

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Coliformes, Staphylococcus y Enterococcus en  
bebidas fermentadas artesanalmente y  
comercializadas en la ciudad de Huanta, 2007**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR**

**Bach. CISNEROS HUAMÁN, ROSARIO**

**AYACUCHO, PERÚ**

**2011**

### *Dedicatoria*

*A mis padres Amador y Rosalía por su apoyo incondicional, su amor y comprensión a lo largo de mi carrera profesional, a mis hermanos Andro, Kimel, Sonia y Violeta por su apoyo en cada momento.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales, al servicio de la sociedad.

A cada uno de los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a mis profesores de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica quienes supieron instruirnos con paciencia y experiencia durante el transcurso de nuestra vida académica, gracias por sus enseñanzas y orientaciones.

A mi asesor Mg. Víctor Luis Cárdenas López y al Dr. Saúl A. Chuchón Martínez, catedráticos de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, por contribuir en la investigación y por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo.

## ÍNDICE

	Pag
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.3. Descripción de las chichas en estudio	7
2.4. Riesgo epidemiológico de las bebidas	12
2.5. Enfermedades alimentarias de etiología bacteriana en alimentos	12
2.6. Descripción de los microorganismos en estudio	13
2.7. Control de las enfermedades transmitidas por los alimentos	19
2.8. Grupos de microorganismos que constituyen peligros y generan	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. Características de la zona en estudio	22
3.2. Población y puntos de muestreo	22
3.3. Número de muestras y frecuencia de muestreos	23
3.4. Muestreo	23
3.5. Análisis microbiológico de muestras de chicha	23
3.6. Análisis de datos	27
IV. RESULTADOS	28
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	44
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	48

Coliformes, Staphylococcus y Enterococcus en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta 2007.

AUTOR: Bach. Rosario Cisneros Huamán

ASESOR: Blgo. Mg. Víctor Luis Cárdenas López.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó durante los meses de marzo a diciembre del año 2007 con el objetivo de determinar Coliformes, Staphylococcus y Enterococcus en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta, se realizaron muestreos quincenales, se analizaron un total de 80 muestras comercializadas en tiendas, mercado y vía pública (calles) con diferentes tipos de chicha; los análisis microbiológicos se efectuaron en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, las técnicas aplicadas fueron: técnica del Número Más Probable (NMP) para la determinación de coliformes totales, coliformes fecales y enterococos; y para Staphylococcus la técnica de siembra por extensión. Los resultados para el control de calidad sanitaria indican que las muestras de chicha de guarapo presentan 50% de contaminación, seguida de la chicha de siete semillas y la chicha de jora con 45% y 35% respectivamente, la chicha de molle es la menos contaminada con 5%. En caso de la distribución promedio de muestras contaminadas con coliformes fecales y coliformes totales es de 33.75%, para enterococos 36.25% y Staphylococcus 16.25% de contaminación en las diferentes chichas elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta. Según el lugar de procedencia de las bebidas fermentadas comercializadas en vía pública (calles) se observó que presentaron mayor contaminación con 60.7%, seguido de las bebidas fermentadas procedentes del mercado y las bebidas fermentadas procedentes de tiendas con 50% de contaminación. Esto explica que las bebidas recogidas de las calles fueron las de mayor contaminación, lógicamente, representando un alto riesgo para la salud del consumidor, sumando a todo esto, el bajo nivel socio-económico de las personas que las distribuyen, malas condiciones sanitarias de los puestos de expendio, el aseo deficiente de utensilios, por todo esto es mayor el riesgo de adquirir enfermedades entéricas.

**Palabras clave:** coliformes totales, coliformes fecales, enterococos, Staphylococcus, chichas.

## I. INTRODUCCIÓN

Chicha es una palabra de origen antillano que se refiere a una bebida de baja graduación alcohólica obtenida de la fermentación de almidón o azúcares de casi todos los granos, tubérculos, raíces, frutas espontáneas comestibles, mieles y otros. La palabra se difundió con los españoles por todo el continente, perdiéndose en la mayoría de los casos las voces vernaculares (Pardo, 2007).

Con frecuencia la elaboración y consumo de bebidas, está íntimamente relacionada con el ciclo agrario de siembra y cosecha (chicha de jora, siete semillas y de molle), para favorecer el poder fecundativo de la tierra y el pedido de lluvias, con ceremonias religiosas relacionadas con la fecundidad, etc. La chicha era un óptimo vehículo de comunicación, integrada a las funciones sociales y comunitarias. En tanto el guarapo es el jugo de caña fermentada, que es bebida tradicional en regiones donde se cultivan caña de azúcar, su consumo está relacionado en trabajos agrícolas y también utilizados como bebida refrescante (Olarte et al., 2007).

