



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus
sinensis*) MEDIANTE EL RECuento DE COLIFORMES Y
Escherichia coli, EXPENDIDOS DE FORMA AMBULATORIA EN
PUNO Y JULIACA**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. FRED KEVIN RAFAEL CHURA

Bach. JESSICA CONDORI MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2024



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) MEDIANTE EL RECuento DE COLIFORMES Y *Escherichia coli*, EXPENDIDOS DE FORMA AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA

AUTOR

**FRED KEVIN RAFAEL CHURA JESSICA C
ONDORI MAMANI**

RECuento DE PALABRAS

27599 Words

RECuento DE CARACTERES

150340 Characters

RECuento DE PÁGINAS

135 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

4.4MB

FECHA DE ENTREGA

Jul 30, 2024 3:11 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jul 30, 2024 3:13 PM GMT-5

● 18% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Blgo. M.Sc. Eva Laura Chauca
DOCENTE PRINCIPAL D.E. FCCBB - UNA
COLBIOP Nº 905

Resumen



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) MEDIANTE
EL RECUENTO DE COLIFORMES Y *Escherichia coli*, EXPENDIDOS DE FORMA
AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. FRED KEVIN RAFAEL CHURA

Bach. JESSICA CONDORI MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Dra. MARIA TRINIDAD ROMERO TORRES

PRIMER MIEMBRO:


Mg. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA

SEGUNDO MIEMBRO:


M.Sc. JUAN PABLO HUARACHI VALENCIA

DIRECTOR / ASESOR:


Blgo. M.Sc. EVA LAURA CHAUCA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 02/08/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnóstico y Epidemiología




V^oB^o Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



DEDICATORIA

A mi amado padre, Don Lucio Modesto Rafael Rodríguez por ser la razón de mis estudios, inspiración de ser tan grande y fuerte como él. A mi amada madre, Francisca Chura Deza, la razón de mi esfuerzo y enseñarme con ternura y comprensión a tener paciencia frente a la adversidad. A mi querida Hermana, Dana Liz Rafael Chura por ser la alegría de todos mis días, por cuidarme y enseñarme el valor de la responsabilidad.

A mi eterno amigo y mentor, Dr. Buenaventura Optaciano Carpio Vásquez, por enseñarme el valor de la perseverancia, constancia en la investigación formativa, dedicación en la didáctica de la educación, apreciación al criterio constructivo, y excepcional admiración a la observación académica y científica. Para el mi más grande aprecio y sobresalientes logros y esfuerzos.

A nuestra directora de Tesis, Blgo. M.Sc. Eva Laura Chauca de Meza por su instrucción académica sobre la microbiología de los alimentos, Su excepcional cualidad para la educación formativa en profesionales probos e inefables, su sobresaliente confianza y total apoyo incondicional en la formación y desempeño hacia los egresados de nuestra carrera profesional, para ella nuestro más grande respeto e incalculable cariño.

R.Ch.F.K.



DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto con buena salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad.

A mis familiares.

A mis amados Padres, Martin Condori Chambi y Basilia Mamani Chambi, por haberme apoyado en todo momento, a mi querida tía, Rubela Condori Chambi por sus consejos, sus valores y por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien.

A mis queridos hermanos Luz Marina, Condori Mamani y Rolando Condori Mamani por brindarme siempre su apoyo incondicional.

A mis amigos.

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y así formamos un fuerte lazo de amistad: Katia, Milene, Cesar, Kevin, Margarita, Marco (+), Juan y a todos aquellos que fueron parte directa e indirectamente de esta bonita amistad.

J. C. M.



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno por brindarnos la oportunidad de crecer académica y profesionalmente. Valoramos la oportunidad de representar con orgullo a nuestra alma mater en la investigación y las ciencias de la salud.

Agradecemos a nuestra presidenta, Dra. María Trinidad Romero Torres, y a los miembros del jurado, Mg. Diana Elizabeth Cavero Zegarra y MSc. Juan Pablo Huarachi Valencia, por sus valiosos consejos y sugerencias durante la revisión de nuestra tesis.

Expresamos nuestro profundo agradecimiento a la poderosa Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, por su invaluable instrucción en el vasto campo de la biología. Su apoyo ha sido crucial para sobresalir en microbiología y laboratorio clínico, contribuyendo significativamente a la población y a las ciencias de la salud.

A nuestros docentes, auxiliares y administrativos, quienes nos apoyaron en el ámbito académico, social, y expresión cultural, durante nuestros días de estudiante. Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento a Pepe y Gemu. Su apoyo y experiencia han sido fundamentales para perfeccionar nuestra investigación, permitiéndonos presentar un trabajo más claro y efectivo. Apreciamos profundamente su tiempo y esfuerzo dedicado para garantizar la calidad del contenido. ¡Gracias por su colaboración y apoyo continuo!

Fred Kevin Rafael Chura

Jessica Condori Mamani



ÍNDICE GENERAL

	Pag.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN	16
ABSTRACT.....	17
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1 ANTECEDENTES	20
2.2 MARCO TEÓRICO	27
2.2.1 Cultivo de la naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	27
2.2.2 Recolección de la fruta de naranja y las Buenas Prácticas Agropecuarias (BPA) y de Manufactura (BPM)	27
2.2.3 Clasificación Taxonómica.....	28
2.2.4 Descripción del fruto de la naranja	29
2.2.5 Calidad e inocuidad del zumo de frutas	37



2.2.6 Comercio ambulatorio del zumo de naranja en las ciudades de Puno y Juliaca.....	42
2.2.7 Microagentes indicadores de calidad higiénica en zumo de fruta.....	43
2.2.8 Normas técnicas que regulan la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos	47
2.2.9 Criterios Microbiológicos para jugos, zumos de fruta	50
2.2.10 Criterios de Recolección, higiene y manipulación de alimentos	51
2.2.11 Enfermedades transmitidas por la ingesta de alimentos (ETA)	54

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDIO	56
3.2 TIPO DE ESTUDIO	56
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	57
3.3.1 Criterios de inclusión	57
3.4 DISEÑO DEL ESTUDIO	58
3.5 METODOLOGÍA	58
3.5.1 Métodos de análisis	58
3.5.2 Métodos Microbiológicos	59
3.5.3 Determinación de la calidad microbiológica del zumo de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca mediante el recuento de Coliformes y <i>Escherichia coli</i>	60
3.5.4 Aislamiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i>	64
3.5.5 Pruebas de diferenciación bioquímica	66
3.5.6 Análisis estadístico.....	69



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE Coliformes Y <i>Escherichia coli</i> EN EL ZUMO DE NARANJA (<i>Citrus sinensis</i>) EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO.....	70
4.1.1	Análisis de Coliformes en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Puno.....	70
4.1.2	Análisis de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Puno.	76
4.2	DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE Coliformes Y <i>Escherichia coli</i> EN EL ZUMO DE NARANJA (<i>Citrus sinensis</i>) EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE JULIACA.	84
4.2.1	Análisis de Coliformes en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Juliaca.....	84
4.2.2	Análisis de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Juliaca.	90
4.3	CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (<i>Citrus sinensis</i>) EN LOS MERCADOS DE LAS CIUDADES DE PUNO Y JULIACA.....	100
4.3.1	Análisis de microbiológico del zumo de naranja en los mercados de la ciudades de Puno y Juliaca.....	100
V.	CONCLUSIONES.....	106
VI.	RECOMENDACIONES	107



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 108

ANEXOS..... 118

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUB LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnostico y Epidemiologia

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 02 de agosto del 2024



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Fruto de Naranja, que es expendido ambulatoriamente en Puno y Juliaca..	29
Figura 2 Promedio de los recuentos de Coliformes (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Puno....	72
Figura 3 Promedio de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Puno.	78
Figura 4 Frecuencia del contenido de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja, según la NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01 en Puno.	82
Figura 5 Promedio de los recuentos de Coliformes (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Juliaca.	86
Figura 6 Promedio de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Juliaca.	92
Figura 7 Frecuencia del contenido de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja, Según NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01 en Juliaca.	97
Figura 8 Calidad microbiológica del zumo de naranja expendido ambulatoriamente en los mercados de las ciudades de Puno - 2022 y Juliaca - 2023.....	101
Figura 9 Ubicación geográfica del Mercado Central, Mercado Bellavista, Mercado Unión y Dignidad.....	120
Figura 10 Ubicación geográfica del Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Internacional San José, Mercado Pedro Vilcapaza.	121
Figura 11 Recolección de muestras en la ciudad de Puno.	122
Figura 12 Recolección de muestras en la ciudad de Juliaca.....	122



Figura 13	Recolección rotulado y transporte de muestras.	123
Figura 14	Esterilización y preparación de medio de cultivo para Número Más Probable (NMP)	123
Figura 15	Homogenización, dilución e inoculación de las muestras en caldo Lactosado y CLVBB.	124
Figura 16	Tubos gas positivo en caldo Lactosado y Caldo Verde Brillante Bilis Lactosa.	124
Figura 17	Preparación del medio de cultivo Eosina y Azul de Metileno (EMB).	125
Figura 18	Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> en medio Eosina y Azul de Metileno (EMB).	125
Figura 19	Resultado del aislamiento de <i>Escherichia coli</i>	126
Figura 20	Preparación de medios diferenciales.	126
Figura 21	Aislamiento e inoculación en medios diferenciales.	127
Figura 22	Resultado en medios diferenciales de la presencia de <i>Escherichia coli</i>	127
Figura 23	Diagrama del método de Número Más Probable (NMP) para Coliformes y <i>Escherichia coli</i>	128
Figura 24	Diagrama de identificación de microorganismos en medios diferenciales.	129
Figura 25	Índice del Número Más Probable (NMP) para 3 diluciones.	130



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Composición nutricional de la naranja.	31
Tabla 2 Composición química de la naranja.	32
Tabla 3 Principales categorías de <i>Escherichia coli</i> que ocasionan gastroenteritis en el hombre.	46
Tabla 4 Criterios microbiológicos de calidad sanitaria para alimentos según Artículo 15- sección - 15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, Ocopa, postres, zumos, otros).	50
Tabla 5 Ensayo microbiológico, para la toma de muestras bebibles sin tratamiento térmico.	51
Tabla 6 Plan de muestreo para combinaciones de diferente grado de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación.	53
Tabla 7 Diseño de estudio para el análisis microbiológico del zumo de naranja en los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca (diciembre 2022 a febrero 2023).	58
Tabla 8 Frecuencia de Coliformes (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Puno.	70
Tabla 9 Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Puno.	76
Tabla 10 Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en Puno, según NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01.	81



Tabla 11	Frecuencia de Coliformes (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca.	84
Tabla 12	Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca.	90
Tabla 13	Frecuencia de <i>Escherichia coli</i> en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca. Según la NTS Nro. 071.....	96
Tabla 14	Determinacion de la calidad microbiológica del zumo de naranja que se expenden ambulatoriamente en los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca.	100
Tabla 15	Análisis estadístico ANOVA de Coliformes en Puno y Juliaca.	118
Tabla 16	Análisis estadístico ANOVA de <i>Escherichia coli</i> en Puno y Juliaca.	118
Tabla 17	Análisis de Chi cuadrado de <i>Escherichia coli</i> en Puno y Juliaca.	118
Tabla 18	Matriz de datos evaluados en IBM SPSS Statistics 25.....	119



ACRÓNIMOS

NMP:	Número más probable
NMP/ml:	Número más probable por mililitro
UCF:	Unidad Formadora de Colonias
UFC/ml:	Unidad Formadora de colonias sobre mililitro
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
OMS:	Organización Mundial de la Salud
MINSA:	Ministerio de Salud
DIGESA:	Dirección General de Salud Ambiental
MINAGRI:	Ministerio De Agricultura Y Riego Agrorural
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación
<i>Et al.:</i>	y colaboradores
BPM:	Buenas Prácticas de Manufactura
ETA:	Enfermedad de transmisión alimentaria
EDA:	Enfermedad Diarreica Aguda
°C:	Grados centígrados
HACCP:	Análisis de peligros y puntos críticos de control
m:	Mínimo permisible
M:	Máximo permisible
ml:	mililitros
PVA:	Puesto de venta ambulatoria



RESUMEN

El zumo de naranja exprimido es un producto muy apreciado y ampliamente consumido, accesible en toda la región de Puno. Razón por la cual, se propuso realizar la presente investigación, desarrollado entre diciembre de 2022 y febrero de 2023, con el objetivo de determinar la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca, mediante el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*. Se analizaron 30 puestos de venta ambulatoria en los mercados Bellavista, Central, y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno y Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Intencional San José y Pedro Vilcapaza de la ciudad de Juliaca; utilizando la metodología del Número Más Probable (NMP) basada en normas MINSA/DIGESA 2008. El estudio fue descriptivo, analítico y observacional, empleando métodos estadísticos como la comparación de medias, frecuencias y la prueba de Chi-cuadrado de homogeneidad. Los resultados revelaron que los Coliformes estaban presentes en el 100% de las muestras de todos los mercados, y *Escherichia coli* en el 66.6% de los PVA en Puno y 79.9% en los PVA de Juliaca. Donde los promedios de Coliformes variaron entre 6×10^2 y 2×10^3 NMP/ml, mientras que *Escherichia coli* mostró recuentos entre 7×10^1 y 2×10^2 NMP/ml. Concluyendo que la calidad del zumo de naranja excede los límites máximos permisibles según la NTS-071 MINSA/DIGESA determinando que el zumo de naranja expendido de forma ambulatoria es de mala calidad, debido a su deficiente manipulación y procesamiento, representando así un riesgo significativo para la salud pública, ya que pueden provocar enfermedades diarreicas agudas (EDAs) transmitidas por alimentos (ETAs).

Palabras claves: Calidad microbiológica, Coliformes, *Escherichia coli*, Inocuidad, Zumo de naranja.



ABSTRACT

Squeezed orange juice is a highly appreciated and widely consumed product, accessible throughout the Puno region. For this reason, it was proposed to carry out this research, developed between December 2022 and February 2023, with the objective of determining the microbiological quality of orange juice (*Citrus sinensis*) sold in the markets of Puno and Juliaca, by counting Coliforms and *Escherichia coli*. 30 stalls were analyzed in the Bellavista, Central, and Union y Dignidad markets in the city of Puno and in the Túpac Amaru International Market, San José Intentional Market and Pedro Vilcapaza Market in the city of Juliaca, using the Most Probable Number (MPN) methodology based on MINSA/DIGESA 2008 standards. The study was descriptive, analytical and observational, using statistical methods such as comparison of means, frequencies and Chi-square test of homogeneity. The results revealed that Coliforms were present in 100% of the samples from all markets, and *Escherichia coli* in 66.6% of the PVA in Puno and 79.9% in the PVA of Juliaca. Where Coliform averages varied between 6×10^2 and 2×10^3 NMP/ml, while *Escherichia coli* showed counts between 7×10^1 and 2×10^2 NMP/ml. The conclusion is that the quality of orange juice exceeds the maximum permissible limits according to NTS-071 MINSA/DIGESA, determining that the orange juice sold on an outpatient basis is of poor quality, due to poor handling and processing, thus representing a significant risk to public health, as it can cause foodborne acute diarrheal diseases (FBD).

Keywords: Microbiological quality, Coliforms, *Escherichia coli*, Safety, Orange juice.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El zumo de naranja exprimido se destaca por sus múltiples beneficios para la salud, siendo reconocido por su alto contenido de vitamina C y su sabor refrescante. Es de fácil adquisición para la población de todas las edades y condiciones sociales, y está disponible en una variedad de puntos de venta, desde supermercados y tiendas, hasta mercados locales y puestos ambulantes (León, 2012). Sin embargo, el comercio ambulatorio de este producto representa un problema significativo para la salud pública, especialmente en zonas donde la informalidad es común; la OMS ha señalado que las comidas callejeras son la principal causa de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) a nivel mundial, siendo responsables del 80% de los casos. En Perú, esta cifra se eleva al 90%, lo que genera gran preocupación. Y en la región de Puno, el zumo de naranja es vendido por numerosos comerciantes en condiciones deficientes de higiene.

Estas deficiencias favorecen la proliferación de enterobacterias como Coliformes y *Escherichia coli*, entre otras. En los últimos cinco años, el sistema de vigilancia epidemiológica reportó un promedio de 45 brotes de ETAs, con el 65% concentrados en Lima, Cajamarca, Junín, Cusco, Huánuco, Loreto y Piura. Donde la región de Puno experimentó un aumento preocupante en la incidencia de diarreas en niños menores de cinco años asociadas a enfermedades diarreicas agudas (EDAS). Entre los 2027 casos reportados, el 98.91% correspondieron a EDAS acuosas, mientras que el 1.09% fueron disintéricas. Se sospecha que el consumo de alimentos contaminados es un factor importante que contribuye a esta problemática (MINSA, 2019).

La deficiente calidad del zumo de naranja expendido de forma ambulatoria, influye directamente en su seguridad alimentaria, por lo que es crucial que el producto



cumpla con todas las características de higiene, y sea beneficioso para la salud del consumidor. Esta investigación se planteó con el fin de determinar la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca mediante el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*; con el objetivo de conocer e identificar fuentes potenciales de contaminación, que son aspectos cruciales para garantizar la inocuidad, beneficiando así al consumidor y a la población en general.

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca mediante el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la carga microbiana de Coliformes y *Escherichia coli* en el zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en el Mercado Bellavista, Mercado Central y Mercado Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.
- Determinar la carga microbiana de Coliformes y *Escherichia coli* en el zumo de naranja (*Citrus sinensis*) comercializado ambulatoriamente en el Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Internacional San José y Mercado Pedro Vilcapaza de la ciudad de Juliaca.
- Establecer la calidad microbiana del zumo de naranja expendidos ambulatoriamente en las ciudades de Puno y Juliaca.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

a. Antecedentes Internacionales

Escobar & Rodríguez (2016) en la Universidad de El Salvador - Argentina, determinaron que de un total de 48 muestras de jugo natural de naranja y zanahoria, *Escherichia coli* estuvo presente en un 100% de las muestras y el 87,50% mostraba la presencia de *Salmonella spp.*, por lo tanto cuando detectan la presencia de estos microorganismos indicaron que en las muestras existe una contaminación fecal y mala aplicación de las medidas higiénicas del proveedor, debido a que las tasas de muestreo excedieron los límites establecidos por las normas técnicas que Centro América establece.

Burgos (2016) en la Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, demostró que para los néctares crudos del bloque número 2, se presentó un total de 1081 UFC/ml, para bloque 3 con 26 UFC/ml y en el bloque 6 con 13 UFC/ml, de la presencia de bacterias Coliformes las que superan el límite permisible de la norma INEN 2337 que puede registrar hasta un máximo de 10 UFC/ml, también reportaron la presencia de mohos en el control 1, que superaron el límite especificado en la norma INEN 2337 con una población de 40 UFC UFC/ml en la mayoría de las muestras, por lo cual el néctar crudo presentaba una elevada carga microbiana de bacterias Coliformes, aerobios mesófilos, levaduras y siendo nula o mínima la presencia de *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*, con excepción del bloque 6 que sí tuvo presencia de *Staphylococcus aureus*.



Calderón et al. (2017), en la Universidad Politécnica Salesiana de la ciudad de Quito, Ecuador, aislaron y cuantificaron en medio Mac Conkey Agar, muestras de jugo de naranja expeditas alrededor del campus " el Girón", donde recolectaron cinco muestras, trabajando con seis diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} ml, obteniendo resultados que constataron que el 40% del jugo de naranja que se comercializa en los alrededores de la universidad no eran aptos para el consumo humano ya que se encontraban fuera del rango máximo permisible para Coliformes según la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN Nro. 2337 del 2008.

Carbajal (2018) en Toluca, México, sobre la evaluación de jugos elaborados a base de naranja; demostró que los Coliformes, en el mercado Morelos fue el más propenso a contaminación microbiológica con al menos 3466 UFC/ml, Juárez con 3072 UFC/ml, Hidalgo con 35 UFC/ml, y niveles bajos en el mercado Dieciséis de Septiembre con un conteo de 8.4 UFC/ml; a su vez los resultados de Coliformes, de los mercados de las ciudades de Juárez y Morelos excedieron en el límite máximo permisible con un conteo de 15000 a 16000 UFC/ml, superando la norma 093 SSA-V1 de 1994 de México. Donde el límite máximo permisible fue hasta 100 UFC/ml, siendo superior al límite máximo permisible correspondiendo a *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

Pachay (2019) en la ciudad de Manta Ecuador, determinó que los niveles de Coliformes en dos estaciones expendedoras ambulatorias de agua de coco, llegaron a niveles de hasta 7 NPM/cm³, más del doble del nivel permitido, según la norma técnica establecida (NTE) INEN 1529-6, también indicó que todas las muestras analizadas presentaban contaminación de bacterias aerobias mesófilas, superando el límite de 1.0×10^3 según la norma NTE INEN 1529-5.



b. Antecedentes Nacionales

Galarza (2018) en su investigación en la ciudad de Lima evaluó muestras de zumos de frutas, piña en rodajas y venta de sandía, las cuales eran comercializadas en la vía pública y no fueron previamente expuestas a un tratamiento térmico, donde reportaron que el 100% de las muestras se hallaba con la presencia de Coliformes, el 30% de las muestras se hallaban fuera del rango permisible y el 70% dentro del límite máximo permisible de la norma técnica sanitaria, concluyendo así que los zumos y frutos de piña y sandía no eran aptos para el consumo humano.

Orozco y Vilches (2013) reportaron para la ciudad de Iquitos, tras la evaluación de expendio de aguaje la presencia de aerobios mesófilos y Coliformes a 24 puntos de venta ambulancia, donde la presencia de *Escherichia coli* en todas las muestras presentaron valores menores a 3 NMP/g de muestra, a excepción del punto de venta F, cuyo resultado de 3.6 NMP/g de muestra fue el más elevado a diferencias de los demás puestos, concluyendo así que la presencia de *Escherichia coli*, en los zumos de *Mauritia flexuosa* (Aguaje) en el área metropolitana del distrito de Punchana, en una sola muestra, demostrando que no hay contaminación fecal con respecto a este microorganismo, ya que el valor límite según el investigador es de 10 NMP/g de muestra.

López (2018) demostró en la localidad de Lara del distrito de Trujillo, donde el porcentaje de muestras de extracto y zumos a base de caña de azúcar, se observarán que el 4% de las muestras contienen Coliformes, que están dentro de los límites aceptables (10^2 UFC/mL), y el 96% supera el rango aceptable. Mientras que para *Escherichia coli*, se hallara que el 86% de las muestras contienen el



microbio dentro de los límites microbiológicos aceptables (10 UFC/ml) y el 14% supera el rango aceptable en las 50 muestras recolectadas de los puestos ambulatorios, en correlación a la Norma Sanitaria MINSA-DIGESA 2008.

Rojas (2019), en su estudio realizado en la ciudad de Ica utilizando la técnica de número más probable, señaló la presencia de carga bacteriana en muestras de jugos de naranja comercializadas en el mercado Modelo. Dos de estas muestras confirmaron la presencia de Coliformes en un 50%, superando los límites mínimos permisibles de 100 NMP/ml. Además, el 50% de las muestras presentaron *Escherichia coli* y el 25% *Staphylococcus aureus* en al menos una de cuatro muestras de los puestos de venta del mismo mercado. Por lo tanto, estas muestras fueron consideradas inaceptables para el consumo humano de acuerdo con la Norma Técnica Sanitaria Nro. 071 – MINSA/DIGESA-V.01.

Rojas y Molocho (2019) en el distrito de Jaén en su estudio sobre zumos refrescantes artesanales a base de soya vendidos en la vía pública se observó que en 14 puestos de los sectores de Morro Solar y Pueblo Nuevo de los puestos ambulatorios que fueron evaluados en la primera y segunda semana, cumplían con la calidad de inocuidad alimentaria frente a la presencia a Coliformes, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*, sin embargo, para la tercera semana, ninguno de los puestos cumplirían con esa condición, ya que se halló la presencia de *Escherichia coli* en un 36% de los puestos, los cuales superaban los límites microbiológicos mínimos “m” y máximos “M”. En cuanto al conteo de Coliformes, se halló para la primera semana un 57%, la segunda semana un 50% y para la tercera semana un 93%, superando los límites de la norma sanitaria MINSA/DIGESA Nro. 071-V01, considerándolo un peligro para la salud del consumidor.



Nomberto y Quispe (2020) en el distrito de Trujillo reportaron que, de 100 muestras de chicha morada recolectadas, 51 de ellas se hallaron fuera de los límites permisibles; por la presencia de bacterias Coliformes resistentes al calor en un 72%, *Escherichia coli* con un 22%; bacterias aerobias mesófilas viables con un 69%; y *Staphylococcus aureus* con un 7%, el 35% con presencia de moho y el 82% con presencia de levaduras, concluyendo así con un total de 86% de muestras que excedieron las normas microbiológicas derogadas por MINSA /DIGESA 071 – v01.

Malpartida (2021) en su investigación en la ciudad de Huánuco reporta que en los mercados Modelo y Viejo de la ciudad, las muestras analizadas en jugos de fruta presentan bacterias Coliformes con un máximo de 254 UFC/ml y un mínimo de 12 UFC/ml pero con la usencia de *Salmonella spp.*, la evaluación sanitaria en los mercados Modelo y Viejo fueron considerados por su aspecto, donde el 16.67% de dueños de puestos de jugos afirma que se enfrentó a presencia de plagas, mientras que en el 58.33% se encontró residuos sólidos en los puestos de venta, el 100% contaba con desabastecimiento de agua potable, el 75% de expendedores no usaban gorro o pañoleta, y solo el 41.65% de los ambulantes contaban con las manos limpias; concluyendo así que en estos dos mercados no se encontraban con las condiciones aptas para prestar servicios de consumo alimenticio.

