

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Calidad microbiológica del helado artesanal
“muyuchi”, expendido en la provincia de
Huamanga, Ayacucho 2019**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por la:

Bach. BORDA DONAIRES LIZBETH

AYACUCHO – PERÚ

2019

A mis padres Teodolfo Borda Gamarra y Ana Donaires Cuba, pilares fundamentales en mi vida, quienes me inculcaron principios, valores y me brindaron todo el apoyo incondicional para culminar con mis estudios universitarios.

A mis hermanos, quienes son y seguirán siendo el ejemplo para seguir y continuar estudiando para alcanzar el éxito, tanto en el campo laboral y/o profesional.

AGRADECIMIENTOS

Especial agradecimiento a mi *Alma Máter* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a los docentes que en ella laboran, por su invaluable apoyo académico y moral quienes son forjadores de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

A mi asesor Q.F Hugo Luna Molero por el apoyo y la orientación que me brindó en el transcurso de la realización de la tesis.

A todas las personas que colaboraron para la culminación de este trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Redacción del marco teórico	6
2.2.1. Definición de helado	6
2.2.2. Clasificación de los helados	6
2.2.3. Características del helado ideal	8
2.2.4. Valor nutritivo del helado	9
2.2.5. Valor calórico del helado	10
2.2.6. Descripción del helado en estudio	10
2.2.7. Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en los alimentos	11
2.2.8. Fuentes de contaminación microbiológica	12
2.2.9. Calidad microbiológica de los alimentos	14
2.2.10. Parámetros de calidad microbiológica de los alimentos	15
2.2.11. Enfermedades de transmisión alimentaria	15
2.2.12. Descripción de los microorganismos en estudio	16
2.2.13. Tipos de siembra	21
2.2.14. Medios de cultivo bacteriano	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Ubicación	27
3.2. Población	27
3.3. Muestra	28
3.4. Metodología y recolección de datos	28

3.5. Análisis de datos	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	51
VII. RECOMENDACIONES	53
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
IX. ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Composición y valor nutritivo del helado, Huamanga, 2019.	9
Tabla 2	Valor calórico del helado, Huamanga, 2019.	10
Tabla 3	Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad de los helados a base de leche, Huamanga 2019.	15
Tabla 4	Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para aerobios mesófilos en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	35
Tabla 5	Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para coliformes en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	36
Tabla 6	Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para <i>Staphylococcus aureus</i> en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	37
Tabla 7	Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para <i>Salmonella sp.</i> en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	38
Tabla 8	Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para cada enterobacteria en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	39
Tabla 9	Helado artesanal “muyuchi” aptos y no aptos para consumo humano, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.	40
Tabla 10	Comparación de frecuencias de la calidad microbiológica y recuento de los 4 tipos de enterobacteria en el helado artesanal “muyuchi”, expandido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019..	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Comparación de frecuencias no aptas según los lugares de venta del helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019.	42

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.	
Anexo 1	Manual de análisis microbiológico de alimentos (DIGESA) Huamanga, 2019.	63
Anexo 2	Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, Huamanga 2019.	64
Anexo 3	Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables, Huamanga 2019.	65
Anexo 4	Numeración de organismos coliformes fecales (NMP), Huamanga 2019.	66
Anexo 5	Numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulasa positiva), Huamanga 2019.	67
Anexo 6	Investigación de <i>Salmonella sp.</i> , Huamanga 2019.	68
Anexo 7	Formato de recolección de datos del helado artesanal “muyuchi”, Huamanga 2019.	69
Anexo 8	Tabla de número más probable (NMP) de coliformes fecales/g o mL parra 3 tubos (0.1, 0.01 y 0.001 g) de inculo, los números más probables (NMPs) por g y 95% de intervalo de confianza.	70
Anexo 9	Acondicionado y esterilización de materiales, Huamanga 2019.	71
Anexo 10	Preparación de las placas con agar para el análisis de control de calidad microbiológico, Huamanga 2019.	72
Anexo 11	Control de calidad al ambiente de trabajo, Huamanga 2019.	73
Anexo 12	Proceso de recolección de los helados artesanales “muyuchi” y pesado de la muestra, Huamanga 2019.	74
Anexo 13	Procedimiento para recuento estándar en placa de aerobios mesófilos, Huamanga 2019.	75
Anexo 14	Procedimiento para determinación de coliformes por el método de tubo múltiples de fermentación – número más probable (NMP), Huamanga 2019.	76
Anexo 15	Procedimiento para recuento en placa de <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulasa positivo), Huamanga 2019.	77

Anexo 16	Procedimiento para el aislamiento e identificación de <i>Salmonella sp.</i> , Huamanga 2019.	78
Anexo 17	Resultados de la calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi”, Huamanga 2019.	79
Anexo 18	Matriz de consistencia	80

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó durante los meses de abril a julio del año 2019, el cual fue de tipo observacional con el objetivo de evaluar la calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi” expendidos en la provincia de Huamanga, mediante la identificación de aerobios mesófilos, coliformes, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*, para ello se analizaron un total de 60 muestras expendidas en tres distritos con diferentes puntos de venta; los análisis microbiológicos se efectuaron en el centro de investigación en bioquímica clínica y molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, los métodos aplicados fueron el de recuento estándar en placa para determinación de aerobios mesófilos, el de tubos múltiples de fermentación - número más probable (NMP) para determinación de coliformes, el de recuento en placa para *Staphylococcus aureus* y para *Salmonella sp.* el de aislamiento e identificación. Los resultados evidenciaron que el 18,3% de las muestras no cumplieron con el límite permitido para aerobios mesófilos, el 100% cumplieron con los límites aceptables para coliformes, el 16,7% presentaron un recuento superior al límite aceptable para *Staphylococcus aureus*, el 33,3% dieron como resultado presencia de *Salmonella sp.* y el 45% no cumplieron con los requisitos microbiológicos establecidos por la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 071-MINSA/DIGESA, concluyendo que estos productos no son aptos para el consumo humano, ya que representaron un riesgo para la salud del consumidor.

Palabras clave: Helado artesanal, aerobios mesófilos, coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*

I. INTRODUCCIÓN

Los helados son uno de los productos lácteos que deleitan el paladar de grandes y chicos, son productos alimenticios que tienen mucha demanda en los meses de verano e invierno¹. El helado no solo presenta como características el de ser agradable por su sabor dulce y suavidad, si no también resulta muy nutritivo y satisface las necesidades de energía, proteína y calcio que demanda nuestro organismo².

Son postres que se venden en la ciudad de Huamanga en establecimientos o en forma ambulatoria, en carritos donde se conservan a temperaturas de congelación³.

En la ciudad de Huamanga, en los últimos años ha aumentado la producción y venta de helados principalmente artesanales, domésticos o caseros los cuales poseen gran acogida por la población ayacuchana y turistas³, a pesar de que en el proceso de elaboración del helado artesanal “muyuchi” se pasteuriza el problema radica en las medidas higiénicas del manipulador, ya que estas personas no cuentan con conocimiento para el correcto manejo de normas de higiene, manipulación de las materias primas que se utilizan en mayor porcentaje en la elaboración de estos productos.

Los manipuladores son los portadores de gérmenes patógenos como coliformes, *Staphylococcus aureus*, siendo la principal causa de enfermedad relacionada con el consumo de helados contaminados⁴.

Se conoce ampliamente que los productos alimenticios que se comercializan por medio de ventas ambulantes o a la intemperie están más propensos al deterioro y contaminación, lo cual influye en la salud del consumidor⁵.

En la actualidad no existen datos estadísticos reportados de enfermedades causadas por ingerir estos productos en la ciudad de Huamanga, debido a la falta de una vigilancia sanitaria que permita regular y garantizar que cumplen con los requisitos y especificaciones de las normas alimentarias para su fabricación⁴.

El presente trabajo de investigación busca fomentar la aplicación de las normas básicas de higiene, monitoreo del proceso de fabricación, almacenamiento y comercialización. Siendo esta de gran importancia social, pues es necesario tomar en consideración que la ingestión de alimentos no inocuos puede generar brotes de enfermedades que afectan a la población tanto en su salud, como en su economía.

Por lo que se consideró necesaria la realización de esta para evaluar la calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi” que son comercializadas en la provincia de Huamanga, debido a la falta de vigilancia sanitaria, dicha evaluación se realizó tomando en cuenta los límites establecidos por la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 071 MINSA/DIGESA.

Por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivos generales

Evaluar la calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga.

Objetivos específicos

- Realizar el recuento de aerobios mesófilos, coliformes, *Staphylococcus aureus* en las muestras del helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga.
- Determinar presencia o ausencia de *Salmonella sp.* en las muestras del helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

A continuación, se mencionan trabajos semejantes a nivel internacional y nacional los mismos que nos permitieron alcanzar nuestros objetivos.

Antecedentes internacionales

Sarmiento⁴, en el año 2016 realizó el estudio “Determinación microbiológica de coliformes y *Staphylococcus aureus* en helados artesanales que se expenden en el Cantón Santa Isabel de la provincia de Azuay, Ecuador”, para lo cual se recopilaron 60 muestras con un peso aproximado de 100 g cada uno en 3 puntos de ventas. Se evaluó la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* siguiendo el método de placas Compact Dry X-SA cuyo tiempo de incubación fue de 24 a 48 ± 2 horas y la temperatura de incubación de 35 ± 2 °C – Association of Official Analytical Chemists (AOAC); mientras que para *E. coli* y coliformes se utilizó el método de placas Compact Dry EC cuyo tiempo de incubación fue de 48 ± 2 horas. Los resultados evidenciaron que en el 55% del total de las muestras recolectadas no cumplieron con los requisitos de la norma para la fabricación de helados Norma Técnica Ecuatoriana – Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE-INEN) 706:2005.

Rodríguez et al⁵, en el año 2015 publicaron la investigación “Calidad microbiológica de helados artesanales expendidos en las afueras de instituciones educativas en Ciudad Bolívar, Venezuela”; en este estudio se analizaron 30 helados de diversos sabores cada uno de 250 ml aproximadamente. Se evaluó bacterias aerobias mesófilas mediante la siembra en profundidad (norma 902-87) que incubaron a 37±1 °C por 24 a 48 h, coliformes totales, fecales en baño de agua a 45 °C ± 0,2 °C durante 24 h y *escherichia coli* a 35 °C ± 1 °C entre 24 y 48 h por el método de tubos múltiples y determinación del número más probable (NMP) según la norma 1104-96. Como resultado las bacterias aerobias mesófilas fueron superiores a 2,5x10⁵ UFC/ml en 10% de las muestras, los coliformes totales

sobrepasaron la norma en 46,7%. Hubo presencia de coliformes fecales en 16,6% y de *escherichia coli* en un 6,6%. Se concluyó que los helados producidos artesanalmente constituyen un peligro para la salud y no son microbiológicamente seguros, además se evidenció la falta de control higiénico y desconocimiento de prácticas de higiene según lineamientos de la Norma Venezolana - Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN).

Cabrera Z. y col⁶, en el año 2011 realizaron la investigación “Calidad microbiológica de paletas a base agua y base láctea elaboradas en el estado de Hidalgo, México”, en este estudio se analizaron 8 paletas a base de agua y 7 de base láctea. Se evaluó el recuento de bacterias mesofílicas por el medio de elección (agar métodos estándar), coliformes totales en un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) cuyo tiempo de incubación fue de 35°C en aproximadamente 24 h, mohos y levaduras en medio selectivo específico (agar papa – dextrosa) incubado a una temperatura de 25 ± 1°C. Los resultados evidenciaron que las paletas base leche presentaron una mayor carga microbiana de bacterias comparadas con las paletas base agua según la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994.

Flores⁷, en el año 2010 realizó el estudio “Estudio de la inocuidad de los sorbetes artesanales comercializados en las zonas de Soyapango, Mejjicanos y zona del centro de la ciudad de San Salvador”, en este estudio se recolectaron 60 muestras las cuales fueron adquiridos en las zonas de Soyapango (mercado principal y alrededores), Mejjicanos (mercado principal y alrededores) y zona del centro de la ciudad de San Salvador. Analizaron el recuento de bacterias aeróbicas, coliformes totales, identificaron *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y *escherichia coli*, siguiendo la metodología de los requerimientos microbiológicos que establece la norma salvadoreña obligatoria de helados y mezcla para helados (NSO 67.01.11:95). Como resultado se encontró presencia de las bacterias *escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus*; en el recuento de bacterias aeróbicas, resultaron con un número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) que resultó dentro de los rangos permitidos. Se concluyó en que ninguna de las muestras cumplió con la norma de helados y mezcla de helados NSO 67.01.11:95 bajo el comité técnico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Borja et al⁸, en el año 2008 realizaron el estudio “Evaluación de la calidad microbiológica de nieves elaboradas artesanalmente y comercializadas en las

afueras de los centros educativos del municipio de Mejicanos”, en este estudio se tomaron 31 muestras con un peso aproximado de 50 g cada uno, obtenidos de diferentes fuentes que comercializan su producto en las afueras de centros educativos del municipio de Mejicanos. Los análisis realizados a las muestras fueron: recuento de microorganismos mesófilos aerobios, recuento de *Staphylococcus aureus*, identificación de *escherichia coli*, número más probable (NMP) para coliformes totales, identificación de *Salmonella sp.*, dichas evaluaciones se realizaron tomando en cuenta los límites establecidos por la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO:67.01.11:95 “Helados y mezclas de Helados. Especificaciones”, elaborada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Cuyo resultado mostró que se encontraron, mesófilos aerobios en un 87%, *Staphylococcus aureus* 36%, *E. coli* 81%, coliformes totales NMP 94%. No se detectó *Salmonella sp.* en ninguna de las muestras. Concluyeron que el 100% de las muestras no cumplen con la totalidad de las especificaciones de la norma salvadoreña obligatoria para helados y mezcla de helados.

Antecedentes nacionales

Alba et al⁹, en el año 2018 realizaron el estudio “Helados a base de agua comercializados en Caraz (Ancash, Perú) y su calidad microbiológica bajo la regulación de la R.M N° 591-2008/MINSA”, en este estudio se tomaron 40 muestras de diversos sabores en los puntos de venta de la ciudad durante los meses de marzo y julio del 2018. Antes de su análisis microbiológico, las muestras fueron clasificadas por sabor, por punto de venta y descongeladas a una temperatura de 4 ± 1 °C en una cabina de siembra aséptica. Las muestras fueron analizadas microbiológicamente para detectar y cuantificar la carga de coliformes totales, siguiendo el método 991.14 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International usando placas Petrifilm™. Los resultados evidenciaron que los helados a base de agua un 12.5% de ellas dieron positivo para coliformes totales es decir presentaron recuentos entre 1 – 100 UFC/g.

Castro³, en el año 2014 realizó la investigación del “Estudio de la calidad microbiológica de helados que se expenden en la ciudad de Tacna” en este estudio se tomaron 9 muestras de diferentes gramos cada uno, obtenidas en las principales avenidas de Tacna. Se determinó cuatro indicadores microbiológicos (coliformes totales y fecales, microorganismos aerobios mesófilos, levaduras y hongos), identificación de *escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp* siguiendo el método de recuento en placa. Como resultado se encontró

coliformes totales (>1100/g), aerobios mesófilos (60 y más millones de UFC/g), levaduras y hongos (miles hasta 90 millones de UFC/g), *Staphylococcus aureus* (1100 hasta 1 millón de UFC/g), *E. coli* y *Salmonella sp* no se detectaron. Se concluyó que el 100% de las muestras no cumplen con la totalidad de las especificaciones de la Dirección General de Salud (DIGESA).

2.2. Redacción del marco teórico

2.2.1. Definición de helado

Son los productos alimenticios llevados al estado sólido o pastoso por medio de la congelación, elaborados con dos o más de los ingredientes siguientes: leche o productos lácteos en sus diferentes formas, grasa de leche, grasas vegetales deodorizadas; edulcorantes permitidos, huevos, agua, jugos y pulpa de fruta, frutas, chocolates, nueces y/o productos similares, aditivos permitidos y otros¹⁰.

Desde el punto de vista físico-químico, el helado se define como un sistema polidisperso complejo, en el que se encuentran esparcidos glóbulos de grasa, burbujas de aire, cristales de hielo y agregados; rodeados de una matriz semisólida continua de azúcares, proteínas, sales, polisacáridos y agua. Todos estos elementos constituyentes del helado se encuentran en diferentes tamaños y estado de agregación².