La chicha de jora es una bebida tradicional y oriunda del Perú que es consumida en la mayoría de regiones. Es una bebida alcohólica obtenida de la fermentación de la materia azucarada contenida en el mosto de la malta de maíz. Por intermedio de la fermentación se activa la micro flora láctica nativa la cual es

responsable de la fermentación láctica y/o maltoláctica. Las bacterias lácticas son útiles como probióticos por sus beneficios terapéuticos y nutricionales (Quillama, 2009).

Desde años anteriores siempre ha existido la preocupación para proteger al público en general de los diferentes riesgos y enfermedades transmitidas por los alimentos (Olarie et al., 2007).

Todos los alimentos, sólidos o líquidos, son un medio apropiado para el desarrollo y multiplicación de microorganismos, son susceptibles a descomponerse o alterarse por acción de estos gérmenes, convirtiéndose en un vehículo indirecto para la transmisión de enfermedades e intoxicación alimentaria (Silva, 1998).

La venta ambulante de todo alimento en las calles y mercados han proliferado en forma significativa, como medio de sobrevivencia económica; para los productores, vendedores de comida y de bebidas elaboradas artesanalmente, que en los últimos tiempos ha aumentado actividades, donde aún norma la deficiencia de higiene. La mayoría de los alimentos son buenos medios para el crecimiento de muchas clases de microorganismos. Bajo condiciones físicas favorables, particularmente temperaturas entre 7°C a 60°C, los microorganismos crecerán y producirán cambios en el aspecto como: sabor, olor, y otras cualidades de los alimentos. Los cambios que los microorganismos causan en los alimentos y bebidas, no se limitan a los resultados de una descomposición; puede ser también el resultado de productos sintetizados por los microbios (Pelczar et al., 1999).

Para el presente trabajo de investigación se establecieron los siguientes objetivos:

- Determinar el grado de contaminación con coliformes, Staphylococcus y enterococos en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.
- Cuantificar coliformes totales y coliformes fecales en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.
- Cuantificar los enterococos en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.
- Detectar Staphylococcus en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

La elaboración de las bebidas fermentadas alcohólicas es una práctica muy antigua presente en todas las culturas del mundo. Algunas bebidas fermentadas han trascendido sus fronteras de origen para convertirse en productos cotidianos en más de un continente; sin embargo, aquellas que se producen en forma artesanal, comercial, o bien para el consumo de culturas particulares se denominan "tradicionales" (Wacher, 1999).

La insalubridad de los alimentos han representado problemas de salud para el ser humano desde los albores de la historia, y muchos de los problemas actuales en esta materia no son nuevos. Aunque los gobiernos de todo el mundo se están esforzando al máximo por aumentar la salubridad del suministro de alimentos, la existencia de enfermedades de transmisión alimentaria sigue siendo un problema de salud significativo tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Se ha calculado que cada año mueren 1,8 millones de personas como consecuencia de enfermedades diarreicas, cuya causa puede atribuirse en la mayoría de los casos a la ingesta de agua o alimentos

contaminados. Una preparación adecuada de los alimentos puede prevenir la mayoría de las enfermedades de transmisión alimentaria (OMS, 2007).

Algunas bebidas favorecen la multiplicación de microorganismos, en altas concentraciones estas se convierten en patógenos y su contaminación se debe a la inadecuada manipulación, en la preparación, almacenamiento y expendio de estos productos, demostrando un nivel muy deficiente de higiene (Chuchón 2003), esto nos permite entender la alta incidencia de enfermedades gastrointestinales en la población de Huanta, confirmando de esta manera las condiciones precarias de saneamiento ambiental que presenta dicha provincia.

Existen relativamente pocas publicaciones sobre aspectos bioquímicos, microbiológicos y técnicos acerca de la elaboración de bebidas fermentadas indígenas del departamento de Ayacucho, siendo más frecuente las publicaciones de carácter etnológico o antropológico; por lo que resulta importante iniciar estudios con un enfoque biotecnológico a fin de generar en una primera etapa, conocimientos básicos que permitan conocer mejor las bebidas fermentadas indígenas y, posteriormente, porque no en un futuro, la posibilidad de su industrialización.

(Mujica, 2003), manifiesta que en estudios realizados de las características bioquímicas en bebidas fermentadas, obtuvieron resultados para la chicha de jora: 4.23% de etanol, 2.56% de azúcares reductores 1.08% de acidez total 3.6 de pH y 6.71% de sólidos totales. Chicha de molle: 3.60% de etanol, 1.51% de azúcares reductores 0.55% de acidez total, 3.90 de pH y 4.45% de sólidos totales. Chicha de 7 semillas: 3.84% de etanol, 2.87% de azúcares reductores, 0.50% de acidez total, 3.90 de pH y 12.40% de sólidos totales.