Zapata & Suncion (2021) en la ciudad de Tumbes evaluaron las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de muestras de jugo de naranja tratadas con quitosano, donde el estudio microbiológico demostró la presencia de cantidades muy altas de microorganismos sobre los parámetros permisibles con 600 y 900 mg/l, de Coliformes dónde la concentración más baja



solo fue de 300 mg/l, a pesar de que todas las muestras se encontraban con protección externa de cajas de vidrio.

Canaza (2021) en la ciudad de Arequipa, se encargó de verificar la calidad microbiológica del jugo de naranja de puestos ambulatorios, reportando la presencia de mesófilos aerobios, Coliformes, mohos, levaduras e identificación por medio diferencial bioquímico la presencia de enterobacterias como: *Enterobacter sp.* y *Citrobacter sp.* en 18 muestras donde fueron analizadas con 3 repeticiones, de mercados conocidos como: Metropolitano, Mi Mercado, 4 de agosto, Nueva Esperanza y Facetram en el cual por su condición fueron catalogadas como inaceptables siendo solo el mercado conocido como Señor del Gran Poder el que cumpliría con el 100 % de la norma sanitaria, concluyendo así que de todas las muestras analizadas de los seis mercados solo uno mostro condiciones aceptables y cinco fueron no aptos para el consumo humano.

c. Antecedentes Locales

Hanco & Mamani (2015) en la ciudad de Juliaca sobre el estudio de la manipulación de zumos expendidos de forma ambulatoria en frutas de piña y naranja reportaron que, de 23 muestras de jugo de piña y 23 muestras de jugo de naranja, la presencia de *Escherichia coli* se encontrara en un 21.7% de las muestras analizadas considerándolas inaceptables, mientras que el otro 78.3% son aceptables, ya que se encuentran por debajo de los límites permisibles. Mientras que en la evaluación higiénico sanitaria de los puestos mediante una ficha de análisis de riesgo y puntos críticos se reportó una calificación general a base de puntajes, donde el 39.1% fueron no aceptables, 43.3% se encuentran en proceso



de mejora, y 17.8% son óptimos. En la relación BPM higiénico sanitaria y la calidad microbiológica.

Flores (2019) demostró que, en la ciudad de Puno, la bacteria *Escherichia coli* se encuentra presente en muestras de naranja con un promedio de 1483.59 NMP/g, y en Juliaca con 1484.66 NMP/g, donde el 100% de las muestras en ambas ciudades están contaminadas. Mientras que el fruto del tomate, resultó con un promedio de 1783.73 NMP/g en Puno y 2359.6 NMP/g en Juliaca del mismo patógeno, y el 86% de estas muestras son reportadas como contaminadas. Además, la presencia de *Salmonella spp.* se presentó en un 70%, mientras que en muestras de tomate solo en un 60%. Estos resultados indican que los frutos comercializados en los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca tienen niveles superiores a los límites permisibles según la Norma Técnica Sanitaria, concluyendo que *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* superan los límites de calidad alimentaria debido a contaminación de origen fecal, lo cual amenaza la salud del consumidor.

Luque & Rodríguez (2023) en la ciudad de Juliaca determinaron las características fisicoquímicas y su relación con la calidad microbiológica de Coliformes para muestras de jugo de naranja, fueron en menor proporción, donde el puesto N3-N: <3 NMP/100 ml, mientras que la más contaminada fue C10-N: 2.8×10^6 NMP/100ml, así mismo en todas las muestras de jugo de naranja se contabilizo que el 90% eran inaceptables para el consumo humano, y con respecto a la presencia de *Escherichia coli* se encontró que 5 de las muestras menos contaminadas tenían un recuento de <3 NMP/100ml, de las cuales C10-N obtuvieron la contabilización más contaminada con un recuento de 15 NMP/100



ml. Según la calidad de las muestras el 90% cumplían con las condiciones microbiológicas aceptables frente a este microorganismo.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Cultivo de la naranja (*Citrus sinensis*)

La naranja dulce (*Citrus sinensis*) de la familia de las Rutáceas es una de las especies del grupo de cítricos de mayor importancia económica y alimentaria. La parte comestible de la planta es el fruto que se caracteriza por ser una fruta amarilla en diferentes tonalidades con forma globosa u oblongo. Se utiliza para su consumo en fresco como fruta de temporada o para la extracción de zumo, donde también es empleada en la industria agroalimentaria para la elaboración de jugos, licores, mermeladas, pectinas, jaleas y en productos de confitería.

Es un cultivo muy apreciado por su contenido de vitamina C, su presencia de flavonoides y aceites esenciales. Cítrico estrella del Perú, es producido principalmente en las regiones de Junín y San Martín (68% de la producción total), y en menor escala en las zonas de Lima y Cusco (32 % del total). Entre las variedades de naranja que produce el Perú la principal es la denominada Valencia, seguida por otras variedades en menor escala como las denominadas: Washington Navel, New Hall, Navel Late y Lane Late. En cifras, el país produce alrededor de 558,695 TM de naranja (Selva, 2021).

2.2.2 Recolección de la fruta de naranja y las Buenas Prácticas Agropecuarias (BPA) y de Manufactura (BPM)

Son procedimientos que se aplican en la producción primaria y elaboración para garantizar alimentos inocuos las BPA y BPM abarcan muchos aspectos



operacionales del establecimiento y del personal, los procedimientos de limpieza y desinfección son usados por las empresas productoras tanto como los elaboradores de alimentos para lograr la meta global de producción de alimentos seguros, de procedimientos, condiciones, y controles que se aplican en los alimentos por lo que son una herramienta fundamental para la obtención de productos inocuos las cuales incluyen limpieza y desinfección del equipo, utensilios, instalaciones físicas y sanitarias, así como higiene y salud del personal dónde cada segmento de la producción primaria y de la elaboración deben disponer de las condiciones necesarias para proteger los alimentos mientras éstos estén bajo su control (OPS, 2015).

2.2.3 Clasificación Taxonómica

Es clasificado de la siguiente forma (MINAGRI, 2019).

Reino	: Plantae
División	: Magnoliopsida
Clase	: Dicotyledoneae
Subclase	: Rosidae
Orden	: Sapindales
Familia	: Rutaceae
Género	: <i>Citrus</i>
Especie	: <i>sinensis</i>
NV	: Naranja
	Swingle & Reace (1967)

Figura 1

Fruto de Naranja, que es expandido ambulatoriamente en Puno y Juliaca



Fuente: Elaboración propia.

2.2.4 Descripción del fruto de la naranja

a. Morfología

- **Tronco:** De porte reducido (6-10 m). Ramas poco vigorosas casi tocan el suelo (MINAGRI, 2019).
- **Hojas:** Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas (MINAGRI, 2019).
- **Flores:** Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mayor cuajado y mejores frutos dan (MINAGRI, 2019).
- **Fruto:** Hesperidio consta de exocarpo (flavedo; presenta vesículas que contienen aceites esenciales), mesocarpo (albedo; pomposo y de color blanco) y endocarpo (pulpa; presenta tricomas con jugo). La variedad Navel presenta frutos supernumerarios (ombligo), que son pequeños frutos



que aparecen dentro del fruto principal por una aberración genética. Tan sólo se produce un cuaje del 1%, debido a la escisión natural de las flores, pequeños frutos y botones cerrados. Para mantener un mayor porcentaje de cuajado es conveniente refrescar la copa mediante riego por aspersión, dando lugar a una ralentización del crecimiento, de forma que la carga de frutos sea mayor y de menor tamaño. El fenómeno de la partenocarpia es bastante frecuente (no es necesaria la polinización como estímulo para el desarrollo del fruto). Existen ensayos que indican que la polinización cruzada incrementa el cuaje, pero el consumidor no desea las naranjas con semillas. Algunos sufren apomixis celular (se produce un embrión sin que haya fecundación) (MINAGRI, 2019).

- **la raíz:** Es pivotante con raíces primarias y secundarias en el primer metro de profundidad (MINAGRI, 2019).

b. Características

- **Forma:** Es un fruto de forma esférica, achatada por los polos (Eroski, 2011).
- **Tamaño y peso:** Con un diámetro de 6 a 10 centímetros, calibrándose desde su crecimiento a una escala descendiente de entre el 0 a 14, donde el número 14 corresponden a los frutos con menor tamaño y el 0 para los de mayor diámetro en torno a los 100 milímetros o más, oscilando su peso desde los 150 gramos hasta los 200 gramos sin la piel (Eroski, 2011).
- **Color:** Su cáscara o epicarpio es de tono muy prominente provista de vesículas oleosas llamadas flavedo, bajo su cáscara rugosa o lisa según su

variedad cuenta con una segunda piel de color blanca que envuelve el fruto protegiendo esta pulpa o albedo de color anaranjado (Eroski, 2011).

- **Sabor:** En la pulpa se encuentra de ocho a doce gajos alargados y curvos llenas de abundante zumo de sabor dulce con matices ácidos según la variedad que se obtenga (Eroski, 2011).

c. Composición Química – Nutricional

Mayoritariamente compuesta por glucosa y fructosa, donde la naranja proporciona vitaminas, provitaminas y factores de crecimiento en cantidades muy apreciables (Guardiola, 2013).

Tabla 1

Composición nutricional de la naranja.

COMPONENTES	PIEL	GAJOS	ZUMO
Agua	72.5	85.2	87.1
Azúcares	7.6	9.1	9.7
Reductores	5.6	4.7	5.0
Sacarosa	2.0	4.4	4.7
Ácidos	0.29	0.75	1.02
Sustancias nitrogenadas	1.5	1.1	1.0
Lípidos	0.28	0.3	0.29
Cenizas	0.78	0.48	0.34
Sólidos totales disueltos	15.7	13.1	12.6

*Expresado en g/100.

Fuente: Guardiola (2013).

d. pH en la naranja

El jugo de naranja es conocido por tener un pH ácido, generalmente en el rango de 3.3 a 4.2, lo que le confiere su característico sabor refrescante y agrio.

La acidez del jugo de naranja proviene principalmente de ácidos orgánicos naturales presentes en la fruta, como el ácido cítrico (Guardiola, 2013).

Tabla 2

Composición química de la naranja.

MINERALES			VITAMINAS	
Calcio	Mg	52.400	Vitamina A (actividad)	190 – 400 UI
Selenio	Mcg	0.655	Ácido Ascórbico (Vit. C)	35 – 56 mg
Magnesio	Mg	13.100	Piridoxina (Vit. B6)	25 – 80 mcg
Fosforo	Mg	18.340	Tiamina (Vit.B1)	60 – 145 mcg
Potasio	Mg	237.110	Riboflavina (Vit. B2)	11 – 90 mcg
Sodio	Mg	0.000	Ácido Pantoténico	130 – 210 mcg
Zinc	Mg	0.092	Niacina	200 – 300 mcg
Cobre	Mg	0.059	Biotina	0.1 – 2 mcg
Selenio	Mcg	0.655	Ácido Fólico	1.2 – 2.3 mcg

*Expresado por cada 100ml.

Fuente: Guardiola (2013).

e. **Flora y Microflora de la Naranja**

La superficie de las frutas cítricas contiene una abundante microflora, compuesta principalmente por bacterias y levaduras, entre las que es posible obtener cepas antagónicas de patógenos postcosecha, entre éstos, *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc que penetra e infecta heridas ocasionadas sobre las frutas, incluso la cáscara de las naranjas sin lavar, por lo cual pueden ser nocivas para la salud al tener elementos que no son visibles a simple vista como las bacterias y microorganismos mencionados o los residuos visibles como tierra o polvo que se adhieren durante su cosecha o distribución ya que al ser productos que vienen directamente del campo, muchos de ellos tienen contacto con tierra, abonos y en



algunos casos pesticidas y agroquímicos, sin mencionar que después de su cosecha son manipulados durante sus etapas de transporte y distribución (Visintin, 2013).

Así mismo lo señala López (2018) tras su observación en las características morfológicas del pericarpio de la fruta, señalando que este es un buen medio que acumula la suciedad y por consiguiente es un buen reservorio para el transporte de contaminantes, mencionando también que son pocas las precauciones que se toman en cuanto a la desinfección del contaminante adherido al fruto, pues resalta que el fruto aparte de encontrarse mucha veces en contacto con animales y excremento durante su transporte, también suelen ser comercializados en la intemperie, quedando expuestos así al polvo y barro que también trae consigo contaminantes de diversas índoles, así resalta que lo peligroso es el contacto mínimo de la cascarilla con el zumo el cual generaría la presencia de *Escherichia coli*, a consecuencia de la falta de los principios de higiene.

La contaminación microbiana viene a ser una de las principales alteraciones que pueden sufrir los zumos de los productos cítricos, donde son los factores ambientales influyen como la temperatura, humedad, sequedad, aire, oxígeno y la luz solar esta última principalmente se encuentra por el tiempo al efecto que genera al degradar el producto y generar la aparición de los microorganismos patógenos humanos que pueden ser naturales o antropogénicos dentro de estos se hallan a las bacterias, virus, hongos, parásitos, etc. (Arroyo, 2010).

Puesto de que en el medio ambiente en el que se hayan desarrollado pueden ingresar al cuerpo por vía oral, respiratoria y por contacto, las contaminaciones microbiológicas suelen suceder en su mayoría por la ingesta de alimentos que



requieren el uso del insumo hídrico y por la pobre higiene personal de quien los manipula a consecuencia de la falta de agua potable (FAO, 2010), produciendo así enfermedades y afectando a las personas representando en ellas una de las principales fuentes de enfermedad, aunque los microorganismos no llegasen a ser patógenos, estropean la calidad de los alimentos y los hacen desagradables o incluso inaceptables para el consumidor (Zoto et al., 2015).

f. Descomposición y deterioro

La descomposición de las naranjas, al igual que en otros alimentos, puede ser causada por una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y levaduras, degradando los componentes químico orgánicos de las naranjas y contribuyendo al deterioro de la calidad del producto. Algunos de los microorganismos más comunes asociados con la descomposición de las naranjas son: (Saenz, 2019).

- **Bacterias:** Especialmente aquellas que mantienen características acidófilas (que prosperan en ambientes ácidos). Algunas bacterias ácido lácticas y bacterias del género *Acetobacter*, *Citrobacter*, *Yersenia*, entre otros; pueden estar involucradas en la fermentación y acidificación de los productos, fermentando el ácido acético y contribuyendo a cambios de pH en las naranjas (Saenz, 2019).
- **Hongos:** Entre ellos mohos y levaduras son microorganismos comunes en la descomposición de frutas. Pueden crecer en la superficie de las naranjas y producir enzimas que descomponen los azúcares y otros componentes orgánicos, el género *Penicillium* son comunes en la descomposición de frutas, incluyendo las naranjas, donde pueden causar manchas de moho en



la superficie y producir micotoxinas en toda la superficie de la cáscara, además géneros como *Aspergillus* entre otros son frecuentes en frutas podridas (Saenz, 2019).

- **Levaduras:** Son microorganismos unicelulares que pueden fermentar los azúcares presentes en las naranjas, produciendo alcohol y dióxido de carbono. Este proceso fermentativo puede contribuir a cambios en el sabor y la textura del producto, algunas especies de *Candida* pueden fermentar azúcares en las naranjas, produciendo alcohol y dióxido de carbono, provocando estos cambios de descomposición desagradable (Saenz, 2019).
- **Bacterias Pectinolíticas:** Tienen la capacidad de descomponer la pectina, una sustancia que forma parte de las paredes celulares de las frutas. La descomposición de la pectina puede afectar la textura y la integridad de la fruta y comúnmente *Erwinia carotovora* son bacterias pectinolíticas que pueden descomponer la pectina en las paredes celulares de las frutas, afectando la textura en las cáscaras de la naranja (Saenz, 2019).

g. Podredumbre blanda

Es una enfermedad postcosecha causada por varios tipos de bacterias, siendo una de las más comunes la bacteria *Erwinia carotovora*. estas bacterias son saprofitas ya que pueden sobrevivir en el suelo, en residuos vegetales y afectando diversas frutas y hortalizas, incluyendo naranjas, manzanas, peras, entre otros frutos; las frutas con cortes o daños en su piel ocasionados durante la cosecha, su transporte o en su manipulación son más susceptibles a la infección por el ingreso de las bacterias (Eroski, 2011).



- **Síntomas:** La podredumbre blanda generalmente comienza con lesiones acuosas y blandas en la superficie de la fruta. Estas lesiones pueden extenderse rápidamente, resultando en una textura viscosa y descompuesta de la fruta afectada (Eroski, 2011).
- **Color:** Las áreas afectadas suelen presentar un color oscuro, y la textura de la fruta se vuelve blandengue debido a la descomposición de los tejidos (Eroski, 2011).
- **Olor Desagradable:** La presencia de podredumbre blanda a menudo se asocia con un olor desagradable debido a los productos de descomposición generados por las bacterias que cambian los niveles de pH, y deterioran componentes orgánicos en los tejidos vegetales de la fruta (Eroski, 2011).

h. Extracción del zumo de naranja

Para la extracción del zumo de naranja se utilizan una gran variedad de extractores, como exprimidores que comienzan por cortar el fruto a la mitad de forma manual o automática, y se exprimen en un cono acanalado que gira y presiona con fuerza, el sistema IN-LINE consiste en introducir la fruta en una cánula y procesar entre dos émbolos, método utilizado por la gran mayoría de expendedores ambulantes. Una vez obtenido el zumo concentrado este es utilizado como base para la elaboración de bebidas, donde este puede ser consumido directamente o ser mezclado con otros zumos o jugos (Zoto et al., 2015).

El zumo viene a ser el líquido proveniente del jugo de la fruta, siendo este un líquido sin fermentar, pero fermentable desde su extracción por lo que requiere ser consumido al instante la parte comestible de la fruta en buen estado. Para su



recolección se comienza con la selección de las naranjas donde estas son recolectadas cuando están en los índices de madurez aptos (Codex, 2005).

2.2.5 Calidad e inocuidad del zumo de frutas

La inocuidad es un elemento crucial para la seguridad alimentaria, por que desempeña un papel fundamental en la reducción de las enfermedades transmitidas por los alimentos y bebidas, en el Perú al igual que muchos países de América y del mundo se reconoció en su momento la necesidad de controlar la producción de alimentos y bebidas en todas sus etapas hasta el consumo, por casos de enfermedades ligadas al consumo de alimentos con agentes patógenos; como la fiebre tifoidea por el consumo de verduras, frutas y refrescos contaminados, advertidos de estos riesgos, el primer paso que dieron las autoridades sanitarias, fue la aprobación y publicación del Código Sanitario de Alimentos el año 1963 MINSA (2017), dónde recientemente se ha reportado mediante el Sistema de Vigilancia Epidemiológica del Perú, que entre los años 2010 al 2012 se presenta un promedio unos 35 brotes de ETA por año, relacionándose clínicamente con casos agudos de salmonelosis reportándose a un total de 2800 personas afectadas, hallando *Staphylococcus aureus* y *Salmonella Sp.* como los patógenos más frecuentes en los alimentos y bebidas (DGE-MINSA, 2012).

Por otro lado, de acuerdo a la OPS (2015) las enfermedades gastrointestinales y la infección por *Escherichia coli*, entre otras, enferman a más de 582 millones de personas en el mundo y matan a más de 350 mil cada año debido a la ingesta de alimentos insalubres como carne animal mal cocida, frutas y hortalizas contaminadas con heces o pesticidas. Siendo éstas las causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) y enfermedades diarreicas



agudas (EDAs), las que impactan en los indicadores de salud pública de morbilidad y mortalidad, desde diarreas hasta cáncer (DIGESA, 2016).

Numerosos son los organismos, sociedades, gobiernos e industrias alimentarias que, a escala mundial, promueven y recomiendan el consumo diario de frutas y verduras, donde la Organización Mundial de la Salud (OMS) suscita un consumo mínimo de 400 g de frutas y hortalizas por día, y un óptimo de cinco porciones de frutas o verduras, con el fin de prevenir enfermedades crónicas, en particular las cardiopatías, el cáncer, la diabetes tipo 1, 2 y la obesidad OMS (2018).

Sin embargo la FDA (*Food and Drug Administration*) agencia gubernamental de Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, medicamentos (humanos y veterinarios), cosméticos, médicos biológicos (incluyendo derivados sanguíneos) y vacunas, entre otros, ha recibido informes sobre brotes severos de enfermedad alimentaria, también llamada “intoxicación alimentaria”, relacionada con el consumo de sidra y zumos de frutas y verduras no procesados para eliminar las bacterias perjudiciales, ya que los zumos aportan muchos nutrientes importantes, pero el consumo de zumos sin procesar puede generar riesgos para la salud (FDA, 2022).

Aunque la mayoría de la gente posee un sistema inmune generalmente capaz de combatir los efectos de una enfermedad alimentaria, los niños, las personas mayores, las mujeres embarazadas, y las personas con el sistema inmune debilitado (como los pacientes de un trasplante y los individuos con VIH/SIDA, cáncer o diabetes), corren el riesgo de afrontar enfermedades graves o incluso la muerte por el consumo de jugos sin procesar (FDA, 2022).



Últimamente en nuestro país el riesgo de enfermar a causa del consumo de zumos no pasteurizados se ha incrementado por las deficientes prácticas sanitarias de operación y manipulación que se comete durante la elaboración del zumo, por ende, no es rara la presencia de una elevada carga bacteriana de *Escherichia coli* en estos productos, el cual finalmente se halla comprometida la salud de los consumidores y de las poblaciones hipersensibles (Murray, 2000).

a. Contaminación del zumo de naranja

Los gérmenes patógenos, pueden pasar de un alimento crudo a uno cocido o viceversa, a través de los manipuladores o de una superficie no alimentaria, instalaciones, equipos, utensilios, de ahí el concepto de contaminación cruzada, significativo en materia de inocuidad de alimentos y factor importante en las enfermedades transmitidas por alimentos, demostrándose que los alimentos de origen vegetal pueden albergar Coliformes, por el riego con aguas contaminadas, el uso de abonos orgánicos como estiércol, si se tiene en cuenta que muchos de los vegetales se consumen crudos o se emplean como ingredientes de platos o postres cuya composición facilita la multiplicación de patógenos, en tanto los virus, han causado brotes de enfermedades intestinales, pese a que no se pueden multiplicar en los alimentos, su difusión se hace a partir de las manos de portadores humanos y del agua no potable en cuanto al desarrollo de los parásitos necesitan un hospedero para sobrevivir siendo los protozoos y helmintos los que pueden llegar al hombre a través del agua, carne cruda o insuficientemente cocida, verduras u hortalizas que se consumen crudas o alimentos contaminados con materia fecal, en cuanto a las micotoxinas, son metabolitos tóxicos elaborados por mohos que colonizan los alimentos cuando éstos son ingeridos, y si la sustancia



tóxica se presenta en cantidad representativa, origina intoxicación con lesiones importantes al huésped (Vázquez, 2003).

b. Contaminación Cruzada

La “contaminación cruzada” es el proceso mediante el cual los alimentos entran en contacto con otras sustancias ajenas (Conformación, 2022), esto ocurre cuando las bacterias y otros microorganismos ingresan de forma involuntaria a los alimentos, donde existen dos tipos de contaminación cruzada; de forma directa es cuando el alimento contaminado se mezcla o se almacena con los alimentos en buen estado, así lo menciona Winterhalter (2022), señalando que la manera indirecta es la más habitual cuando el agente contaminante es transferido a los alimentos por medio de alguna persona o elemento de uso en donde una fuente principal de transporte de estas sustancias perjudiciales como microorganismos patógenos es a través de las manos, tanto como las superficies en contacto con el alimento, esponjas, toallas de tela y utensilios que entran en contacto con el alimento crudo, y posteriormente con el alimento listo para el consumo, asimismo también se pueden dar por medio de vectores tales como moscas, roedores y animales domésticos donde estos contaminantes incluyen bacterias, parásitos y virus, pero más aún las bacterias por su capacidad de multiplicarse fácilmente en la superficie del alimento, por lo que al consumirla existe un alto riesgo de propagación de infecciones o enfermedades de transmisión alimentaria (OPS, 2014).

- **Superficies y Utensilios no Limpios:** Si las superficies de trabajo, equipos y utensilios no se limpian adecuadamente entre usos, puede haber



transferencia de microorganismos o residuos de alimentos de un alimento a otro según lo señala la OPS (2014).

- **Contacto de manos y el comerciante:** La manipulación inadecuada por parte del comerciante, especialmente cuando no se siguen buenas prácticas de higiene, puede llevar a la transferencia de microorganismos de las manos al producto manifiesta la OPS (2014).
- **Material de extracción compartida:** Compartir equipos que extraen el zumo de naranja puede resultar en la transferencia de contaminantes. Por ejemplo, si las extractoras manuales no se limpian adecuadamente estas podrían contaminar el resto del producto según la OPS (2014).
- **Almacenamiento:** Si los productos terminados se almacenan cerca de productos crudos o ingredientes potencialmente contaminados, existe el riesgo de contaminación cruzada por que incluso la presencia de otras frutas en el mismo envase puede provocar contaminaciones severas así lo indica la OPS (2014).
- **Envases:** Si no se manejan adecuadamente los envases o si hay errores en la dispensación del producto, por ejemplo, si estos se encuentran aparentemente limpios, pero anteriormente se hayan reutilizado para el servicio de otros zumos de fruta, ajenos al jugo de naranja menciona la OPS (2014).
- **Productos químicos y detergentes:** El uso incorrecto de productos químicos de limpieza o la presencia de sustancias tóxicas pueden resultar en la contaminación del zumo de naranja indica OPS (2014).