En el helado coexisten en equilibrio los tres estados de la materia. La fracción sólida la conforman los azúcares, la lactosa, las sales minerales, cristales de hielo y otros sólidos que se agreguen. En cambio, la fracción líquida la conforman el agua como solvente de sales y azúcares y la fracción líquida de las grasas con amplio rango plástico. Y por último, la fracción gaseosa se constituye por pequeñas burbujas de aire que incrementan el volumen y suavidad del helado, sobre todo los de crema¹¹.

2.2.2. Clasificación de los helados

Los helados o sorbetes se clasifican en:

a. Por su composición y elaboración:

- **Helados soft:** su elaboración es industrial a gran escala. Esta mezcla es puesta en recipientes diversos los que son puestos en una máquina congeladora. Al momento de servir este helado se prende un grifo en la maquinaria que extrae de manera inmediata el helado. Como resultado se obtiene un producto con mucho aire, muy liviano y muy cremoso. No es de baja calidad, pero al no necesitar un gran equipo de fábrica su precio es moderado, hasta bajo¹².

- **Helados de crema:** este tipo de helado se elabora con un mínimo de 8% materia grasa de origen lácteo, es decir, crema, y un 2,5% de proteínas de origen lácteo. Como resultado se obtiene una consistencia muy cremosa que puede ser mezclada con otros ingredientes, por ejemplo, chocolate, coco, vainilla y hasta algunas frutas^{1, 12}.
- **Helado de leche:** su composición se basa de un 2,5% de materia grasa de origen lácteo, y un 6% de extracto seco magro lácteo. El ingrediente principal, como su nombre lo indica, es la leche entera. Debe tener un peso mínimo de 475 gr por litro^{1, 12}.
- **Helado de leche desnatada:** se elabora como máximo con un 0,30 % de materia grasa de origen lácteo y como mínimo un 6 % de extracto seco magro lácteo. El principal ingrediente, la leche desnata, puede obtenerse de dos maneras: por decantación, dejando reposar la leche lo que produce que la grasa ascienda; o por centrifugación, un sistema maquinaria que gira a miles de revoluciones por segundos lo que produce que se separe la nata de la leche¹².
- **Helado con grasa no láctea:** en su elaboración se suplanta la grasa láctea por grasa de origen vegetal, como el coco, el algodón, etc. En algunos países este tipo de helado está prohibido. A estos tipos de helados puede agregársele zumo o frutas frescas. Cuando el porcentaje de estos ingredientes representa más del 10% de la composición total, el helado pasa a llamarse, por ejemplo, helado de leche con frutilla; en cambio cuando represente menos del 10% se llama, por ejemplo, helado de leche con sabor a frutilla¹².
- **Helados de mantecado:** estos tipos de helados contienen en su elaboración como principal ingrediente huevos, combinados con productos lácteos y azúcar¹².
- **Helados de agua (sorbete o granizado):** resultan de congelar la combinación de diferentes ingredientes debidamente pasteurizados y homogeneizados, con agua. Se dividen en sorbete: la mezcla se sirve en estado sólido; o granizado: la mezcla se sirve en estado semisólido. La mezcla consta de azúcar, agua y zumo de diferentes frutas^{1, 12}.
- **Postre de helado:** se lo denomina postre a todas las mezclas expuestas anteriormente, sin embargo, se diferencia por estar decorado y

empaquetado de manera que es más atractivo para facilitar su comercialización¹².

b. Por su forma de preparación:

- **Helados industriales:** se producen en plantas industriales. Su elaboración consta de estabilizantes, saborizantes y colorantes artificiales para realzar el color y su aspecto. Tienen una gran cantidad de aire y debido a su producción es el más barato¹².
- **Helados artesanales:** su elaboración es prácticamente manual y se realiza en pequeñas fábricas. Solamente se utilizan productos frescos y ningún tipo de químico para que realce su aspecto o sabor. Su textura es mucho más cremosa ya que se ve ampliamente disminuido la presencia de aire. Su precio es mayor que el helado industrial porque se utilizan una gran variedad de alimentos y su elaboración es más complicada¹².

2.2.3. Características del helado ideal

El helado ideal es el que tiene el sabor agradable y característico, debe poseer una textura suave y uniforme, las propiedades de función adecuadas junto a un color apropiado, bajo contenido microbiano y envasado de modo atractivo¹³, además debe poseer las siguientes especificaciones:

- **Cuerpo:** engloba todos los componentes de mezcla de helado (sólidos, líquidos, aromas, aire que incorpora, etc.). Un helado debe ser consistente, pero no demasiado duro, resistente a la función y debe proporcionar una agradable sensación al llenar la boca.
- **Textura:** este término se refiere a la disposición y dimensión de las partículas que lo componen. El conjunto de componentes debe proporcionar una estructura cremosa, ligera y suave.
- **Color:** lo más importante del color debe ser su intensidad, aunque esto es algo relativo, dependiendo del gusto del consumidor, pero el color debe ser homogéneo y por supuesto, relativo al sabor
- **Sabor:** este término se refiere a la mezcla base. Cada componente de mezcla debe tener un sabor característico. En una mezcla no debe predominar ningún sabor especial. Entre los sabores de los ingredientes básicos, deben formar un aroma que produzca una sensación agradable en el paladar.

2.2.4. Valor nutritivo del helado

La composición y valor nutritivo de los helados pueden presentar los siguientes valores promedios¹:

Tabla 1: Composición y valor nutritivo del helado, Huamanga, 2019.

Composición			
Sales minerales (mg/100g)		Vitaminas (mg/100g)	
Calcio	80 – 138	A	0,02 – 0,13
Fósforo	45 – 150	B1	0,02 – 0,07
Magnesio	10 – 20	B2	0,17 – 0,23
Hierro	0,05 – 2	B3	0,05 – 0,1
Cloro	30 – 205	C	0,9 – 18,0
Sodio	50 – 180	D	0,0001 – 0,0005
Potasio	60 – 175	E	0,05 – 0,7
Valor nutritivo (%)			
	Hidratos de carbono		13 – 22
	Grasas		2 – 14
	Proteínas		1 – 6
	Agua		50 – 78

Fuente: Guía de elaboración de helados¹.

Los helados, por ser una mezcla de diversos alimentos de alta calidad (leche, crema de leche, huevos, almendras, etc.), son considerados como una importante fuente de:

- Proteínas de alto valor biológico. Estas proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales para la vida.
- Vitaminas de todos los tipos. Los helados tienen tanto vitaminas solubles en grasa como en agua, debido a que en su composición entran tanto como grasas (crema de leche, leche entera), como zumos de frutas o frutas naturales.
- Energía calórica para el desarrollo de la vida. Son ricos en azúcares diversos (sacarosa, glucosa, etc.).
- Sales minerales diversas como: calcio, sodio, potasio, magnesio, etc. Los helados por su riqueza en leche, zumos, frutos secos, etc., aportan a la alimentación humana un importante contenido de sales indispensables para la vida.

La enumeración de estas propiedades hace necesario considerar a los helados no sólo como una simple golosina o refresco de verano sino también como un exquisito y nutritivo postre que aporta elementos muy importantes para una alimentación equilibrada en todas las estaciones del año y las etapas de la vida¹.

2.2.5. Valor calórico del helado

Los helados están compuestos por azúcares, leche, crema de leche, chocolate, etc. Según la composición será su valor calórico¹.

Tabla 2: Valor calórico del helado, Huamanga, 2019.

Valores calóricos fisiológicos (cal/g)	
Grasas	9
Hidratos de carbono	4
Proteínas	4

Fuente: Guía de elaboración de helados¹.

2.2.6. Descripción del helado en estudio.

Historia del helado artesanal muyuchi.

Este delicioso helado data del siglo XX, cuando no existía la electricidad en Ayacucho, donde las familias hacendadas mandaban a sus criados hasta el nevado Razuhillca ubicado en la provincia de Huanta, por cierto, hoy afectado por el deshielo a traer hielo envuelto con ichu en mulas, para preparar el muyuchi, raspadilla, marcianos y otros manjares que al inicio sólo era un dulce de la aristocracia ayacuchana. Según Luzmila Farfán Palomino antiguo personaje reconocido de la ciudad de Huamanga, en sus inicios, el muyuchi se servía en vasos de cristal, pero con el pasar del tiempo, el delicioso helado se vende en vasitos descartables acompañado del airampo (dulce de las pepitas de la tuna)¹⁴.

Procedimiento de elaboración del helado artesanal muyuchi.

El “muyuchi” que proviene del termino quechua “dar vuelta”, helado a base de leche fresca, ajonjolí, coco, esencia de vainilla, canela, clavo de olor y azúcar, se elabora de la siguiente manera¹⁵:

- Hierva la leche en una olla a fuego alto durante 15 minutos, retirar del fuego y poner la olla en un recipiente con agua fría. Dejar reposar durante una hora.
- Tueste el ajonjolí en la sartén a fuego medio durante unos minutos. Retirar del fuego y licuar junto con la canela y los clavos de olor. Llevar a hervir en una olla con medio litro de agua a fuego alto y cuando rompa el hervor, bajar el fuego a medio y dejar cocinar por una hora más. Retirar del fuego y colar.
- Haga hervir el coco en una olla con medio litro de agua durante 15 minutos a fuego medio.
- Mezcle la leche con el agua de coco y el agua de ajonjolí, canela y clavo. Añadir la vainilla y el azúcar.

- Verter la preparación en una olla de acero rodeada del hielo y la sal. Girar la olla enérgicamente durante 10 minutos, hasta que la preparación se congele y tenga la textura cremosa de un helado.

2.2.7. Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en los alimentos.

- **Nutrientes**

Los microorganismos requieren para su metabolismo y multiplicación nutrientes básicos, como son carbono y nitrógeno, factores de crecimiento como vitaminas, minerales y agua. Todos estos nutrientes se encuentran presentes en los alimentos, los cuales son aprovechados por los microorganismos utilizando enzimas apropiadas que degradan a los carbohidratos, proteínas y lípidos, hasta obtener nutrientes más simples, obteniendo de ellos energía para la síntesis de sus propios elementos celulares^{16, 8}.

- **Agua disponible**

Es el agua que se encuentra disponible en los alimentos para que los microorganismos puedan desarrollar sus funciones metabólicas. El agua disponible es medida en términos de actividad del agua (A_w). Esta representa la razón de la humedad relativa del aire sobre la solución a prueba comparada con el agua destilada. La mayoría de las bacterias tienen un A_w óptimo de 0.98, existiendo además para cada microorganismo un valor mínimo y máximo. Al agregar soluto (sal o azúcar) a un alimento, se reduce el A_w y con ello se inhibe el crecimiento microbiano al ser deshidratados por las condiciones hipertónicas^{16,17}.

- **pH**

La mayoría de las bacterias requieren un pH óptimo para su desarrollo, el cuál es generalmente alrededor de 7.0. Algunas bacterias productoras de ácido, como los lactobacilos y estreptococos crecen mejor a pH 5.5 - 6.0, mientras que los mohos y las levaduras se desarrollan mejor a pH ácido, entre 4.5 y 5.5. El pH del alimento junto con otros factores, determinará el tipo de microorganismo que pueda desarrollar sobre determinado alimento^{16, 8}.

- **Concentración de oxígeno**

Los microorganismos se clasifican en aerobios o anaerobios según su tolerancia al oxígeno. En un alimento la atmósfera que lo rodea determinará el tipo de microorganismo que se desarrolle en él, así como si este crece en la superficie o en el fondo del alimento¹⁶.

- **Temperatura**

Es uno de los factores de mayor importancia para el crecimiento de los microorganismos, existiendo para cada uno, temperaturas mínimas, óptimas y máximas para realizar sus actividades metabólicas y de multiplicación. Las bacterias se clasifican según esta característica en bacterias psicrófilas, psicrótrofas, mesófilas y termófilas¹⁸.

Las bajas temperaturas retardan el crecimiento microbiano, alargando el período de almacenamiento en un alimento. Aunque algunos microorganismos son muy sensibles a las bajas temperaturas y su número se ve reducido, estas no generan un decremento significativo sobre la totalidad de la población microbiana de un alimento. Esto debido a que los rangos de temperaturas para una especie en particular no son rígidos y pueden variar dependiendo de factores externos como son el *pH* y la disponibilidad de nutrientes. Lentos crecimientos microbianos se han descrito a temperaturas inferiores a los $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, particularmente en jugos de frutas concentrados, helados y algunas frutas¹⁹.

Así tenemos a microorganismos clasificados como mesófilos que son capaces de multiplicarse a bajas temperaturas, como por ejemplo *Staphylococcus aureus* el cual puede multiplicarse y producir toxinas a temperaturas de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y *Salmonella* *sp* que puede soportar temperaturas de congelación por largos períodos de tiempo²⁰.

2.2.8. Fuentes de contaminación microbiológica

Contaminación por las frutas

La superficie de las plantas posee su propia flora microbiana normal, la cual incluye especies de *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Micrococcus*, así como especies de coliformes y bacterias lácticas. Además, la parte superficial de la planta se ve expuesta a la contaminación por el suelo, el aire, el agua, animales, incorporando microorganismos procedentes de estas fuentes. Estos microorganismos pueden incrementar su número al encontrar condiciones apropiadas de crecimiento, esto ocurre generalmente después de la recolección. Se ha comprobado que algunas frutas albergan en su interior microorganismos viables^{17, 8}.

Contaminación a partir de los animales

Los animales constituyen una fuente importante de contaminación de los alimentos ya que estos depositan sus excretas, al suelo, al agua y a las plantas que habitan estos medios, introduciendo a estos una gran cantidad de bacterias

coliformes y *enterococos*, muchos animales causan daños físicos a las frutas incorporando de esta forma microorganismos, iniciando el proceso de contaminación microbiana^{17, 7}.

Contaminación por el suelo

El suelo contiene la mayor variedad de microorganismos, procedentes de todas las fuentes de contaminación, el polvo del suelo es arrastrado por el aire y las partículas pueden alcanzar la superficie de los alimentos o el agua con la que se elaboran y de esta manera contaminarlos⁸.

Entre los microorganismos más importantes que habitan el suelo se encuentran mohos y levaduras y bacterias como *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* y algunas bacterias superiores como *Actinomicetos* y bacterias ferruginosas¹⁷.

Contaminación por el agua

El agua contiene no solo su propia flora microbiana sino también microorganismos procedentes del suelo, animales y de aguas residuales. Al ser este el ingrediente principal en la elaboración de muchos alimentos, se debe tomar en cuenta su calidad microbiológica. El agua utilizada en el lavado y elaboración de los alimentos es generalmente agua procedente de tuberías la cual presuntamente ha sido previamente potabilizada, aunque al ser utilizada no se puede garantizar su calidad microbiológica ya que también puede ser contaminada en el proceso de distribución, así como en su recolección y almacenamiento por lo que resulta fundamental realizar el control microbiológico de esta^{17, 16}.

Además, puede ser fuente de contaminación al ser utilizada como hielo para la preservación de algunos alimentos, especialmente si no se conoce el origen y la forma de elaboración de este. Entre la flora bacteriana del hielo utilizado para conservar los alimentos están especies de los géneros *Corynebacterium*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y *coco*¹⁷.

Contaminación por el aire

El aire no posee una flora microbiana característica, sino que la mayoría de las especies que podemos encontrar, ha llegado allí accidentalmente provenientes de otras fuentes. En el aire los microorganismos no pueden reproducirse, únicamente se mantienen suspendidos en él hasta que llegan al sustrato donde encuentran las condiciones adecuadas para multiplicarse. Hay que tener en cuenta que la carga microbiana del aire depende de varios factores: grado de humedad,

velocidad con que se desplaza, intensidad de la luz solar, climatología, cantidad de partículas sólidas o líquidas, animales^{17, 7}.

Contaminación por manipuladores

La contaminación de los alimentos se puede producir durante su manipulación al ser elaborados o distribuidos, cuando no se tienen las condiciones higiénicas adecuadas, para evitar dicha contaminación, el personal que entra en contacto directo con el alimento deben estar libres de enfermedades infecto - contagiosas, especialmente de la piel y contar con el equipo necesario para evitar en lo posible el contacto con el alimento reduciendo la posibilidad de contaminación^{17, 16}.