(Serrano, 2000), en el trabajo de tesis titulado, determinación de puntos de contaminación por *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la elaboración de chicha de siete semillas que se expende en la ciudad de Huanta. Concluyó que

el total de muestras recolectadas estuvieron contaminadas por coliformes fecales.

(Silva, 1998), en el trabajo de investigación de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en bebidas tradicionales: chicha de jora, chicha de maíz morado que se expenden en la localidad de Huamanga, llegó a la conclusión de que en la chicha de maíz morado encontró mayor cantidad de coliformes fecales que en la chicha de jora.

(Cuba, 1997), en el trabajo de investigación sobre contaminación fecal y *Staphylococcus aureus* en alimentos expendidos en la vía pública. Concluyó que más del 50% de muestras tomadas estaban contaminadas por coliformes fecales.

(Chuchón, 2003), en el trabajo de investigación sobre el control microbiológico de las bebidas fermentadas tradicionales del departamento de Ayacucho. Concluye que el 50% de las muestras de bebidas fermentadas sometidas al estudio no cumplen con los requisitos microbiológicos exigidos por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Propiedad Intelectual (INDECOPI). Las muestras de chicha de cabuya son las que mostraron mayor grado de contaminación con un 66.66%, menor grado de contaminación las muestras de chicha de siete semillas con un 33.33%. Con referencia al lugar de procedencia las muestras de chicha de la provincia de Huamanga son las que mostraron mayor contaminación con un 66.66% y las muestras provenientes de Huanta mostraron menor contaminación con un 20%.

(Zambrano y Clarixia, 2009), en el trabajo de investigación sobre caracterización microbiológica de dos bebidas fermentadas autóctonas; chicha de maíz y masato de arroz llegan a la conclusión que en ambas bebidas se observó un predominio de las bacterias ácido láctico, seguida de levaduras como responsables del proceso de fermentación ácido láctica y alcohólica. Las enterobacterias

estuvieron presentes en la mayoría de las muestras, su presencia pudiera estar relacionada con la calidad sanitaria.

En la evaluación microbiológica y sensorial de fermentados de Pozol blanco, con cacao (*Theobroma cacao*) y coco (*Cocos nucifera*), durante la fermentación natural a temperatura ambiental, de tres tipos de Pozol: blanco, con cacao y coco. La concentración de bacterias coliformes disminuyó a partir del tercer día de fermentación y a los 12 días se obtuvo una concentración de 2,20 log UFC/g. En las bacterias lácticas se observó el mayor crecimiento; ellas alcanzaron una concentración de 8,0 log UFC/g a los 3 días de fermentación que se mantuvo durante los 9 días siguientes (Jiménez et al., 2010).

## 2.2. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación es el proceso metabólico en el que los carbohidratos y compuestos afines son oxidados con liberación de energía.

La fermentación alcohólica desde el punto de vista energético es una reacción exotérmica produce gran cantidad de CO<sub>2</sub>.

Es un término general que indica degradación anaeróbica de la glucosa u otros nutrientes orgánicos, para obtener energía en forma de ATP, la degradación anaeróbica de la glucosa es probablemente el mecanismo más antiguo para obtener energía a partir de moléculas combustibles orgánicas (Nelson et al., 2006).

## 2.3. DESCRIPCIÓN DE LAS CHICHAS EN ESTUDIO

### 2.3.1. Chicha de jora

El proceso de elaboración de chicha de jora, en términos generales, presenta básicamente las siguientes fases: molienda, cocción, filtrado, adición de azúcar y fermentación.

#### **a) Molienda**

Mediante la molienda se logra dar una mejor superficie de contacto entre el maíz y el agua de cocimiento. Cabe mencionar que cuando se realiza una molienda que produce partículas muy pequeñas, se obtienen durante la cocción, una excesiva caramelización de carbohidratos (Silva, 1998).

#### **b) Cocción**

Al realizar la mezcla agua – jora se produce el medio de conducción para el ataque de enzimas a materias amiláceas y para extraer solubles de grano. Las cantidades para la dilución varían enormemente en la elaboración tradicional, que van desde 3:1 hasta 10:1 de proporción de agua y jora.

La cocción consiste en una ebullición prolongada del mosto, que tiene una duración de 8 a 24 horas. En esta etapa se realiza una extracción de sustancias aromáticas y de otros productos agregados (Silva, 1998).

#### **c) Filtración**

Esta operación se realiza en frío o caliente en formas tradicionales, colocando mantel, el cual actúa como medio filtrante, este método es usado en la sierra.