2.2.6 Comercio ambulatorio del zumo de naranja en las ciudades de Puno y Juliaca

La venta de alimentos en la vía pública es una práctica tradicional en América Latina y el Caribe. Sin embargo, en las últimas décadas, esta actividad se ha incrementado por múltiples causas. Estas causas son principalmente socioeconómicas: el deterioro de las condiciones de vida de las áreas rurales ha determinado una creciente migración hacia las ciudades y la expansión de zonas marginales y de pobreza, por lo cual los habitantes deben buscar trabajo a grandes distancias de sus hogares donde no tienen acceso a sistemas de alimentación colectiva y por lo tanto deben recurrir a los vendedores ambulantes de bebidas y alimentos preparados listos para consumir, donde estos son vendidos por los comerciantes fijos o ambulantes, que se encuentran especialmente en las calles y otros enclaves similares señala la FAO (2019).

Para un gran número de personas de recursos limitados, los alimentos de la vía pública son frecuentemente el medio menos costoso y más accesible de obtener una comida equilibrada en un plan nutricional fuera del hogar. Ya que los alimentos que se ofrecen en la vía pública presentan ciertas ventajas, es también que los alimentos vendidos en las calles comparten una serie de desventajas importantes. Donde el problema más evidente gira en torno a su inocuidad. Para lo cual los alimentos expendidos en la vía pública pueden considerarse al mismo tiempo un problema, un desafío y una oportunidad para el desarrollo. El problema es asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos que se venden (OPS, 2014).



2.2.7 Microagentes indicadores de calidad higiénica en zumo de fruta

a. Coliformes

Las bacterias Coliformes están formadas por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gram negativas, no formadoras de esporas y con forma de bastón corto, que fermentan la lactosa produciendo gas y ácido en 48 horas a 35°C y se encuentran incluidas en un gran grupo de muchos tipos de bacterias halladas en todo el medio ambiente donde estas vienen a ser comunes en el suelo y el las agua superficiales e incluso pueden aparecer en la piel, pero también se pueden encontrar grandes cantidades de ciertos tipos de bacterias Coliformes en los desechos de humanos y animales. La mayoría de los tipos de bacterias Coliformes son inofensivas para los humanos, pero algunas pueden causar enfermedades leves y algunas transmitidas por el agua, pueden provocar enfermedades graves (Swistock, 2020).

Pertenecen a este grupo los géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, aunque se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza; en general, las bacterias de este género especialmente se encuentran en el intestino de los humanos y animales de sangre caliente, por tal se deduce que la mayoría de los Coliformes que se encuentran en los alimentos, son introducidos en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales, por lo cual se los ha considerado como indicadores de contaminación fecal, en el control de calidad del agua destinada a la fabricación de alimentos de consumo humano; debido a que en los medios acuáticos, los Coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal, por lo cual se distinguen los Coliformes que comprende la totalidad del grupo y los



Coliformes aquellos de origen fecal, esta diferenciación es importante, puesto que permite asegurar con alto grado de certeza que la contaminación que presentan los alimentos o bebidas es de origen fecal (Cabrera, 2008).

b. *Escherichia coli*

Esta enterobacteria es miembro de la microbiota normal del intestino de animales y del hombre pero que pueden llegar a generar toxiinfecciones, donde estas bacterias se vuelven patógenas sólo cuando logran llegar a los tejidos fuera de su hábitat normal u otros sitios menos frecuentes, ocasionando diarreas entre otros síntomas en el huésped lo cual es muy frecuente en todo el mundo (Brooks et al., 2011), sin embargo, si se halla *Escherichia coli* con un recuento elevado en los alimentos, revelara contaminación fecal reciente, ya que estas enterobacterias fuera del intestino mueren inmediatamente por lo que viene a ser utilizado como indicador de calidad higiénica en los alimentos y para reconocer, indirectamente, si los manipuladores de alimentos aplican sus conocimientos sobre buenas prácticas de higiene (PRESCAL, 2010), además que el aislamiento de esta bacteria muestra un alto grado de contaminación de origen fecal con alrededor de un 99% de certeza (Cabrera, 2008).

Es una bacteria que pertenece al género de las enterobacterias y al grupo de los Coliformes fecales, microscópicamente se observa en forma de bacilo siendo aerobia y pudiendo ser anaerobia facultativa dónde es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa produciendo indol a partir del triptófano, generando la producción gas y la aparición de turbidez lo que la diferencia de otras bacterias señala Miranda (2017), posee dos membranas y, entre ellas, un espacio periplásmico formado por peptidoglucano, que impide que el reactivo de tinción



(cristal violeta), sea retenido en el interior de la célula llegándose a clasificar, así como Gram negativa; estructuralmente presenta fimbrias y pilis que le sirven para desplazarse y macroscópicamente son observadas formando colonias puntiformes, convexas, mucosas y cremosas, son bacterias que no forman esporas y sólo se encuentran en forma vegetativa su crecimiento se puede dar con un pH de 4.4 a 8.8 a una temperatura desde los 9°C hasta los 45°C. menciona James et al. (2016).

c. Patogenicidad de *Escherichia coli*

Cuando *Escherichia coli* se encuentra habitando en tejidos fuera del intestino induce a procesos inflamatorios febriles cuyos síntomas a menudo pueden ser confundidas con otras bacterias entéricas, y su desarrollo puede ser hallado en zonas específicas como en la vía respiratoria, meninges o vías urinarias, pero más de un 70% de los casos son como consecuencia por contaminación de alimentos, causa que afecta más a los infantes, especialmente en países en vías de desarrollo, ocasionando la muerte de cerca de un millón de niños cada año debido a deshidratación y a otras complicaciones, donde el cuadro clínico que se presentan más frecuentemente en este tipo son infecciones diarreicas acuosas, cólico y procesos febriles Fratamico, et al. (2016).

Actualmente son 5 los tipos de *Escherichia coli* patógenas intestinales que han sido relacionadas con la enfermedad transmitida por alimentos, que se describen en función de los síntomas clínicos que generan y de los factores de patogenicidad que expresan, conocidas como: *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC), *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC), *Escherichia coli*

enteroinvasivo (EIEC), *Escherichia coli* entero agregativa (ADEC) y *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) Fratamico, et al. (2016).

Las primeras investigaciones sobre *Escherichia coli* patogénicas se centraron en las cepas que causan diarreas en los niños, admitiendo posteriormente que la mayoría de estos microorganismos presentaban los serogrupos “O” específicos indica Jawetz (2004).

Tabla 3

Principales categorías de Escherichia coli que ocasionan gastroenteritis en el hombre.

<i>Escherichia coli</i>	Mecanismos de acción	Clínica	Factores de Virulencia	Población afectada
Enterotoxigénicas (ETEC)	Produce toxinas que activan la adenil-ciclasa y otros factores de permeabilidad.	Diarrea acuosa.	Fimbrias, toxinas LT y ST, a veces asociadas a CFA.	Típico en niños en países en vías de desarrollo y viajeros.
Enteropatógenas (EPEC)	Adherencia al epitelio intestinal y destrucción de las microvellosidades. El enterocito pierde su capacidad de absorción.	Diarrea acuosa.	Adherencia – acortamiento microvellosidad ades.	Niños en países en vías de desarrollo y niños <2 años (frecuentes brotes en guarderías).
Enteroagregativas (EAEC)	Biofilm que recubre el epitelio, borrado de microvellosidades	Diarrea acuosa.	Fimbrias (AAF y Bfp), Enterotoxina (EAST-1), ¿otras toxinas?	Niños y adultos de países en vías de desarrollo.
Enterohemorrágicas (EHEC) *Aquí se incluye el serotipo O157:H7	Produce una toxina con efecto citotóxico.	Diarrea acuosa. Colitis hemorrágica (SHU).	Fimbrias, citotoxinas (VT-1 o VT-2). *Toxina Shiga.	Países desarrollados.
Enteroinvasivas (EIEC)	Coloniza y destruye la mucosa intestinal, el epitelio del colon.	Diarrea invasiva (Disentería).	Plásmido (genes codifican proteínas de invasión).	Países desarrollados y en vías de desarrollo.

Fuente: Álvarez (2019).



La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *Escherichia coli* productora de toxina Shiga dichas así por su semejanza con las toxinas producidas por *Shigella dysenteriae*, las que pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos contaminados, como productos de carne picada, cruda o poco cocida, leche cruda, frutas, hortalizas, semillas germinadas crudas contaminadas, contaminación fecal del agua y de otros alimentos, así como en la contaminación cruzada durante la preparación de estos, *Escherichia coli* productora de toxina Shiga pueden crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C y algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta con un pH de 4.4, y en alimentos con una actividad de agua, indica la OMS (2018).

Se indica también que O157: H7 es el serotipo de *Escherichia coli* más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos manifiesta la OMS (2018), donde recientemente en los últimos años alimentos como las frutas y los vegetales frescos se han visto implicados en brotes causados por este microorganismo, hallándose como consecuencia de dos brotes de colitis hemorrágica donde las cepas de *Escherichia coli* entero hemorrágico pertenecían al serotipo O157:H7 declara Mamani (2002).

2.2.8 Normas técnicas que regulan la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos

a. Instituciones

Garantizar la inocuidad alimentaria es un proceso complejo que empieza en la explotación agrícola y termina con el consumidor. La Organización de las



Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) es la única organización internacional que supervisa todos los aspectos de la cadena alimentaria, lo que le permite ofrecer una visión única, de 360°, de la inocuidad de los alimentos. Esta perspectiva se amplía aún más gracias a una asociación consolidada con la Organización Mundial de la Salud (OMS). Con sus mandatos complementarios, la FAO y la OMS se ocupan de una serie de cuestiones con miras a respaldar la inocuidad alimentaria a escala mundial y proteger la salud de los consumidores. En general, la OMS supervisa el sector de la salud pública y mantiene relaciones sólidas con el, mientras que la FAO aborda los aspectos relacionados con la inocuidad alimentaria a lo largo de la cadena de producción de alimentos (FAO, 2013).

De acuerdo a los artículos 2° y 7° de la Constitución Política del Perú del año 1993, toda persona tiene derecho a su bienestar y derecho a la protección de su salud de acuerdo al artículo 44° es deber del Estado proteger a la población de las amenazas y promover el bienestar general, asimismo con el artículo 65° el Estado debe defender el interés de los consumidores y usuarios. Como tal la Ley N°26842, Ley General de Salud del año 1997, también indica en el Título preliminar, que la protección de la salud es de interés público, donde debe asumir la responsabilidad de regularla, vigilarla y promoverla, así como se señala en su Artículo 88 la producción y comercio de alimentos y bebidas destinados al consumo humano, así como de bebidas están sujetos a vigilancia higiénica y sanitaria, en protección de la salud y en concordancia con los “Principios Generales de Higiene de Alimentos del “*Codex Alimentarius*”, se aprueba el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas mediante DS 007-98-SA de SENASA (2015).



Sin embargo, a partir de la Ley aprobada por el Decreto Legislativo Nro. 1062 en el año 2008, se establece la inocuidad de los alimentos a nivel nacional, regional y local (PNIA, 2016). Esta ley instituye que las autoridades competentes en inocuidad de los alimentos dispongan del Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA, la Dirección General de Salud Ambiental DIGESA y el organismo Nacional de Sanidad Pesquera SANIPES. Se indica que cada uno de estos sectores deben adecuarse o expedir su reglamentación sectorial correspondiente a la ley (INACA, 2014).

b. Normas Legales

La Resolución Ministerial Nro. 591-2008/MINSA aprobó la Norma Técnica Sanitaria Nro. 071 MINSA/DIGESA-V01, presentada por la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis de la DIGESA. Esta norma establece los criterios microbiológicos para garantizar la inocuidad y calidad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, según lo establecido, incluyendo específicamente de esta manera a zumos y jugos de frutas. (SENASA, 2015).

Por lo tanto, el propósito de la Norma Técnica Sanitaria Nro. 071-MINSA/DIGESA-V01 es garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano. Esta norma establece los grupos de alimentos y bebidas considerando su origen, método de elaboración, grupo consumidor, entre otros aspectos, con el fin de cumplir con los efectos de la presente disposición sanitaria. Categorizando de esta manera los límites aceptables para microorganismos como Coliformes y *Escherichia coli*, mostrados en la Tabla 3.

2.2.9 Criterios Microbiológicos para jugos, zumos de fruta

Tabla 4

Criterios microbiológicos de calidad sanitaria para alimentos según Artículo 15-sección - 15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaína, Ocopa, postres, zumos, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por gr o ml	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²

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

- **Categoría de riesgo:** Escala relativa al riesgo que representa un alimento y a la manipulación posterior prevista.
- **"n" (minúscula):** Número de unidades de muestra requeridas para realizar el análisis, que se eligen separada e independientemente, de acuerdo a normas nacionales o internacionales referidas a alimentos y bebidas apropiadas para fines microbiológicos.
- **"c" (minúscula):** Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o unidades de muestra provisionalmente aceptables en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote.
- **"m" (minúscula):** Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a "m", representa un

producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes rechazables en un plan de muestreo de 2 clases.

- **"M" (mayúscula):** Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

2.2.10 Criterios de Recolección, higiene y manipulación de alimentos

La Dirección General de Salud Ambiental tiene la responsabilidad, entre otras, de brindar el soporte técnico analítico para dictaminar sobre la inocuidad de los alimentos y del agua de consumo humano, en respaldo de las acciones de vigilancia, control y fiscalización sanitaria, donde el Ministerio de Salud a través de la DIGESA, cuenta con procedimientos normados para la recepción de muestras de alimentos y bebidas de consumo humano que permite a la autoridad Sanitaria demostrar a la comunidad internacional que sus resultados analíticos son técnicamente válidos, confiables y comparables para el respaldo de procedimientos oficiales relacionados a la inocuidad de los alimentos (DIGESA, 2011).

Tabla 5

Ensayo microbiológico, para la toma de muestras bebibles sin tratamiento térmico.

Tipo de ensayo	Tipo de muestra	Tipo de envase	Cantidad de muestra ^(a)	Conservación	Tiempo máximo de transporte a laboratorio ^(c)
Microbio lógico	Alimentos preparados (líquidos)	Bolsa de plástico de primer uso.	400 ml ^(b)	Refrigeración (0 a 4 °C).	Tan rápido como sea posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra.

Fuente: Directiva Sanitaria N° 032 - MINS/DIGESA – V 01.



- **(a)** Cantidad de muestra mínima correspondiente para cada unidad de muestra.
- **(b)** La cantidad de muestra podría ser menor solo en el caso de alimentos que se sospeche estén involucrados en un brote de intoxicación alimentaria.
- **(c)** Dado que toda manipulación de las muestras puede determinar cambios en mayor o menor medida de su condición microbiológica, físico-química o sensorial, es necesario que su transporte al laboratorio sea realizado lo más rápido posible y en condiciones adecuadas de mantenimiento (DIGESA, 2011).

La higiene es muy importante y beneficiosa para la salud además de prevenir las enfermedades, pero la falta de acceso a la higiene es una problemática que facilita la aparición de enfermedades e infecciones manifiesta la UNICEF (2015). Estos últimos años los hábitos que más se ha promovido en el mundo es el lavado o la higiene de manos, como parte esencial de una cultura de autocuidado y prevención indica la OPS (2021), ya que practicar una correcta higiene es fundamental en todos los órdenes de la vida por ello uno de los aspectos fundamentales para un manipulador de alimentos es la higiene en la preparación de los alimentos, el manipulador de alimentos debe poner especial énfasis en atender correctamente estos aspectos.

La higiene personal del manipulador de alimentos, por buena que sea, no es suficiente. Esta debe adecuarse al desarrollo de su actividad laboral. Por lo que, además de sus hábitos de limpieza personal, debe tener en cuenta otros elementos partícipes de la higiene alimentaria para no convertirse en foco de una intoxicación

declara Conformacion (2022), por ello la FAO brinda pautas para su práctica. Para aquellos comerciantes que preparan alimentos en la vía pública desde los lugares de donde se adquiere las materias primas y los ingredientes ya que, si los puestos están mal mantenidos, podrían contaminar la materia prima adquirida de buena calidad en su expendio, antes de la preparación de alimentos de la vía pública.

Después de lo adquirido, se debe almacenar y conservar apropiadamente los materiales e ingredientes. Ya que su descuido favorece la proliferación de microorganismos, la contaminación cruzada y la degradación de los mismos. La preparación y venta de los alimentos debe de ser en un lugar adecuado, limpio y organizado, certificando así el control oportuno de los peligros y de la buena calidad sanitaria de los alimentos (FAO, 2009).

Para garantizar y evitar un sinnúmero de enfermedades de origen alimentario, es de vital y mucha importancia conocer y cumplir con la normativa en materia de higiene a lo largo de la cadena alimentaria, haciendo especial hincapié en aquellas etapas o procesos que requieran la manipulación de los alimentos (CTIC, 2021).

Tabla 6

Plan de muestreo para combinaciones de diferente grado de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación.

Grado de importancia en relación con la utilidad y riesgo sanitario	Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimento o bebida luego del muestreo
	Sin cambio de peligrosidad
Indicadores de riesgo bajo Indirecto para la salud	Sin modificación Categoría 5 plan de 3 clases n = 5, c=2.

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

Se considerará alimento apto para consumo humano cuando se cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos permisibles establecidos en la norma técnica sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece (DIGESA, 2008).

2.2.11 Enfermedades transmitidas por la ingesta de alimentos (ETA)

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs) son provocadas por la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, que representan una importante carga de mortalidad y morbilidad dentro de los sistemas de salud pública de las naciones, en el mundo 1 de cada 10 personas se enferman por ingerir alimentos contaminados, causando un total de 420 mil muertes anuales, de las que 125 mil representan a niños enfermos con sintomatologías diarreicas por causa viral o bacteriana provocado por alimentos y aguas contaminadas por reacción de las toxinas, la mayoría se manifiestan clínicamente como cuadros gastrointestinales y más del 70% de los casos de ETAs se originan debido a una inadecuada manipulación (INS, 2018).

Un brote es definido como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad un único caso de botulismo, envenenamiento químico o de una enfermedad puede ser suficiente para desencadenar acciones relativas a un brote epidémico, debido a la gravedad de la enfermedad provocada por esos agentes, para los brotes y casos de enfermedades transmitidas por alimento registrados representan apenas la "punta del iceberg" ya que la probabilidad de que un brote o caso se reconozca y notifique por las autoridades de salud depende, entre otros



factores de la comunicación de los consumidores, del relato de los médicos y de las actividades de vigilancia sanitaria de las secretarías municipales, departamentales y provinciales de salud (INS, 2018).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo en la región de Puno, donde los zumos de naranja fueron recolectados en dos ciudades principales: Puno y Juliaca.

La ciudad de Puno se encuentra ubicada en el departamento, provincia y distrito de Puno, a una altitud de 3848 m.s.n.m., en el extremo sudeste del Perú y a orillas del Lago Titikaka, con coordenadas 15° 50' 22.67" Latitud Sur y 70° 1' 17.5" Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich (Figura 9).

La ciudad de Juliaca está ubicada en la provincia de San Román del departamento de Puno, a una altitud de 3824 m.s.n.m., con coordenadas 15° 29' 24" Latitud Sur y 70° 08' 00" Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich (Figura 10).

Asimismo, las muestras recolectadas de zumo de naranja fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

El estudio corresponde al tipo descriptivo, analítico de corte transversal y observacional. Es descriptivo porque los resultados describen la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca mediante el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*. Es analítico de corte transversal porque se adquirieron muestras de zumo de naranja de puestos ambulorios en un momento específico, realizando un corte en el tiempo durante los

meses de diciembre de 2023 a febrero de 2024. Finalmente, los resultados se compararon con los señalados por la Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, para zumos y bebidas sin tratamiento térmico y otros, aprobada mediante Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

En la primera etapa para la ciudad de Puno, la población de estudio comprendió los puestos de venta de zumo de naranja de expendio ambulatorio. Se seleccionaron 3 mercados: Mercado Central, Mercado Bellavista, y Mercado Unión y Dignidad. Para el análisis, se consideraron 5 puestos de venta por mercado y se realizaron 3 repeticiones por puesto de venta ambulatoria. De esta manera, se lograron analizar un total de 45 muestras, las cuales se ejecutaron durante el mes de diciembre del año 2022 (Figura 11).

En una segunda etapa para la ciudad de Juliaca, la población de estudio comprendió los puestos de venta de zumo de naranja de expendio ambulatorio. Se seleccionaron también 3 mercados de la ciudad: Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Internacional San José y Mercado Pedro Vilcapaza. Para su análisis, se estableció considerar 5 puestos de venta por mercado y realizar 3 repeticiones por puesto de venta ambulatoria. De esta manera se analizaron también un total de 45 muestras, las cuales se ejecutaron durante los meses de enero y febrero del año 2023 (Figura 12).

3.3.1 Criterios de inclusión

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia debido a que las poblaciones en estudio no se encontraban fijas en sus sitios de venta. Esto se debe a la gran cantidad y variedad de lugares de expendio de zumo de naranja en triciclos y carretas móviles en las ciudades de Puno y Juliaca. También se llevó a

cabo la validación y verificación de los métodos de ensayo según ISO 13843:2017 para determinar las características de calidad.

3.4 DISEÑO DEL ESTUDIO

La distribución de las unidades de análisis para Calidad Microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*), expendidos de forma ambulatoria en Puno y Juliaca; se realizó según lo siguiente:

Tabla 7

Diseño de estudio para el análisis microbiológico del zumo de naranja en los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca (diciembre 2022 a febrero 2023).

CIUDADES	MERCADOS	Puestos (PVA)	Total, de Muestras analizadas
PUNO	Mercado Bellavista	5	15
	Mercado Central	5	
	Mercado Unión y Dignidad	5	
JULIACA	Mercado Internacional Túpac Amaru	5	15
	Mercado Internacional San José	5	
	Mercado Pedro Vilcapaza	5	

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria).

Fuente: Elaboración propia.

3.5 METODOLOGÍA

3.5.1 Métodos de análisis

La metodología está basada en:

- Normas Técnicas Sanitarias MINSA/DIGESA Nro. 071-V01, avaladas y reconocidas por la Resolución Ministerial MINSA Nro. 591 de 2008, que



establecen los criterios de calidad y seguridad microbiológica para alimentos y bebidas de consumo humano. Para garantizar la clasificación basada en la calidad, con la información de los resultados obtenidos durante el proceso de cuantificación y recuento microbiano (MINSA/DIGESA, 2011).

- CODEX *Alimentarius*, cuya base fundamental es orientar los criterios y los métodos recomendados apropiados en laboratorios de alimentos, establecido por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud Laura (2017).

3.5.2 Métodos Microbiológicos

a. Metodo

Recolección de muestra según la Directiva Sanitaria N° 032 - MINSA/DIGESA – V. 01.

b. Fundamento

Se recolectaron tres muestras de zumo de naranja por cada puesto de venta ambulatoria (PVA) (Figuras 11 y 12). La recolección se realizó utilizando bolsas de plástico desechables de primer uso con una capacidad de 400 ml; estas bolsas fueron etiquetadas con información de procedencia, lugar, fecha, hora y número de puesto (Figura 13). Se consideró el proceso de preparación y dispensación realizado por el comerciante, así como la manipulación del producto para extraer el zumo, utilizando los instrumentos y utensilios propios del vendedor.



c. Procedimiento

Las muestras obtenidas se colocaron en un cooler con gel refrigerante, en cadena de frío de 0 a 4°C, cumpliendo con las regulaciones de la norma sanitaria DIGESA Nro. 032. Esta medida ayudó a preservar la calidad organoléptica del zumo de naranja, incluyendo su sabor, aroma y color. Además, el transporte adecuado en cadena de frío contribuyó a prevenir la contaminación por factores que pudieran alterar los resultados. El zumo de naranja es una fuente natural de nutrientes, como la vitamina C, sensible al calor y la oxidación.

Para asegurar la eficiencia en la conservación y transporte de las muestras, se utilizaron coolers con capacidad de 2 litros, equipado con un gel pack refrigerante de 250 g para mantener una cadena de frío constante, garantizando temperaturas entre 0 y 4 °C (Figura 13). El contenedor de transporte tenía dimensiones de 50 x 35 cm, lo suficientemente amplias para alojar hasta 30 muestras. Las muestras fueron transportadas de manera inmediata al Laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno para su análisis (MINSa, 2011).

3.5.3 Determinación de la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sinensis*) expendido de forma ambulatoria en los mercados de Puno y Juliaca mediante el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*.

a. Método

Número más probable (NMP/ml) MINSa/DIGESA Nro. 071-V01



b. Fundamento

El método de Número Más Probable (NMP) o de tubos múltiples consiste en un ensayo de presunción utilizado para estimar la concentración de microorganismos en muestras líquidas, como el zumo de naranja. Se utiliza para determinar la presencia y cantidad de microorganismos específicos en muestras homogeneizadas previamente en una solución reguladora de peptona como medio de cultivo. Las muestras se diluyen y se suspenden en Caldo Lactosado y Caldo Verde Brillante Bilis Lactosa (CLVBB), medios de cultivo líquidos ricos en nutrientes, no selectivos; que contienen extracto de carne, peptona y lactosa. Posteriormente, se observa el crecimiento microbiano mediante turbidez o la formación de colonias en los medios. Se confirma la positividad por producción de gas en los tubos a las 24 y 48 horas de incubación a 37°C, lo cual verifica y comprueba la presencia de bacterias (Laura, 2017).

c. Procedimiento

En un entorno de esterilidad y bioseguridad, se procedió a desinfectar las bolsas que contenían muestras de zumo de naranja con alcohol al 70%, externamente durante 3 a 5 minutos (Bounce, 2018), tomando en cuenta todas las medidas de bioseguridad personal (DIGESA, 2006). Posteriormente, los materiales de laboratorio fueron esterilizados a 180°C durante 1 hora en una estufa, envueltos en papel kraft. Paralelamente, los medios de cultivo preparados fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos, con una presión de 15 libras por pulgada cuadrada (Figura 14), garantizando la integridad de los resultados del análisis microbiológico.