2.2.9. Calidad microbiológica de los alimentos

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo, sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga de microorganismos. Puesto que el control microbiológico es un proceso analítico, es necesario seguir una serie de criterios sobre la toma de muestras y el análisis microbiológico de los productos finales. En este sentido, es necesario considerar²¹:

- La distribución desigual de los microorganismos en los alimentos, lo que hace necesario seguir un esquema de toma de muestras para obtener resultados representativos.
- El número de criterios utilizados a la hora de juzgar la calidad microbiológica de los alimentos debe limitarse al mínimo necesario para así poder aumentar el número de análisis.
- Los criterios de análisis aplicados han de ser específicos de cada alimento porque son diferentes los microorganismos patógenos y alterantes de cada tipo de alimento.

Aptitud microbiológica para el consumo humano²¹:

- **Apto:** Los alimentos y bebidas serán considerados microbiológicamente aptos para el consumo humano cuando cumplan con todos los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.
- **No apto:** Los alimentos y bebidas serán considerados microbiológicamente no aptos para el consumo humano cuando no cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.

2.2.10. Parámetros de calidad microbiológica de los alimentos

Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano¹⁰.

Requisitos según Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano”, según grupos de alimentos puede ser: Helados y mezclas para helados¹⁰.

Tabla 3: Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad de los helados a base de leche, Huamanga, 2019.

Grupo 2: Helados y mezclas para helados							
Sub grupo 2.1: Helados a base de leche							
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por gramo		
					m	M	
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 ²	
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	-	
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	< 100	-	

Fuente: Norma técnica sanitaria NTS N° 071 – MINSA – DIGESA.¹⁰

Leyenda:

“n” (**minúscula**): Número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.

“c”: Número máximo permitidos de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que pueden contener un número de microorganismos comprendidos entre “m” y “M” 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 aceptables o inaceptables.

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

2.2.11. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)

Los alimentos pueden causar y transmitir múltiples enfermedades y afecciones a sus consumidores, producidas por el propio alimento, por productos de crecimiento microbiano o por microorganismos²².

Las enfermedades de transmisión alimentaria constituyen un grupo de enfermedades fundamentalmente de tipo gastroentérico, caracterizadas por

cortos períodos de incubación (2 a 48 horas), síntomas característicos (como diarrea, vómitos, dolores abdominales y fiebre) y donde la recuperación de las personas afectadas se logra, en general, en 24 - 72 horas, con tratamiento adecuado^{17, 22}.

Las enfermedades de transmisión alimentaria se pueden clasificar de la siguiente manera:

a. Infecciones alimentarias

El alimento actúa de vehículo para introducir al microorganismo dentro del cuerpo humano. Una vez allí, los gérmenes comienzan a multiplicarse. El organismo humano, entonces, responde ante la presencia del germen o ante los metabolitos que se produce. La dosis mínima de microorganismos necesarios para provocar dicha infección es muy baja. Son ejemplos de este tipo de enfermedades la salmonelosis, la disentería, etc^{22, 23}.

b. Intoxicaciones alimentarias

Los gérmenes patógenos se multiplican en el alimento y en él forman toxinas. Las toxinas son sustancias nocivas que provocan daños aun en pequeñas concentraciones. La enfermedad se produce cuando se consume el alimento sin necesidad de la multiplicación de microorganismos dentro del hombre. Ejemplos de estas enfermedades son el botulismo, la estafilococcia, enfermedades por ingestión de micotoxinas (metabolitos tóxicos producidos por hongos), etc²².

2.2.12. Descripción de los microorganismos en estudio

a. Aerobios mesófilos

Los microorganismos aerobios mesófilos son el grupo más grande de indicadores de calidad de alimentos. Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C. Casi todos los agentes patógenos humanos son mesófilos²⁴.

El número de microorganismos aerobios mesófilos encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad más comúnmente utilizados. Esta determinación permite obtener información sobre la alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada de los alimentos o los fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración^{24, 8}.

Habitad de aerobios mesófilos

Dentro de este grupo de microorganismos se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a las temperaturas antes mencionadas y en las condiciones establecidas³.

A este tipo de microorganismos se les encuentra en alimentos almacenados a temperatura ambiente o en alimentos refrigerados cuando se ha roto la cadena de frío²⁴.

Importancia de aerobios mesófilos en los alimentos

Las bacterias aerobias mesofílicas proporcionan información acerca del número de bacterias viables, por lo que representan un recurso valioso adicional para determinar el grado de exposición de los alimentos a la contaminación por microorganismos. El recuento de estos organismos representa un respaldo al significado atribuido a los resultados de los análisis de los coliformes^{8, 3}.

b. Coliformes

Se definen como bacterias de morfología bacilar gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, oxidasa negativa no esporógenas. Están formados por los siguientes géneros: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y los coliformes fecales los representa el grupo *Escherichia coli* y comprende varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, se encuentra ampliamente difundida en la naturaleza, agua y suelo. Se dividen en dos grupos coliformes totales y coliformes fecales. Su presencia en alimentos es signo de mala calidad higiénica, contaminación en el proceso y malas prácticas higiénicas por parte de los manipuladores²⁵.

Hábitat de los coliformes

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales²⁶.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre^{26, 7, 4}.

Importancia de los coliformes en los alimentos

Ocasionalmente ocasionan toxoinfecciones alimentarias, pero su presencia elevada en los alimentos, evidencia contaminación fecal reciente, ya que mueren pronto fuera del intestino por lo que se utilizan como indicadores de calidad higiénica¹⁷.

La principal vía de exposición pareciera ser el consumo de alimentos contaminados, como carne molida cruda o mal cocida, leche cruda y productos frescos. A pesar de la gravedad o ausencia de los síntomas de la enfermedad, las personas y animales infectados pueden liberar entre 10^6 a 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces y la liberación de la *E. coli* también se puede producir a través de portadores asintomáticos²⁷.

c. *Staphylococcus aureus*

Son células esféricas gram positivas de 0.8 a 1.2 μ m de diámetro, se le encuentra aislado o en parejas y se divide formando racimos irregulares, no móviles y no forman esporas, los estafilococos producen catalasa, fermentan con lentitud muchos carbohidratos produciendo ácido láctico pero no gas, *Staphylococcus aureus* es positivo a la coagulasa, es un patógeno de gran importancia para el ser humano y es el causante de muchas infecciones graves²⁸.

Hábitat de *Staphylococcus aureus*

Se considera que el hombre es la fuente más importante de *Staphylococcus aureus* para la contaminación de alimentos. Se ha comprobado que aproximadamente el 40% o más de personas adultas normales albergan estos microorganismos en las fosas nasales, garganta y piel, así como en las heridas de las manos, heridas infectadas y los flemones^{8, 7}.

Crecen rápidamente en alimentos húmedos y ricos en proteínas no adecuadamente refrigerados. Destaquemos la leche, quesos frescos, salsas, productos de pastelería rellenos de nata y crema, natillas y carnes¹⁷.

El *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad para sobrevivir a la desecación le permite contaminar los materiales expuestos al medio ambiente. Los gérmenes contaminan el ambiente, el cual a su vez se convierte en una fuente de contaminación a los alimentos, equipo y otros materiales en los establecimientos que manejan alimentos²³.

Patogenia de *Staphylococcus aureus*

Una de las intoxicaciones alimentarias que se presentan con mayor frecuencia es la originada por la ingesta de enterotoxina que se forma en los alimentos cuando en los mismo se multiplican ciertas cepas de *Staphylococcus aureus*¹⁰.

La toxina recibe la denominación de enterotoxina porque produce gastroenteritis o inflamación a la mucosa que reviste el tracto gastrointestinal, cuyos síntomas son: náuseas, vómitos, diarreas, calambres abdominales (normalmente bastante fuertes), sudoración y descenso en la temperatura corporal. Los síntomas duran

de 24 a 48 horas y la mortalidad es muy baja o nula, los cuales pueden aparecer a los pocos minutos o varias horas después de ingerir el producto contaminado. La bacteria se destruye fácilmente con el calor, aunque sus toxinas resisten temperaturas de hasta 100°C, a no ser que se mantenga esta temperatura durante unos 30 minutos²⁸.

Importancia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos

Los microorganismos indicadores de higiene, son aquellos que no deben estar presentes en el alimento o bebida en límites superiores a los especificados por el Ministerio de Salud. El exceso de estos microorganismos indica que las condiciones de higiene en el procesamiento de los alimentos o bebidas son deficientes por los manipuladores o de los equipos y utensilios mal lavados, estos productos deben ser rechazados debiendo establecerse las medidas sanitarias que el caso amerita¹⁰.

d. *Salmonella sp.*

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, es un bacilo gram negativo aerobio y anaerobio facultativo, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas, con una temperatura óptima de crecimiento de 35 – 37 °C y el intervalo de temperatura para el crecimiento de *Salmonella sp.* en los alimentos oscila es de 5 - 46 °C. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa y a partir de ella produce ácido por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa⁸.

Hábitat de *Salmonella sp.*

Se encuentra de forma natural en el intestino del ser humano y de los animales; por ello las heces son foco de contaminación de los alimentos y el agua. Los alimentos implicados más frecuentemente en esta infección son los huevos crudos (mayonesas, clara batida, sopas o leche con yema) o poco cocinados, las aves mal cocidas y los alimentos cocinados que se han dejado sin refrigerar durante varias horas¹⁷.

Patogenia de *Salmonella sp.*

Son bacterias invasoras y enterotoxigénicas. La infección se localiza principalmente en el íleo terminal y en el intestino grueso. Las *Salmonellas typhi* y *paratyphi* normalmente invaden la circulación, mientras que las otras están limitadas a la mucosa intestinal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual²⁹.

Los miembros del grupo *salmonella* son gérmenes patógenos causantes de síntomas clínicos en humanos y en animales. No todos los serotipos son igualmente patógenos para humanos y animales por lo que desde el punto de vista de salud pública es importante su identificación final²³.

La patología ligada a *Salmonella* agrupa un conjunto de enfermedades denominadas salmonelosis y éstas pueden manifestarse bajo tres tipos principales de enfermedades en el hombre: fiebre intestinal o tifoidea, bacteremia con lesiones focales y enterocolitis o gastroenteritis¹⁸.

- **Fiebre intestinal, fiebre tífica o tifoidea**

Los agentes etiológicos son solo algunos serotipos como *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi*, A, B ó C, las fuentes de contagio son principalmente las aguas servidas, posee un período de incubación de 10 a 14 días, después del cual aparecen fiebres, malestar general, cefalea, bradicardia, con escasos síntomas intestinales. El cuadro puede durar de 2 - 3 semanas. Las personas que han padecido esta enfermedad son portadores durante algunas semanas¹⁸.

La fiebre tifoidea es tratada con eficaces antibióticos, pero ciertamente, hay una preocupación global debido al desarrollo de la resistencia de algunas cepas a los medicamentos, un problema de salud pública actual que requiere la investigación y desarrollo de nuevas técnicas que permitan conocer mejor al microorganismo. Las principales vacunas contra la fiebre tifoidea son la oral (Ty21a) y la parental del polisacárido VI³⁰.

- **Bacteremia con lesiones focales**

Puede ser causada por cualquier serotipo de *Salmonella sp.*, después de la infección por vía bucal ocurre una invasión temprana de la sangre con posibles lesiones focales en pulmones, huesos, meninges, etc. A menudo no hay manifestaciones intestinales¹⁸.

- **Enterocolitis (gastroenteritis)**

El agente causal puede ser cualquier serotipo de *Salmonella*, es la manifestación más común de infección por *Salmonella sp.*, los síntomas se producen de 8 - 48 horas después de la ingestión de los microorganismos, causando diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, cefaleas y escaso aumento de la temperatura. Su duración va de 3 a 5 días y no hay portadores¹⁸.

Salmonella typhimurium es uno de los serotipos más comunes que causan este síndrome clínico. Su tratamiento debe estar encaminado a restituir líquidos y a equilibrar los electrolitos. Ni el diagnóstico ni el tratamiento etiológico son

necesarios ya que las bacterias no invaden otros tejidos y el padecimiento se resuelve en menos de una semana de evolución³¹.

Importancia de *Salmonella sp.* en los alimentos

La *Salmonella sp.* es una bacteria que habitualmente causa una enfermedad de origen alimentario, a veces llamada "intoxicación alimentaria", que se transmite generalmente por la ingestión de alimentos de origen animal contaminados, así como por el consumo de agua contaminada con heces fecales. Otra vía menos frecuente es de un ser humano a otro²⁹.

La salmonelosis es una infección aguda de importancia en salud pública debido al gran impacto social y económico que genera tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados⁸.

2.2.13. Tipos de siembra

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento. Los tipos de sembrado que se utilizarán son³²:

Siembra por inmersión

Se coloca el inóculo en una placa o caja de Petri y sobre el mismo se vierte el medio de cultivo previamente fundido. Este método se utiliza para microorganismos aerobios³².

Siembra en estría

Se vierte sobre una placa de Petri el medio de cultivo fundido y se deja solidificar. Existen distintas técnicas para la siembra en estrías, el objeto es obtener colonias aisladas³³.

Siembra por agotamiento.

Con éste procedimiento se puede conseguir una buena separación de las colonias y aislarlas fácilmente. Para ello se funde el medio de cultivo, se vierte en caja de Petri y se deja solidificar. Con el asa previamente esterilizada se toma material de un cultivo heterogéneo y se descarga sobre la superficie del medio formando estrías. Esto puede realizarse de varias formas³³.

2.2.14. Medios de cultivo bacteriano

- **Agua peptonada al 0.1%**

Medio de enriquecimiento no selectivo, en el cual la peptona proporciona nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano y el cloruro de sodio

mantienen el balance osmótico. Permite recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos a los que ha sido sometido el alimento. Además puede ser utilizado como diluyente de muestras en reemplazo de solución fisiológica y como medio base para la fermentación de hidratos de carbono³⁴.

El agua de peptona es particularmente adecuada como sustrato en el estudio de la producción de indol. La peptona utilizada en el agua de peptona es rica en contenido de triptófano. La presencia de indol puede demostrarse utilizando reactivos Kovacs³⁴.

- **Agua peptonada taponada**

Es un medio de enriquecimiento previo utilizado para aumentar la recuperación de especies de *Salmonella* lesionadas debido a técnicas de conservación de alimentos que implican calor, desecación, presión osmótica alta, conservantes o cambios de *pH*. El agua de peptona tamponada durante el período de enriquecimiento previo ayuda en la recuperación de las células lesionadas que pueden ser sensibles al *pH* bajo. Este medio de enriquecimiento previo está libre de inhibidores y está bien protegido y proporciona condiciones para la reanimación de las células que han sido lesionadas por procesos de conservación de alimento³⁵.

- **Agar para recuento en placa (agar estándar para recuento en placa)**

Medio de cultivo recomendado para el recuento en placa de bacterias aeróbicas en la leche y otros productos lácteos mediante la técnica de vertido en placa. La productividad de este medio, está basada en el alto contenido nutricional de sus componentes que permite el desarrollo de las bacterias presentes en la muestra. Las muestras se diluyen y las diluciones apropiadas se colocan en placas de Petri. Se agrega agar fundido estéril a estas placas y las placas se giran suavemente para asegurar una mezcla uniforme de la muestra con agar. Agar para recuento en placa también se usa para la estimación del número de bacterias heterotróficas vivas en el agua³⁶.

- **Agar Baird Parker**

Es un medio selectivo para el aislamiento y la identificación presuntiva de estafilococos coagulasa-positivos. Este medio se usa ampliamente para detectar *Staphylococcus aureus* en alimentos, productos lácteos y otros materiales³⁷.

Medio altamente nutritivo, en el cual la peptona de caseína y el extracto de carne constituyen la fuente de carbono y nitrógeno, el extracto de levadura aporta

vitaminas del complejo B, la glicina y el piruvato estimulan el crecimiento de los estafilococos. El agar es el agente solidificante³⁸.

Permite el crecimiento selectivo de estafilococos ya que el telurito de potasio y el cloruro de litio inhiben el desarrollo de la flora acompañante presente en la muestra. La yema de huevo permite demostrar la actividad lecitínica de los microorganismos³⁷.

Los estafilococos coagulasa positiva reducen el telurito a telurio y originan colonias de color grisáceo-negro, y tienen actividad lecitínica por eso actúan sobre la yema de huevo produciendo un halo claro alrededor de la colonia³⁷.