#### **d) Fermentación**

El upi se dispone en un porongo o cántaro, asentado en el suelo y ahí se le agrega el qoncho (sedimento de una chicha residual perteneciente a un lote anterior) que sirve de iniciador o inóculo. La fermentación tiene lugar en un cuarto oscuro a temperatura ambiente, por espacio de 24 a 72 horas. Al tercer día, la chicha de jora está en su punto máximo de efervescencia, realizada por levaduras llamadas nativas, que comprenden una amplia gama y que corresponde a la microflora de la chicha (Mujica, 2003).

### **2.3.2. Chicha de siete semillas**

Bebida obtenida por fermentación de la materia azucarada contenida en las semillas. Es refrescante de buen sabor preparada artesanalmente.

#### **a) Materia prima**

Se utilizan en la preparación: maíz, cebada, trigo, quinua, kiwicha, haba y arveja. Una vez seleccionados los granos, estos se tuestan luego se muelen por separado hasta obtener una harina fina. Cantidades iguales de harina, de cada una son mezcladas antes de la cocción (Mujica, 2003).

#### **b) Cocción**

Primero se hierve el agua junto con las hierbas aromáticas tales como: hierba luisa, cedrón, toronjil, manzanilla, anís, canela y clavo de olor. Además se añade un poco de piña (rodajas o cáscara), rodajas de manzana y cáscara de naranja. A continuación se añade la harina previamente disuelta en un poco de agua a una porción de aproximadamente 1:10 peso en volumen. Se deja hervir por 2 a 3 horas, moviendo la masa en forma permanente para evitar que se queme la base o se derrame la espuma. El punto final de la ebullición es cuando se pierde la espuma y aparece una especie de nata debido a las grasas disueltas (Mujica, 2003).

#### **c) Filtración**

Después de enfriarse, la mezcla se cuela 2 a 3 veces a través de un colador de malla fina y queda lista para la etapa de fermentación.

#### **d) Fermentación**

La fermentación de chicha de 7 semillas es generalmente espontánea, aunque hay algunas productoras que han aprendido a usar el qoncho de un lote previo; y se realiza en un recipiente exclusivo para esta etapa. Algunas productoras le

añaden un poco de azúcar para acelerar la fermentación para su consumo como bebida refrescante y alimenticia, basta una fermentación de uno a dos días (Mujica, 2003).

### **2.3.3. Chicha de caña “guarapo”**

La palabra guarapo, según el diccionario de la Real Academia de la Lengua Española es de origen quechua; otros investigadores atribuyen este vocablo a la castellanización del vocablo africano “guarapa” a su vez derivado de la palabra árabe jarabe, que significa jugo de caña de azúcar. El guarapo es una bebida de fabricación artesanal, que se obtiene por el proceso de fermentación de los jugos ricos en carbohidratos (principalmente sacarosa) extraídos de la caña de azúcar. Se puede preparar fácilmente disolviendo el jugo de caña en agua en proporción de 1:2 y luego almacenar en cántaros por 3 a 7 días. Se utiliza como bebida refrescante con 3 días de fermentación. Y luego de 5 a 6 días de fermentación sirve como bebida embriagante (Olarde et al., 2007).

### **2.3.4. Chicha de molle**

Los antiguos peruanos hacían una bebida alcohólica llamada chicha de molle a partir de la fermentación de los frutos, preparaban restregando los frutos maduros, suavemente, entre las manos en agua caliente, hasta que el agua tuviera sabor dulzaino, procurando no disolver el amargo de estos; este líquido era filtrado en un lienzo, y dejado fermentar durante 3 a 4 días (Mujica, 2003).

#### **a) Materia prima**

El fructificación del molle coincide con la época de lluvias (enero a marzo). Cuando los frutos están maduros, son recolectados, se pelan con la ayuda del viento. Un molle rinde en promedio dos fanegas (una fanega equivale aproximadamente a cuatro latas de aceite) por temporada.

#### **b) Remojo**

Se procede a remojar los frutos del molle, donde se realiza la mezcla con el agua hervida fría, en proporción de 1:2 peso en volumen (molle – agua). En algunos casos el agua se hierve junto con clavo de olor, canela y piña en rodajas con fin de mejorar el sabor de la chicha. El tiempo de remojo es variable pudiendo ser entre 2 a 3 horas y en otros casos de un día para otro. Nunca se hierve el agua junto con el molle, porque esto conduce a la extracción de ciertas sustancias que le dan un sabor amargo al producto y no sirve (Mujica, 2003).