- **Homogenización de la muestra**

De 400 ml de muestra recolectada, se tomó con una pipeta estéril 10 ml de zumo de naranja, manteniéndolo a una temperatura adecuada para la estabilidad de los microorganismos. Luego, se añadió la muestra en un matraz, al que se le agregan 90 ml de solución reguladora de peptona. Esta homogenización da como resultado una dilución de 1:10 o 10^{-1} (Laura, 2017).

- **Dilución de la muestra**

Agitando el zumo homogeneizado de la dilución 1:10, se tomó 1.0 ml con una pipeta estéril y se vertió en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de solución reguladora de peptona, mezclando cuidadosamente para obtener una segunda dilución de 1:100 o 10^{-2} . De esta segunda dilución, se tomó 1 ml para preparar una tercera dilución de 1:1000 o 10^{-3} como se aprecia en la Figura 15 (Laura, 2017).

d. Ensayo de presunción

- **Inoculación**

El proceso de inoculación se realizó en tres tubos que contienen caldo lactosa con tubos Durham invertidos, donde se tomó 1ml del alimento homogenizado y diluido (1:10). Se repite la operación inoculando la segunda dilución (1:100) en tres tubos siguientes con caldo lactosa; finalmente se repite la misma operación para la tercera dilución (1:1000) y diluciones sucesivas con su rotulado respectivo (Figura 15), utilizando para cada una de las diluciones una nueva pipeta esterilizada (Laura, 2017).



- **Incubación**

Los tubos de Caldo Lactosado fueron incubados durante 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C (Figura 15) (Laura, 2017).

e. **Lectura de los tubos enriquecidos**

- **Test presuntivo**

Se interpretaron como positivos (+) a los tubos en los que a fermentado la lactosa y han producido gas al cabo de 24 horas, y se volvieron a incubar, los de fermentación lenta, durante otras 24 horas, volviendo a realizar la lectura y anotando como positivos aquellos que han producido gas y turbidez (Laura, 2017).

- **Test confirmativo**

Los tubos considerados o seleccionados como positivos se inocularon con un asa esterilizada en tubos que contenían Caldo Verde Brillante Bilis Lactosa (CLVBB) con tubos de Durham invertidos, luego se procedió a homogenizar el cultivo y los tubos inoculados se incubaron durante 24 horas a 37°C, transcurrido este tiempo se hicieron lecturas a las 48 horas, confirmando la presencia de gas y la densidad de crecimiento, los tubos de (CVBBL) con estas características se confirman como positivos para la presencia de Coliformes (Figura 16).

- **Cálculos (NMP)**

Se procedió a registrar y cotejar con el índice de Número Mas Probable (Figura 25) la lectura de todos los tubos positivos confirmados para finalmente proceder a un cálculo total de la carga bacteriana presente (Laura, 2017).



3.5.4 Aislamiento bacteriano de *Escherichia coli*

a. Técnica

Cultivo in vitro en agar Eosin Methylen Blue (EMB)

b. Fundamento

El agar EMB es un medio de cultivo sólido, selectivo diferencial que contiene peptona, lactosa, sacarosa, difosfatos dipotásicos, agua y azul de metileno lo cual comúnmente se utiliza este medio para seleccionar y diferenciar exclusivamente bacterias Gram negativas, ya que por su contenido de azul de metileno inhibe eficientemente el crecimiento de gran parte de las bacterias Gram positivas, mientras tanto el colorante eosina expresa los cambios de pH, cambiando de incoloro a negro en ambientes ácidos, el medio EMB por su composición de lactosa y sacarosa mas no glucosa como fuente de energía permite el desarrollo a los sustratos fermentables que estimulan el crecimiento de algunas de las bacterias Gram negativas, principalmente a Coliformes fecales y no fecales, así también a la diferenciación de bacterias entéricas como la *Escherichia coli* (Montenegro, 2014).

Las bacterias Gram negativas generalmente las entéricas consiguen fermentar la lactosa logrando acidificar el medio, por lo que en condiciones acidas los colorantes del medio EMB producen un complejo decoloración purpura oscuro que regularmente se asocia a un brillo verde metálico, del cual viene a ser un alto indicador de fermentación de la lactosa o la sacarosa conjeturando la presencia de *Escherichia coli* (Lal et al., 2007).



c. Procedimiento

En condiciones de esterilidad y bioseguridad pesamos el agar EMB diluido en un matraz para su consiguiente esterilización en autoclave a calor húmedo a una temperatura de 121°C durante 15 minutos, con una presión de 15 libras por pulgada cuadrada, para inmediatamente realizar el proceso de plaqueado (Figura 17) (Laura, 2017).

- Cultivo in vitro

Seleccionamos de los tubos positivos de CVBBL un inóculo en condiciones de esterilidad, utilizando un asa en círculo el cual previamente se esterilizo al rojo vivo con un mechero, consecutivamente se procedió a la siembra por agotamiento en estría en la superficie del medio de cultivo selectivo EMB (Figura 18) (Laura, 2017).

- Incubación

Las placas sembradas se incubaron de 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C en una incubadora calibrada.

d. Lectura de las placas sembradas

Transcurrido el tiempo se realizó la lectura, seleccionando las colonias que presentan una coloración verdusca con aspecto brillante metálico el cual indicaba la presencia de *Escherichia coli* (Figura 19) (Laura, 2017).



3.5.5 Pruebas de diferenciación bioquímica

a. Fundamento

Para el reconocimiento de bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* se hace el empleo de pruebas de diferenciación bioquímica que están compuestas por medios de cultivo tales como: Triple Azúcar Hierro (TSI), Agar Lisina Hierro (LIA), Agar Citrato de Simmons (CS) y Medio de Motilidad Indol Sulfuro (SIM) menciona Macfaddin (2003).

- El medio TSI, realiza un descarte con el consumo de lactosa, la glucosa y la sacarosa con producción o sin producción de gas, mientras que la producción de ácido sulfhídrico es evidenciada por una reacción amarilla por la parte superior del pico de flauta (lactosa) y por el fondo (glucosa) Macfaddin (2003).
- El medio LIA, para su lectura se toma en consideración en la columna y en la superficie inclinada, también por la actividad del ácido sulfhídrico en la formación evidente de una coloración negruzca Macfaddin (2003).
- En el medio Citrato de Simmons el efecto de la coloración azul se considera como positivo, y cuando se torna de un color verde, se indicaría como negativo indica Macfaddin (2003).
- El medio SIM es positivo siempre y cuando los microorganismos migren de la línea de siembra y circulen por el medio provocando así una clara turbidez o mostrarse como “vellosidades” a lo largo del trazo de siembra. En caso sea negativo se observa un crecimiento bacteriano acentuado



siguiendo el trazo de siembra, y el medio circundante y se mantiene claro Macfaddin (2003).

b. Procedimiento

Los medios sólidos fueron solidificados con inclinación o pico de flauta, mientras que el medio SIM se solidificó sin inclinación, y todos estos se conservaron a una temperatura de 8 a 10 °C hasta su utilización (Figura 20). Para el aislamiento y la identificación de *Escherichia coli*, se seleccionó, en condiciones de esterilidad, una colonia de color verde brillante metálico utilizando un asa de Kolle en punta y se procedió a inocular en los medios diferenciales o bioquímicos (Laura, 2017), de la siguiente manera:

Triple Azúcar Hierro (TSH): Con el asa de platino en punta se cogió la colonia y se realizó una puntura hacia el fondo del medio y estrías sobre la superficie inclinada del agar, se incubó durante 24 y 48 horas a 37°C. los cambios en el medio se interpretaron de la siguiente manera: ya que el medio está compuesto por tres azúcares glucosa, lactosa y sacarosa composición que sirve para poner en evidencia su producción de azúcares. Tomando en cuenta que el color original es rojo ladrillo de pH 7.4 se interpretó así: (Figura 21 y 22) (Laura, 2017).

Extremo: color amarillo significa glucosa fermentada; rojo o sin cambio indico glucosa sin fermentar; negro significa formación de sulfuro de hidrogeno; las burbujas indicaban la presencia de gas que se forma de la glucosa. La lectura positiva fue de A/A (Laura, 2017).



Superficie inclinada: el color amarillo indico la fermentación de Lactosa o sacarosa o ambas; rojo o sin variación indicaban que la Lactosa o sacarosa, o ambas, no estaban fermentadas (Laura, 2017).

Agar Lisina Hierro (LIA): la inoculación de las colonias se realizó mediante 2 punturas al fondo y estrías en la superficie del medio inclinado incubados durante 24 horas a 37°C. donde tomaban un color purpura después de la proliferación, siendo esa reacción como positiva y leyéndose como LIA (+) (Laura, 2017).

Citrato de Simmons (CS): Se inoculó por una puntura recta y estrías en la superficie y se incubo durante 24 y 48 horas a 37°C, luego se examinó para comprobar el desarrollo del microorganismo por el cambio de color del medio verde a un color azul indicando así la utilización de citrato como fuente de carbono (Laura, 2017).

Medio de Motilidad Indol Sulfuro (SIM): La colonia se inoculó por una puntura recta hasta el fondo e incubo por 24 y 48 horas a 37°C, transcurrido el tiempo, se le agregó de 1 a 2 gotas de reactivo de Kovac donde se observó una reacción, indicando que hay la producción de Indol por la superficie del medio, esta se caracteriza por formar un anillo rojizo que se califica como una reacción positiva (Laura, 2017).

Finalmente, todas las reacciones bioquímicas fueron verificadas utilizando la Tabla para la identificación de bacterias del INS – 2001 (Figura 24). (Laura, 2017).

3.5.6 Análisis estadístico

Se utilizaron Tablas de frecuencias, medidas de tendencia central (promedios) y el análisis estadístico ANOVA para determinar las diferencias estadísticas en la calidad bacteriológica del zumo de naranja.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \varepsilon_{ij}$$

- Y_{ij} : Variable objeto de estudio
- μ : Constante que indica la respuesta media de cada nivel
- τ_j : Efecto diferencial de nivel “j”, donde este recoge la información de cada grupo o tratamiento, en este caso es el objetivo del análisis.
- ε_{ij} : Terminó error, considerando como una variable aleatoria.

Chi cuadrado Pearson:

$$X_c^2 = \frac{\sum_{i=1}^c (O_i - E_i)^2}{E_i}$$

- X_c^2 : Chi cuadrado calculado
- O_i : Frecuencia observada de la i-esima columna
- E_i : Frecuencia esperada de la i-esima columna

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE Coliformes Y *Escherichia coli* EN EL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO.

4.1.1 Análisis de Coliformes en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Puno.

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

Tabla 8

Frecuencia de Coliformes (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Puno.

PUESTOS	MERCADOS		
	BELLAVISTA	CENTRAL	UNIÓN Y DIGNIDAD
Coliformes NMP/ml			
PVA1	1×10^3	3×10^1	2×10^2
PVA2	1×10^3	1×10^3	1×10^3
PVA 3	2×10^2	1×10^2	2×10^3
PVA 4	1×10^3	1×10^3	2×10^3
PVA 5	1×10^3	1×10^3	1×10^3
\bar{x}	1×10^3	8×10^2	1×10^3

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) \bar{x} (promedio) NMP/ml (Número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.



De acuerdo a la Norma Sanitaria NTS Nro. 071-MINSA/DIGESA-V.01, donde los estándares permisibles para Coliformes son: “mínimo” (10^2) y “máximo” (10^3) de carga microbiana; el análisis ANOVA no encontró diferencias significativas en los niveles de Coliformes entre los mercados con un valor estadístico de 0.766 ($p > 0,05$). Con base a este análisis estadístico, se puede concluir que los niveles de bacterias Coliformes en muestras de zumo de naranja de vendedores ambulantes en diferentes mercados de Puno no presentan variaciones significativas. Esto sugiere que el nivel general de contaminación por Coliformes es relativamente consistente en todos los mercados. En consecuencia, el contenido de Coliformes puede considerarse un indicador higiénico válido para evaluar la calidad del zumo de naranja.

Los resultados del recuento microbiano de Coliformes en el zumo de naranja en NMP/ml, de los mercados de la ciudad de Puno, se presentan en la Tabla 8. Estos resultados muestran los promedios de tres repeticiones por puesto de venta ambulatoria. En el Mercado Bellavista, los resultados fueron, PVA1: 1×10^3 NMP/ml, PVA2: 1×10^3 NMP/ml, PVA3: 2×10^2 NMP/ml, PVA4: 1×10^3 NMP/ml, y PVA5: 1×10^3 NMP/ml. El valor más bajo fue 2×10^2 NMP/ml, el valor más alto fue 1×10^3 NMP/ml, y el promedio general fue 1×10^3 NMP/ml.

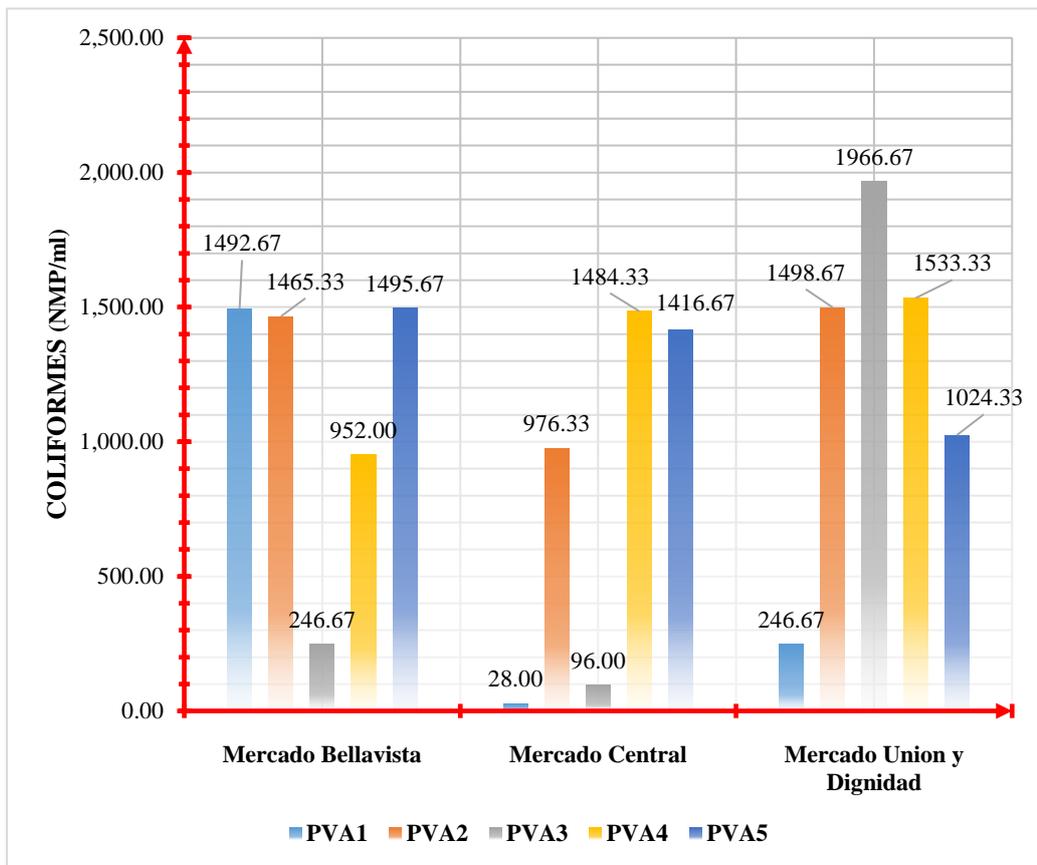
Mercado Central resultó en, PVA1: 3×10^1 NMP/ml, PVA2: 1×10^3 NMP/ml, PVA3: 1×10^2 NMP/ml, PVA4: 1×10^3 NMP/ml, y PVA5: 1×10^3 NMP/ml, donde El valor más bajo fue 3×10^1 NMP/ml, el más alto fue 1×10^3 NMP/ml, y el promedio general fue 8×10^2 NMP/ml.

Finalmente, el Mercado Unión y Dignidad presentó los siguientes resultados para el recuento de Coliformes: PVA1: 2×10^2 NMP/ml, PVA2: 1×10^3

NMP/ml, PVA3: 2×10^3 NMP/ml, PVA4: 2×10^3 NMP/ml, y PVA5: 1×10^3 NMP/ml. El valor mínimo registrado fue de 2×10^2 NMP/ml y el valor máximo fue de 2×10^3 NMP/ml. El promedio general fue de 1×10^3 NMP/ml.

Figura 2

Promedio de los recuentos de Coliformes (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Puno.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 8 y la Figura 2 muestran los resultados promedio del análisis del recuento de Coliformes en el zumo de naranja, recolectados de diferentes puestos de venta ambulante en los mercados Bellavista, Central y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno. Cada puesto tuvo 3 repeticiones, sumando un total de 15 muestras.



En el Mercado Bellavista, se halló que 3 de los 5 puestos (PVA1, PVA2 y PVA5) presentaron recuentos de Coliformes superiores al límite máximo permisible (10^3 NMP/ml), considerándolos inaceptables y peligrosos para el consumidor. El puesto PVA4 estuvo al límite del máximo permisible, también considerado rechazable. El puesto PVA3, aunque no superó el límite máximo, estuvo por encima del límite mínimo aceptable, indicando la presencia de Coliformes en todos los puestos evaluados.

El análisis promedio del recuento de Coliformes en el Mercado Central demostró que 2 de los 5 puestos (PVA4 y PVA5) superaron los límites máximos permisibles (10^3 NMP/ml), considerándose inaceptables según la norma sanitaria. El puesto PVA2 estuvo dentro del rango mínimo rechazable. Solo los puestos PVA1 (28.0 NMP/ml) y PVA3 (96.0 NMP/ml) se mantuvieron por debajo del mínimo permisible, siendo sus valores aceptables de acuerdo con los criterios de inocuidad alimentaria establecidos.

En el Mercado Unión y Dignidad, se observó que 4 de los 5 puestos (PVA2, PVA3, PVA4 y PVA5) evaluados microbiológicamente eran inaceptables, ya que superaban con creces los criterios máximos permisibles (10^3 NMP/ml). En particular, el puesto PVA3 mostró el mayor conteo de Coliformes (1966.67 NMP/ml) en comparación con los demás mercados de Puno. Por otro lado, el puesto PVA1 fue el único que se encontró dentro de los valores mínimos rechazables (10^2 NMP/ml) según los criterios establecidos por la NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA-V01.

Al evaluar los promedios de la carga microbiológica del zumo de naranja, podemos concluir que el resultado con mayor presencia de Coliformes, es el



mercado Unión y Dignidad y específicamente el puesto PVA3: 1966.67 NMP/ml respectivamente.

Los resultados del estudio muestran una coincidencia con la investigación de Burgos (2016), sobre néctares crudos y sin tratamiento térmico, que encontró un máximo de 1081 UFC/ml de Coliformes en uno de los bloques, con valores mínimos de 13 UFC/ml en otros bloques. Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN Nro. 2337, el límite máximo permitido es de 10 UFC/ml, lo que indica una elevada carga microbiana de Coliformes en los néctares crudos. Similarmente, el zumo de naranja recién exprimido, que no cuenta con un tratamiento térmico, está sujeto a condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), pero sigue siendo susceptible a una alta contaminación microbiológica. Los resultados obtenidos en los mercados de Puno reflejan una presencia de Coliformes en cantidades que superan los límites establecidos por las normas.

Por su parte Calderón et al. (2017), al aislar y cuantificar en medios Mac Conkey Agar, la carga microbiana encontrada en muestras de jugo de naranja recién exprimido, demostró en sus resultados que el 40% del jugo de naranja que se comercializa en los alrededores del campus de la Universidad Politécnica Salesiana – Quito, no fueran aptos para el consumo, ya que excedía, el máximo permisible para Coliformes, según la norma técnica ecuatoriana INEN Nro. 2337. Resultados similares, ya que, al ser un indicador de higiene, las bacterias Coliformes también se encontrarán en todos los puestos de los mercados de la ciudad de Puno, y con valores que superan los límites de inocuidad alimentaria NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA-V01.



El elevado nivel de Coliformes en el mercado Unión y Dignidad podría estar relacionado con la alta congestión vehicular en la zona, la cual contribuye a la contaminación del ambiente y deteriora la calidad de los alimentos, como indican Zoto et al. (2015). Además, la falta de infraestructura adecuada para la venta y almacenamiento, como mostradores de vidrio, y el uso de baldes transparentes para almacenar naranjas recién peladas, aumentan el riesgo de contaminación. Según Abu Sabbah (2012), las frutas peladas o cortadas y expuestas a la luz solar pueden deteriorarse rápidamente, promoviendo el crecimiento de bacterias, la manipulación inadecuada, como el contacto con materiales no desinfectados (bolsas de plástico, cuchillos mal lavados) y la ausencia de detergentes para limpiar superficies y utensilios, contribuyen a la proliferación de gérmenes. La exposición de los puestos de venta al tránsito público también agrava el problema, haciendo que el zumo de naranja sea más susceptible a la contaminación y menos seguro para el consumidor.

En el mercado Bellavista y Central, aunque los puestos de venta ambulante (PVA) utilizan mostradores de vidrio y están expuestos a la congestión vehicular, la falta de prácticas adecuadas de higiene sigue siendo un problema. Muchos comerciantes manipulan las naranjas peladas sin guantes o solo con un guante, lo que compromete las buenas prácticas de manufactura (BPM) durante el proceso de extracción. Según López (2018), el riesgo de que los zumos de fruta sean peligrosos para el consumidor aumenta cuando se violan principios básicos de higiene, limpieza y desinfección.

4.1.2 Análisis de *Escherichia coli* en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Puno.

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

Tabla 9

Frecuencia de Escherichia coli (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Puno.

PUESTOS	MERCADOS		
	BELLAVISTA	CENTRAL	UNIÓN Y DIGNIDAD
	<i>Escherichia coli</i> NMP/ml		
PVA1	0	0	1x10 ²
PVA2	0	2x10 ²	3x10 ²
PVA 3	0	0	3x10 ²
PVA 4	3x10 ²	3x10 ²	3x10 ²
PVA 5	2x10 ²	3x10 ²	2x10 ²
\bar{x}	9x10 ¹	1x10 ²	2x10 ²

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) \bar{x} (promedio) NMP/ml (Número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 9 resume el análisis de la carga microbiológica de *Escherichia coli* en el zumo de naranja comercializado de forma ambulatoria en los mercados de Puno. Los promedios de tres repeticiones por punto de venta ambulante (PVA) se evaluaron según la Norma Sanitaria NTS Nro. 071-MINSA/DIGESA-V.01, con estándares permisibles de "mínimo" (10) y "máximo" (10²) NMP/ml. El análisis ANOVA reveló un valor estadístico de 0.084 ($p > 0.05$), lo que indica que no existen diferencias significativas en la carga de *Escherichia coli* entre los mercados. Si bien la presencia de *Escherichia coli* en alimentos no siempre

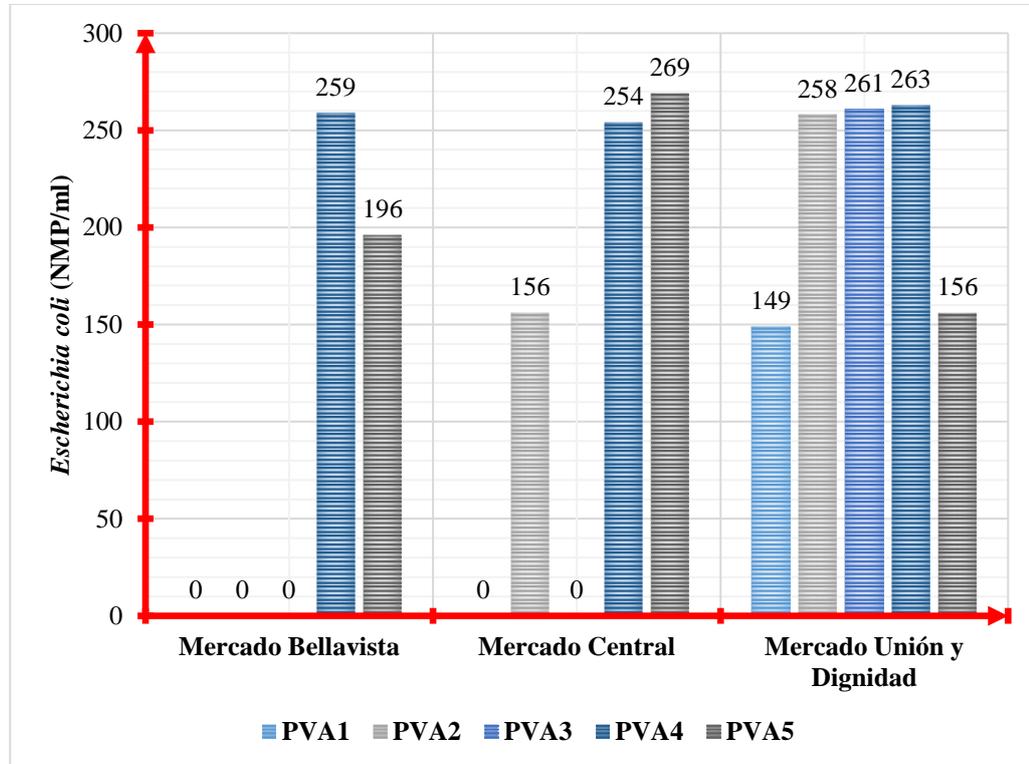


representa un peligro inmediato para la salud, debido a que la patogenicidad varía según la cepa, su presencia como indicador fecal sugiere la posible existencia de bacterias dañinas. Por lo tanto, es crucial mantener prácticas higiénicas adecuadas durante la manipulación y preparación del zumo de naranja.