- **Agar diferencial de *Salmonella* sp.**

El agar diferencial de *Salmonella* es una ligera modificación de la formulación original de Rambach utilizada para diferenciar las especies de *Salmonella* de las especies de *Proteus* y otras bacterias entéricas. La producción de ácido a partir de propilenglicol es una característica novedosa de las especies de *Salmonella* y se utiliza en estos medios. Muchos de los medios como el agar *Salmonella shigella* (agar SS), el agar xilosa lisina desoxicolato (agar XLD) recomendado para la identificación y diferenciación de especies de *Salmonella* se basan en la fermentación de lactosa y producción de sulfuro de hidrógeno³⁹.

La peptona especial y el extracto de levadura favorecen el crecimiento exuberante de las bacterias, mientras que el desoxicolato de sodio inhibe los gram positivos organismos que hacen el medio selectivo para microorganismos entéricos. El indicador BC se vuelve rosa en presencia de ácido producido a partir de propilenglicol. La capacidad de fermentación de lactosa se determina mediante el uso de un indicador, que puede detectar la presencia de la enzima β -galactosidasa. Las bacterias fermentadoras de lactosa (productoras de β -galactosidasa) producen una colonia de color azul violeta³⁹.

Las *Salmonellas* producen ácido a partir de propilenglicol y, al combinarse con el indicador de *pH*, se obtienen colonias rojas rosas típicas. Otras bacterias gram negativas entéricas forman colonias incoloras. *Salmonella typhimurium* y *Salmonella enteritidis* producen colonias de color rosa a rojo³⁹.

- **Caldo EC con MUG**

Medio utilizado para el recuento de coliformes totales, coliformes fecales y *escherichia coli* en agua, alimentos y otros materiales. En el medio de cultivo la tripteína es la fuente de péptidos, aminoácidos y nitrógeno. La lactosa es el hidrato de carbono fermentable y favorece el desarrollo de bacterias coliformes, las sales

biliares inhiben el crecimiento de la flora acompañante gram positiva, las sales fosfatos constituyen un sistema buffer que impide que los productos ácidos originados por la fermentación de lactosa afectan el crecimiento microbiano y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico⁴⁰.

- **Caldo de infusión cerebro corazón (BHI)**

Es útil para cultivar una amplia variedad de microorganismos ya que es un medio altamente nutritivo. También se usa para preparar el inóculo para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. El caldo BHI es una modificación de la formulación original de Rosenow, donde agregó trozos de tejidos cerebrales al caldo de dextrosa. El caldo BHI también es el medio preferido para bacterias anaerobias, levaduras y mohos. Con la adición de sangre de oveja desfibrinada al 10%, es útil para el aislamiento y el cultivo de *Histoplasma capsulatum* y otros hongos. Para el aislamiento selectivo de hongos, la adición de gentamicina y/o cloranfenicol es recomendado. La peptona proteosa, el polvo de infusión HM y el polvo BHI sirven como fuentes de carbono, nitrógeno, factores de crecimiento esenciales, aminoácidos y vitaminas. La dextrosa sirve como fuente de energía. El fosfato disódico ayuda a mantener la acción amortiguadora del medio, mientras que el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio⁴¹.

- **Caldo Rappaport – Vassiliadis (RV)**

Medio utilizado para el enriquecimiento de *Salmonellae* debido a su capacidad de multiplicarse selectivamente a alta presión osmótica, bajo *pH* y 43 ° C, con requisitos nutricionales modestos y es resistente al verde de malaquita en comparación con otras bacterias. Se recomienda para el enriquecimiento selectivo de *Salmonellae* de alimentos y muestras ambientales⁴².

El medio contiene digestión papaica de harina de soja que proporciona nutrientes esenciales para el crecimiento. El cloruro de magnesio aumenta la presión osmótica en el medio. El verde de malaquita es inhibidor de organismos distintos a *salmonella*. El bajo *pH* del medio, combinado con la presencia de verde malaquita y cloruro de magnesio, ayuda a seleccionar las especies de *salmonella* altamente resistentes. El fosfato de potasio amortigua el medio para mantener el *pH* constante. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico⁴².

- **Plasma de conejo oxalato**

Se recomienda para estudiar la reacción de coagulasa en el diagnóstico de *Staphylococcus aureus*. Rehidrate el contenido de un vial asépticamente con 3 ml de agua destilada estéril. Añadir 0,5 ml de vial rehidratado en un tubo, a esto

agrega aproximadamente 0.05 ml de cultivo de caldo durante la noche de organismos de prueba o 2-3 colonias puras recogidas de una placa de agar no inhibidora. Mezcle suavemente e incube a 37 ° C en una incubadora o baño de agua por hasta 4 horas. Cualquier grado de coagulación dentro de las 4 horas se considera como resultados positivos⁴³.

- **Reactivo Kovacs (prueba indol)**

Para detectar la presencia de indol producido por microorganismos debido a la desaminación de triptófano. Es un reactivo bioquímico que consiste en alcohol isoamílico, para-dimetilaminobenzaldehído (DMAB) y ácido clorhídrico concentrado. Se utiliza para la prueba de diagnóstico, para determinar la capacidad del organismo para dividir el triptófano en indol y ácido alfa-aminopropiónico mediante la actividad hidrolítica de las bacterias que expresan la enzima triptófase. El indol producido se indica mediante la formación de un anillo de color rojo, soluble en éter, cloroformo y alcohol⁴⁴.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el centro de investigación en bioquímica clínica y molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a julio del 2019.

3.1.1. Ubicación política

- Departamento: Ayacucho
- Provincia: Huamanga
- Distrito: Ayacucho
- Lugar: Avenida independencia con avenida universitaria (módulos)

3.1.2. Ubicación geográfica

- Latitud: 13°08'53"S
- Longitud: 74°13'17.23"O
- Altitud: 27566 msnm

3.2. Población

La población estuvo constituida por el helado artesanal "muyuchi" expendidos en tres distritos de la provincia de Huamanga, con ocho lugares de venta.

Siendo estos distritos: Carmen Alto, San Juan Bautista y Ayacucho.

Criterios de inclusión

- Helado "muyuchi" hecho artesanalmente.
- Los helados "muyuchi" listos para comercializar.
- Los helados "muyuchi" expuestos a manipulación del vendedor y contaminación del ambiente.

Criterios de exclusión

- Helados "muyuchi" hechos por empresas.
- Proceso de elaboración de helado artesanal "muyuchi"

3.3. Muestra

Se tomó 200 g de helado artesanal “muyuchi”, en tres distritos de la provincia de Huamanga.

Criterio de muestreo: No probabilístico intencional (por conveniencia)

3.4. Metodología y recolección de datos

3.4.1. Preparación de las muestras para su análisis⁴⁵.

El muestreo se realizó según el Manual de Análisis de microbiología de alimentos DIGESA, siendo la unidad muestral 200 g de “muyuchi” helado artesanal, las cuales fueron recolectadas en condiciones asépticas y con material estéril: bolsas herméticas, rotuladas y conservadas en cadena de frío para su transporte a las instalaciones del laboratorio.

3.4.2. Procedimientos para la recolección de datos

a. Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables⁴⁵.

- **Método recuento estándar en placa**

Día 1

Se pesó 10 g de la muestra, se colocó en un frasco de boca ancha con tapa de 250 mL completamente estéril, seco y rotulado al cual se le agregó 90 mL de agua peptonada al 0.1% y se procedió a homogenizarlo, se tiene la dilución 10^{-1} .

Se preparó diluciones decimales con 9 mL de agua peptonada al 0.1% más 1 mL de la dilución anterior.

Con una pipeta estéril, se transfirió 1 ml de cada una de las diluciones obtenidas, a placas Petri estériles debidamente codificadas, para cada dilución por 3 diluciones consecutivas. Posteriormente fue vertido en cada placa 15 a 20 ml del medio de cultivo agar para recuento en placa fundido ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos) y temperado a $44 - 46\text{ }^{\circ}\text{C}$, se mezcló el inóculo con el medio fundido, inclinando y girando las placas. Este proceso se hizo bajo cabina de bioseguridad con filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air).

Una vez solidificado el agar, se invirtieron las placas e incubaron a 35°C durante 48 ± 2 horas, posteriormente se procedió a realizar el recuento de colonias en cada una de las placas.

Día 3

Se procedió a realizar el recuento estándar en las placas que tienen entre 30 a 300 colonias.

Informe

Se calculó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo, multiplicando el número de colonias en la placa por el factor de dilución.

Cuando la prueba es negativa se expresa como <10 UFC/ g

Cuando la prueba es positiva se multiplica el número de colonias por el factor de dilución.

El número de microorganismos N presentes en la muestra para análisis se calcula como la media corregida de dos diluciones consecutivas, utilizando la ecuación

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d}$$

Donde:

$\sum C$: es la suma de las colonias contadas en dos placas de las dos diluciones consecutivas, de las cuales al menos una contiene un mínimo de 10 colonias;

V: es el volumen de inóculo utilizado en cada placa, en mililitros;

d: es la dilución correspondiente a la primera dilución elegida (d = 1 cuando se utiliza el producto líquido sin diluir).

Si el recuento de colonias en cada dilución es incontable o mayor a 300, el resultado se expresa de la siguiente manera:

Más de 300/d UFC/ g o mL

Donde:

d: dilución correspondiente a la última dilución escogida.

b. Numeración de organismos coliformes fecales⁴⁵.

• Método de tubos múltiples de fermentación – número más probable (NMP)

Día 1

Se pesó 10 g de la muestra y se colocó en un frasco de boca ancha con tapa de 250 mL completamente estéril, seco y rotulado al cual se le agregó 90 mL de agua peptonada al 0.1% y se procedió a homogenizarlo, se tiene la dilución 10⁻¹.

Se preparó diluciones decimales con 9 mL de agua peptonada al 0.1% más 1 mL de la dilución anterior.

De cada una de las diluciones de la muestra (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³), se transfirió una alícuota de 1 ml a 3 tubos de fermentación que contenían 9 ml de Caldo EC con MUG se agito el contenido y posteriormente se colocó de forma invertida el tubo Durham. Este proceso se hizo bajo cabina de bioseguridad con filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air).

Se incubaron los tubos a 35 °C por 3 horas, después pasaron a incubar a 45°C en baño maría por 24 horas.

Día 2

Se examinaron los tubos a 24 ± 2 horas para determinar la posible formación de gas (tubos positivos), la cual se evidenció por un desplazamiento del medio en los tubos de fermentación o por efervescencia cuando los tubos fueron agitados suavemente; se reincubaron los tubos negativos por un período adicional de 24 horas.

Día 3

Se examinaron por segunda vez para determinar la formación de gas y se sometieron al análisis confirmativo todos los tubos presuntamente positivos añadiendo 0,2 – 0,3 mL del reactivo de Kovacs. El análisis positivo se evidenció por la aparición de un color rojo claro en la capa superior. Finalmente consultamos la tabla de NMP.

Informe

El número de coliformes fecales por gramo se obtuvo multiplicando el coeficiente NMP por el inverso de la dilución de los tubos seleccionados.

$$(NMP \times \text{el inverso de dilución}) / 10 = \text{Organismos E.C/g}$$

c. Numeración de *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo)⁴⁵.

• Método de recuento en placa

Día 1

Se pesó 10 g de la muestra, se colocó en un frasco de boca ancha con tapa de 250 mL completamente estéril, seco y rotulado al cual se le agrego 90 mL de agua peptonada al 0.1% y se procedió a homogenizarlo, se tiene la dilución 10⁻¹.

Se preparó diluciones decimales con 9 mL de agua peptonada al 0.1% más 1 mL de la dilución anterior.

Se preparó el agar Baird Parker según las instrucciones del fabricante, posteriormente fue vertido 15 a 20 ml en placas Petri estériles y se dejó que la superficie seque completamente, este proceso se hace bajo cabina de bioseguridad con filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air).

Se transfirió 0.1 mL de homogenizado y de sus diluciones a la superficie del medio Agar Baird Parker, se extendió el inóculo con ayuda de las varillas de vidrio hasta que sea absorbido por el medio.

Se incubaron las placas en posición invertida a 35°C – 37°C durante 30 a 48 horas.

Día 3

Se seleccionó las placas que contenían 20 a 200 colonias aisladas y se contaron todas las colonias negras y brillantes de margen estrecho y blanco rodeadas de áreas claras que se extienden en el medio opaco. La probabilidad de que estas colonias correspondan a *Staphylococcus aureus* es muy elevada. Así mismo se contaron también aquellas colonias cuyo color sea negro brillante con o sin margen estrecho blanco y que no presenten el área de aclaramiento.

Prueba de la coagulasa⁴⁵.

Se transfirieron no menos de 5 colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* a tubos pequeños que contengan caldo de infusión cerebro corazón (BHI) e incubaron durante 20 – 24 horas a 35°C – 37°C.

Se pipeteo 0.3 mL de los cultivos a tubos conteniendo 0.3 mL de plasma de conejo oxalato e incubaron a 35°C – 37°C.

Se examinó los tubos a las 6 horas con el fin de detectar la presencia de coágulos, si no se observaron, se mantuvieron los tubos a temperatura ambiente y se volvieron a leer a las 24 horas. Se considera positiva la prueba cuando todo el contenido del tubo a coagulado y no se desplazó cuando se invierte el tubo.

Informe

Posteriormente se procedió a realizar el recuento de *Staphylococcus aureus* por gramo de muestra. Si no hay colonias coagulasa positiva en las placas de todas las diluciones tal situación se indica con la expresión “menos de 10 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo.

N° de colonias x Factor de Dilución

d. Investigación de *Salmonella sp*⁴⁵.

• Método para el aislamiento e identificación de *Salmonellas*

Día 1: Preenriquecimiento

Se pesaron 10 g de la muestra, seguido se transfirió a un frasco de 100 mL de boca ancha con tapa completamente estéril, seco y rotulado al cual se le agrego 90 mL de agua peptonada tamponada (proporción de 1:9) y se procedió a homogenizarlo, taparlo bien y dejarlo reposar por 60 min a temperatura ambiente. Se llevó a incubar a 35°C por 24 horas.

Día 2: Enriquecimiento selectivo

Se agitó suavemente la mezcla de muestra incubada; se transfirió 1 mL de la mezcla a 10 mL de Caldo Rappaport – Vassiliadis (RV) y se incubó el caldo por 24 ± 2 horas a 43°C en baño maría.

Día 3: Aislamiento selectivo e identificación de *Salmonella sp.*

Se mezcló los tubos y sembró por agotamiento y estría (con asa de 3 mm) de caldo RV en el medio de aislamiento selectivo: agar diferencial de *Salmonella sp.* Posteriormente se incubó las placas a 24 ± 2 horas a 35°C .

Se examinaron las placas para detectar y contar la presencia de colonias sospechosas con *Salmonella*: colonias rosas - rojas características.

Informe

A partir de los resultados obtenidos en las pruebas de identificación, se indicaron la PRESENCIA / AUSENCIA de *Salmonella* en 10 g del producto, precisando la masa (en gramos) de la muestra. Con 1 colonia identificada ya se considera PRESENCIA.

3.5. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados. Se elaboró una hoja de cálculo en un Software informático utilizando Microsoft office – Excel 2016, para realizar los respectivos gráficos. Posteriormente, los datos se llevaron a un Software Estadístico IBM SPSS 23.