#### **c) Filtración**

El agua de remojo o “chicha verde” obtenida, a continuación se trasiega y se filtra, para luego pasar a fermentación.

#### **d) Fermentación**

La fermentación de chicha de molle es espontánea. El agua obtenida después del remojo tiene una coloración amarillenta y opaca. Esta se deposita en un porongo o cántaro que ha servido para producir un lote anterior, previo lavado ligero con agua corriente. La fermentación se inicia con los propios microorganismos que constituye la microflora superficial de los frutos del molle, junto con aquellos que se encuentran prácticamente inmovilizados dentro de las porosidades del material arcilloso del porongo. Los frutos del molle contienen azúcares fermentables que son utilizados directamente por las levaduras para producir etanol (Mujica, 2003).

La maduración alcanza luego de 4 a 5 días de fermentación; después de una semana la chicha está en su máximo poder embriagante. Cuando se expende para negocio, la fermentación se corta generalmente de un día para otro. La chicha de molle con un mes de maduración o más es utilizada para aliviar los

procesos inflamatorios de los riñones y vejiga, además del hígado (Mujica, 2003).

#### 2.4. RIESGO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS BEBIDAS

La ingestión de los alimentos y/o bebidas contaminadas con gérmenes patógenos o sus productos de síntesis (toxinas) pueden causar un gran número de enfermedades, generalmente de acción rápida sin pródromos (Silva, 1998).

El término tóxico se refiere como una sustancia que destruye la vida por acción rápida y cuando es tomado en pequeña cantidad; enfermedades que son transmitidos por los alimentos, debido a su acción acelerada, están incluidos en el término de intoxicación alimentaria caracterizándose por lo siguiente:

Los microorganismos tienen la capacidad de multiplicarse y/o producir toxinas en los alimentos. Luego de ingerirlos, el periodo de incubación es corto, los primeros síntomas típicos son: náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y algunas veces fiebre (Eley, 1994)

#### 2.5. ENFERMEDADES ALIMENTARIAS DE ETIOLOGÍA BACTERIANA EN ALIMENTOS

Las enfermedades alimentarias son originadas por la entrada de bacterias al organismo por ingestión de alimentos contaminados y la reacción del organismo provocada por su presencia o por sus metabolitos. Según esta clasificación existen dos tipos principales de intoxicaciones alimentarias producidas por bacterias:

- a) El botulismo, originado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum*.
- b) La intoxicación estafilocócica, originada por una toxina existente en los alimentos producida por *Staphylococcus aureus*.

Según otra clasificación de infecciones alimentarias se pueden dividir en dos tipos:

- Aquellas en las que los microorganismos patógenos no necesariamente se multiplican en el alimento, sino que el alimento solo actúa como vehiculador.
- Aquellas en las que el alimento puede servir de medio de cultivo para que los microorganismos patógenos se multipliquen en él y alcancen cifras que aumentarán la posibilidad de que el consumidor del alimento se infecte (Frazier et al., 1993).

## 2.6. DESCRIPCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN ESTUDIO

### 2.6.1. *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 (Schlegel, 1997).

#### a. Características morfológicas y fisiológicas

Se trata de un estafilococo típico que se presenta en a cúmulos, parecidos a los racimos de uvas, en parejas en forma de cadenas cortas, los cocos jóvenes son fuertemente Gram positivas después de envejecer muchas células se vuelven Gram negativos. Estas células miden casi 1µm de diámetro, son carentes de motilidad y no forman esporas. Bajo la influencia de fármacos como la penicilina, los estafilococos sufren lisis (Brooks et al., 2005).

La mayoría de los cultivos que producen enterotoxina son coagulasa positiva (coagulan el plasma sanguíneo), para crecer necesita una fuente de nitrógeno orgánico y en cuanto a necesidades de oxígeno es aerobia facultativa (Frazier et al., 1993).

Los estafilococos fermentan lentamente muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas, son relativamente resistentes a la desecación al calor y al cloruro de sodio al 9%. El *Staphylococcus aureus* habitualmente forma colonias de color gris o amarillento dorado intenso (Brooks et al., 2005).

#### **b. Patogenia**

Una de las intoxicaciones alimentarias que se presenta con mayor frecuencia es la originada por la ingestión de enterotoxina que se forma en los alimentos cuando en los mismos se multiplican ciertas cepas de *Staphylococcus aureus*. La toxina recibe la denominación de enterotoxina por que produce gastroenteritis o inflamación a la mucosa que reviste el tracto gastrointestinal, cuyos síntomas son: náuseas, vómitos, diarrea, calambres abdominales y descenso en la temperatura corporal (Frazier et al., 1993).

#### **c. Importancia 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; estos productos deben ser rechazados, debiendo establecerse las medidas sanitarias que el caso amerite (MINSA, 2003).