En el Mercado Bellavista, los análisis de *Escherichia coli* indicaron que los puestos PVA1, PVA2 y PVA3 no mostraron crecimiento, mientras que PVA4 y PVA5 registraron 3×10^2 y 2×10^2 NMP/ml respectivamente, con un promedio general de 9×10^1 NMP/ml. En el Mercado Central, el PVA1 y PVA3 no mostraron crecimiento, PVA2 presentó 2×10^2 NMP/ml, y PVA4 y PVA5 tuvieron 3×10^2 NMP/ml, con un promedio general de 1×10^2 NMP/ml. En el Mercado Unión y Dignidad, el PVA1 tuvo 1×10^2 NMP/ml, mientras que PVA2, PVA3 y PVA4 registraron 3×10^2 NMP/ml, y PVA5 tuvo 2×10^2 NMP/ml, resultando en un promedio general de 2×10^2 NMP/ml. Los valores mínimos encontrados fueron 0 NMP/ml y los máximos 3×10^2 NMP/ml en todos los puestos evaluados en Puno.

Figura 3

Promedio de los recuentos de Escherichia coli (NMP/ml), en los puesto de venta ambulatoria de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Puno.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 9 y la figura 3 revelan que el zumo de naranja vendido ambulantemente en los mercados de la ciudad de Puno presenta contaminación con *Escherichia coli* en 10 de los 15 puestos evaluados. En el Mercado Bellavista, los puestos PVA4 (259 NMP/ml) y PVA5 (196 NMP/ml) excedieron el límite máximo permitido (10^2 NMP/ml), lo que los hace inaceptables y peligrosos para la salud pública. En contraste, en los puestos (PVA1, PVA2 y PVA3) de este mercado, no se detectó presencia del patógeno.

Es importante destacar que, en el Mercado Central, los resultados del análisis microbiológico mostraron que los puestos PVA2 (156 NMP/ml), PVA4



(254 NMP/ml) y PVA5 (269 NMP/ml) exceden los límites máximos permisibles (10^2 NMP/ml), lo que los convierte en inaceptables según las normas sanitarias. Entre ellos, el puesto PVA5 presenta la mayor concentración de *Escherichia coli* en los mercados de la ciudad de Puno. Por lo que, los puestos PVA1 y PVA3 no mostraron presencia del patógeno.

En el Mercado Unión y Dignidad, se observó que todos los puestos presentaban *Escherichia coli* en las muestras de zumo de naranja. Los recuentos fueron los siguientes: PVA1 con 149 NMP/ml, PVA2 con 258 NMP/ml, PVA3 con 261 NMP/ml, PVA4 con 263 NMP/ml, y PVA5 con 156 NMP/ml. Todos estos valores superan ampliamente el límite máximo permisible (10^2 NMP/ml), lo que indica una grave falta de condiciones sanitarias y el incumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en este mercado.

Los resultados encontrados en esta investigación sobre la presencia de *Escherichia coli* son similares a los hallazgos de Carbajal (2018), quien estudió jugos de naranja en Toluca, México. Carbajal encontró niveles de contaminación microbiológica de hasta 16,000 UFC/ml, mucho más altos que el límite máximo permisible de 100 UFC/ml establecido por la Norma 093-SSA1 de México. A diferencia de Orosco y Vilches (2013), reportaron en Iquitos valores mucho más bajos, de 3.6 NMP/ml, en jugos de *Mauritia flexuosa* (aguaje) vendidos ambulante, sugiriendo que este tipo de bebida sin tratamiento térmico no presenta contaminación fecal con respecto a *Escherichia coli*.

De manera similar, Rojas (2019) encontró un valor promedio de 100 NMP/ml para *Escherichia coli* en jugo de naranja vendido en mercados modelo, utilizando la técnica de NMP. Estos resultados coinciden con los hallazgos de



nuestra investigación. Ya que Rojas atribuye estos niveles de contaminación a las condiciones inadecuadas en el uso de materiales de limpieza, la mala exposición del producto y la falta de capacitación de los vendedores, lo que hace que el jugo no sea apto para el consumo.

Podemos concluir que los 10 puestos en los mercados de la ciudad de Puno que presentan la presencia de *Escherichia coli* representan un riesgo significativo para los consumidores. Esto se debe en parte a las deficiencias observadas en el Mercado Unión y Dignidad, donde muchos puestos utilizan recipientes para enjuagar en lugar de lavar adecuadamente vasos y utensilios utilizados para servir el zumo de naranja recién exprimido. Además, se identificó contaminación cruzada debido a que los peladores mecánicos, que rara vez se limpian, están en contacto con cáscaras expuestas al aire libre en los carritos de venta. Donde también se observó que los exprimidores mecánicos se encuentran en malas condiciones y, en algunos casos, solo se protegen con una malla que actúa como trapo de limpieza como menciona Abu Sabbah (2012).

De igual forma Malpartida (2021) reporta que en los mercados Modelo y Viejo de la ciudad de Huánuco, considerara que la contaminación sanitaria, se debe al aspecto de cada puesto de venta de jugos, donde las BPM eran excluidas del hábito del comerciante, teniendo como consecuencia la presencia de plagas, residuos sólidos en contacto con alimentos, el no contar con abastecimiento de agua y la clara deficiencia por parte de los manipuladores; que lleva a concluir que estos mercados tampoco se encuentran aptos para prestar servicios de consumo alimenticio. Razón por la cual, en los mercados Bellavista y Central se observaron condiciones similares a las del mercado Unión y Dignidad, con algunas excepciones. En Bellavista, dos de los puntos de venta ambulante (PVA)

se ubicaban cerca de un contenedor de basura general y había niños que interactuaban con los utensilios del vendedor. En el mercado Central, los PVA estaban agrupados en la misma zona con un flujo constante de clientes, y la mayoría de los comerciantes manipulaban dinero con las manos desnudas, siendo un riesgo visible para la salud, como menciona MINSA (2019).

Tabla 10

Frecuencia de Escherichia coli en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en Puno, según NTS Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01.

MERCADOS	PUESTOS	m		M	
		Nro.	%	Nro.	%
BELLAVISTA	PVA 1	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 2	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 3	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	0	0.0%	3	20.0%
TOTAL		9	60.0%	6	40.0%
CENTRAL	PVA 1	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 2	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 3	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	0	0.0%	3	20.0%
TOTAL		6	40.0%	9	60.0%
UNIÓN Y DIGNIDAD	PVA 1	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 2	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 3	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	0	0.0%	3	20.0%
TOTAL		0	0.0%	15	100.00%

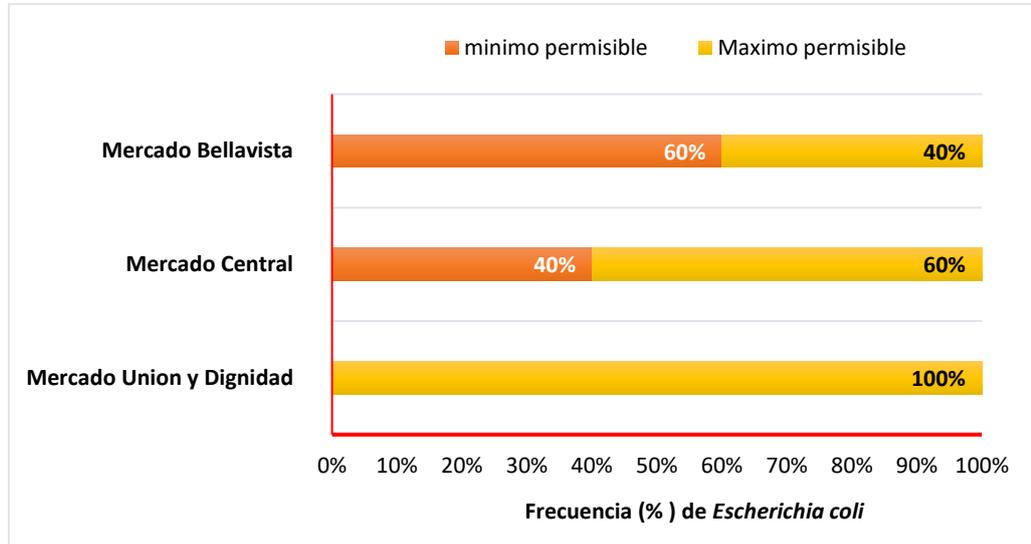
Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) **m** (Mínimo permisible) **M** (Máximo permisible).

Fuente: Elaboración propia.

Figura 4

Frecuencia del contenido de Escherichia coli en el zumo de naranja, según la NTS

Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01 en Puno.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatorio) m (mínimo) M (máximo) % (frecuencia en porcentaje).

Fuente: Elaboración propia.

Según los criterios de inocuidad alimentaria de la NTS 071–MINSA/DIGESA – V01, el análisis microbiológico de la carga de *Escherichia coli* en el zumo de naranja, presentado en la Tabla 10 y figura 4, revela que todos los puestos de venta ambulatorio (PVA) en el Mercado Unión y Dignidad superan los límites máximos permisibles (10^2 NMP/ml). Ninguno de estos puestos cumple con los estándares de higiene necesarios para la venta de bebidas a base de frutas recién exprimidas. Esto indica que el zumo de naranja de estos puestos contiene bacterias de origen fecal, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública en Puno, ya que podría provocar enfermedades diarreicas agudas (EDAs) y enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).



En el Mercado Central, el 60% de los puestos de venta ambulatoria (PVA) mostraron niveles cercanos a los límites máximos permisibles (10^2) para *Escherichia coli*. Este mercado también registró el nivel más alto de carga microbiana en el zumo de naranja recién exprimido. Por otro lado, en el Mercado Bellavista, solo el 40% de los puestos presentaron la presencia del patógeno, lo que puede atribuirse a la ubicación de los puestos y a los hábitos de los comerciantes.

Los resultados obtenidos son consistentes con los hallazgos de Nomberto & Quispe (2020), quienes reportaron que, de 100 muestras de chicha morada vendida de manera ambulante, el 22% contenía *Escherichia coli*. Además, el 86% de las muestras superaban los límites permitidos debido a un manejo inadecuado y a la exposición de los productos a condiciones ambientales adversas, aunque algunos puestos sí mantenían prácticas de higiene adecuadas.

Escobar & Rodríguez (2016) coinciden en que, de un total de 48 muestras de jugo natural de naranja y zanahoria, *Escherichia coli* fue detectado en el 100% de las muestras. Los resultados indican una contaminación fecal generalizada y deficiencias en las prácticas de higiene del proveedor, ya que las concentraciones de *Escherichia coli* superaron los límites permitidos según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA – 67.04.50:8/2009. Este reglamento establece que, en el caso de jugos y bebidas no pasteurizadas, *Escherichia coli* representa un riesgo significativo y no debe encontrarse en ninguna muestra, con un límite mínimo permisible aceptable de < 3 NMP/ml y una ausencia total para el límite máximo permisible.

4.2 DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICROBIANA DE Coliformes Y *Escherichia coli* EN EL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE JULIACA.

4.2.1 Análisis de Coliformes en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Juliaca.

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

Tabla 11

Frecuencia de Coliformes (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expendan ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca.

PUESTOS	MERCADOS		
	INTERNACIONAL TÚPAC AMARU	INTERNACIONAL SAN JOSÉ	PEDRO VILCAPAZA
	Coliformes NMP/ml		
PVA1	1×10^3	2×10^1	2×10^3
PVA2	1×10^3	8×10^2	1×10^3
PVA 3	1×10^3	6×10^2	1×10^3
PVA 4	2×10^2	1×10^3	2×10^3
PVA 5	1×10^3	7×10^1	2×10^3
\bar{x}	1×10^3	6×10^2	2×10^3

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulancia) \bar{x} (promedio) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 11 resume el análisis de la carga microbiológica de Coliformes en el zumo de naranja comercializado de forma ambulancia en los mercados de Juliaca. Los valores promedios obtenidos a partir de tres repeticiones en cada punto de venta ambulante (PVA) fueron evaluados en base a la Norma Sanitaria



NTS Nro. 071-MINSA/DIGESA-V.01, la cual establece límites permisibles de "mínimo" (10^2) y "máximo" (10^3) NMP/ml. El análisis ANOVA reveló que el valor p (0.167) es mayor que el nivel de significancia (α) de 0.05, donde no se rechaza la hipótesis nula (H_0). Esto significa que no hay evidencia estadística suficiente para concluir que existen diferencias significativas en la carga de Coliformes entre los distintos mercados evaluados, lo que resalta la necesidad de implementar y mantener prácticas higiénicas estrictas durante la manipulación y preparación del jugo de naranja para garantizar su seguridad para el consumo.

Se muestra en la Tabla 11 el resumen de los promedios de 3 repeticiones en los diferentes PVA; donde el Mercado Internacional Túpac Amaru. presento los siguientes resultados: PVA1: 1×10^3 NMP/ml, PVA2: 1×10^3 NMP/ml, PVA3: 1×10^3 NMP/ml, PVA4: 2×10^2 NMP/ml, y PVA5: 1×10^3 NMP/ml. Donde la carga con la menor medida fue 2×10^2 NMP/ml, y el valor máximo registrado fue 1×10^3 NMP/ml, resultando en un promedio general de 1×10^3 NMP/ml.

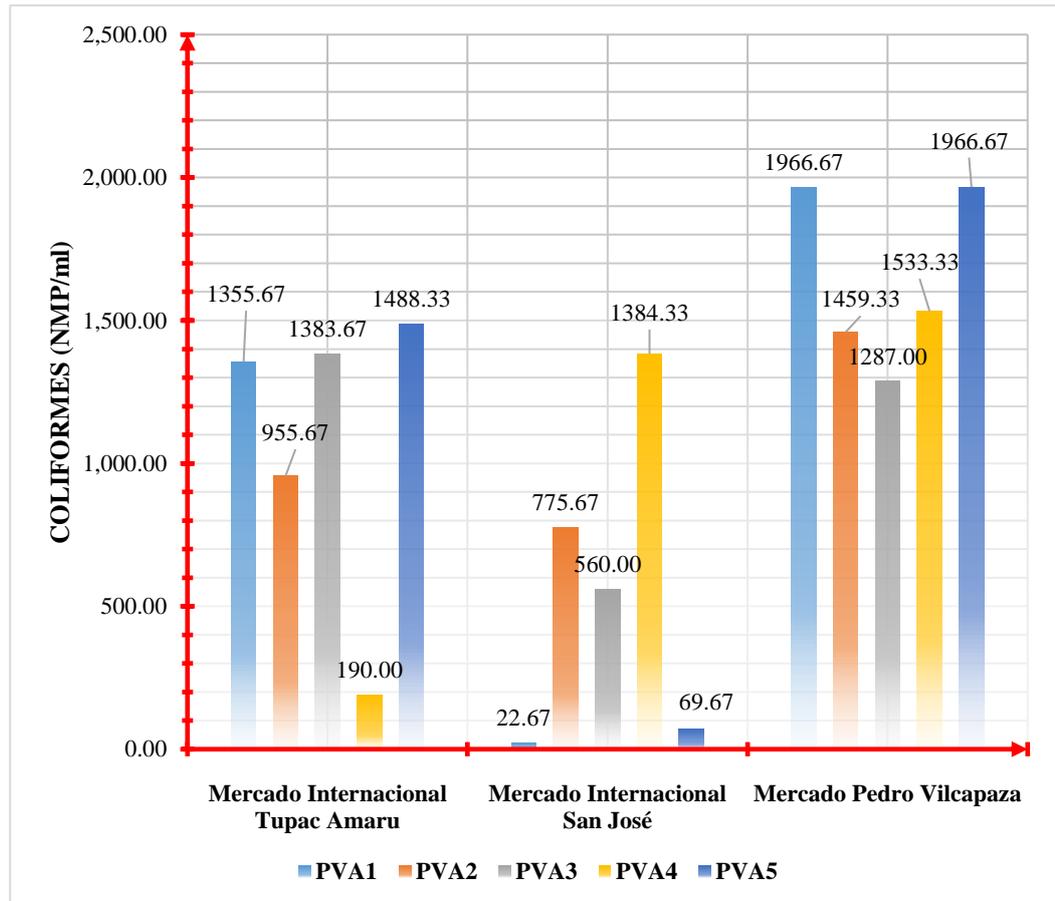
En el caso del Mercado Internacional San José, los resultados para los diferentes PVA fueron los siguientes: PVA1: 2×10^1 NMP/ml, PVA2: 8×10^2 NMP/ml, PVA3: 6×10^2 NMP/ml, PVA4: 1×10^3 NMP/ml, y PVA5: 7×10^1 NMP/ml. El valor mínimo registrado fue 2×10^1 NMP/ml y el máximo alcanzado fue 1×10^3 NMP/ml, con un promedio general de 6×10^2 NMP/ml.

Finalmente, el Mercado Pedro Vilcapaza, tras el análisis microbiológico, presentó los siguientes resultados: PVA1: 2×10^3 NMP/ml, PVA2: 1×10^3 NMP/ml, PVA3: 1×10^3 NMP/ml, PVA4: 2×10^3 NMP/ml y PVA5: 2×10^3 NMP/ml. Donde el valor mínimo registrado fue 1×10^3 NMP/ml y el máximo alcanzado fue 2×10^3

NMP/ml, con un promedio general de 2×10^3 NMP/ml, de acuerdo con la NTS 071 MINSA/DIGESA– V01.

Figura 5

Promedio de los recuentos de Coliformes (NMP/ml), en los puesto de venta ambulancia de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Juliaca.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulancia) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

Tras el análisis microbiológico de Coliformes en el zumo de naranja vendido ambulancia en la ciudad de Juliaca, la Tabla 11 y la Figura 5 presentan un resumen de los promedios obtenidos en los distintos puestos de venta en el Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Internacional San José y



Mercado Pedro Vilcapaza. Cada puesto de venta se evaluó con 3 repeticiones, resultando en un total de 15 muestras analizadas.

En el Mercado Internacional Túpac Amaru, los resultados de la carga microbiana en el zumo de naranja mostraron que 3 de los 5 puestos (PVA1, PVA3 y PVA5) presentaron los recuentos más elevados, superando con creces el límite máximo permisible (10^3 NMP/ml), lo que los hace inaceptables desde el punto de vista higiénico. El puesto PVA2, aunque se encuentra cerca del límite superior del mínimo permisible (10^2 NMP/ml), también es considerado inadecuado debido a sus cifras elevadas. Por otro lado, el puesto PVA4, que resultó con el recuento más bajo, aún se mantiene dentro del mínimo permisible, pero debido a sus elevados niveles, el zumo de este puesto es igualmente rechazable para el comercio de bebidas frescas.

A pesar de la alta concurrencia de comerciantes en el Mercado Internacional San José, se observó que uno de los cinco puestos, el PVA4, presentó el recuento más elevado del mercado, superando ampliamente el límite máximo permisible de 10^3 NMP/ml, lo que lo hace inaceptable para el consumo público. Los puestos PVA2 y PVA3, aunque se encuentran dentro del límite mínimo permisible, tienen cifras que siguen siendo inadecuadas desde el punto de vista alimenticio. En contraste, los puestos PVA1 y PVA5 mostraron valores que se consideran aceptables para el consumo. El puesto PVA1 registró 22.67 NMP/ml, la cifra más baja en la ciudad de Juliaca en cuanto a Coliformes, y el puesto PVA5 obtuvo 69.67 NMP/ml, ambos siendo higiénicamente aceptables para la salud pública.



Es importante destacar que el Mercado Pedro Vilcapaza plantea una preocupación significativa en cuanto a las buenas prácticas de manipulación e higiene, de acuerdo con las normas y reglamentos establecidos. Todos los puestos de venta ambulatoria de zumo de naranja en este mercado mostraron los valores más altos registrados. En particular, los puestos PVA1 y PVA5 presentaron un conteo de 1966.67 NMP/ml, el valor más elevado de la ciudad. Donde estos fueron seguidos por PVA4 con 1533.33 NMP/ml, PVA2 con 1459.33 NMP/ml, y PVA3 con 1287.00 NMP/ml. Todos estos valores superan ampliamente el límite máximo permisible y son inaceptables, representando un riesgo para el consumidor y una alerta para la salud pública. Las autoridades competentes deben intervenir para abordar esta situación.

Estos resultados son comparables a los estudios realizados por Carbajal (2018), que mostraron que los jugos elaborados a base de naranja presentaban niveles de Coliformes en diferentes mercados. En el mercado Morelos se encontraron 3466 UFC/ml, en Juárez 3072 UFC/ml e Hidalgo 35 UFC/ml. Estos resultados indican una alta propensión a la contaminación microbiológica, atribuible a las condiciones del entorno de estos mercados, según la Norma 093 SSA1 de México.

Los estudios de Pachay (2019) mostraron resultados similares en los niveles de Coliformes encontrados en expendedores ambulatorios de agua de coco, con valores que alcanzaron hasta 7 NMP/cm³. Según el autor, estos niveles son más del doble del límite permitido por la Norma Técnica NTE/INEN 1529-6 en la ciudad de Manta, Ecuador.



Resultados similares fueron reportados por Zapata y Suncion (2021), quienes encontraron que muestras de jugo de naranja tratadas con quitosano presentaban niveles extremadamente altos de Coliformes, que oscilaron entre 300 y 900 mg/L. A pesar de que todas las muestras estaban protegidas externamente con cajas de vidrio y otros elementos de cuidado, estas aún superaban los parámetros máximos de inocuidad en la ciudad de Tumbes.

Por su parte, Luque y Rodríguez (2023), en su estudio realizado en la ciudad de Juliaca, determinaron que el jugo de naranja vendido en puntos ambulatorios mostraba recuentos de Coliformes que alcanzaban hasta 2.8×10^6 NMP/100 ml, con un valor mínimo de 3 NMP/100 ml.

La contaminación vehicular introduce diversos agentes contaminantes que afectan diariamente al medio ambiente y a la salud humana, como señala Romero (2006). Además, existe una constante evasión de las buenas prácticas de manufactura (BPM) e higiene, y una situación social que impide un manejo adecuado de los residuos sólidos por parte del comercio ambulatorio. Esto crea condiciones propensas a la contaminación cruzada de los productos alimenticios, como el zumo de naranja recién exprimido, según Hernández (2018).

4.2.2 Análisis de *Escherichia coli* en el zumo de naranja de los mercados de la ciudad de Juliaca.

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

Tabla 12

Frecuencia de Escherichia coli (NMP/ml), en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca.