IV. RESULTADOS

Tabla 4: Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para aerobios mesófilos en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Lugares de venta	Aerobios mesófilos x2 repeticiones				Total	
	<10 ⁵ UFC/g		>10 ⁵ UFC/g		N°	%
	N°	%	N°	%		
0 días						
Cerro Acuchimay	6	20,0	0	-	6	20,0
Feria San Juan	7	23,3	3	10,0	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque sucre	8	26,9	1	3,3	9	30,0
Total	26	86,7	4	13,3	30	100,0
30 días						
Cerro Acuchimay	4	13,3	2	6,7	6	20,0
Feria San Juan	7	23,3	3	10,0	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	0	-	1	3,3	1	3,3
Carlos F Vivanco	0	-	1	3,3	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	23	76,7	7	23,3	30	100,0

Tabla 5: Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para coliformes en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Lugares de venta	Coliformes x2 repeticiones				Total	
	<10 ² Organismo de coliformes por gramo (Org. C./g)		>10 ² Organismo de coliformes por gramo (Org. C./g)			
	N°	%	N°	%	N°	%
0 días						
Cerro Acuchimay	6	20,0	0	-	6	20,0
Feria San Juan	10	33,3	0	-	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	30	100,0	0	-	30	100,0
30 días						
Cerro Acuchimay	6	20,0	0	-	6	20,0
Feria San Juan	10	33,3	0	-	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	30	100,0	0	-	30	100,0

Tabla 6: Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para *Staphylococcus aureus* en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Lugares de venta	<i>Staphylococcus aureus</i> x2 repeticiones				Total	
	<10 ² UFC/g		>10 ² UFC/g		N°	%
	N°	%	N°	%		
0 días						
Cerro Acuchimay	6	20,0	0	-	6	20,0
Feria San Juan	5	16,7	5	16,7	10	33,3
Plaza San Juan	0	-	1	3,3	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	24	80,0	6	20,0	30	100,0
30 días						
Cerro Acuchimay	6	20,0	0	-	6	20,0
Feria San Juan	6	20,0	4	13,3	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	26	86,7	4	13,3	30	100,0

Tabla 7: Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para *Salmonella sp.* en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Lugares de venta	<i>Salmonella sp.</i> x2 repeticiones				Total	
	Ausencia		Presencia		N°	%
	N°	%	N°	%		
0 días						
Cerro Acuchimay	3	10,0	3	10,0	6	20,0
Feria San Juan	5	16,7	5	16,7	10	33,3
Plaza San Juan	1	3,3	0	-	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	0	-	1	3,3	1	3,3
Parque sucre	8	26,9	1	3,3	9	30,0
Total	20	66,7	10	33,3	30	100,0
30 días						
Cerro Acuchimay	2	6,7	4	13,3	6	20,0
Feria San Juan	6	20,0	4	13,3	10	33,3
Plaza San Juan	0	-	1	3,3	1	3,3
Pasaje la cultura	1	3,3	0	-	1	3,3
Parque Magdalena	1	3,3	0	-	1	3,3
28 de Julio	1	3,3	0	-	1	3,3
Carlos F Vivanco	0	-	1	3,3	1	3,3
Parque sucre	9	30,0	0	-	9	30,0
Total	20	66,7	10	33,3	30	100,0

Tabla 8: Distribución de las muestras según el límite microbiológico permitido por el MINSA para cada enterobacteria en helado artesanal “muyuchi”, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Enterobacteria	Lugares de venta				Total	
	< Límite		> Límite			
	N°	%	N°	%	N°	%
Aerobios mesófilos	49	81,7	11	18,3	60	100,0
Coliformes	60	100,0	0	0,0	60	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	50	83,3	10	16,7	60	100,0
<i>Salmonella sp.</i>	40	66,7	20	33,3	60	100,0

Tabla 9: Helado artesanal “muyuchi” aptos y no aptos para consumo humano, expendidos en la provincia de Huamanga, 2019.

Calidad microbiológica	Helados analizados	
	N°	%
Aptos	33	55,0
No aptos	27	45,0
Total	60	100,0

Tabla 10: Comparación de frecuencias de la calidad microbiológica y recuento de los 4 tipos de enterobacterias en el helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019.

Lugares de venta	Aerobios mesófilos				Coliformes				<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Salmonella sp.</i>				Total	
	Apto		No apto		Apto		No apto		Apto		No apto		Ausencia		Presencia			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Cerro Acuchimay	10	16,7	2	3,3	12	20,0	0	0,0	12	20,0	0	0,0	5	8,3	7	11,7	12	20,0
Feria san Juan	14	23,3	6	10,0	20	33,3	0	0,0	11	18,3	9	15,0	11	18,3	9	15,0	20	33,3
Plaza san Juan	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	1	1,7	1	1,7	1	1,7	1	1,7	2	3,3
Pasaje la cultura	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3
Parque Magdalena	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3
28 de Julio	1	1,7	1	1,7	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	3,3
Carlos F Vivanco	1	1,7	1	1,7	2	3,3	0	0,0	2	3,3	0	0,0	0	0,0	2	3,3	2	3,3
Parque sucre	17	28,3	1	1,7	18	30,0	0	0,0	18	30,0	0	0,0	17	28,3	1	1,7	18	30,0
Total	49	81,7	11	18,3	60	100,0	0	0,0	50	83,3	10	16,7	40	66,7	20	33,3	60	100,0

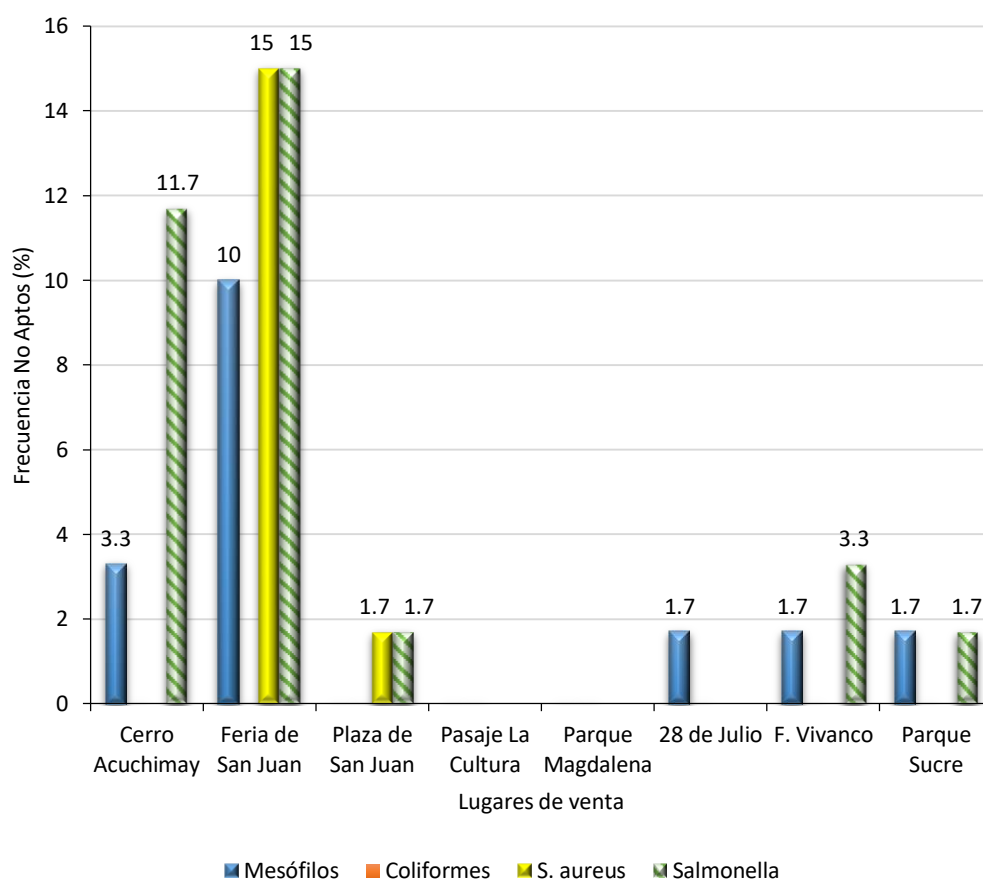


Figura 1: Comparación de frecuencias no aptas según los lugares de venta del helado artesanal “muyuchi”, expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019.

V. DISCUSIÓN

En la ciudad de Huamanga, en los últimos años se ha incrementado la producción y venta de helados principalmente artesanales, domésticos o caseros los cuales poseen gran acogida por la población ayacuchana y turistas³, a pesar de que en el proceso de elaboración del helado artesanal “muyuchi” se pasteuriza el problema radica en las medidas higiénicas del manipulador.

Las principales causantes de contaminación microbiana de los helados son personas portadoras de enfermedades o que posean heridas en las manos, congelación insuficiente del producto, ausencia o deficiencia de tratamiento térmico de la mezcla, materias primas muy contaminadas, la falta de enfriamiento y/o prolongados tiempos de reposo de la mezcla. Todo esto requiere un control en cada lugar de producción y venta³.

Actualmente en el Perú, la Dirección General de Salud (DIGESA) ha establecido criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados para ser considerados aptos para el consumo humano. La verificación de su cumplimiento está a cargo de los organismos competentes en vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas a nivel nacional. Dichos criterios fueron promulgados según Resolución Ministerial N° 591-2008-SA/DM del Ministerio de Salud¹⁰. Es preciso aclarar que el límite microbiológico para este tipo de helados según la norma de la Dirección General de Salud (DIGESA) nos revela que para aerobios mesófilos no debe de sobrepasar de 10^5 colonias, en coliformes 10^2 , *Staphylococcus aureus* 10^2 y *Salmonella sp.* debe mostrar ausencia de colonias, para considerarlas aptas para el consumo humano.

Por lo que mediante la presente investigación se ha analizado un total de 60 muestras del helado artesanal “muyuchi” expendidos en la provincia de Huamanga, para lo cual se ha elegido tres distritos siendo estos Carmen Alto, San

Juan Bautista y Ayacucho; contando con un total de ocho lugares de venta cuyos resultados se plasman a continuación.

La tabla 4 refleja los resultados de las muestras según el límite microbiológico permitido por el Ministerio de Salud (MINSA) para aerobios mesófilos, del cual podemos resaltar que a los 0 días el número de muestras no permitidas en mayor cantidad fue del Parque sucre 8 (26,9%), le sigue la Feria de San Juan 7 (23,3%), continúa el Cerro Acuchimay con 6 (20%); mientras que a los 30 días fue el Parque sucre 9 (30,0%), sigue la Feria San Juan 7 (23,3%) y continúa Cerro Acuchimay 4 (13,3%).

Según Borja C. y Pineda D⁸, en el año 2008 en el municipio de Mejicanos – El Salvador, analizaron 31 muestras de nieves elaboradas artesanalmente y evidenciaron en el análisis microbiológico la presencia de aerobios mesófilos en un 87%, que en comparación a nuestra investigación en la tabla 4 podemos evidenciar que el 13,3% de las muestras analizadas a los 0 días sobrepasaron el límite microbiológico, mientras que a los 30 días fue de 23,3% donde se puede observar que hubo un incremento del 10% de las muestras no aptas para el consumo.

En la tabla 4 también podemos observar los recuentos de bacterias aerobias mesófilos, en las muestras de helados artesanales expendidos por 8 lugares de venta siendo un total de 11 muestras que sobrepasaron el límite máximo permisible por la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA con valores máximos de 3×10^5 UFC/g. Esto coincide con diversos autores como Rodríguez C, Reyes P y Arrieta E., 2015⁵ que obtuvieron recuentos fuera de la Norma Venezolana - Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN); asimismo, contrastan con las investigaciones realizadas por Flores C., 2010⁷; García J y García I, 2011⁴⁶ cuyos recuentos estuvieron dentro de los límites de referencia.

Se debe considerar que la interpretación de los recuentos de aerobios mesófilos no debe hacerse de modo aislado de otros hallazgos en el análisis bacteriológico de alimentos, ya que por sí misma no es concluyente; recuentos bajos no aseguran que el alimento esté exento de microorganismos patógenos; tan solo indican las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma en cómo se manipuló y la calidad de la conservación en general⁴⁶.

Según Alba J y Ramos F⁹. en el año 2018 en Caraz (Ancash, Perú), tomaron 40 muestras de helados a base de agua, como resultado encontraron un 12.5% de

ellas dieron positivo para coliformes totales es decir presentaron recuentos entre 1 – 100 UFC/g el cual se determinó bajo la regulación de la R.M N° 591-2008/MINSA, que contrariamente con los datos obtenidos en esta investigación en la tabla 5 podemos observar que no hubo presencia de coliformes tanto a los 0 días como a los 30 días por lo que hay que destacar que si hubiera la presencia de bacterias del grupo coliformes indicaría contaminación fecal, por lo que si son coliformes fecales entonces específicamente la contaminación fue reciente y su presencia indicó riesgo en el producto alimenticio.

Asimismo, en la tabla 5 se observa que el total de las 60 muestras analizadas se encuentran aptas para el consumo humano según el límite microbiológico establecido por la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA ya que no tiene presencia de coliformes, estos resultados se asemejan a la investigación realizada por García J y García I., 2011⁴⁶ que mostraron ausencia de coliformes totales y fecales.

En la tabla 6 podemos evidenciar que el 20% de las muestras analizadas a los 0 días sobrepasaron el límite microbiológico para *Staphylococcus aureus* destacando la feria de San Juan con 16,7% y le sigue la plaza San Juan con 3,3%, mientras que a los 30 días fue de 13,3% resaltando la feria San Juan, donde se pudo observar que hay una disminución del 6,7% de las muestras no aptas para el consumo en relación a la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA¹⁰. Esto se asemeja a la investigación de Borja C. y Pineda D⁸ donde el 36% de sus muestras presentaron recuentos superiores a la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 67.01.11:95.

Según Flores C, en el año 2010 en las zonas de Soyapango, Mejicanos y zona del centro de la ciudad de San Salvador, analizó 60 muestras de sorbetes artesanales que evidenciaron recuentos fuera de la Norma Salvadoreña Obligatoria para helados y mezcla de helados (NSO 67.01.11:95)⁷, esto coincide con nuestra investigación ya que en la tabla 6 se observa que, del total de las 60 muestras analizadas, 10 de ellas tienen calidad no aceptable para el consumo humano porque presentan >100 UFC/g por lo que se encuentran fuera del límite microbiológico de la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA, donde resaltó la feria de San Juan con 9 muestras seguida de la Plaza de San Juan con 1.

Nuestros resultados de *Staphylococcus aureus* podrían deberse a presencia de alguna alteración o patología nasofaríngea, infección de piel o absceso o incluso,

gastroenteritis debida a estafilococos en alguno de los fabricantes y/o vendedores de las muestras de sorbete, quienes rara vez toman alguna medida higiénica o mucho menos algún tratamiento farmacológico⁷.

En la tabla 7 podemos observar que las muestras analizadas según el límite microbiológico permitido por el Ministerio de Salud (MINSA) tanto a los 0 y 30 días evidencian en un 33,3% presencia de *Salmonella sp.* por lo que no serían aptos para el consumo humano en relación a la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA¹⁰, destacando a los 0 días la Feria de San Juan con 5 (16,7%), seguido del Cerro Acuchimay con 3 (10,0%), continua Carlos F Vivanco y Parque sucre con 1 (3,3%) respectivamente; mientras que a los 30 días resaltaron los puntos de venta de la Feria de San Juan y Cerro Acuchimay con 4 (13,3%) respectivamente, le sigue la Plaza de San Juan y Carlos F Vivanco con 1 (3,3,%). Esto se asemeja a la investigación de Flores C., 2010⁷ que encontró en el municipio de Mejicanos 10 (100%), de Soyapango 9 (90%) y en el centro de San Salvador 8 (80%).

Asimismo, en la tabla 7 se observa que del total de las 60 muestras analizadas, 20 de ellas tienen presencia de *Salmonella sp.* por lo que su calidad es no aceptable para el consumo humano ya que se encuentran fuera del límite microbiológico de la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA, esto coincide con Flores C., 2010⁷ que obtuvo presencia de *salmonella sp.* en 27 muestras; así mismo, contrariamente a nuestra investigación Castro A., 2014³; Borja C y Pineda D, 2008⁸ no detectaron presencia.

El hábitat natural de esta bacteria es el tracto intestinal de animales como aves, reptiles, animales de granja, insectos y personas, que a veces son portadoras de la *Salmonella* sin presentar ningún síntoma. Los microorganismos son excretados en las heces desde donde pueden ser transmitidos a insectos y otros seres vivos. También se puede encontrar en el agua. Por los resultados obtenidos se evidencia la utilización de agua no potable para la elaboración del sorbete y una calidad deficiente de higiene en el de elaboración y/o manipulación-almacenamiento del producto⁷.

Según Ávila V, Silva M. en el año 2008 en el departamento de Soacha en Bogotá – Colombia analizaron 40 muestras de helados de paleta de crema y paleta de agua, se evidencio que el 57% de las muestras estaban contaminadas con coliformes totales, coliformes fecales 10%, no presentaron *E. coli* pero sin embargo se evidenció la presencia de *Staphylococcus aureus* en el 29% de las

muestras analizadas⁴⁷, que en relación a nuestra investigación observamos que en la tabla 8 la distribución de muestras según el límite microbiológico permitido por el Ministerio de Salud (MINSA) de las 60 muestras analizadas 11 de ellas presentan aerobios mesófilos en un 18,3%, no hay presencia de coliformes, los *Staphylococcus aureus* estuvieron presentes en 10 muestras superando a la investigación de Ávila V, Silva M. en 12,3% y *Salmonella sp.* se encontró presente en 20 muestras con 33,3%.

