS DE MAQUINAS DISPENSADORAS EN LOS FOOD COURT DE METROCENTRO, SAN SALVADOR”** ya que es importante conocer si la población que visita estos restaurantes está poniendo en riesgo su salud, al consumir bebidas carbonatadas que no presentan la calidad necesaria para su consumo. Es importante conocer si estos restaurantes de comida rápida están cumpliendo realmente con las normas de calidad y los límites microbiológicos que especifica la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, y en el caso de las muestras de hielo los resultados se compararon según la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.04.00 “Hielo Especificaciones y Buenas Prácticas de Fabricación”. Si las bebidas carbonatadas de máquinas dispensadoras están fuera de los límites permitidos, pueden ocasionar algún tipo de enfermedad a la población, así también si a las máquinas dispensadoras no se les da un adecuado mantenimiento de limpieza y desinfección pueden albergar microorganismos y causar la contaminación de las bebidas y por lo tanto pueden ocasionar enfermedades a las personas que las consumen.

Por medio de una lista de chequeo se verificaron algunas de las condiciones sanitarias y ambientales en que se encuentran las máquinas dispensadoras de bebidas carbonatadas de los restaurantes de comida rápida muestreados, a la vez se logró verificar algunas de las normas de higiene del personal manipulador y se observó que no en todos los restaurantes se cumplen en su totalidad, por ejemplo el uso de gorro al momento de dispensar la bebida, también que la misma persona que la dispensa es la cajera por lo que está en contacto con el dinero. Se realizaron dos muestreos en diferentes períodos de

tiempo, donde hay más afluencia o demanda por parte de la población que visita estos lugares, y se tomaron un total de 20 muestras de bebidas carbonatadas (10 de sabor Coca Cola y 10 Pepsi Cola), dispensadas en cinco restaurantes de comida rápida ubicados en los Food Court de Metrocentro de San Salvador, también se tomaron 4 muestras de hielo y 4 muestras de vasos vacíos. Los restaurantes seleccionados fueron los que se encuentran tanto en la Octava como décima etapa de Metrocentro. A las bebidas carbonatadas se le realizaron análisis fisicoquímicos por duplicado: Determinación de pH, Acidez y Grados Brix, y también se realizaron análisis microbiológicos por duplicado: Recuento de mesófilos aerobios, coliformes y hongos. A las muestras de hielo se le realizaron análisis microbiológicos por duplicado: Recuento de mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli*, *Pseudomonaaureginosa*. Los análisis se realizaron en el laboratorio de microbiología de alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y en el Laboratorio de Bioquímica y Contaminación Ambiental ambos de la Facultad de Química y Farmacia en la Universidad de El Salvador, en el periodo comprendido de Mayo a Junio del presente año.

Se utilizaron las siguientes normas:

Por no existir una Normativa en nuestro país de Bebidas Carbonatadas se utilizará como referencia la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, la cual fue aprobada el 11 de Julio de 2000 por la Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad en la Ciudad de Managua, Nicaragua, y publicada en la Gaceta Nº 177, el 19 de Septiembre del 2001.

Requisitos fisicoquímicos de las aguas gaseosas con sabor.

| CARACTERÍSTICAS | MINIMO | MÁXIMO |
|--|--------|--------|
| Grado Brix (porcentaje de sólidos solubles como sacarosa. | 8.0 | 15.0 |
| Acidez expresada en gramos de ácido cítrico anhídrido por cada 100 cm ³ de muestra. | 0.003 | 0.5 |
| pH | 2.4 | 4.5 |

Requisitos Microbiológicos. (Según la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas).

| Punto de Muestreo | Microorganismos | Recuento Máximo Permitido |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| Bebida terminada | Recuento total de bacterias (UFC/ml) | 50 |
| Bebida terminada | Mohos (UFC/ml) | 5 |
| Bebida terminada | Coliformes (UFC/100ml) | 2 |

NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA (NSO 13.07.04.00) HIELO. ESPECIFICACIONES Y BUENAS PRACTICAS DE FABRICACION.