PUESTOS	MERCADOS		
	INTERNACIONAL TÚPAC AMARU	INTERNACIONAL SAN JOSÉ	PEDRO VILCAPAZA
	<i>Escherichia coli</i> NMP/ml		
PVA1	2x10 ²	0	2x10 ²
PVA2	2x10 ²	1x10 ²	3x10 ²
PVA 3	2x10 ²	0	3x10 ²
PVA 4	2x10 ²	2x10 ²	3x10 ²
PVA 5	3x10 ²	0	2x10 ²
\bar{x}	2x10²	7x10¹	2x10²

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) \bar{x} (promedio) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 12 resume el análisis de la carga microbiológica de *Escherichia coli* en el jugo de naranja que se vende de forma ambulatoria en los mercados de Juliaca. Los valores promedios obtenidos a partir de tres repeticiones en cada punto de venta ambulante (PVA) fueron evaluados en base a la Norma Sanitaria NTS Nro. 071-MINSA/DIGESA-V.01, la cual establece límites permisibles de "mínimo" (10²) y "máximo" (10³) NMP/ml. El valor *p* obtenido en el análisis ANOVA es de 0.866 (*p* > 0.05). Esto significa que no hay evidencia estadística suficiente para concluir que existen diferencias significativas en la carga de

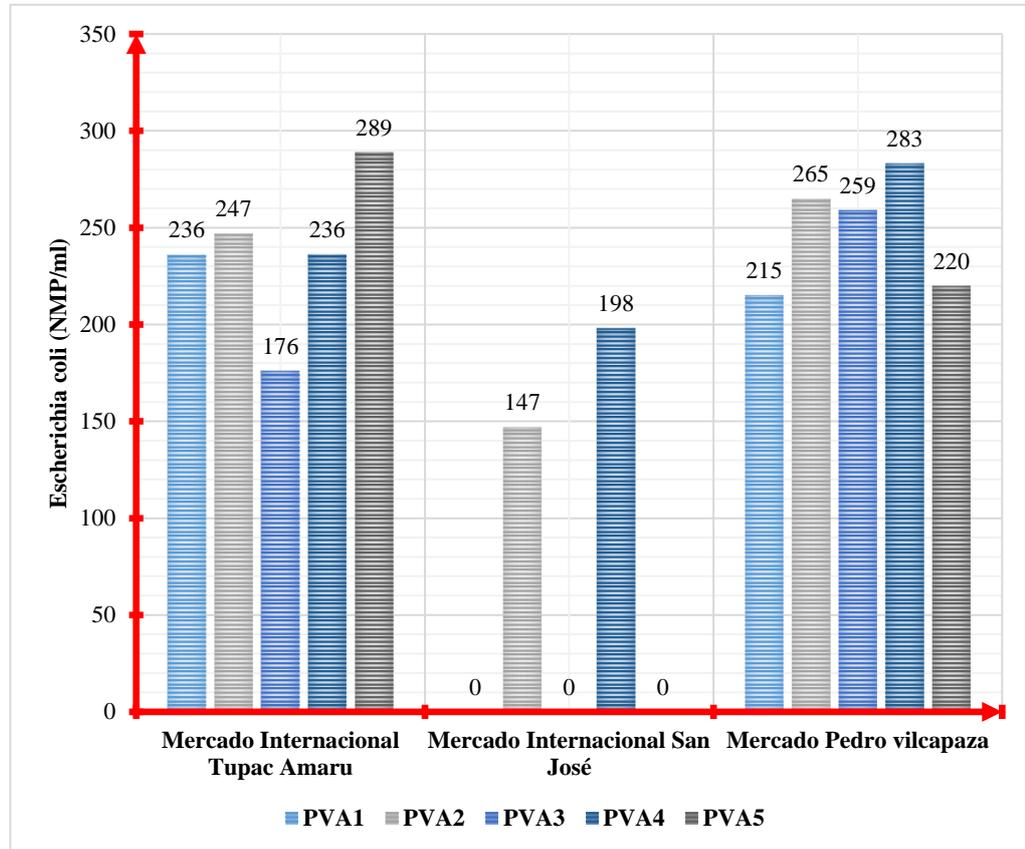


Escherichia coli entre los distintos mercados evaluados, la presencia de esta enterobacteria en estos alimentos bebibles, por su excesiva carga microbiana representa un peligro inmediato para la salud debido a la cantidad y variabilidad en la patogenicidad de las cepas, más allá de ser un indicador fecal, se sugiere mantener prácticas higiénicas estrictas durante la manipulación y preparación del zumo de naranja. Las autoridades competentes deben intervenir para abordar esta situación.

En el Mercado Internacional Túpac Amaru, los valores encontrados fueron: PVA1: 2×10^2 NMP/ml, PVA2: 2×10^2 NMP/ml, PVA3: 2×10^2 NMP/ml, PVA4: 2×10^2 NMP/ml y PVA5: 3×10^2 NMP/ml, con un promedio general de 2×10^2 NMP/ml. En el Mercado Internacional San José, los valores registrados fueron: PVA1: 0 NMP/ml, PVA2: 1×10^2 NMP/ml, PVA3: 0 NMP/ml, PVA4: 2×10^2 NMP/ml y PVA5: 0 NMP/ml, con un promedio general de 7×10^1 NMP/ml. Por su parte, en el Mercado Pedro Vilcapaza se encontraron los siguientes valores: PVA1: 2×10^2 NMP/ml, PVA2: 3×10^2 NMP/ml, PVA3: 3×10^2 NMP/ml, PVA4: 3×10^2 NMP/ml y PVA5: 2×10^2 NMP/ml, con un promedio general de 2×10^2 NMP/ml. La cifra más alta observada fue 3×10^2 NMP/ml, mientras que el valor mínimo registrado fue 0 NMP/ml sin presencia alguna. Según la norma NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, estos niveles de *Escherichia coli* indican la presencia de bacterias de origen fecal, lo que es un indicador clave de la inocuidad alimentaria.

Figura 6

Promedio de los recuentos de Escherichia coli (NMP/ml), en los puesto de venta ambulancia de zumo de naranja, de los Mercados de la ciudad de Juliaca.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulancia) NMP/ml (número más probable por mililitro).

Fuente: Elaboración propia.

La Tabla 12 y la Figura 5 muestran que el zumo de naranja expendido ambulatoriamente en la ciudad de Juliaca presenta *Escherichia coli* en 12 de los 15 puestos evaluados en los mercados de la ciudad. En particular, en el Mercado Internacional Túpac Amaru, todos los puestos superaron el límite máximo permisible de 10^2 NMP/ml. El puesto PVA5 registró el valor más alto con 289 NMP/ml, seguido por PVA2 con 247 NMP/ml, y tanto PVA1 como PVA4 con 236 NMP/ml. PVA3 presentó un valor de 176 NMP/ml. Estos resultados indican que todos estos puestos son inaceptables desde el punto de vista higiénico,



evidenciando la peligrosidad y la falta de higiene en los productos de zumo de naranja consumidos por un gran número de personas que acuden a estos establecimientos.

En el Mercado Internacional San José, se encontraron resultados preocupantes en los puestos PVA4 y PVA2, con niveles de *Escherichia coli* de 198 NMP/ml y 147 NMP/ml, respectivamente, superando el límite máximo permisible de 10^2 NMP/ml y siendo inaceptables para el consumo. En contraste, los puestos PVA1, PVA3 y PVA5 no mostraron presencia de *Escherichia coli*, lo que los hace aceptables en relación con el mínimo permisible de 10 NMP/ml.

Finalmente, en el Mercado Pedro Vilcapaza se encontró que todos los puestos excedieron ampliamente el límite máximo permisible de 10^2 NMP/ml. El puesto PVA4 registró el valor más alto con 283 NMP/ml, siendo el segundo valor más elevado entre todos los mercados de la ciudad de Juliaca. Este valor fue seguido por PVA2 con 265 NMP/ml, PVA3 con 259 NMP/ml, PVA5 con 220 NMP/ml, y PVA1 con 215 NMP/ml. Estos resultados indican una grave preocupación por la salubridad de los puestos ambulantes de zumo de naranja, que debe ser abordada urgentemente por las autoridades e instituciones correspondientes, ya que representan un riesgo significativo para la salud de los consumidores.

Estos valores excesivos son similares con el estudio de Flores (2019) revelando que la bacteria *Escherichia coli* en la cáscara de naranja tenía promedios de 1483.59 NMP/g en los mercados de la ciudad de Puno y 1484.66 NMP/g en la ciudad de Juliaca. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de nuestro estudio, ya que también superan ampliamente los límites permisibles según la



Norma Técnica Sanitaria. Según el autor, estos niveles de contaminación fecal representan una amenaza significativa para la salud humana.

Por otro lado, estos valores excesivos contrastan con los hallazgos reportados por López (2018), quien encontró que, en la localidad de Lara, en el distrito de Trujillo, los niveles de contaminación por *Escherichia coli* en jugos de caña de azúcar se mantenían dentro de los límites aceptables (10 UFC/ml) en las 50 muestras recolectadas de puestos ambulantes, conforme a la Norma MINSA/DIGESA 2008.

Mientras que, Luque y Rodríguez (2023) indicaron que las muestras de jugo de naranja de comercio ambulatorio en la ciudad de Juliaca presentaban niveles de *Escherichia coli* de hasta 15 NMP/100 ml, y las menos contaminadas mostraban menos de 3 NMP/100 ml. Según su estudio, el 90% de las muestras cumplían con las condiciones microbiológicas aceptables para este patógeno. Estos resultados se diferencian significativamente con los encontrados en nuestro estudio, donde se registraron cifras elevadas, como el caso del puesto PVA5 en el Mercado Internacional Túpac Amaru con 289 NMP/ml. Este hallazgo sugiere que existen serias deficiencias en las buenas prácticas de manufactura (BPM) e higiene en estos establecimientos.

Es importante destacar que la presencia de este patógeno en los Mercados Internacional Túpac Amaru y Pedro Vilcapaza podría estar relacionada con el hecho de que estos mercados son de las zonas más concurridas de la ciudad. El comercio ambulatorio en estas áreas es intenso y desregulado, con una constante circulación de vehículos y proximidad a terminales de transporte provincial que conectan con diversas localidades de la región Puno, según Luque et al. (2023).



En relación con las características de los puestos evaluados, se observó que ninguno de ellos contaba con un tacho de basura. Los desperdicios, como cáscaras y otros elementos orgánicos, se acumulaban en el mismo "triciclo" o coche expendedor, expuestos a la intemperie, según reporta Mendoza (2023).

Otro aspecto negativo del comercio ambulatorio de zumo de naranja es que los expendedores no disponían de agua continua para lavar utensilios y herramientas. Además, no se observó la limpieza del extractor mecánico; en su lugar, se utilizaba un trapo de malla húmedo que entraba en contacto con superficies, Tablas de picar, cuchillos, coladores y otras herramientas. Esta práctica contribuye a la contaminación cruzada y revela la presencia de hábitos inadecuados en el manejo de alimentos, según Zapata et al. (2021).

En cuanto al Mercado Internacional San José, se observó que los comerciantes estaban agrupados en un mismo lugar, lo que reducía la necesidad de evadir a los inspectores municipales, según Moreano et al. (2017). Muchos comerciantes habían equipado sus establecimientos móviles con tanques provistos de grifos que simulaban una corriente constante de agua, lo que evitaba el reúso del agua para otros fines. Además, se identificaron sillas, mostradores, sombrillas y tachos de basura adecuadamente ubicados. Estas condiciones contribuyen a reducir la contaminación cruzada y la exposición del zumo de naranja a contaminantes como gases y polvo. Sin embargo, a pesar de estas medidas, algunos puestos aún presentaron niveles elevados de *Escherichia coli*.

Tabla 13

Frecuencia de Escherichia coli en el zumo de naranja, que se expenden ambulatoriamente en mercados de la ciudad de Juliaca. Según la NTS Nro. 071.

MERCADOS	PUESTOS	m		M	
		Nro	%	Nro	%
INTERNACIONAL TÚPAC AMARU	PVA 1	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 2	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 3	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	0	0.0%	3	20.0%
TOTAL		0	0.0%	15	100.0%
INTERNACIONAL SAN JOSÉ	PVA 1	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 2	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 3	3	20.0%	0	0.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	3	20.0%	0	0.0%
TOTAL		9	60.0%	6	40.0%
PEDRO VILCAPAZA	PVA 1	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 2	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 3	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 4	0	0.0%	3	20.0%
	PVA 5	0	0.0%	3	20.0%
TOTAL		0	0.0%	15	100.0%

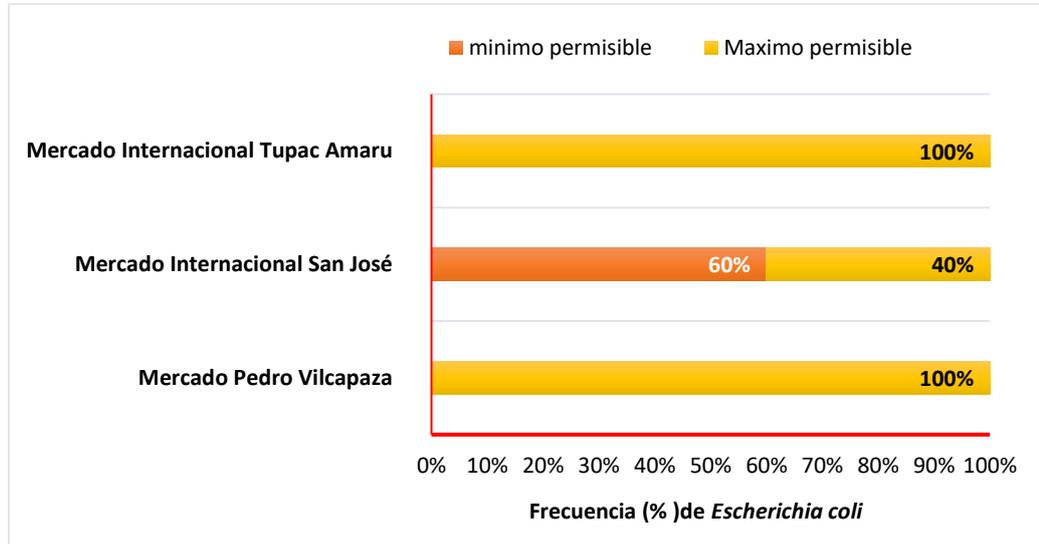
Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) **m** (Mínimo permisible) **M** (Máximo permisible).

Fuente: Elaboración propia.

Figura 7

Frecuencia del contenido de Escherichia coli en el zumo de naranja, Según NTS

Nro. 071 MINSA/DIGESA – V01 en Juliaca.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatorio) **m** (mínimo) **M** (máximo) % (frecuencia en porcentaje).

Fuente: Elaboración propia.

En relación con la carga microbiana de *Escherichia coli* en el zumo de naranja comercializado ambulatoriamente, la Tabla 13 y la Figura 7 muestran que el 100% de las muestras superan los límites máximos permisibles (10^2 NMP/ml) en todos los puestos evaluados del Mercado Internacional Túpac Amaru y del Mercado Pedro Vilcapaza. Esto se debe a que ninguno de estos puestos cumple con los hábitos de higiene necesarios, los cuales son fundamentales para garantizar una dispensación segura de alimentos bebibles a base de frutas recién exprimidas. En estas condiciones, el zumo de naranja está contaminado con bacterias de origen fecal, lo que puede provocar enfermedades diarreicas agudas (EDAs) y enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) en los consumidores frecuentes,



y representa un riesgo aún mayor para grupos vulnerables como niños y adultos mayores.

En el Mercado Internacional San José, se observó que el 40% de los puestos estaban contaminados con *Escherichia coli*, mientras que el 60% restante no presentó el patógeno en los recuentos analizados. Sin embargo, los puestos donde se detectó el microorganismo también son susceptibles a contaminaciones microbiológicas adicionales. Los hábitos de los comerciantes son indicativos de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) e higiene; cuando estos hábitos se descuidan, el riesgo para los consumidores aumenta considerablemente. Por lo tanto, es crucial que las autoridades implementen medidas más estrictas para mejorar la higiene tanto de los comerciantes como de los consumidores, ya que este patógeno a menudo pasa desapercibido durante las inspecciones de salubridad.

Los resultados presentados en la Tabla 13 y la Figura 7 son consistentes con los hallazgos de Flores (2019), quien reportó que el 100% de las muestras de la superficie de las naranjas en las ciudades de Puno y Juliaca estaban contaminadas con *Escherichia coli*, superando los límites máximos permisibles según la NTS N° 071 MINSA/DIGESA – V01. Este hallazgo subraya un problema crítico: la contaminación cruzada a menudo comienza durante la manipulación del producto. Las cáscaras de naranja, al ser peladas, están expuestas a una variedad de microorganismos sin recibir desinfección alguna. Dado que las frutas se manejan sin un lavado previo y sin el uso de guantes por parte de los comerciantes, existe una alta probabilidad de que se adhieran numerosos microorganismos y otros contaminantes.



Hanco y Mamani (2015) destacaron que los zumos de piña y naranja expendidos de forma ambulatoria en la ciudad de Juliaca presentaban *Escherichia coli* en el 21.7% de las muestras analizadas, clasificándolos como inaceptables, mientras que el 78.3% de las muestras se consideraron aceptables. Esto se atribuyó a las deficiencias en las buenas prácticas de manipulación e higiene por parte de los comerciantes. En un 39.1% de los puestos, no se contaba con las condiciones necesarias para la venta de productos debido a la falta de materiales e instrumentos, el 43.3% requería mejoras en estas condiciones, y solo el 17.8% cumplía con los estándares adecuados. Estos resultados difieren significativamente de los hallazgos de nuestra investigación, que revela que el patógeno se encuentra presente en el 100% de los puestos en dos de los tres mercados evaluados, con niveles que superan los valores máximos permitidos para la inocuidad alimentaria.

La FAO (2011) señala que, debido a su alta presencia en el intestino, *Escherichia coli* se utiliza como un indicador clave para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad del agua y los alimentos. Como se observa en la Tabla 13 figura 7, una mayor cantidad de *Escherichia coli* en los alimentos indica un nivel más alto de contaminación fecal. Es importante destacar que la presencia de esta bacteria no necesariamente refleja una contaminación fecal reciente, sino que puede haber ocurrido en cualquier momento durante la manipulación del alimento. Esto se confirma en el 100% de los puestos de venta ambulatoria (PVA) en los Mercados Internacional Juliaca y Pedro Vilcapaza, donde se detectó esta bacteria en la ciudad de Juliaca.

4.3 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) EN LOS MERCADOS DE LAS CIUDADES DE PUNO Y JULIACA.

4.3.1 Análisis de microbiológico del zumo de naranja en los mercados de la ciudades de Puno y Juliaca.

Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

Tabla 14

Determinacion de la calidad microbiológica del zumo de naranja que se expenden ambulatoriamente en los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca.

MERCADOS	Puestos (PVA)	Coliformes				Escherichia coli				Total	
		No Presenta		Presenta		No Presenta		Presenta		-	%
		Nro.	%	Nro.	%	Nro.	%	Nro.	%		
Bellavista	5	0	0	5	33.3	3	19.9	2	13.3	5	33.3
Central	5	0	0	5	33.3	2	13.3	3	19.9	5	33.3
Unión y Dignidad	5	0	0	5	33.3	0	0	5	33.3	5	33.3
Total	15	0	0	15	100.0	5	33.3	10	66.6	15	100
Internacional	5	0	0	5	33.3	0	0	5	33.3	5	33.3
Túpac Amaru	5	0	0	5	33.3	3	19.9	2	13.3	5	33.3
Internacional	5	0	0	5	33.3	0	0	5	33.3	5	33.3
San José	5	0	0	5	33.3	0	0	5	33.3	5	33.3
Pedro Vilcapaza	5	0	0	5	33.3	0	0	5	33.3	5	33.3
Total	15	0	0	15	100.0	3	19.9	12	79.9	15	100

Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) Nro. (Número de Muestras) % (Porcentajes).

Fuente: Elaboración propia.

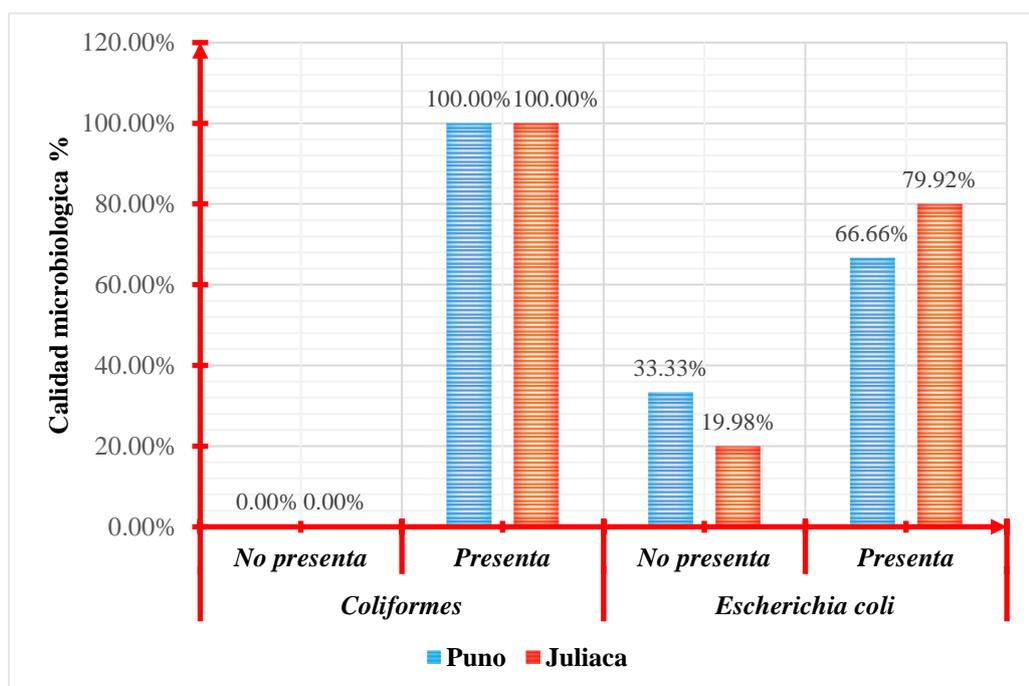
La Tabla 14 resume la presencia de bacterias indicadoras de la calidad microbiológica e higiénica en el zumo de naranja, según lo establecido en la NTS N° 071 MINSA/DIGESA – V 01, donde los resultados de los 15 puestos evaluados en los mercados Bellavista, Central, y Unión y Dignidad en la ciudad de Puno presentaron Coliformes, y en 10 de esos puestos se detectó el patógeno

Escherichia coli. De manera similar, en los mercados de la ciudad de Juliaca, también se encontraron Coliformes en los 15 puestos evaluados, y *Escherichia coli* solo en 12 de ellos.

El valor obtenido en la prueba de Chi-cuadrado para los casos de *Escherichia coli* fue de 0.409 ($p > 0.05$). Dado que el valor p es mayor que el nivel de significancia, no se rechaza la hipótesis nula (H_0), En otras palabras, no hay evidencia estadística suficiente para concluir que la presencia de *Escherichia coli* sea diferente entre los mercados de las dos ciudades. Si bien el análisis estadístico no encuentra una diferencia significativa, es importante destacar que la presencia de este patógeno en cualquier nivel, representa un riesgo para la salud.

Figura 8

Calidad microbiológica del zumo de naranja expendido ambulatoriamente en los mercados de las ciudades de Puno - 2022 y Juliaca - 2023.



Leyenda: PVA (puesto de venta ambulatoria) % (frecuencia en porcentaje).

Fuente: Elaboración propia.



La investigación demostró que ninguno de los promedios de la carga de Coliformes en el zumo de naranja de los mercados de Puno y Juliaca cumple con la calidad aceptable según la Norma Sanitaria. Además, se encontró que el 100% de los puestos de venta ambulatoria (PVA) en ambos mercados presentan Coliformes, como se muestra en la Tabla 14 y figura 8. Esta uniformidad en la contaminación microbiológica indica que la proporción de microorganismos presentes es similar en ambas ciudades, lo que puede afectar significativamente a productos bebibles como el zumo de naranja. Las causas de esta contaminación están relacionadas con factores sociales y demográficos, como la concurrencia de personas con malos hábitos higiénicos y el comercio ambulatorio desmedido y sin control adecuado, lo que pone en riesgo a los consumidores vulnerables a enfermedades transmitidas por alimentos y bebidas (ETAS y EDAS).

En la ciudad de Puno, la proporción de *Escherichia coli* en el zumo de naranja vendido ambulatoriamente alcanzó niveles máximos permisibles en el 66.66% de los casos, como se muestra en la figura 8. Esto indica una significativa contaminación de origen fecal en estos productos, reflejando la precariedad en las buenas prácticas de manipulación (BPM) e higiene por parte de los comerciantes, lo que constituye un riesgo para la salud pública. Aunque el 33.33% de los puestos se encontró libre de este patógeno, la presencia de otras variedades de microorganismos sigue siendo una posibilidad, indicando problemas de higiene y salubridad en los alimentos bebibles sin tratamiento térmico.

En la ciudad de Juliaca, la presencia de *Escherichia coli* en el zumo de naranja vendido ambulatoriamente alcanza el 79.92%, superando los límites de inocuidad alimentaria, donde solo el 19.98% de los puestos de venta no presentaron este patógeno. Según la municipalidad de San Román Juliaca, las



inspecciones sanitarias se realizan cada seis meses, y solo los gremios y organizaciones formales pueden renovar sus permisos asistiendo a talleres y controles. Sin embargo, los vendedores ambulantes, que son el foco de esta investigación, no tienen acceso a estos controles, lo que genera inseguridad en los consumidores y representa un peligro latente para la salud pública de la ciudad (HCMM, 2022).

Carbajal et al. (2018) mencionan que en la universidad de Quito-Ecuador, el 40% del jugo de naranja comercializado en los alrededores del campus presentaba niveles de Coliformes por encima del rango máximo permisible, según la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN Nro. 2337. Estos valores contrastan con los hallados en los mercados de Puno y Juliaca, lo que se atribuye a diferencias en la ubicación, concurrencia de los puestos y hábitos de higiene de los comerciantes.

En el ámbito nacional, Galarza (2018) evaluó muestras de zumos de frutas, así como rodajas de piña y sandía comercializadas en la vía pública de Lima, encontrando que el 100% contenía Coliformes. De estas, el 30% estaba fuera del rango permisible y el 70% dentro del límite máximo según la norma sanitaria. Estos resultados son similares a los hallados en Puno y Juliaca, reflejando que el comercio ambulatorio, sin supervisión de BPM e higiene, expone los alimentos a una variedad de contaminantes microbianos.

Los resultados de la calidad microbiológica del zumo de naranja en las ciudades de Puno y Juliaca son similares a los reportados por Escobar y Rodríguez (2016). En su estudio, el 100% de las 48 muestras de jugo natural de naranja y zanahoria presentaban *Escherichia coli*, y el 87% también mostraba la presencia de *Salmonella spp.*, otro microorganismo alarmante. Según los autores, esta



contaminación fecal se debe a los hábitos deficientes de los comerciantes y la mala aplicación de medidas higiénicas. Estos resultados subrayan la necesidad de adherirse a las normas higiénicas establecidas en Centro América para proteger a los consumidores.

La venta de alimentos en mercados, vías públicas y pequeños establecimientos, conocidos como "comida rápida o al paso", representa un riesgo significativo para la salud del consumidor, como señala Kooper et al. (2009). La falta de higiene y capacitación de los manipuladores, junto con la mala calidad del agua utilizada, como la gestión inadecuada de desechos sólidos y la contaminación ambiental, contribuyen a este problema. Esto permite el crecimiento de patógenos como *Escherichia coli* en bebidas de frutas mixtas. Así también Miranda (2017) señala que, aunque la acidez natural de estos alimentos debería inhibir el crecimiento microbiano, la utilización de agua contaminada para lavar frutas y utensilios sigue siendo un factor principal en la propagación de contaminaciones cruzadas.