De acuerdo a Borja C. y Pineda D, en el año 2008 en el municipio de Mejicanos – El Salvador, analizaron 31 muestras de nieves elaboradas artesanalmente y evidenciaron en el análisis microbiológico la presencia de aerobios mesófilos en un 87%, *Staphylococcus aureus* 36%, *E. coli* 81%, coliformes totales – número más probable (NMP) 94% y no se detectó *Salmonella sp.* en ninguna de las muestras⁸ en relación a nuestros resultados en la tabla 8 observamos la presencia de aerobios mesófilos en un 18,3%, no hay presencia de coliformes – número más probable (NMP), *Staphylococcus aureus* 16,7% y *Salmonella sp.* 33,3%, por lo que los helados producidos artesanalmente constituyen un peligro para la salud y no son microbiológicamente seguros, además se evidenció la falta de control higiénico y desconocimiento de prácticas de higiene.

En la tabla 9 podemos evidenciar que de las 60 muestras que se analizaron de los helados artesanales “muyuchi” 27 de ellas resultaron no aptos para el consumo humano siendo el 45% y 33 de ellas fueron el 55% que si cumplieron con las especificaciones microbiológicas en relación a la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA¹⁰, así mismo contrariamente a nuestra investigación Sarmiento C⁴ encontró que 33 muestras no eran aptas siendo el 55%.ya que no cumplieron la Norma Técnica Ecuatoriana – Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN) 706:2005.

También se ha realizado estudios relacionados a la contaminación en helados en la ciudad de Tacna en el año 2014, como resultado se encontró que el 100% de las muestras no cumplen con la totalidad de las especificaciones³, esto coincide con Flores C⁷, Borja C y Pineda D⁸; que en referencia a nuestro estudio en la tabla 9 se observa que el 45% de las muestras analizadas no cumplen con las especificaciones de la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA, algunas de las muestras presentan conformidad con ciertas especificaciones que establece la norma, pero no con la totalidad de estas, por lo que se considera que ninguna de estas muestras analizadas es conforme a la norma.

Según Rodríguez C, Reyes P. y Arrieta E, en el año 2015 en la Ciudad Bolívar – Venezuela encontraron como resultado bacterias aerobias mesófilos superior a $2,5 \times 10^5$ UFC/ml en 10% de las muestras, los coliformes totales 46,7%, coliformes fecales en 16,6% y de *escherichia coli* en un 6,6% según lineamientos de la Norma Venezolana - Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN)⁵. En relación a nuestra investigación podemos decir que en la tabla 10 se observa que se realizó el análisis para los 4 tipos de enterobacterias cuyos resultados obtenidos en el Software estadístico IBM SPSS muestran la comparación de frecuencias para cada límite de enterobacteria que está permitido en aerobios mesófilos 81,7%, coliformes 100%, *Staphylococcus aureus* 83,3%, *Salmonella sp* 66,7% y no permitidos en aerobios mesófilos 18,3%, coliformes 0%, *Staphylococcus aureus* 16,7%, *salmonella sp* 33,3%.

En la figura 1 se observa que para aerobios mesófilos la feria de San Juan presenta mayor porcentaje de esta enterobacteria en comparación a los demás lugares de venta. En coliformes no hay presencia de esta enterobacteria en ningún lugar de venta. Para *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.* el porcentaje es mayor en la feria de San Juan con un 15% respectivamente. Por lo que podemos decir que el lugar de venta más contaminado donde se encuentran 3 de los 4 tipos de enterobacterias analizadas es en la feria de San Juan y los lugares de venta más aptos para consumo humano son pasaje la cultura y parque Magdalena ya que no presenta ningún tipo de enterobacteria. No se encontraron datos de referencia para poder contrastar con los resultados de nuestra investigación.

La observación durante la toma de muestras, permitió detectar las deficientes prácticas higiénicas y de manipulación de los helados, que además de estar expuesto a todo tipo de contaminante, físicos, químicos y biológicos, sus manipuladores no tienen conocimiento del manejo de las buenas prácticas de manipulación.

La tecnología en la actualidad nos permite detectar con relativa facilidad los microorganismos citados, sin embargo, es importante destacar que los alimentos contaminados por gérmenes patógenos no suelen presentar manifestaciones perceptibles, por lo que resulta necesario realizar los controles correspondientes a fin de asegurar la calidad microbiológica del producto. La carencia de conocimientos técnicos básicos sobre la inocuidad por parte de quienes preparan estos alimentos, se puede considerar como unos de los factores que más contribuyen a las contaminaciones alimenticias, donde indirectamente se ven

mayormente afectados los grupos más vulnerables a enfermarse como los niños, los ancianos y las personas inmune deprimidas⁴.

VI. CONCLUSIONES

- La calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi” de las muestras analizadas expandidas en la provincia de Huamanga, no cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos por la norma técnica sanitaria (NTS N° 071 MINSA/DIGESA en un 45%.
- El 18,3% de las muestras analizadas presentan un recuento total de aerobios mesófilos, superior al especificado por la norma técnica sanitaria (NTS) N° 071-MINSA/DIGESA, el 100% de las muestras analizadas cumplen con los límites aceptables para coliformes; mientras que 16,7% de las muestras presentan un recuento superior al límite aceptable para *staphylococcus aureus* en las muestras del helado artesanal “muyuchi”, expandido en la provincia de Huamanga.
- El 33,3% de las muestras analizadas dieron como resultado presencia de *salmonella sp.* en las muestras del helado artesanal “muyuchi”, expandido en la provincia de Huamanga, siendo estas no aptas para el consumo humano.

VII. RECOMENDACIONES

- Que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, cree un reglamento para el control de ventas ambulantes y de esta manera poder tener un registro de los vendedores de helados artesanales, permitiendo así realizar inspecciones periódicas que aseguren el cumplimiento de las normas higiénicas.
- Que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social realice programas de educación sanitaria y capacitación adecuada y/o continua, encaminados a dar a conocer las correctas medidas de higiene para la elaboración y manipulación de los alimentos e higiene personal.
- A los futuros profesionales e instituciones de interés realizar investigaciones para determinar la calidad microbiológica de las diferentes materias primas utilizadas en la elaboración de helados artesanales, así como también a los utensilios utilizados en la comercialización de dicho producto.
- Dar a conocer a la Municipalidad correspondiente, al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social el resultado del presente trabajo para que tome las acciones necesarias encaminadas al mejoramiento de la calidad microbiológica de los helados artesanales “muyuchi”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Di Bartolo E. Guía de elaboración de helado. Dirección Nacional de Alimentos [Internet] 2008 diciembre [acceso 25 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.teknoar.com.ar/guiaelaboracionhelados.pdf>
2. Early, Goff D, Wong D. Tecnología de los productos lácteos. 1ra ed. Zaragoza (España). Editorial Acribia S.A. 2008.
3. Castro A. Estudio de la calidad microbiológica de helados que se expenden en la ciudad de Tacna. Ciencia y Desarrollo. 2014, (14): 42 - 46.
4. Sarmiento C. Determinación microbiológica de coliformes y *Staphylococcus aureus* en helados artesanales que se expenden en el Cantón Santa Isabel de la provincia de Azuay [tesis de magister]. Ecuador: Departamento de Posgrado; 2016.
5. Rodríguez C, Reyes P, Arrieta E. Calidad microbiológica de helados artesanales expendidos en las afueras de instituciones educativas en Ciudad Bolívar. Venezuela. Vector 10. 2015, (10): 33 – 37.
6. Cabrera Z, Contreras E, Añorve J, Castañeda A, Ramírez J, Jaimez J. Calidad microbiológica de paletas base agua y base láctea elaboradas en el estado de Hidalgo, México. División Ciencias de la vida. 2011, (32): 20 – 27.
7. Flores C. Estudio de la inocuidad de los sorbetes artesanales comercializados en las zonas de Soyapango, Mejicanos y zona del centro de la ciudad de San Salvador [tesis de título]. San salvador: Sistema bibliotecario, Universidad de El Salvador; 2010.
8. Borja C, Pineda D. Evaluación de la calidad microbiológica de nieves elaboradas artesanalmente y comercializadas en las afueras de los centros educativos del municipio de Mejicanos [tesis de grado]. El Salvador: Sistema bibliotecario, Universidad de El Salvador; 2008.
9. Alba J, Ramos F, López B. Helados a base de agua comercializados en Caraz (Ancash, Perú) y su calidad microbiológica bajo la regulación de la R.M N° 591-2008/MINSA. 2018, (1): 1 – 4.
10. Ministerio de Salud. Según NTS. No 071-MINSA/DIGESA-V.01. “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano”. Lima. Perú; 2008.
11. Wong D. Química de los alimentos mecanismos y teoría. 2ª ed. Zaragoza (España). Editorial Acribia S.A., 2010.

12. Bernabeu A. Tipos de helados [Internet] [acceso 11 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.tipos.co/tipos-de-helados/>
13. Ríos W. Procesamiento de alimentos. Impreso en Perú. Editorial ITDG, 2010.
14. Diario Correo. Los secretos del delicioso “muyuchi” [sede Web]. Diario Correo: Epena; 2014 [actualizada el 23 de octubre de 2014; acceso 25 de setiembre de 2018]. Disponible en: <https://diariocorreo.pe/peru/los-secretos-del-delicioso-muyuchi-285614/>
15. El Comercio. Receta de helado de leche [sede Web]. Una receta de cocina: El Comercio; 2013 [actualizada el 7 de setiembre de 2013; acceso 25 de julio de 2018]. Disponible en: <http://unarecetadecocina.com/2013/09/07/receta-de-helado-de-leche/>
16. Jay J, Loessner M, Golden D. Microbiología moderna de los alimentos. 5ª ed. México: Editorial Acribia S.A; 2009.
17. Junta de Andalucía. Manipulación de alimentos (Manual común). España: Prescal; 2011.
18. Jawets E. Manual de microbiología médica, 14ª ed. México D.F: Editorial El Manual Moderno, S. A; 2012.
19. Prescott M, Harley P, Klein A. Microbiology, 3ª ed. Estados Unidos de América: Editorial Wm. C. Brown; 2008.
20. Pelczar M. Microbiología. 4ª ed. México S.A: Editorial Mc Graw-Hill; 2009.
21. Flores M, Morey I. Relación entre la condición higiénica sanitaria y la calidad microbiológica en jugos de frutas surtidos de dos mercados de la ciudad de Iquitos, 2015 [informe de tesis]. Perú: Sistema bibliotecario, Universidad nacional de la Amazonía Peruana; 2016.
22. Doyle M. Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. Zaragoza, España: Acribia S. A.; 2010.
23. Grande K, Vásquez R. análisis microbiológicos de helados elaborados de forma industrial y comercializados en los supermercados del distrito Dos del área metropolitana de San Salvador [tesis de grado]. El Salvador: Sistema bibliotecario, Universidad de El Salvador; 2014.
24. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Análisis microbiológico de los alimentos – Microorganismos indicadores. Vol. 3. Argentina: Editorial Renaloea; 2014.
25. Brock T, Madigan M. Microbiología de alimentos Módulo II [base de datos en Internet] Guía-Micro-Alim-Mod-II_2013.pdf; 2013 [fecha de acceso 12 de

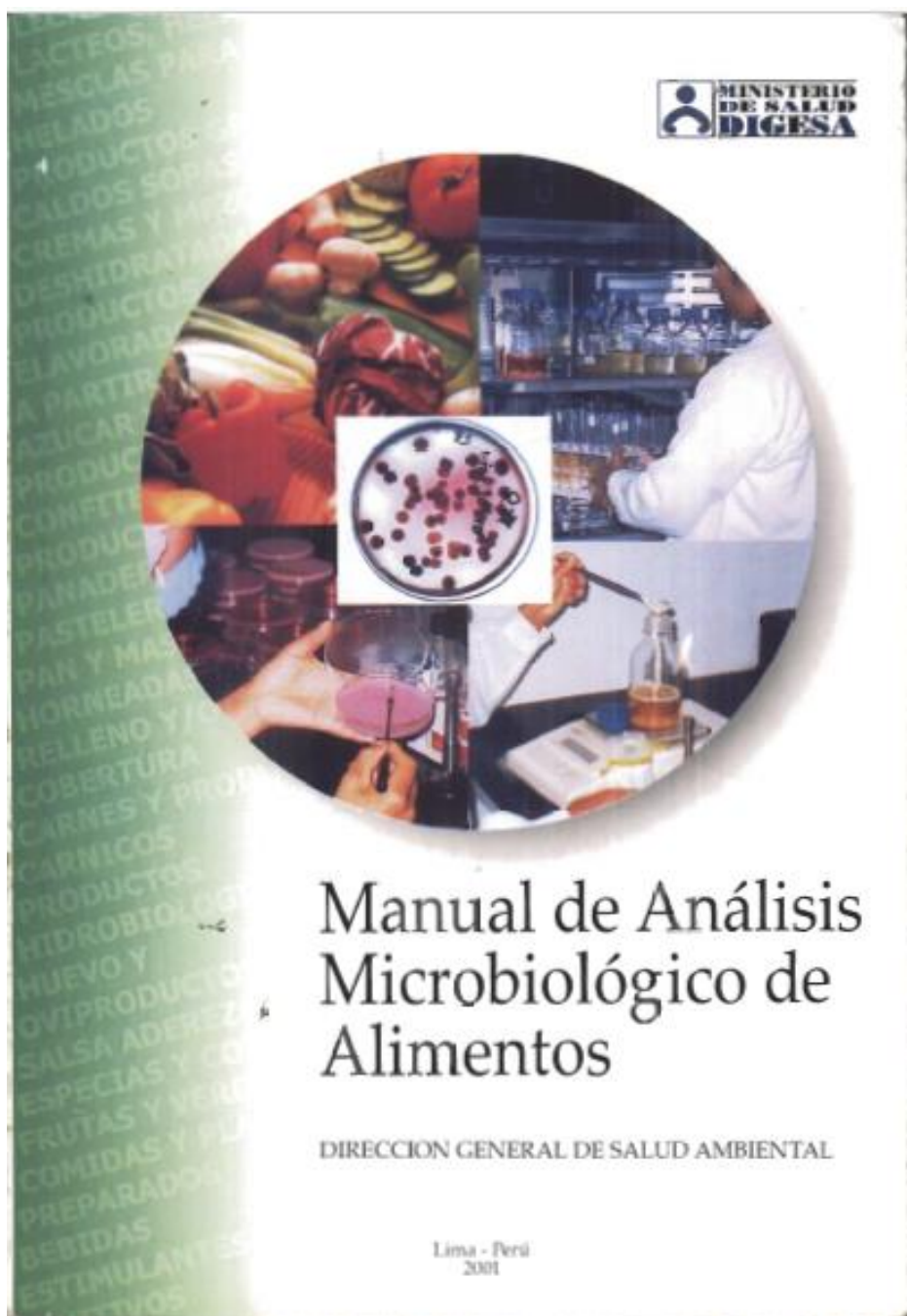
- setiembre de 2018]. Disponible en: http://www.qo.fcen.uba.ar/quimor/wp-content/uploads/2013/02/Guía-Micro-Alim-Mod-II_2013.pdf
26. Zorimar R, Elba J. Comparación de coliformes y colifagos como indicadores microbiológicos de la ciudad del agua en los embalses dos bocas y las curias. Puerto Rico; 2010.
 27. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO). Prevención de la *E. coli* en los alimentos. ONU; 2010.
 28. Elika – Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Staphylococcus aureus. Elika [revista en Internet] 28 de febrero de 2013 [acceso 19 de setiembre de 2018]. Disponible en: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf
 29. Robledo A. Investigación de Salmonella spp en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos [tesis de grado] Barcelona: Universidad Politécnica De Catalunya; 2015.
 30. Calva E. Salmonella typhi y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública [en línea]. Instituto de Biotecnología: UNAM; 2008 [fecha de acceso 19 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/>
 31. Romero R. Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
 32. Santambrosio E, Ortega M. y Garibaldi P. Siembra y recuento de microorganismos. [en línea]. Catedra de biotecnología: UTN; 2009 [fecha de acceso 15 de setiembre de 2018]. Disponible en: https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoll.pdf
 33. Jiménez A. Diferentes métodos de siembra [Internet] 2011 setiembre [acceso 25 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://metodosdsiembras.blogspot.com/>
 34. HiMedia Laboratories. Peptone Water [Internet] Himedia; 2018 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.himedialabs.com/TD/M028.pdf>

35. HiMedia Laboratories. Buffered Peptone Water [Internet] Himedia; 2018 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <https://himedialabs.com/TD/M614.pdf>
36. HiMedia Laboratories. Plate Count Agar [Internet] Himedia; 2015 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://himedialabs.com/TD/M091A.pdf>
37. Laboratorios Britania S.A. Baird Parker Agar Base [Internet] Britania; 2015 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2819b9bf93d.pdf
38. Laboratorios Conda S.A. Base de Agar Baird Parker [Internet] Condalab; 2010 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: https://www.condalab.com/uploads/media/1100_BASE_DE_AGAR_BAIRD_PARKER_REv_0_Mayo_2010_01.pdf
39. HiMedia Laboratories. Salmonella Differential Agar (RajHans Medium) [Internet] Himedia; 2011 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://himedialabs.com/TD/M1078.pdf>
40. HiMedia Laboratories. MUG EC Broth [Internet] Himedia; 2015 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://himedialabs.com/TD/M1042.pdf>
41. HiMedia Laboratories. BHI Broth (Brain Heart Infusion Broth) [Internet] Himedia; 2018 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://www.himedialabs.com/TD/M210.pdf>
42. HiMedia Laboratories. Rappaport Vassiliadis Medium [Internet] Himedia; 2015 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://himedialabs.com/TD/M880.pdf>
43. HiMedia Laboratories. Coagulase Plasma (from rabbit)(0.1gm per vial) [Internet] Himedia; 2012 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://himedialabs.com/TD/FD248.pdf>
44. HiMedia Laboratories. Kovac's Indole Reagent [Internet] Himedia; 2018 [fecha de acceso 20 de setiembre de 2018]. Disponible en: <https://himedialabs.com/TD/R008.pdf>
45. Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA). Lima. Perú; 2001.