Valores Máximos Admisibles para Calidad Microbiológica del Hielo

| Parámetro | Límite Máximo Permisible | | |
|---|--------------------------|-------------------|-----------------|
| | Técnicas | | |
| | Filtración por Membrana | Tubos múltiples | Placa Vertida |
| Bacterias Coliformes Totales | 0 UFC/100 mL | < 1,1 NMP/ 100 mL | — |
| Bacterias Coliformes Fecales | 0 UFC/ 100 mL | Negativo | — |
| <i>E. coli</i> | 0UFC/100 mL | Negativo | — |
| Conteo de bacterias heterotrofas y aerobias mesófilas | 100 UFC/mL | — | 100 UFC/ 100 mL |
| Organismos Patógenos | AUSENCIA | | |

Y los resultados de las muestras de bebidas carbonatadas, hielo y vasos vacíos, se presentan en los siguientes cuadros resumen:

RESUMEN DE RESULTADOS DE BEBIDAS CARBONATADAS PRIMER MUESTREO

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Mohos | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | Acidez (g Acido Cítrico/ 100 mL) | pH | Grados Brix |
|---------------------------|-------------------|--|----------|--------------------|--------------------|----------------------------------|----------|-------------|
| Recuento Máximo Permitido | --- | 50 UFC/ mL | 5 UFC/mL | 2 UFC/100 mL | 2 UFC/100 mL | --- | --- | --- |
| Rango Físicoquímico | --- | --- | --- | --- | --- | 0.003- 0.5 | 2.4- 4.5 | 8.0- 15.0 |
| TA-10 | 1 | --- | --- | --- | --- | 0.11 | 2.95 | 10 |
| PO-10 | 2 | --- | --- | 6 | --- | 0.05 | 3.12 | 10 |
| SUB-10 | 3 | --- | --- | --- | --- | 0.12 | 3.10 | 11 |
| CHI-10 | 4 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.22 | 11 |
| PO- 8 | 5 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.06 | 10 |
| SUB-8 | 6 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.08 | 10 |
| PI-10 | 7 | --- | --- | --- | --- | 0.06 | 2.96 | 11 |
| PI- 8 | 8 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.05 | 10 |
| SUB- 8 | 9 | --- | --- | 12 | --- | 0.07 | 3.16 | 10 |
| TA-10 | 10 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.04 | 10 |

RESUMEN DE RESULTADOS DE BEBIDAS CARBONATADAS SEGUNDO MUESTREO

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Mohos | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | Acidez (g Acido Cítrico/ 100 mL) | pH | Grados Brix |
|---------------------------|-------------------|--|----------|--------------------|--------------------|----------------------------------|----------|-------------|
| Recuento Máximo Permitido | --- | 50 UFC/ mL | 5 UFC/mL | 2 UFC/100 mL | 2 UFC/100 mL | --- | --- | --- |
| Rango Físicoquímico | --- | --- | --- | --- | --- | 0.003- 0.5 | 2.4- 4.5 | 8.0- 15.0 |
| PO- 8 | 1 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 3.11 | 10 |
| CHI- 8 | 2 | --- | --- | --- | --- | 0.09 | 3.06 | 11 |
| PI- 8 | 3 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 3.12 | 11 |
| SUB-8 | 4 | --- | --- | 24 | --- | 0.09 | 3.03 | 11 |
| SUB-10 | 5 | --- | --- | --- | --- | 0.11 | 3.08 | 11 |
| PO- 10 | 6 | --- | --- | 74 | --- | 0.07 | 3.22 | 11 |
| PI- 10 | 7 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 2.91 | 11 |
| TA- 8 | 8 | --- | --- | --- | --- | 0.08 | 2.98 | 10 |
| TA- 10 | 9 | --- | --- | --- | --- | 0.07 | 2.96 | 10 |
| SUB-10 | 10 | --- | --- | --- | --- | 0.09 | 2.96 | 10 |

(---): Resultado negativo.