En los mercados de las ciudades de Puno y Juliaca, se ha observado que los puestos en los que se encontró *Escherichia coli* no contaban con un suministro de agua constante, empleando baldes para reciclar el agua y enjuagar vasos y utensilios sin detergentes ni desinfectantes. Álvarez (2019) indica que la presencia de este patógeno representa un riesgo significativo para la salud, especialmente si no se toman las medidas necesarias para evitar la mala praxis en la manipulación de alimentos bebibles. Según Bush (2011), aunque *Escherichia coli* normalmente habita en el tracto gastrointestinal, algunas cepas, como la O157:H7, pueden causar diarrea hemorrágica y producir toxinas peligrosas, incluida la toxina Shiga. Estas cepas pueden provocar diarrea sanguinolenta y, en un 2 al 7% de los casos,



desarrollar síndrome urémico hemolítico, especialmente cuando la higiene es inadecuada.

Frente a nosotros, tenemos un control inadecuado de los puestos de venta ambulatoria (PVA) que expenden zumo de naranja recién exprimido, y que escapan a la supervisión, control e inspección, lo que agrava las condiciones precarias observadas en los mercados de Puno y Juliaca durante la investigación. Por lo tanto, es crucial implementar medidas de gestión de calidad y recomendar a las autoridades encargadas mejorar el control sanitario y fiscalización hacia los comerciantes ambulantes.



V. CONCLUSIONES

- El análisis de la calidad microbiológica del zumo de naranja (*Citrus sienens*) expendido de forma ambulatoria en Puno y Juliaca, revelaron que los Coliformes estaban presentes en el 100% de las muestras de todos los mercados, y *Escherichia coli* solo en el 66.6% de los PVA en Puno y 79.9% en los PVA de Juliaca, superaron los límites de inocuidad alimentaria.
- Se determinó que la carga de Coliformes variaron entre 1×10^3 NMP/ml en el mercado Bellavista, 8×10^2 NMP/ml en el mercado Central y 1×10^3 NMP/ml en el mercado Unión y Dignidad. En cuanto a *Escherichia coli*, los recuentos fueron de 9×10^1 NMP/ml en el mercado Bellavista, 1×10^2 NMP/ml en el mercado Central y 2×10^2 NMP/ml en el mercado Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.
- En cuanto a la carga de Coliformes, se registraron 1×10^3 NMP/ml en el mercado Internacional Túpac Amaru, 6×10^2 NMP/ml en el mercado Internacional San José, y 2×10^3 NMP/ml en el mercado Pedro Vilcapaza. Mientras que *Escherichia coli*, obtuvo recuentos de 2×10^2 NMP/ml en el mercado Internacional Túpac Amaru, 7×10^1 NMP/ml en el mercado Internacional San José, y 2×10^2 NMP/ml en el mercado Pedro Vilcapaza, todos ubicados en la ciudad de Juliaca.
- Se concluye que la calidad del zumo de naranja excede los límites máximos permisibles establecidos por la NTS-071 MINSA/DIGESA, indicando que el zumo de naranja comercializado de forma ambulatoria no cumple con los estándares de calidad y no es apto para el consumo humano.



VI. RECOMENDACIONES

- Recomendar a las autoridades competentes, incluyendo la Dirección de Salud y las municipalidades, que intensifiquen el control y la supervisión sanitaria de los vendedores ambulantes de zumo de naranja en Puno y Juliaca.
- Realizar muestreos y análisis microbiológicos en otras bebidas, jugos y néctares mixtos que no reciban tratamiento térmico, en puestos de venta sin fiscalización adecuada.
- Continuar la investigación para identificar gérmenes y patógenos de riesgo asociados al zumo de naranja y otros alimentos bebibles sin tratamiento térmico, con el fin de proteger la salud del consumidor.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acharya, T. (2022). Sulfide indole motility (SIM) medium: principle, procedure, and results. <https://microbeonline.com/sulfide-indole-motility-sim-medium/>
- Abu Sabbah S. (2012). Comer fruta pelada o embolsada en la calle puede generar enfermedades. redacción RPP. <https://rpp.pe/lima/actualidad/comer-fruta-pelada-o-embolsada-en-la-calle-puede-generar-enfermedades-noticia-524958?ref=rpp>
- Arroyo, A., Ninon, M. & Waldemar, H. (2011). *Perfil microbiológico de la chicha de venta ambulante en Barquisimeto, estado Lara, Venezuela Dialnet Salud, Arte y Cuidado*, ISSN-e 1856-9528, 4(1), págs. 13-24. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3697047>
- Austin, C. (2014). Triple sugar iron agar. *Welcome to microbugz*. https://www.austincc.edu/microbugz/triple_sugar_iron_agar.php
- Alvarez C. (2019). *Parámetros cinéticos de Escherichia coli en zumo comercial de frutas del bosque*. [Universidad de Valladolid Facultad de Medicina Humana]. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/36901>
- Aza, J. (2019). *Evaluación bacteriana en utensilios y manos de los expendedores de carne de res en mercados de la ciudad - Puno 2018*". [Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/13237>
- BSG, I. (2018). Implementador Líder en Sistemas de Seguridad e Inocuidad Alimentaria (ISO 22000 - BRC - IFS - SQF - FSMA - BPM - HACCP)
- Burgos, J. (2016). *Estudio de la influencia de la Pasteurización al vacío sobre las Propiedades nutricionales, sensoriales y microbiológicas de Néctar de naranja (Citrus sinensis) y zanahoria (Daucus carota)*. [Universidad Técnica de Ambato]. Ecuador. 1-116 <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24089>
- Borja O. (2002). *Evaluación de la calidad microbiológica de nieves elaboradas artesanalmente y comercializadas en las afueras de los centros educativos del municipio de Mejicanos*. San Salvador. [Universidad de El Salvador].



- Brooks, G., Butel, J., Carroll, K., Mietzner, T., & Morse, S. (2011). *Microbiología Médica. Microbiología Médica Lange*.
- Bush L. (2022) *Infections for Escherichia coli, MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine*. [Florida Atlantic University], <https://www.msmanuals.com/es-pe/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-escherichia-coli>
- Calderon, R., Jacome, J., Reyes, M., Rojas, D., & Ramírez, L. (2017). *Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, campus “El Girón”*. [Universidad Politécnica Salesiana - Sede Quito], 25(1),14. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13880>
- Canaza, L. (2021). *Determinación de la calidad microbiológica de jugo de naranja (Citrus sinensis L.), de los puestos de venta ambulatoria en los mercados de la plataforma Andrés Avelino Cáceres, Arequipa, 2019* [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://hdl.handle.net/20.500.12773/12478>
- Carbajal, L. (2018). *Calidad sanitaria de jugos elaborados a base de naranja (Citrus sinensis L.) en los principales mercados de la localidad de Toluca*. [Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/94830>
- Cabrera, A. (2008). Validación de la prueba de Coliformes y fecales por la técnica de tubos múltiples utilizando un medio fluorogénico. Trabajo de Graduación Lic. San Salvador. [Universidad de El Salvador]. 133 p.
- Caro, P., Tobar, J. (2020). Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos. *Open Access* bajo la licencia BY-NC-SA 16(1), 240–249. <http://www.scielo.org.co/pdf/entra/v16n1/2539-0279-entra-16-01-240.pdf>
- CTIC, C. (2021). La crisis de la listeria reafirma la importancia de garantizar la seguridad alimentaria en la industria. *Industria Alimentaria-Envase y embalaje-Logística*. <https://alimen21.com/tag/ctic-cita/>
- Ccota, Y. (2019). *Calidad bacteriológica del chorizo expandido en cuatro establecimientos (Plaza Vea, Mia Market, Tienda San Fernando, Mercado Santa*



- Barbara) de la ciudad de Juliaca.* [Universidad Nacional del Altiplano].
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10731>
- Codex, S. (2005). Norma General del Codex Para Zumos y Néctares de Fruta. Perú.
- Coformacion. (2022). Higiene alimentaria y manipulación de alimentos.
<https://manipulador-de-alimentos.com/higiene-alimentaria-y-manipulacion-de-alimentos/>
- DIGESA. (2011). Procedimiento para la Recepción de Muestras de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano en el Laboratorio de Control Ambiental de la Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud. Directiva Sanitaria N° 032 - MINS/DIGESA – V.01. RM N° 156-2010/MINS. Lima.
- DIGESA. (2008). Norma técnica sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. NTS No 071-MINSA/DIGESA-V.01. Lima. Obtenido de NTS No 071–MINS/DIGESA-V.01. Lima.
- DIGESA. (2016). Política Nacional de inocuidad alimentaria. Dirección General de Salud Ambiental.
http://www.digesa.minsa.gob.pe/compial/archivos/Politica_Nacional_Inocuidad_Alimentos.pdf
- DGE-MINSA. (2012). Dirección General de Epidemiología DGE del Ministerio de Salud MINSA. Obtenido de Boletín Epidemiológico No50, vol21
<http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2012/50.pdf>
- Escobar, E., Rodríguez, K. (2017). *Calidad microbiológica de jugos naturales comercializados en los alrededores del campus central de la Universidad de El Salvador.* [Universidad de El Salvador]. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/12948>
- Eroski, C. (2011). Frutas. Guía práctica de frutas.
<https://frutas.consumer.es/naranja/propiedades>
- Flores, E. (2019). *Contaminación microbiológica por Escherichia coli y Salmonella sp. En Citrus sinensis (naranja) y Solanum lycopersicum (tomate) en las ciudades de*



- Puno y Juliaca*, 2018. [Universidad Nacional del Altiplano].
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/11666>
- FDA (2022). *Food and drug administration*, Inocuidad de los jugos - Lo que usted necesita saber – FDA <https://www.fda.gov/food/buy-store-serve-safe-food/inocuidad-de-los-jugos-lo-que-usted-necesita-saber>
- Fratamico, P., DebRoy, C., Liu, Y., Needleman, D., Baranzoni, G., Feng, P. (2016). «Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli*». *Front Microbiol.* 3(7) 644p.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00644/full>
- FSC, (2016). Estudios de vida útil en productos alimenticios. FSCertificaciones S.A.C.
https://issuu.com/revistaindustriaalimentaria/docs/revista_32/24
- FAO. (2002) Taller subregional sobre gestión del codex y programación de actividades del proyecto TCP/ RLA/0065. El Codex Alimentarius y su importancia para la salud pública, Santo Domingo.
- FAO. (2009). Buenas prácticas de higiene en la preparación y venta de los alimentos en la vía pública en América Latina y el Caribe.
- FAO. (2010). Saneamiento rural y salud/guía para acciones a nivel local.
<https://www.fao.org/home/es>
- FAO. (2011), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Prevención de la *Escherichia coli* en los alimentos.
- FAO. (2013). Conference: 38° periodo de sesiones: Roma 15-22 junio de 2013: Marco estratégico revisado pdf. Consultado el 1 de marzo de 2019.
- FAO. (2019) El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo, protegerse frente a la desaceleración y el debilitamiento de la economía.
<https://www.fao.org/3/ca5162es/ca5162es.pdf>
- FAO. (2023). La inocuidad de alimentos en el Perú: un camino por recorrer.
<https://bsginstitute.com/bs-campus/blog/La-Inocuidad-de-Alimentos-en-el-Peru-100>



- Galarza, K. (2018). "Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del mercado de Lima entre mayo 2017 y junio 2018". Universidad Norbert Winer.
- Guardiola, J. (2013). "Naranja y salud". editado por la fundación valenciana de estudios avanzados. <https://www.naranjasriberadeljucar.com/blog/composicion-de-la-naranja/>
- Gianoli, A., Hung, A., Shiva, C. (2018). Relación entre Coliformes y termotolerantes con factores fisicoquímicos del agua en seis playas de la bahía de Sechura Piura 2016-2017. <https://www.clubensayos.com/Temas-Variados/Bacterias/1190924.html>
- Hanco, R., Mamani, W. (2015). *Manipulación de los zumos de piña (Ananas comosus L.) y naranja (Citrus sinensis L.) expendidas en los mercados de la ciudad de Juliaca y su relación con la calidad microbiológica, enero - abril, 2015* [Universidad Nestor Caceres Velasquez]. <http://repositorio.uancv.edu.pe/handle/UANCV/496>
- Hernández, C. (2018). PM Buenas Prácticas de Manufactura: Sistema de Gestión (edición en español) 42p.
- Hospital Rezola Cañete (2018). Se recomienda tener mucho cuidado con los alimentos que se ingieren es esta temporada de verano. NOTA DE PRENSA N° 003-2018-OII. <https://www.hospitalrezola.gob.pe/pdf/notasprensa/2018/NOTA03.pdf>
- Huayllapuma, C. (2022). *Actividad antimicrobiana "In vitro" del aceite esencial de Ocimum basilicum (Albahaca) frente a Escherichia coli y Staphylococcus aureus uropatogenos.* [Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/18670>
- INS. (2018). Instituto Nacional de Salud las enfermedades transmitidas por alimentos-ETAs. Boletín epidemiológico semanal: Semana epidemiológica 52-23 al 29 de diciembre de 2018. 31 pp. <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>
- INACAL. (2014). Infraestructura de la calidad en el Perú. Instituto Nacional de Calidad.



- Jawetz E., Melnick, J., Aldelberg, E. (2005). Microbiología médica. 18 Ed México D.F. Ed. Manual Moderno. Trad. F. Sanchez.p. 107,241-243
- James, P. & James, B. (2016). Escherichia coli diarreogénica. Clinical Microbiology Reviews. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC121379/>
- Koneman, E. (2008). Diagnostico microbiológico: texto y atlas en color (6a. ed.). editorial Médica Panamericana S.A., Buenos Aires, Argentina. 1696 p.; 28 x 20cm.
- Kooper G., Calderón G., Schneider S., Domínguez W., Gutiérrez G., (2009) Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. 194p.
- Lal, A., Cheeptham, N. (2007). Eosin metithyle blue agar plates protocol (American Society for Microbiology. <https://asm.org/ASM/media/Protocol-Images/Eosin-Methylene-Blue-Agar-Plates-Protocol.pdf?ext=.pdf>
- Laura, E. (2017). Métodos de Análisis Microbiológicos de los Alimentos (Mayvar Impresores (ed.); 1ra edición).
- León, R. (2012). *Determinación de las propiedades físicas en el jugo de la naranja valencia (Citrus sinensis L.)*. 69 (1). [Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3388>
- López, L. (2018). “*Evaluación de la calidad microbiológica de extracto de Saccharum officinarum que se comercializa de forma ambulatoria en el distrito de Trujillo – La Libertad, Perú – 2018*”. biblioteca digital - dirección de sistemas de informática y comunicación - [Universidad Nacional de Trujillo].
- Luque, K., Rodríguez, J. (2023). *Características fisicoquímicas asociadas a la calidad microbiológica de los jugos de piña y naranja expendidos en Juliaca, 2023*. [Universidad Roosevelt] <https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/1611?show=full>



- Macfaddin, J. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 2da Edición. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires - Argentina. 846p.
- Malpartida, R. (2021). *Evaluación de la contaminación microbiológica y sanitaria de los puestos de servicio de jugos del mercado modelo y viejo de la ciudad de Huánuco, 2021* [Universidad de Huánuco]. <http://repositorio.udh.edu.pe/123456789/2946>
- Mamani, Y. (2002). Comportamiento de *Escherichia coli* O157H7 en zumos de frutas. Fundación Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=264360>
- Microlab. (2014). Parámetros - Patógenos - Mesofílicos aerobios. Microlabindustrial. <https://www.microlabindustrial.com/parametros/patogenos/415/mesofilicos-aerobios>
- Miranda S. (2017) Determinación de *Escherichia coli* en bebidas de frutas mixtas no pasteurizadas comercializadas en establecimientos especializados en San Ramón, Alajuela. Revista costarricense de Salud Pública, 26(2), 189-198. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292017000200189&lng=en&tlng=es.
- MINSA. (2011). Ministerio de salud. Procedimiento para la recepción de muestras de alimentos y bebidas de consumo humano en el laboratorio de control ambiental de la dirección general de salud ambiental del ministerio de salud directiva sanitaria n ° 032 - [Minsa / Digesa] - v. 01 rm n ° 156. Ministerio de Salud, 1, 1–28. <http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/procedimientonts-recepcion-de-muestras.pdf>
- MINSA. (2017). Ministerio de salud. El gran reto de salud: La inocuidad de los alimentos. <http://www.digesa.minsa.gob.pe/compial/compial.asp>
- MINSA/DIGESA. (2011). Ministerio de Salud. Directiva sanitaria n°032. 1(1).
- MINAGRI. (2019). Ministerio de Agricultura y Riego Agrorural. Cultivo de naranjo (*Citrus sinensis*). <http://hdl.handle.net/20.500.13036/309>
- Montenegro, S. (2014). E.M.B Agar (con eosina y azul de metileno) [Formación Universitaria de Popayan].



- Moreano, E., Villafuerte, D. (2017). *Regulación del comercio ambulatorio y su impacto en el ordenamiento territorial urbano en el distrito de Cusco* [Universidad Andina del Cusco].
- Murray, F. (2000). El poder curativo de los jugos. Selector - Casa del Libro 166(1); Editorial: selector; Encuadernación: Tapa blanda; Plaza de edición.
- Nomberto, S. & Quispe, M. (2020). *Calidad microbiológica de chicha morada que se comercializa en forma ambulatoria en el distrito de Trujillo, Perú – 2019*. [Universidad Nacional de Trujillo].
- Orosco, O., Vilchez, B. (2013). *Calidad microbiológica de los frutos de Mauritia flexuosa (Aguaje) que se comercializan en la vía pública, zona urbana del distrito de Punchana, Loreto 2012*. [Universidad Nacional de la Amazonia Peruana]. Facultad de farmacia y bioquímica. Perú - Iquitos. 71(1). <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4255>
- OMS. (2018). Organización Mundial de la Salud. Alimentación sana - World Health Organization (WHO). <https://www.who.int/es/news-room/fact->
- OMS. (2018). Organización Mundial de la Salud. *Escherichia coli* Datos y Cifras. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- PRESCAL. (2010). Manipulación de alimentos (manual común). Junta de Andalucía 82(1).
- PNIA. (2016). Política nacional de inocuidad alimentaria 160(1). Perú.
- Peñaranda, J., Begazo, J., Viza, A. & Cervantes, S. (2020). *Análisis microbiológico del emoliente expendidos ambulatoriamente y su relación con la higiene sanitaria de expendedores, Puno – Perú, 2019*. [Universidad Nacional del Altiplano]. <https://doi.org/10.35622/j.ram.2022.03.004>
- Pachay, N. (2019). *Análisis microbiológico de jugo de coco (Cocos nucifera) comercializado alrededor del centro comercial Nuevo Tarqui ciudad de Manta*. [Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabi, Manta] Ecuador. <https://repositorio.ulead.edu.ec/handle/123456789/1969>



- Quispe, S. (2018). *Calidad microbiológica del pollo broaster expandido ambulatoriamente en la ciudad de Puno-2017*. [Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/7178>
- Rojas, E. (2019). *Presencia de carga bacteriana en jugos de naranja que se comercializan en el Mercado Modelo de Ica, 2019*. [Universidad Nacional San Luis Gonzaga]. <https://hdl.handle.net/20.500.13028/3469>
- Rojas, D., donde esMoloch, L. (2019). *Calidad microbiológica de bebidas refrescantes a base de soya elaboradas artesanalmente, comercializadas en la Ciudad de Jaén, 2019*. [Universidad Nacional de Jaén]. Ingeniería de industrias alimentarias. Cajamarca, Perú 1-65. <http://repositorio.unj.edu.pe/handle/UNJ/109>
- Sáenz, P. (2019). Principales enfermedades en cítricos. *Revista mexicana ciencia agrícola*. 2019 10 (7), pp.1653
- Sagar, A. (2022). Lysine iron agar (LIA) slants test – procedure, uses and interpretation. microbiology info.com. <https://microbiologyinfo.com/lysine-iron-agar-slants-test/#>
- Schvab, M., Ferreyra, M., Gerard, L., Davies, C. (2018). Parámetros de calidad de jugos de naranja entrerrianas. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 14(1). 85–92. <https://www.redalyc.org/pdf/813/81327871015.pdf>
- Swistock, B. (2020). Bacterias coliformes. penn state college of agricultural sciences research and extension programs are funded in part by pennsylvania counties, the commonwealth of pennsylvania, and the u.s. department of agriculture. <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>
- Soto, Z., Pérez, L. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. <https://doi.org/10.14482/sun.32.1.8598>
- SENASA. (2015) Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Resolución Ministerial N° 591- 2008/MINSA.NTS. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/2015/07-RM-591-2008-MINSA.pdf>.
- OPS. (2021). La higiene de manos salva vidas Organización Panamericana de la Salud.



- OPS. (2015). Los alimentos insalubres causan más de 200 enfermedades. Organización Panamericana de la Salud. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id
- OPS. (2014). Manual de capacitación para manipulación de alimentos. Administración nacional de medicamentos alimentos y tecnología médica. ANMAT, 52.
- Unicef. (2015). Falta de acceso a higiene pone en peligro el desarrollo. Colombia. <https://www.unicef.org/colombia/comunicados-prensa/falta-de-acceso-higiene-pone-en-peligro-el-desarrollo>.
- Van-Hofwegen, D., Hovde, C., Minnich, S. (2016). Rapid evolution of citrate utilization by *Escherichia coli* by direct selection requires cit and dcta. *J Bacteriol* 198:1022–1034. doi:10.1128/JB.00831-15.
- Vázquez, G. (2003) *La contaminación de los alimentos, un problema por resolver*. [Universidad Industrial de Santander] <https://core.ac.uk/download/pdf/230209916.pdf>
- Visintin, G., García, B., Cáceres, C., Ludi-Barzante, L., Befani, R. (2013). Microflora de naranja adaptada al frío y su actividad antagónica frente a *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14529884011>
- Winterhalter. (2022). ¿Qué es la contaminación cruzada en alimentos y cómo evitarla? Winterhalter cono Sur SpA. Chile. <https://www.winterhalter.com/cl-es/blog-winterhalter/que-es-la-contaminacion-cruzada-en-alimentos-y-como-evitarla/>
- Zapata, Y., Sunción, M. (2021). *Evaluación de las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (Citrus sinensis) tratado con quitosano*. [Universidad Nacional de Tumbes]. <http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/2333>

ANEXOS

Tabla 15

Análisis estadístico ANOVA de Coliformes en Puno y Juliaca.

ANOVA ^a						
Ciudad	Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F Sig.
Ciudad de Puno	1	Regresión	38110,036	1	38110,036	0.092 ,766^b
		Residuo	5386220,311	13	414324,639	
		Total	5424330,347	14		
Ciudad de Juliaca	1	Regresión	806370,678	1	806370,678	2.143 ,167^b
		Residuo	4892472,760	13	376344,058	
		Total	5698843,438	14		

a. Variable dependiente: Coliformes NMP/ml

b. Predictores: (Constante), Mercados

Tabla 16

Análisis estadístico ANOVA de Escherichia coli en Puno y Juliaca.

ANOVA ^a						
Ciudad	Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F Sig.
Ciudad de Puno	1	Regresión	39942,400	1	39942,400	3.501 ,084^b
		Residuo	148302,533	13	11407,887	
		Total	188244,933	14		
Ciudad de Juliaca	1	Regresión	336,400	1	336,400	0.030 ,866^b
		Residuo	147498,533	13	11346,041	
		Total	147834,933	14		

a. Variable dependiente: *Escherichia coli*

b. Predictores: (Constante), Mercados

Tabla 17

Análisis de Chi cuadrado de Escherichia coli en Puno y Juliaca.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,682 ^a	1	,409		
Corrección de continuidad ^b	,170	1	,680		
Razón de verosimilitud	,687	1	,407		
Prueba exacta de Fisher				,682	,341
Asociación lineal por lineal	,659	1	,417		
N de casos válidos	30				

a. 2 casillas (50%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,00.

b. Solo se ha calculado para una Tabla de 2x2

Tabla 18

Matriz de datos evaluados en IBM SPSS Statistics 25.