### **2.6.2. Los Coliformes**

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos (Páez, 2009).

Las bacterias del grupo de los coliformes se utilizan desde inicios del Siglo XX como indicadores de la contaminación fecal. Fueron definidos siempre como bastoncillos Gram negativos, no formadores de esporas, que pueden crecer en presencia de sales biliares o de otros agentes tensioactivos que fermentan la lactosa a 37°C, con producción de gas, aldehídos y ácidos en 24 horas. Entre otras propiedades debe detectarse la formación de enzima beta - galactosidasa, que es propia de todos los coliformes. Este tipo de coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana ya que los coliformes son: contaminantes comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como los animales de sangre caliente, están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección. Tradicionalmente los coliformes son clasificados en 2 grupos:

- Coliformes totales.
- Coliformes termotolerantes o fecales (Madigan et al., 2008).

**a. Coliformes totales**

Son clasificados como bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácidos y gas, después de la incubación durante 24 – 48 horas a 37°C. Hasta hace pocos años se consideraba que el grupo estaba formado por tres géneros y una especie de bacterias comensales de intestino de animales homeotermos entre ellos: *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli*. Entre las primeras están *E. coli*, exclusiva de heces de animales homeotérmicos, *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii*, presentes tanto en las heces de los animales homeotermos, como en el medio ambiente (suelo, aguas naturales y contaminadas, vegetales en descomposición) y bebidas ricas en nutrientes. Entre las segundas están *Serratia fonticola*, *Rehuella aquatilis* y *Buttiauxella*

*agrestis*. Éstas raras veces se encuentran en las heces y pueden reproducirse en aguas de buena calidad. Estas pueden aislarse del suelo y de aguas no contaminadas (Zorimar, y Elba, 2002).

Algunas de las propiedades que determinan que las bacterias coliformes sean importantes en las alteraciones que experimentan los alimentos son:

- Su capacidad para crecer en sustratos muy distintos y para utilizar como fuente de energía algunos hidratos de carbono y algunos otros compuestos orgánicos y, como fuente de nitrógeno, algunos compuestos nitrogenados bastantes sencillos.
- Su capacidad para sintetizar la mayoría de las vitaminas que necesitan.
- La capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C.
- Su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares.
- Su capacidad para producir sabores desagradables, definidos a veces como “a sucio” o “a establo”.
- La capacidad de *Enterobacter aerogenes* para producir mucosidad y viscosidad (Frazier et al., 1993).

#### **b. Coliformes fecales**

Constituyen un subgrupo de los coliformes totales, y se diferencian de los anteriores por ser tolerantes a temperaturas más altas, creciendo a 44.5°C con formación de ácido y gas. Este subgrupo está formado principalmente por *Escherichia coli* porque, es la especie que se encuentra en mayor cantidad y con menor representatividad por otras como *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.* (Brooks et al., 2005).

### **c. Patogenia**

*Escherichia coli*, forma parte de la microbiota normal del intestino grueso del hombre y de los animales homeotermos; la mayoría de las cepas de este origen no son patógenas, sin embargo, algunas cepas pueden producir infecciones del tracto urinario, de heridas entéricas, así también intoxicación alimentaria ocasionalmente septicemia y meningitis.

En general, las evidencias permiten sugerir que esta bacteria puede multiplicarse en los alimentos y que se requieren altos recuentos para producir la infección; por ejemplo  $10^5$  a  $10^7$  por gramo del contenido intestinal (Madigan et al., 2008).

### **d. Importancia en los alimentos**

En algunos alimentos se requiere la investigación de la presencia o ausencia de estos microorganismos, por exigencias de disposiciones legislativas porque en dichos productos la presencia es indicadora de mala calidad microbiológica, en la higiene de alimentos los coliformes no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad (Bécquer, 1996).

## **2.6.3. Enterococos**

Forman parte de la microbiota del intestino del hombre y los animales. Causan enfermedad cuando se introducen en los tejidos, sangre, sistema urinario o meninges. Los Enterococos son muy resistentes a muchos agentes antimicrobianos. Las penicilinas a menudo inhiben su crecimiento pero no los mata a menos que se halle presente un aminoglucósido (Brooks et al., 2005).

### **a. Características morfológicas y fisiológicas**

Los enterococos son miembros del género *Streptococcus faecalis* con morfología cocoide, Gram positivo, catalasa negativo, anaerobios facultativos cuya temperatura de crecimiento oscila entre 10 y 45°C, siendo el óptimo a 35°C. La

mayoría de los enterococos crecen en caldos de cultivo conteniendo 6.5% de cloruro de sodio, a pH 9.6 e hidrolizan la esculina en presencia de 40% de bilis o 4% de sales biliares. Algunas especies son móviles. Son fermentativos, sin producción de gas, obteniendo ácido láctico al final de la fermentación de la glucosa. Resisten temperaturas de 60°C durante 30 minutos y reducen 0.1% de azul de metileno (Brooks et al., 2005).