46. García J, García I. Análisis microbiológico del helado cremoso. Laboratorio de Microbiología de los Alimentos. [Tesis de Grado.Universidad] Venezuela: Sistema bibliotecario, Nacional Experimental Simón Rodríguez: Canoabo; 2011.
47. Ávila V, Silva M. Evolución de la calidad microbiológica de los helados elaborados en una empresa de municipio de Soacha y su impacto a nivel local. [tesis de título]. Bogotá – Colombia: Sistema bibliotecario, Pontificia Universidad Javeriana; 2008.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Manual de análisis microbiológico de alimentos (DIGESA) Huamanga, 2019.



Anexo 2: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, Huamanga 2019.

SALUD

Aprueban "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**

Lima, 27 de agosto del 2008

Visto: el Expediente N° 07-051670-002, que contiene el Oficio N° 5868-2008/DG/DIGESA, cursado por la Dirección General de Salud Ambiental;

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 92° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud establece que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada entre otros, del control sanitario de los alimentos y bebidas;

Que, el literal a) del artículo 25° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, señala que la Dirección General de Salud Ambiental-DIGESA es el órgano técnico-normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente;

Que, el literal c) del artículo 49° del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud, aprobado por Decreto Supremo N° 023-2005-SA, establece como función general de la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis de la DIGESA, concertar y articular los aspectos técnicos y normativos en materia de inocuidad de los alimentos, bebidas y de prevención de la zoonosis;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 615-2003-SAVDM, se aprobaron los "Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano", en el cual se señalan los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano, estableciendo que la verificación de su cumplimiento estará

parte integrante de la presente resolución.

Artículo 2°.- La Dirección General de Salud Ambiental a través de la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis se encargará de la difusión e implementación de la citada norma.

Artículo 3°.- Derogar la Resolución Ministerial N° 615-2003-SAVDM.

Artículo 4°.- La Oficina General de Comunicaciones dispondrá la publicación de la referida Norma Técnica contenido en la presente Resolución en el Portal de Internet del Ministerio de Salud, en la dirección: <http://www.minsa.gob.pe/portal/06/transparencia/normas.asp>.

Regístrese, comuníquese y publíquese

HERNÁN GARRIDO-LECCA MONTAÑEZ
Ministro de Salud

244988-5

**TRANSPORTES Y
COMUNICACIONES**

Autorizan viajes de inspectores de la Dirección General de Aeronáutica Civil a Ecuador y EE.UU., en comisión de servicios y sin irrogar gastos al Estado

**RESOLUCIÓN SUPREMA
N° 109-2008-MTC**

Lima, 28 de agosto de 2008

VISTOS:

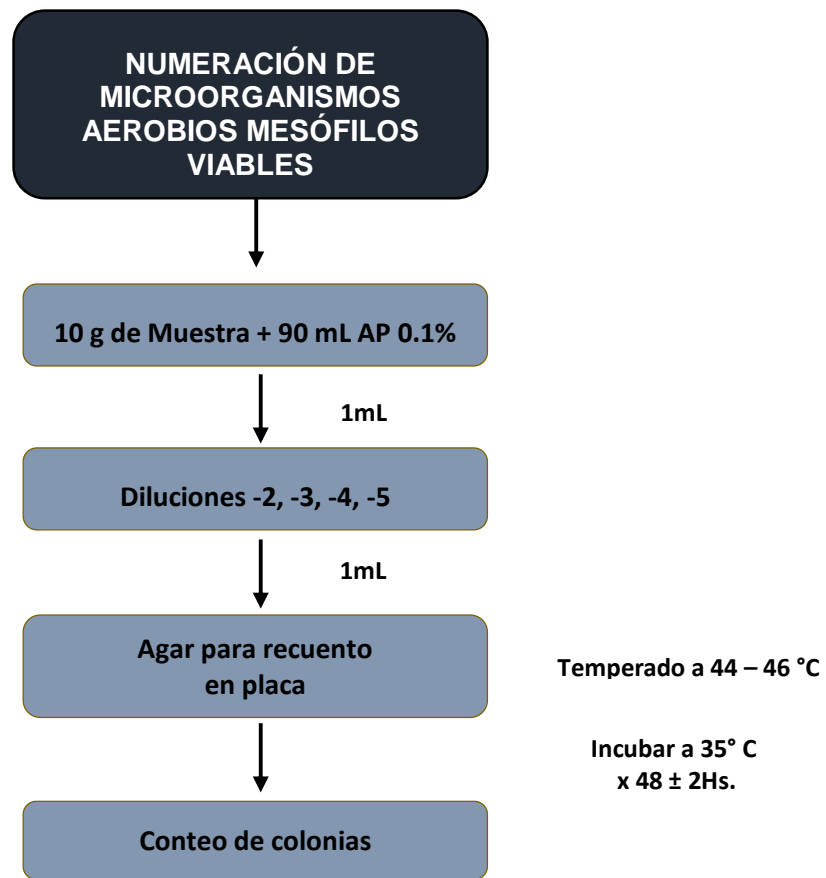
El Informe N° 482-2008-MTC/12 del 12.08.08, emitido por la Dirección General de Aeronáutica Civil y el Informe N° 047-2008-MTC/12.07 del 08.08.08 emitido por la Dirección de Certificaciones y Autorizaciones de la Dirección General de Aeronáutica Civil, y;

CONSIDERANDO:

Que, la Ley N° 27619, en concordancia con su norma reglamentaria aprobada por Decreto Supremo N° 047-

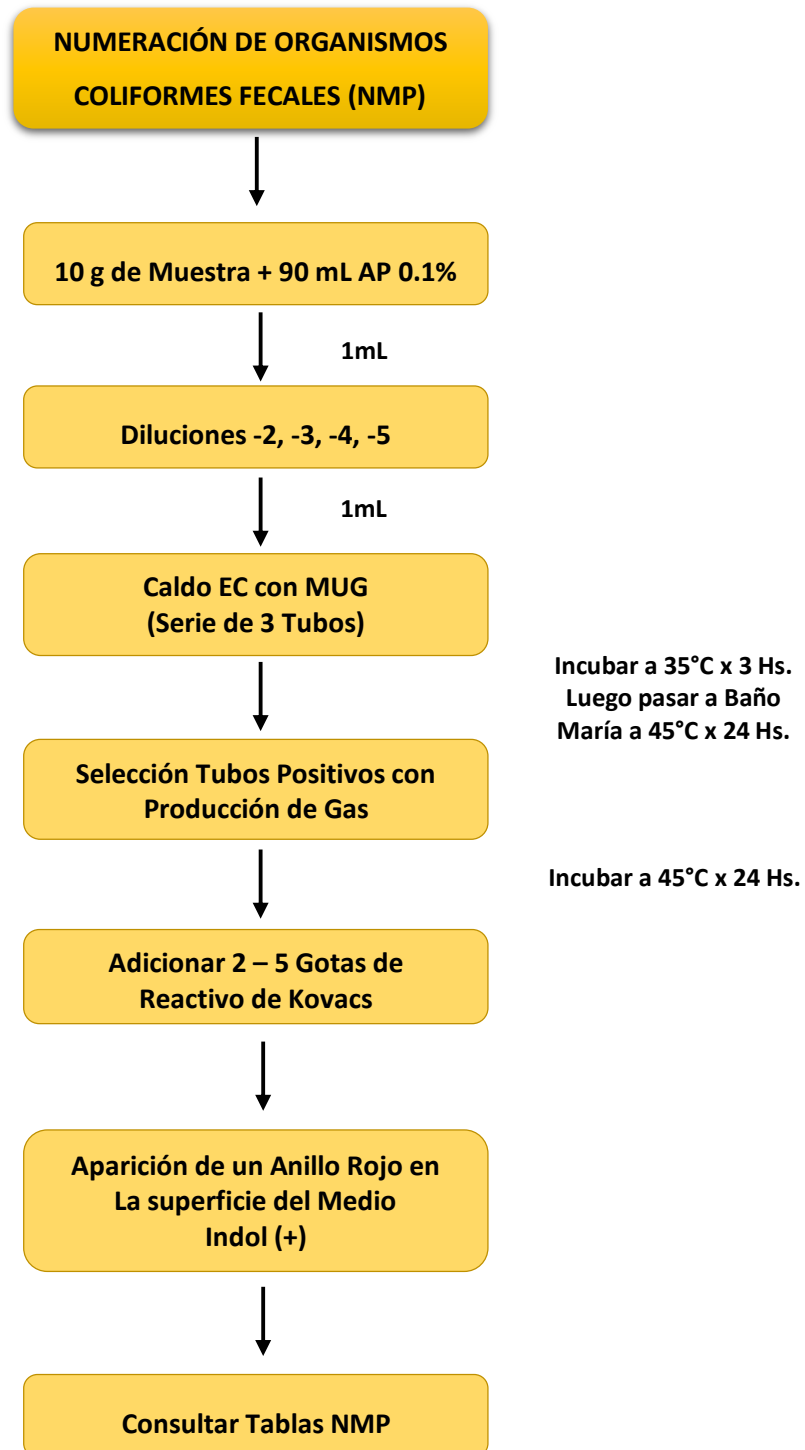
II. HELADOS Y MEZCLAS PARA HELADOS.						
II.1 Helados a base de leche.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁶
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 ²
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	< 100	---

Anexo 3: Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables, Huamanga 2019.



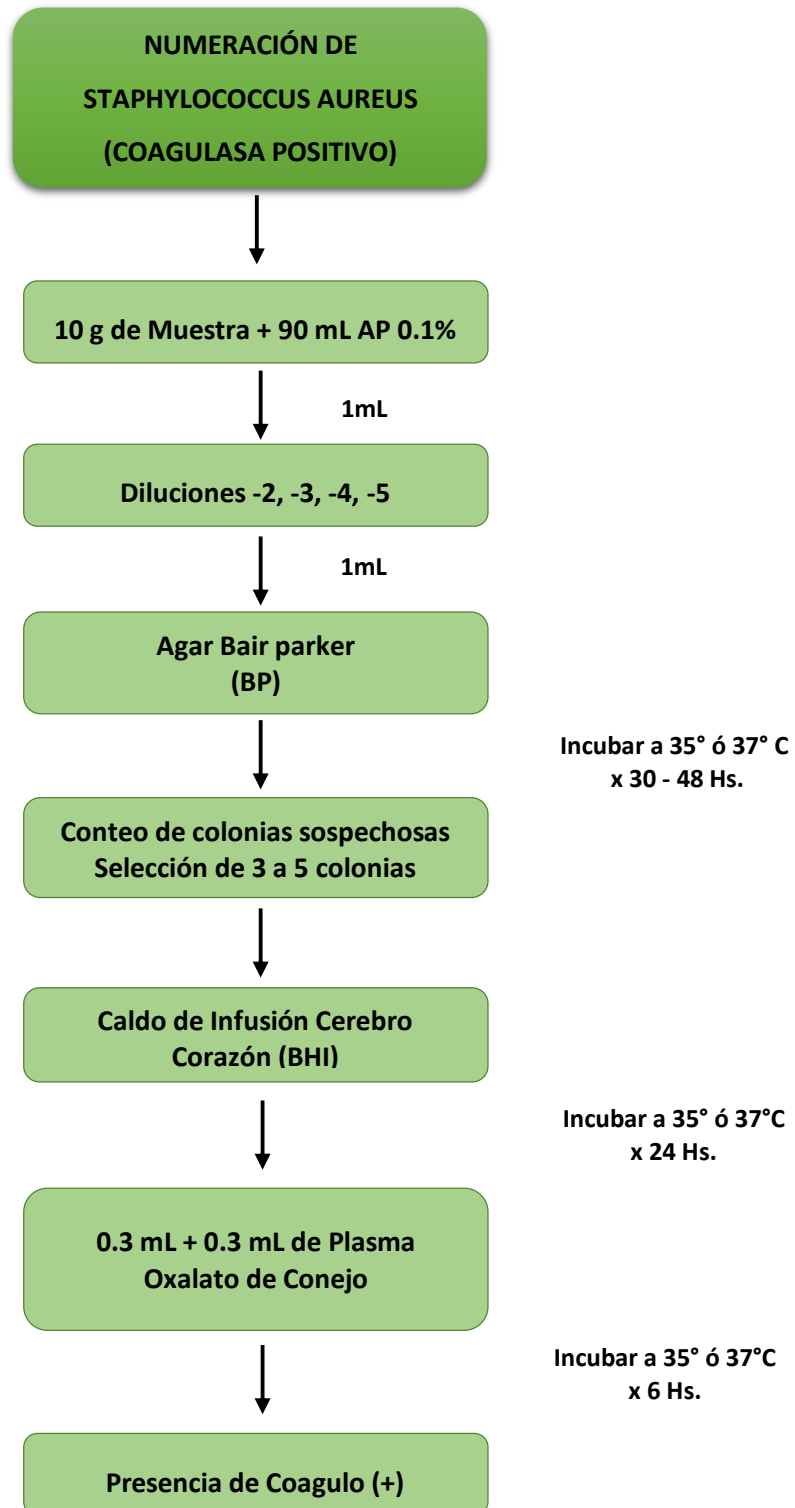
Fuente: Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA)⁴⁵.

Anexo 4: Numeración de organismos coliformes fecales (NMP). Huamanga, 2019.