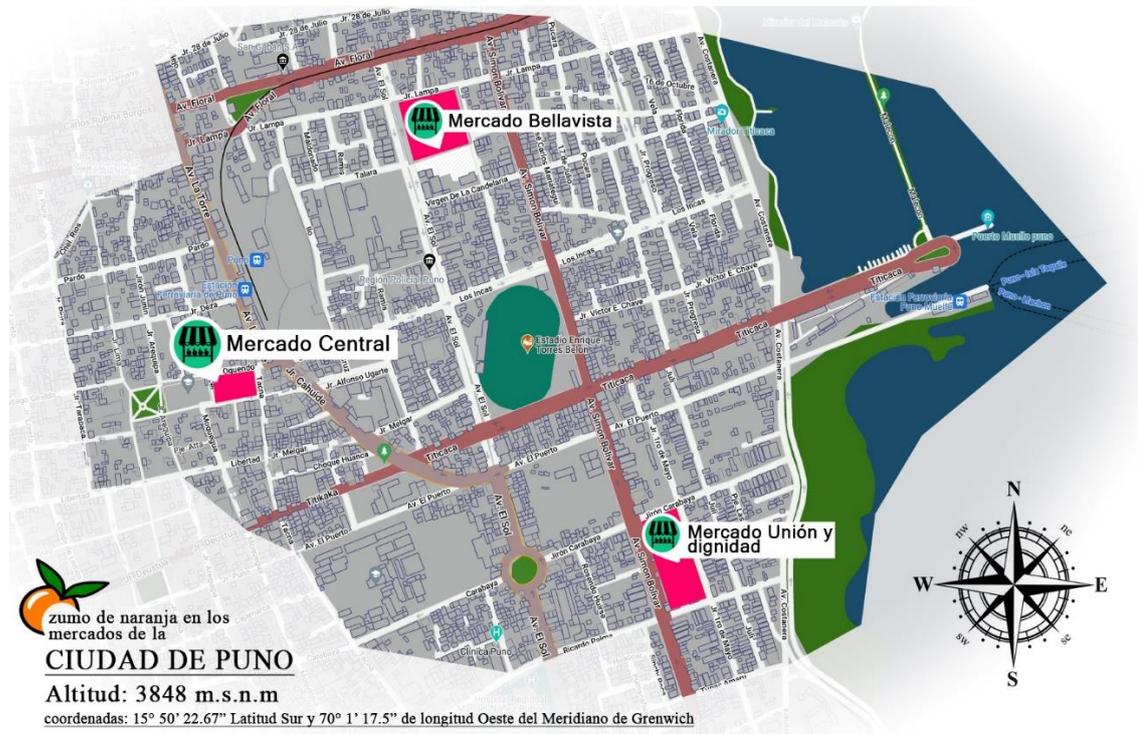
<i>Ciudad</i>	<i>Mercados</i>	<i>PVA</i>	<i>Coliformes</i>	<i>Categoría Coliformes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Categoría Escherichia coli</i>
1	1	1	1492.6667	Presenta	0	No presenta
1	1	2	1465.3333	Presenta	0	No presenta
1	1	3	246.6667	Presenta	0	No presenta
1	1	4	952.0000	Presenta	259	Presenta
1	1	5	1495.6667	Presenta	196	Presenta
1	2	1	28.0000	Presenta	0	No presenta
1	2	2	976.3333	Presenta	156	Presenta
1	2	3	96.0000	Presenta	0	No presenta
1	2	4	1484.3333	Presenta	254	Presenta
1	2	5	1416.6667	Presenta	269	Presenta
1	3	1	246.6667	Presenta	149	Presenta
1	3	2	1498.6667	Presenta	258	Presenta
1	3	3	1966.6667	Presenta	261	Presenta
1	3	4	1533.3333	Presenta	263	Presenta
1	3	5	1024.3333	Presenta	156	Presenta
2	4	1	1355.6667	Presenta	236	Presenta
2	4	2	955.6667	Presenta	247	Presenta
2	4	3	1383.6667	Presenta	176	Presenta
2	4	4	190.0000	Presenta	236	Presenta
2	4	5	1488.3333	Presenta	289	Presenta
2	5	1	22.6667	Presenta	0	No presenta
2	5	2	775.6667	Presenta	147	Presenta
2	5	3	560.0000	Presenta	0	No presenta
2	5	4	1384.3333	Presenta	198	Presenta
2	5	5	69.6667	Presenta	0	No presenta
2	6	1	1966.6667	Presenta	215	Presenta
2	6	2	1459.3333	Presenta	265	Presenta
2	6	3	1287.0000	Presenta	259	Presenta
2	6	4	1533.3333	Presenta	283	Presenta
2	6	5	1966.6667	Presenta	220	Presenta

Leyenda: **Ciudad:** (1=Puno, 2=Juliaca) **PVA** (puestos de venta ambulatoria) **Mercados:** (1=Mercado Bellavista, 2=Mercado Central, 3=Mercado Unión y dignidad, 4=Mercado Internacional Túpac Amaru, 5=Mercado Internacional San José, 6=Mercado Pedro Vilcapaza).

Fuente: Elaboración propia.

Figura 9

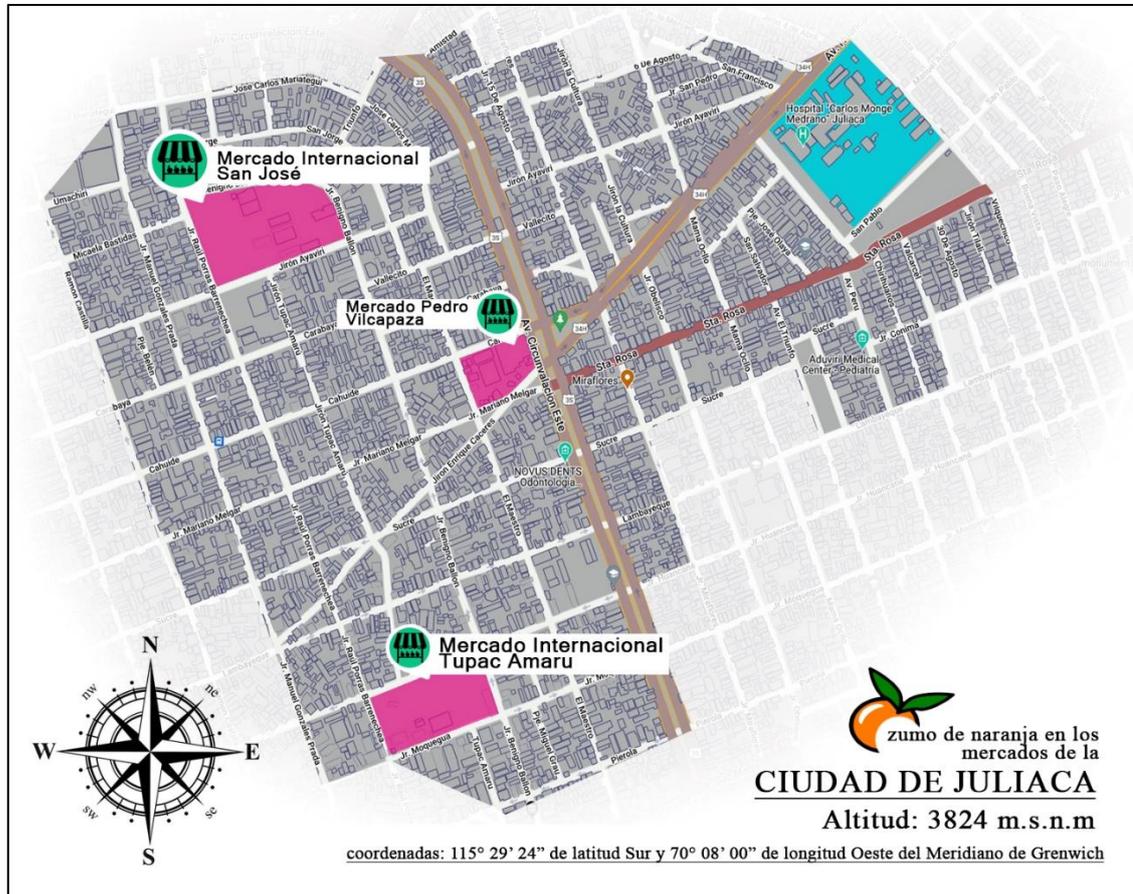
Ubicación geográfica del Mercado central, Mercado Bellavista, Mercado Unión y Dignidad.



Fuente: Elaboración propia, extraído y editado en *Mapstyle of google* <https://mapstyle.withgoogle.com/>

Figura 10

Ubicación geográfica del Mercado Internacional Túpac Amaru, Mercado Pedro Vilcapaza, Mercado Internacional San José.



Fuente: Elaboración propia, extraído y editado en *Mapstyle of google* <https://mapstyle.withgoogle.com/>

Figura 11

Recolección de muestras en la ciudad de Puno.



Nota: (A) Mercado Bellavista, (B) Mercado Central y (C) Mercado Unión y Dignidad.

Fuente: Elaboración propia

Figura 12

Recolección de muestras en la ciudad de Juliaca.



Nota: (A) Mercado Internacional Túpac Amaru, (B) Mercado Pedro Vilcapaza y (C) Mercado Internacional San José.

Fuente: Elaboración propia

Figura 13

Recolección rotulado y transporte de muestras.

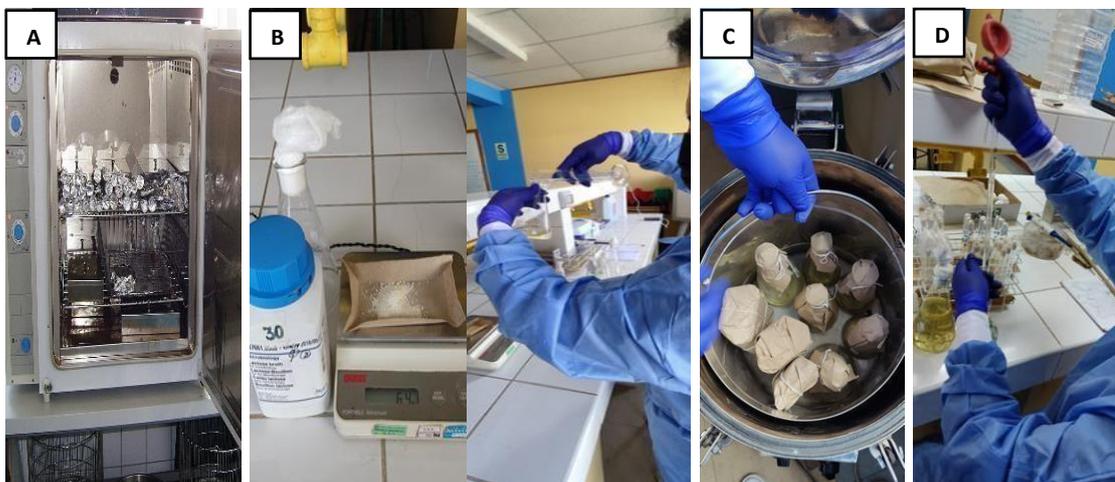


Nota: (A) Muestra de zumo de naranja en contenedor con Gel Pack, (B) Muestra rotulada, (C) clasificación de las muestras de zumo de naranja por PVA de mercado y ciudad.

Fuente: Elaboración propia

Figura 14

Esterilización y preparación de medio de cultivo para Número Más Probable (NMP).

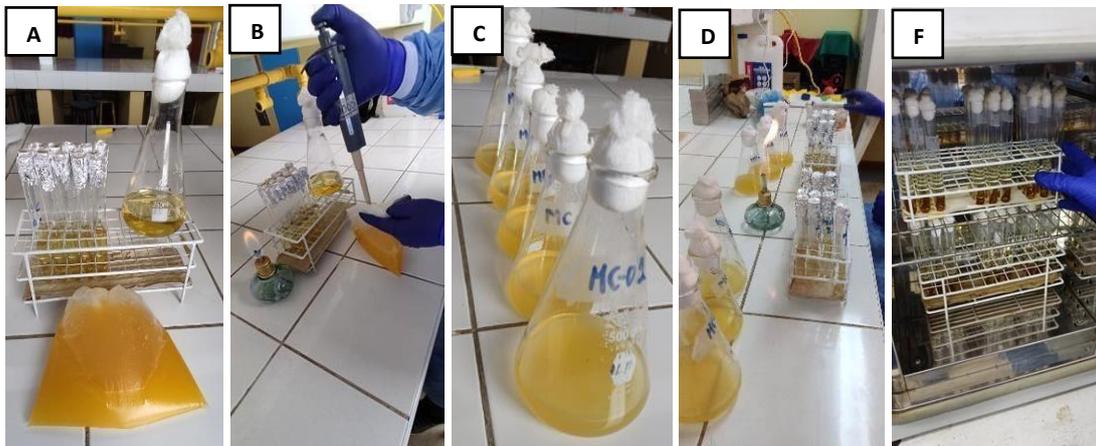


Nota: (A) Esterilización de materiales en seco, (B) Preparación del medio Caldo lactosado y CLVBB, (C) Esterilización de medios de cultivo en autoclave (D), Entubado de medios de cultivo.

Fuente: Elaboración propia

Figura 15

Homogenización, dilución e inoculación de las muestras en caldo Lactosado y CLVBB.



Nota: (A) Selección de muestra, (B) Homogenización de la muestra, (C) Dilución de muestra en Caldo lactosado y CLVBB, (D) Inoculación de la muestra con tubos Durham invertidos, (E) Incubación de muestras inoculadas en tubos a 37°C por 24 y 48 horas.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 16

Tubos gas positivo en caldo Lactosado y Caldo Verde Brillante Bilis Lactosa.



Nota: (A) Tubos Durham gas positivo en Caldo Lactosado, (B) Tubos Durham gas positivo en Verde Brillante Bilis y Lactosa para la presencia de bacterias Coliformes.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 17

Preparación del medio de cultivo Eosina y Azul de Metileno (EMB).



Nota: (A) Preparación de medio (EMB), (B) Plaqueo de medio de cultivo (EMB).

Fuente: Elaboración propia.

Figura 18

Aislamiento de Escherichia coli en medio Eosina y Azul de Metileno (EMB).

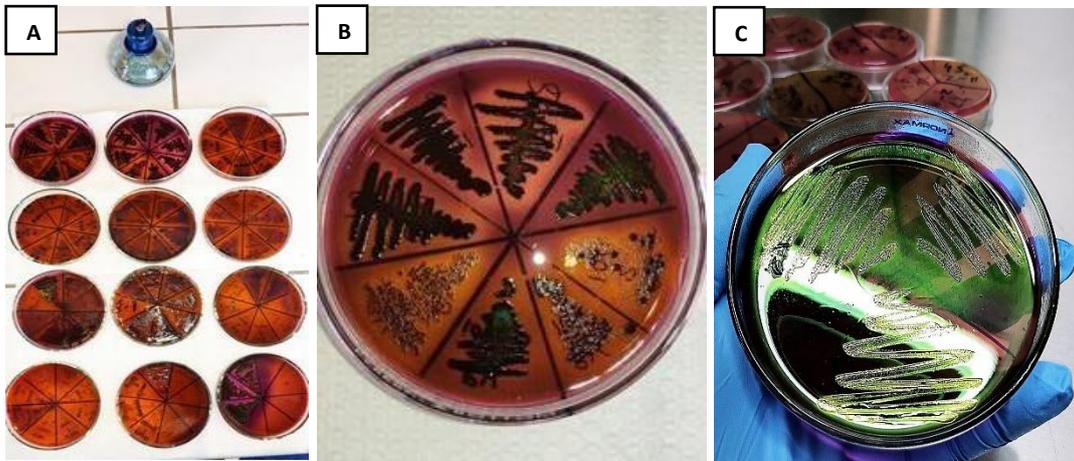


Nota: (A) Aislamiento de muestras en Puno, (B) Aislamiento de muestras en Juliaca.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 19

Resultado del aislamiento de Escherichia coli.



Nota: (A) placas positivas de *Escherichia coli*, (B) Aislamiento positivo en estrías de *Escherichia coli* (C) Reacción característica de verde iridiscente de *Escherichia coli*.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 20

Preparación de medios diferenciales.

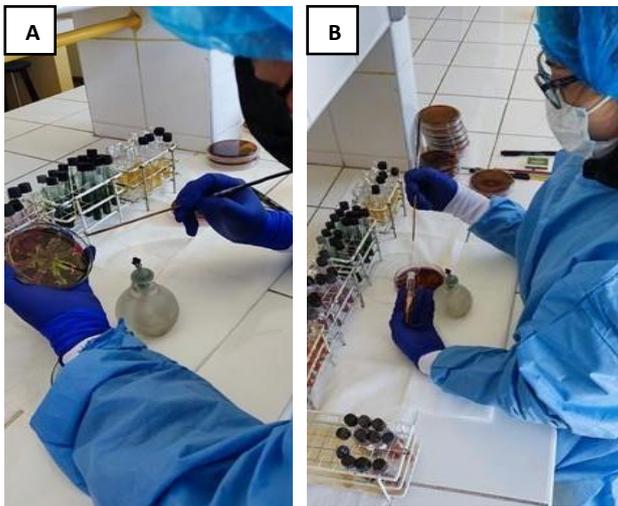


Nota: (A) Esterilización húmeda en autoclave de medios diferenciales (B) Medio TSI, Medio LIA, Medio CS, Medio Indol.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 21

Aislamiento e inoculación en medios diferenciales.



Nota: (A) Selección de colonia de *Escherichia coli*, (B) Puntura de colonia en medios diferenciales.

Fuente: Elaboración propia.

Figura 22

Resultado en medios diferenciales de la presencia de Escherichia coli.

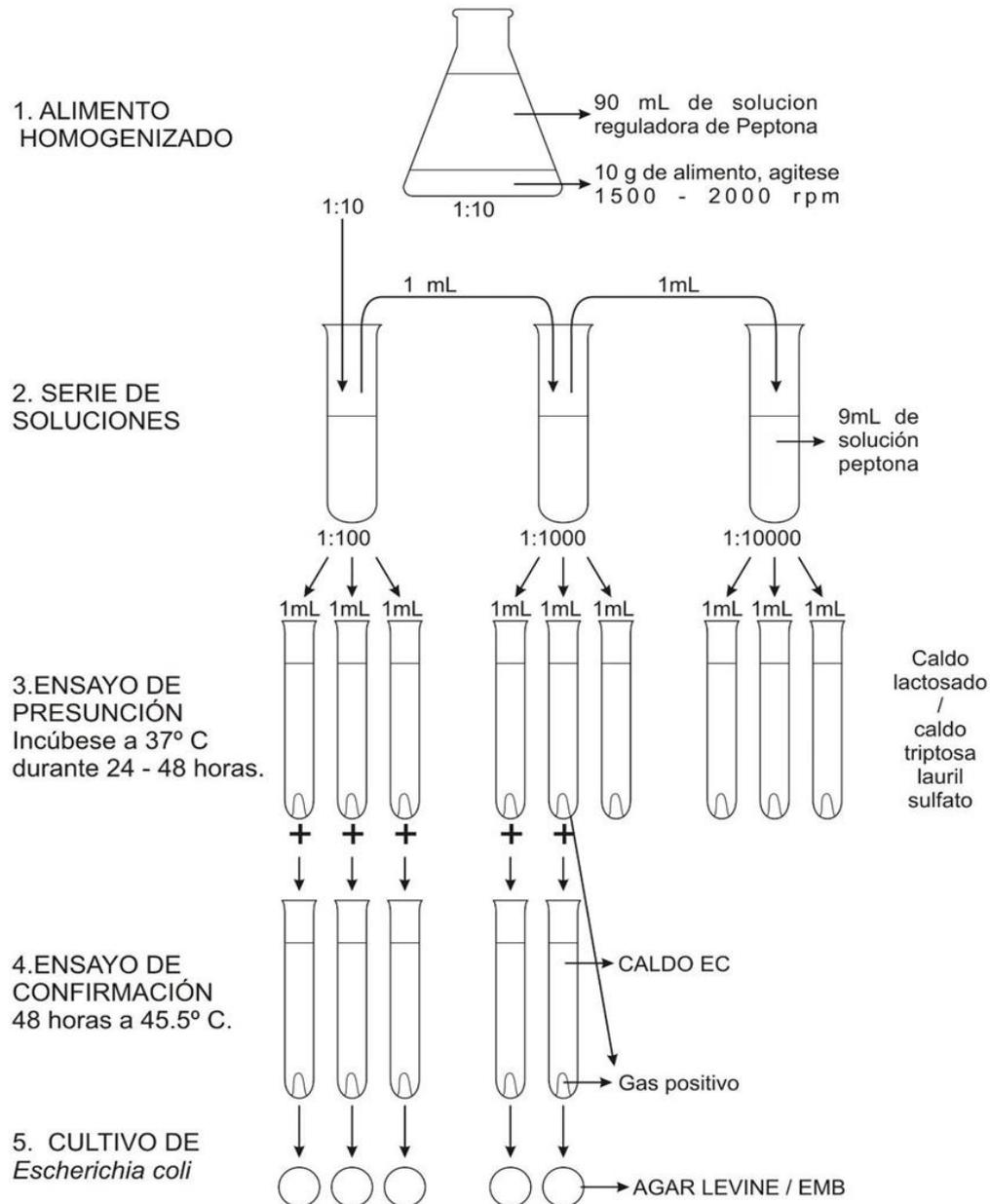


Nota: (A) resultado del aislamiento de *Escherichia coli* en medios diferenciales: TSI gas (+) A/A, LIA
Gas (-) K/K, CS negativo, Indol (+).

Fuente: Elaboración propia.

Figura 23

Diagrama del método de Número Más Probable (NMP) para Coliformes y Escherchia coli.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 24

Diagrama de identificación de microorganismos en medios diferenciales.

GRUPO I HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) POSITIVOS								
ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)								
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	-	± 0 +	K/K	-	-	-	+	Salmonella typhi
AEROGENICOS (GAS POSITIVOS)								
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	2+	4+	K/K	-	+	-	-	Salmonella
K/A ó A/A	2+	4+	K/K	-	+	-	+	Arizona
K/A ó A/A	2+	4+	K/A	-	+	-	+	Citrobacter
K/A ó A/A	2+	4+	R/A	- ó +	D	+	+	Proteus
K/A	2+	4+	K/K	+	-	-	+	Edwardsiella
GRUPO II HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) NEGATIVOS								
ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)								
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	-	-	K/A	- ó +	-	-	-	Shigella
A/A ó K/A	-	-	K/K ó K/N	+	-	-	V	Escherichia
A/A ó K/A	-	-	K/A	- ó +	+	D	+ ó V	Enterobacter
A/A	-	-	K/K	-	+	-	+ ó V	Serratia
K/A	-	-	R/A	+	D	+	+	Proteus
K/A	-	-	R/A	+	+	-	+ ó -	Providencia
A/A	-	-	A/A ó K/A	- ó +	-	V	V	Yersinia
AEROGENICOS (GAS POSITIVOS)								
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
A/A ó K/A	2+	-	K/K ó K/A	+	-	-	V	Escherichia
A/A	4+	-	K/K	- ó +	+	+	-	Klebsiella
A/A ó K/A	3+	-	K/K ó K/A	-	+	D	+ ó V	Enterobacter
K/A ó A/A	2+	-	K/K	-	+	-	+ ó V	Serratia
K/A	(+)	-	K/A ó R/A	+	D	+	+	Proteus
K/A	+	-	K/A ó A/A	-	+	-	/	Paratyphi A

J.Y.B. 2004

K= alcalino
A= ácido
R= rojo

Fuente: J.Y.B. 2004 Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno, Servicio de Patología Clínica, Área de Microbiología clínica.

Figura 25

Índice del Número Más Probable (NMP) para 3 diluciones.

Número de tubos positivos		NMP por gramo o mL		Índice de confianza 95%	
0	1:100	1:1000	1:10	Inferior	Superior
0	0	0	<3	<0.5	9
0	0	1	3	<0.5	13
1	1	0	3	<0.5	20
1	0	0	4	1	21
1	0	1	7	1	23
1	1	0	7	3	36
1	1	1	11	3	36
2	2	0	11	1	36
2	0	0	9	3	37
2	0	1	14	3	44
2	1	0	15	7	51
2	1	1	20	4	60
2	2	0	21	10	100
3	2	1	28	4	120
3	0	0	23	7	130
3	0	1	30	15	380
3	0	2	64	7	210
3	1	0	43	14	230
3	1	1	55	30	380
3	1	2	100	15	380
3	2	0	95	30	440
3	2	1	150	25	470
3	2	2	210	36	1300
3	3	0	240	71	2400
3	3	1	460	150	4800
3	3	2	1100		
3	3	3	>2400		

Fuente: Laura (2017).



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS



CONSTANCIA

LA JEFE DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL ALTIPLANO (UNA) PUNO

HACE CONSTAR:

Que los bachilleres **FRED KEVIN RAFAEL CHURA Y JESSICA CONDORI MAMANI**, egresados de la Facultad de Ciencias Biológicas, Especialidad Microbiología y Laboratorio Clínico han realizado su proyecto de investigación motivo de tesis, **titulado "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sinensis*) MEDIANTE EL RECuento DE COLIFORMES Y *Escherichia coli*, EXPENDIDOS DE FORMA AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA"**, ejecutado a partir de Diciembre del 2022 a Febrero del 2023, con toda responsabilidad, dedicación y puntualidad.

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados para los fines convenientes.

Puno, Diciembre de 2023.





AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo FRED KEVIN RAFAEL CHURA
identificado con DNI 72454090 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sienensis*) MEDIANTE EL RECuento DE COLIFORMES Y *Escherichia coli*, EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 30 de Julio del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo FRED KEVIN RAFAEL CHURA,
identificado con DNI 72454090 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:
"CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus siensis*) MEDIANTE EL
RECUENTO DE COLIFORMES Y *Escherichia coli* EXPENDIDO DE FORMA
AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA"

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como suyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 30 de Julio del 2024



FIRMA (obligatoria)



Huella



**AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Por el presente documento, Yo JESSICA CONDORI MAMANI
identificado con DNI 73350110 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

de Biología _____

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

"CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus sienensis*) MEDIANTE EL RECUENTO DE
COLIFORMES Y *Escherichia coli*, EXPENDIDO DE FORMA AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 30 de Julio del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo JESSICA CONDORI MAMANI
identificado con DNI 73350110 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:
“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ZUMO DE NARANJA (*Citrus siensis*) MEDIANTE EL
RECuento DE COLIFORMES Y *Escherichia coli* EXPENDIDO DE FORMA
AMBULATORIA EN PUNO Y JULIACA”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 30 de Julio del 2024


FIRMA (obligatoria)



Huella