Las especies de enterococos más frecuentemente encontradas en agua son *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* y *E. mundii*. Los enterococos presentan ciertas ventajas como indicadores de contaminación fecal, siendo las siguientes:

- Se encuentran en grandes cantidades en excretas de humanos y animales de sangre caliente.
- Se han aislado en aguas de desecho y con alto grado de contaminación.
- No se han encontrado en aguas limpias, suelos y ambientes sin contacto de vida humana o animal
- Son persistentes sin multiplicarse en el ambiente.
- Su aislamiento y cultivo es fácil de realizar.
- Pueden ser utilizados para conocer el origen de la contaminación.

Los enterococos son más persistentes que *E. coli* y bacterias coliformes en condiciones ambientales adversas; además, son altamente resistentes a la desecación por lo que son de gran utilidad como indicadores microbiológicos de contaminación para el control de sistemas de distribución de agua (Méndez. 2004).

La energía es obtenida fundamentalmente de la utilización de azúcares. El crecimiento de los enterococos tiende a ser pobre tanto en medios sólidos como en caldo a menos de que se les enriquezca con sangre o líquidos tisulares

diversos. La mayoría de los enterococos son anaerobios facultativos (Brooks et al., 2005).

#### **b. Importancia en los alimentos**

Los enterococos se encuentran dentro del grupo de los microorganismos indicadores de la inocuidad de los alimentos, pues por su amplia distribución pueden encontrarse en estos productos, especialmente en los de origen animal. Suelen considerarse buenos indicadores porque mueren más lentamente que los coliformes, debido a que son muy resistentes a condiciones adversas como congelación, desecación y como resultado sobreviven más que éstos (Bécquer, 1996).

Es de vital importancia que el agua para uso recreativo también posea una buena calidad. Diversos estudios de aguas marinas y playas indican que las enfermedades de las mucosas, de la piel y digestivas, asociadas con los bañistas, están directamente relacionadas con contaminación fecal (Díaz et al., 2010).

### **2.7. CONTROL DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

Es mucho lo que se conoce acerca de los factores que contribuyen a las enfermedades transmitidas por los alimentos y a fin de evitar las mismas podemos establecer métodos para su control.

Los factores que contribuyen a las enfermedades son:

- Alimentos inadecuadamente cocidos.
- Temperaturas inadecuadas de conservación de alimentos.
- Alimentos de fuentes no fiables.
- Envases contaminados.
- Deficiente higiene personal.
- Métodos de conservación inadecuados (López et al., 2003).

Una buena higiene personal es de gran importancia en el control de enfermedades transmitida por alimentos. Es especialmente significativa para controlar las infecciones alimentarias producidas por microorganismos que tienen una ruta fecal –oral para entrar en el hospedador. Es obvio que quienes manejan los alimentos no deben tener heridas infecciosas abiertas (Méndez. 2004).

Pero no es tan evidente que los que manejan los alimentos pueden ser portadores de microorganismos patógenos. Los portadores usualmente han padecido la enfermedad causada por los organismos que ellos albergan, pero en algunos casos el ataque fue tan suave que pasó inadvertido. Afortunadamente el estado del portador puede determinarse mediante el uso de pruebas adecuadas en laboratorio, luego pueden ser tratados con drogas o medicamentos para eliminar el organismo patógeno (Méndez. 2004).

## 2.8. GRUPOS DE MICROORGANISMOS QUE CONSTITUYEN PELIGROS Y GENERAN RIESGOS PARA LA SALUD DE LOS CONSUMIDORES

Los microorganismos correspondientes a las clases de criterios microbiológicos, se agrupan como: Microorganismos de carácter imperativo, Microorganismos indicadores de higiene y Microorganismos de alertas.

a. Los microorganismos de carácter imperativo, son aquellos que no deben estar presentes en el alimento o bebida ya que su presencia representa un daño a la salud o la vida de los consumidores. Su presencia determinará la eliminación del alimento de acuerdo a la Norma que para tal efecto dicte el Ministerio de Salud, entre ellos tenemos:

- *Salmonella sp.*
- *Clostridium botulinum*
- *Listeria monocytogenes* (DIGESA, 2003).