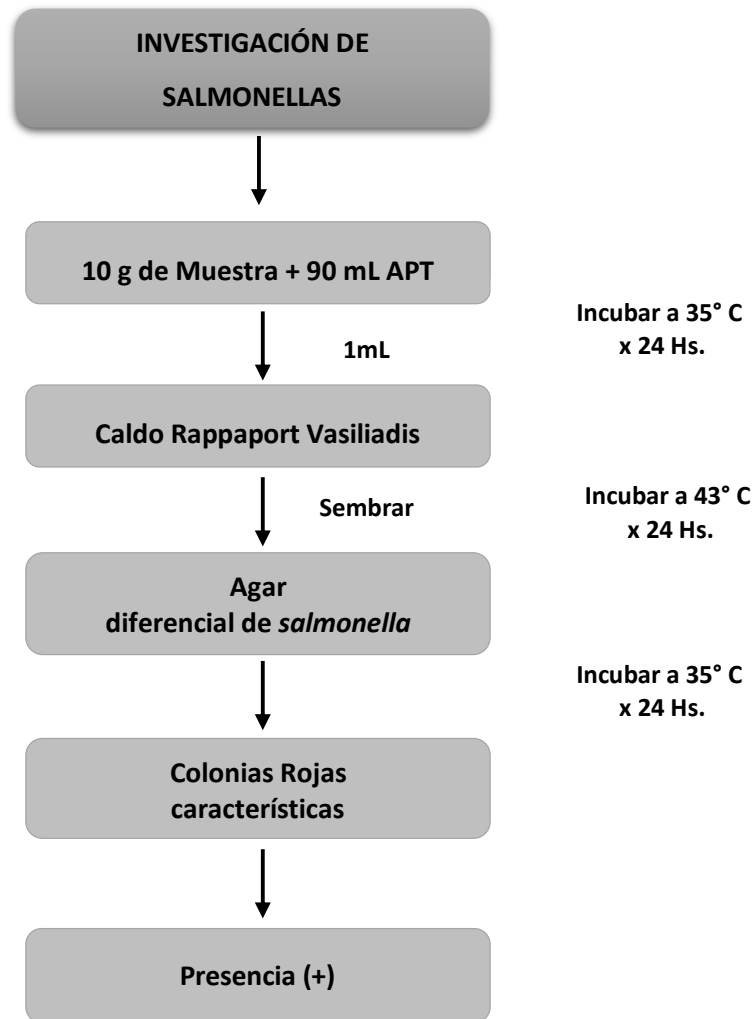
Fuente: Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA)⁴⁵

Anexo 5: Numeración de *staphylococcus aureus* (coagulasa positiva). Huamanga, 2019.



Fuente: Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA)⁴⁵

Anexo 6: Investigación de *salmonella* sp. Huamanga, 2019.



Fuente: Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA)⁴⁵

Anexo 8: Tabla de número más probable (NMP) de coliformes fecales/g o mL parra 3 tubos (0.1, 0.01 y 0.001 g) de inculo, los números más probables (NMPs) por g y 95% de intervalo de confianza.

Pos. Tubos			NMP/g	Conf. lim.		Pos. tubos			NMP/g	Conf. lim.	
0.1	0.01	0.01		Bajo	Bajo	0.1	0.01	0.01		Bajo	Bajo
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

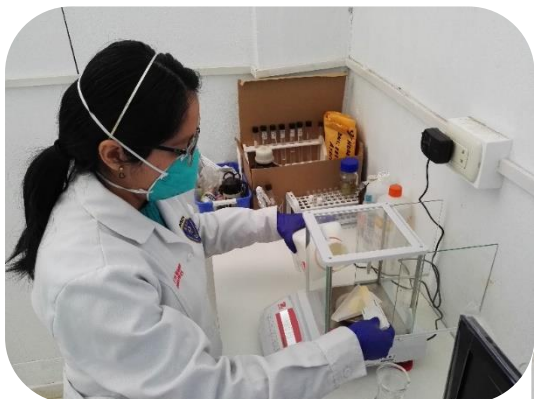
Fuente: Manual de análisis microbiológico de alimentos (Ministerio de Salud - DIGESA)⁴⁵

Anexo 9: Acondicionado y esterilización de materiales, Huamanga 2019.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo 10: Preparación de las placas con agar para el análisis de control de calidad microbiológico, Huamanga 2019.



a)



b)



c)



d)

a) Pesado del agar o caldo, b) Disolución del agar o caldo c) Preparación de las placas con agar y d) Control de calidad por 24h

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 11: Control de calidad al ambiente de trabajo, Huamanga 2019.



a)



b)

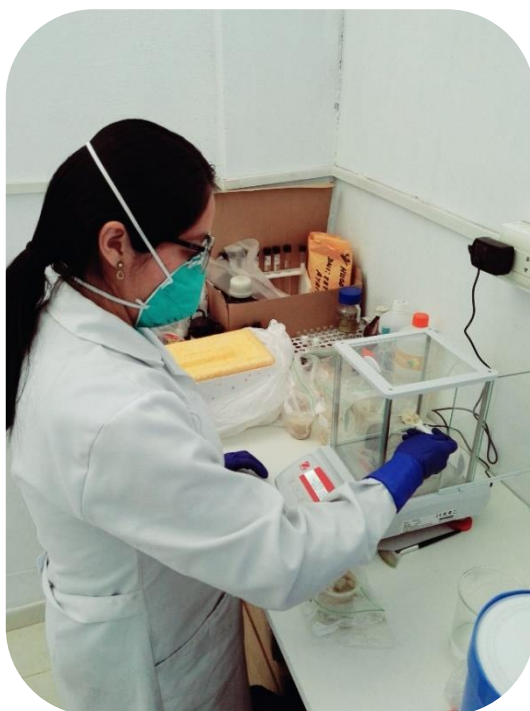


c)

a) Cabina de bioseguridad con filtro HEPA, b) Mesa de trabajo y c) Estufa

Fuente: Elaboración propia.

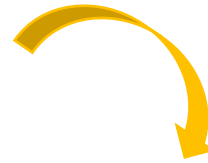
Anexo 12: Proceso de recolección de los helados artesanales “muyuchi” y pesado de la muestra, Huamanga 2019.



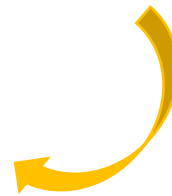
Anexo 13: Procedimiento para recuento estándar en placa de aerobios mesófilos, Huamanga 2019.



Inocular 1 mL a placas estériles, para cada dilación por 3 diluciones consecutivas.



Verter en la placa el agar fundido y temperado a 44 - 46 °C, mezclar el inóculo con el medio.



Solidificado el agar invertir las placas e incubar a 35°C durante 48 ± 2 horas.

Fuente: Elaboración propia.

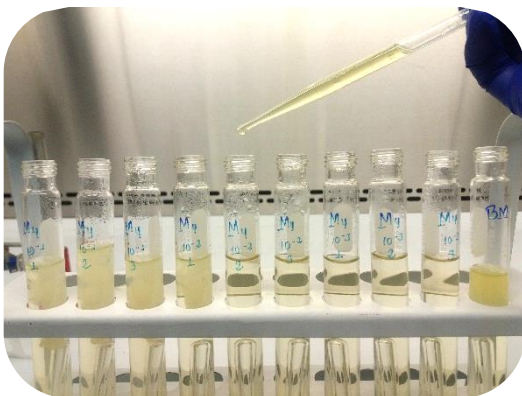
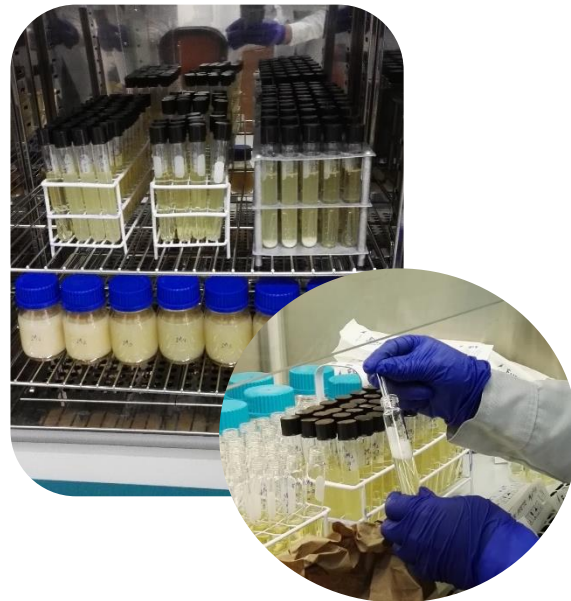
Anexo 14: Procedimiento para determinación de coliformes por el método de tubo múltiples de fermentación – número más probable (NMP), Huamanga 2019.



Transferir porciones de 1 mL a 3 tubos de Caldo EC con MUG, para cada dilución por 3 diluciones consecutivas.



Agitar y colocar el tubo Durham. Incubar los tubos a 35°C por 3 horas, después pasar a incubar a 45°C en baño maría por 24 horas.



Examinar los tubos a 24 ± 2 horas para determinar gas, reincubar tubos negativos por 24 horas adicionales.

Examinar por segunda vez para determinar gas. Se confirmará presencia de coliformes añadiendo 0,2 – 0,3 mL del reactivo de Kovacs.

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 15: Procedimiento para recuento en placa de *staphylococcus aureus* (coagulasa positivo), Huamanga 2019.



Transferir 0.1 mL de homogenizado y de sus diluciones a la superficie del medio Agar Baird Parker en placas.



Extender el inóculo con ayuda de las varillas de vidrio. Incubar las placas en posición invertida a 35°C – 37°C durante 30 a 48 horas.

Elegir las placas que contengan 20 y 200 colonias.

Picar no menos de 5 colonias y sembrar a caldo de Infusión Cerebro Corazón (BHI) e incubar durante 20 – 24 horas a 35°C – 37°C.



0.3 mL de los cultivos + 0.3 mL de plasma de conejo oxalato e incubar a 35°C – 37°C. Examinar los tubos a las 6 horas con el fin de detectar la presencia de coágulos



Fuente: Elaboración propia.

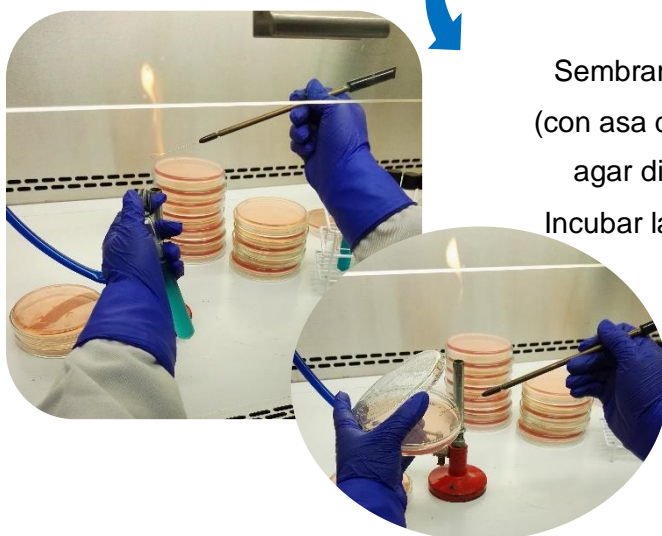
Anexo 16: Procedimiento para el aislamiento e identificación de *salmonella sp.*, Huamanga 2019.



Pesar 10 g de la muestra, agregar 90 mL de agua peptonada tamponada. Dejar reposar por 60 min a temperatura ambiente. Llevar a incubar a 35°C por 24 horas.



Agitar suavemente la mezcla de muestra incubada; transferir 1 mL de la mezcla a 10 mL de Caldo Rappaport – Vassiliadis (RV). Incubar el caldo por 24 ± 2 horas a 43°C en baño maría.



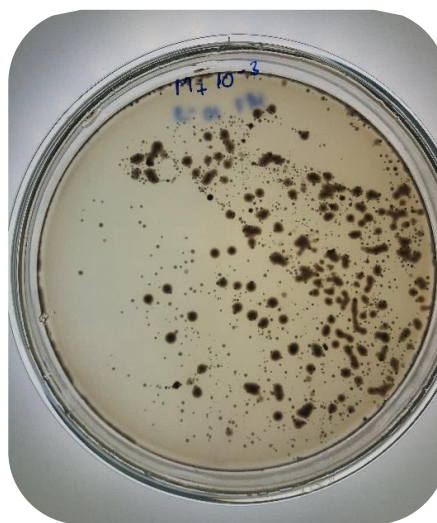
Sembrar por agotamiento y estría (con asa de 3mm) de caldo RV en el agar diferencial de *salmonella*. Incubar las placas a 24 ± 2 horas a 35°C.

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 17: Resultados de la calidad microbiológica del helado artesanal “muyuchi”. Huamanga 2019.



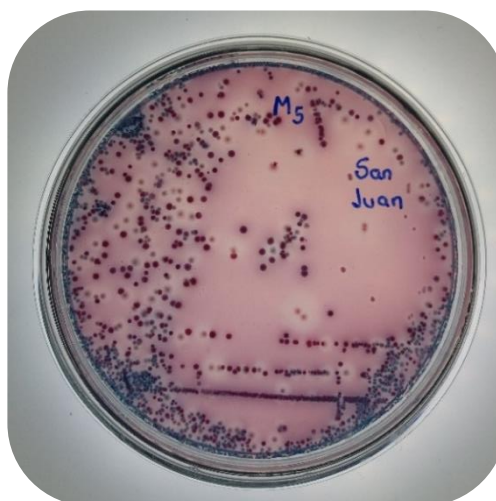
a)



b)



c)



d)

a) Recuento total de aerobios mesófilos, b) Recuento de *staphylococcus aureus*, c) Confirmación de coliformes con reactivo Kovacs y d) Presencia de *salmonella* sp.

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 18: Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Calidad microbiológica del helado artesanal "muyuchi", expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019.	¿Qué calidad microbiológica tiene el helado artesanal "muyuchi", expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019?	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la calidad microbiológica del helado artesanal "muyuchi", expendido en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2019.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Realizar el recuento de aerobios mesófilos, coliformes, <i>staphylococcus aureus</i> en las muestras del helado artesanal "muyuchi", expendido en la provincia de Huamanga. Determinar presencia o ausencia <i>salmonella spp</i> y en las muestras del helado artesanal "muyuchi", expendido en la provincia de Huamanga. 	<p>Definición de helado</p> <p>Productos alimenticios llevados al estado sólido o pastoso por medio de la congelación, elaborados con dos o más de los ingredientes.</p> <p>Clasificación de los helados</p> <p>a. Por su composición y elaboración:</p> <p>Helados soft Helados de crema Helado de leche Helado de leche desnatada Helado con grasa no láctea Helados de mantecado Helados de agua (sorbete o granizado) Postre de helado</p> <p>b. Por su forma de preparación:</p> <p>Helados industriales Helados artesanales</p> <p>Calidad microbiológica de los alimentos</p> <p>El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo, sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga de microorganismos</p> <p>Aptitud microbiológica para el consumo humano</p> <p>Apto: Cuando cumplan con todos los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.</p> <p>No apto: Cuando no cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos.</p>	El helado artesanal "muyuchi" expendido en la provincia de Huamanga presenta contaminación de aerobios mesófilos, coliformes, <i>staphylococcus aureus</i> y <i>salmonella sp</i> que sobrepasan los rangos permitidos por la NTS N° 071-MINSA/DIGESA.	<p>Variable</p> <p>Calidad microbiológica del helado artesanal "muyuchi"</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> Aerobios mesófilos Contaminación = > 10⁵ UFC/g Sin contaminación = < 10⁵ UFC/g Coliformes Contaminación = > 10² UFC/g Sin contaminación = < 10² UFC/g <i>Staphylococcus aureus</i> Contaminación = > 10² UFC/g Sin contaminación = < 10² UFC/g <i>Salmonella sp.</i> Ausencia/25 g Presencia/25 g 	<p>Estructura metodológica</p> <p>Tipo, nivel y régimen de investigación</p> <p>Tipo de investigación: Básico</p> <p>Nivel de investigación: Observacional descriptivo</p> <p>Régimen: Libre</p> <p>Población, muestra y unidad de análisis</p> <p>Población: Helado artesanal muyuchi expendidos en tres distritos de la provincia de Huamanga, con x puntos de venta cada uno.</p> <p>Muestra: 200g de helado artesanal muyuchi, en tres distritos de la provincia de Huamanga.</p> <p>Unidad de análisis: Helado artesanal muyuchi</p> <p>Muestreo: No probabilístico intencional (por conveniencia)</p> <p>Técnicas, instrumentos y procedimientos</p> <p>Técnica de recolección de datos: Observación</p> <p>Instrumento de recolección de datos: Microscopio, contador de colonias</p> <p>Procedimiento de recolección de datos:</p> <p>c. Numeración de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables</p> <ul style="list-style-type: none"> Método recuento estándar en placa. <p>d. Numeración de Organismos Coliformes Fecales</p> <ul style="list-style-type: none"> Método de Tubos Múltiples de Fermentación – Número más Probable (NMP) <p>e. Numeración de <i>Staphylococcus aureus</i> (Coagulasa positivo)</p> <ul style="list-style-type: none"> Método de recuento en placa. <p>f. Investigación de <i>Salmonella</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Método para el análisis e identificación de <i>Salmonella</i>. <p>Análisis, interpretación y procesamiento de datos:</p> <p>se elaborará una hoja de cálculo en un Software informático utilizando Microsoft office – Excel 2016, para realizar los respectivos gráficos. Posteriormente, los datos se llevarán a un Software Estadístico IBM SPSS 23,</p>