**RESUMEN DE RESULTADOS DE HIELO
PRIMER MUESTREO**

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomona aureginosa</i> |
|---|-------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------|
| Límite Microbiológico NSO 13.07.04.00 (Hielo) | | 100 UFC/mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 MI | 0 UFC/100 mL | Ausencia |
| PO- 10 | 1 | --- | 4 | --- | --- | Ausencia |
| CHI- 10 | 2 | --- | 2 | --- | --- | Ausencia |

**RESUMEN DE RESULTADOS DE HIELO
SEGUNDO MUESTREO**

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomona aureginosa</i> |
|---|-------------------|--|--------------------|--------------------|-------------------------|------------------------------|
| Límite Microbiológico NSO 13.07.04.00 (Hielo) | | 100 UFC/mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | 0 UFC/100 mL | Ausencia |
| PI- 8 | 1 | --- | 11 | 11 | 24 | Ausencia |
| SUB- 8 | 2 | --- | --- | --- | --- | Ausencia |

(---): Resultado negativo.

**RESUMEN DE RESULTADOS DE VASOS VACIOS
PRIMER MUESTREO**

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales |
|-------------|-------------------|--|--------------------|--------------------|
| PO- 10 | 1 | --- | --- | --- |
| PI-10 | 2 | --- | --- | --- |

**RESUMEN DE RESULTADOS DE VASOS VACIOS
SEGUNDO MUESTREO**

| Restaurante | Número de Muestra | Recuento Total de Bacterias Mesofilas Aerobias | Coliformes Totales | Coliformes Fecales |
|-------------|-------------------|--|--------------------|--------------------|
| CHI- 8 | 1 | --- | --- | --- |
| SUB- 8 | 2 | --- | --- | --- |

(---): Resultado negativo.

Se concluye que los resultados demuestran que siete de las 20 muestras recolectadas de bebidas carbonatadas, no están cumpliendo con la inocuidad requerida por la Norma Técnica Obligatoria denominada NTON 03 030-00 Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Carbonatadas, al igual que tres de cuatro muestras recolectadas de hielo, en donde una de ellas dio positivo la presencia de ***Escherichia coli***, lo que puede indicar que el personal no está tomando las medidas higiénicas necesarias al momento de manipular estas bebidas, o que el agua que se utiliza para la elaboración del hielo que se dispensa de las máquinas de bebidas carbonatadas presenta contaminación de origen fecal. Se tomaron muestras de vasos vacíos con el objetivo de descartar que estos fueran la contaminación de este tipo de bebidas. Del total de las 20 muestras de bebidas carbonatadas, 4 muestras (20%) resultaron NO CONFORMES debido a la presencia de microorganismos coliformes y el 80% resultaron CONFORMES para microorganismos mesófilos aerobios, mohos y coliformes fecales. Del total de las 4 muestras de hielo, tres muestras (75%) resultaron NO CONFORMES por la presencia de microorganismos coliformes totales, el 25% resultó contaminado por la presencia de microorganismos coliformes fecales y ***Escherichia coli*** y el 100% resultó CONFORME para microorganismos mesófilos aerobios y ***Pseudomonas aureginosa***. De las 4 muestras tomadas de los vasos vacíos el 100% de ellas resultaron CONFORMES, descartando que estos podrían ser la fuente de contaminación. Cabe recalcar que dentro de las muestras NO CONFORMES únicamente no cumplen los límites microbiológicos ya que en el caso de los parámetros fisicoquímicos si se encuentran dentro del rango permitido.

Por lo anterior se recomienda monitorear periódicamente los restaurantes ubicados en los dos Food Court para que cumplan las buenas prácticas de higiene por parte del personal manipulador y la higiene con respecto a la limpieza y desinfección de las máquinas dispensadoras, deben realizarse análisis microbiológicos periódicos a las bebidas y agua utilizada para hielo, con

el objetivo de que los restaurantes mantengan y mejoren sus estándares de calidad según exigen las normas establecidas.