- *Escherichia coli* enterohemorrágico
- *Brucella melitensis*
- *Vibrio cholerae*
- Hongos toxigenicos
- Anaerobios mesófilos/termófilos

b. Los microorganismos indicadores de higiene, son aquellos que no deben estar presentes en el alimento o bebida en límites superiores a los ya especificados. El exceso de estos microorganismos indica que las condiciones de higiene en el procesamiento de los alimentos o bebidas son deficientes; estos productos deben ser rechazados.

- . *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus* coagulasa +
- *Bacillus cereus*
- *Clostridium perfringens*

Los microorganismos de alerta, son aquellos que al exceder los límites especificados requerirán la aplicación de medidas correctivas para tener el proceso bajo control. Son microorganismos de alerta los siguientes:

- coliformes termotolerantes (fecales)
- Hongos (Mohos y Levaduras) (DIGESA, 2003).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Características de la zona de estudio**

La ciudad de Huanta está ubicada al Nor-Este de la ciudad de Huamanga, la superficie de la provincia es de 3,258 kilómetros cuadrados, sus coordenadas son 12°56'40" latitud sur y 74°15'01" de longitud oeste y una altitud de 2,621 m.s.n.m. Por su clima cálido templado es conocida como "La Esmeralda de los Andes". Sus bebidas tradicionales son: chicha de jora, chicha de molle, chicha de siete semillas, chicha de maní, masato (chicha de yuca), entre otras (Alvarado, 2008).

#### **3.2. Población y puntos de muestreo**

Bebidas fermentadas artesanalmente, recolectadas de la ciudad de Huanta, se realizaron los muestreos de bebidas fermentadas artesanalmente en tres puntos que fueron los siguientes:

Tiendas (6 tiendas)

Mercado (7 puestos)

Vía pública (calles) (7 puestos)

### **3.3. Número de muestra y frecuencia de muestreos**

Los muestreos fueron quincenales, a partir del mes de marzo a diciembre del 2007, en un lapso de 10 meses, 4 muestras quincenales haciendo un total de 80 muestras analizadas distribuidas del siguiente modo: 20 muestras de chicha de jora, 20 muestras de chicha de guarapo, 20 muestras de chicha de molle y 20 muestras de chicha de siete semillas. Los frascos para la toma de muestras para el análisis microbiológico fueron botellas con tapa hermética, transparentes de 250 ml de capacidad; las cuales fueron lavadas cuidadosamente y enjuagados finalmente con agua destilada, secados y esterilizados en autoclave debidamente acondicionados con papel Kraft.

### **3.4. Muestreo**

En el momento de tomar la muestra se hizo con las máximas condiciones asépticas posibles, se removió la tapa del frasco conjuntamente con el papel protector, se sujetó el frasco de la base y se procedió al llenado dejando un vacío de aproximadamente 3 cm del borde. Las muestras fueron recolectadas en horas de la mañana; inmediatamente fueron trasladadas en Cooler a temperatura ambiente hasta el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga para su respectivo análisis, las muestras fueron procesadas dentro de las 2 horas de ser obtenidas.

### **3.5. Análisis microbiológico de muestras de chicha**

#### **3.5.1. Recuento de coliformes totales y coliformes fecales por la técnica del número más probable (NMP)**

##### **a. Procedimiento de la dilución**

- Con una pipeta estéril de 10 ml y teniendo en cuenta los cuidados de asepsia, se transfirió 5 ml de la muestra a un frasco conteniendo 45 ml de agua peptonada estéril como diluyente, así se tubo preparado la primera

dilución ( $10^{-1}$ ) siendo que 1 ml de la misma corresponde a 0.1 ml de la muestra.

- Luego se homogenizó el frasco que contenía la primera dilución ( $10^{-1}$ ) y con una pipeta nueva esterilizada, se transfirió 5 ml a otro frasco conteniendo 45 ml de agua de dilución estéril, consiguiendo así, la segunda dilución ( $10^{-2}$ ), siendo que 1 ml de la misma corresponde a 0.01 ml de la muestra.
- Y así se procedió de la misma forma para obtener la tercera dilución ( $10^{-3}$ ) (Chuchón y Apaico, 2010).

**b. Prueba presuntiva para coliformes totales y coliformes fecales**

- Se sembró 1 ml de cada una de las diluciones seleccionadas en 10 ml de caldo lauril sulfato triptosa, cada dilución se sembró con tres repeticiones.
- Luego se incubó a 37 °C durante 24 a 48 horas.
- Se realizaron las primeras lecturas de las pruebas transcurrido las 24 horas; la producción de gas en tubos de fermentación, se tomaron como resultado positivo. Los tubos negativos se incubaron por 24 horas adicionales.

**c. Prueba confirmativa para coliformes totales**

- Se eligió tres series de diluciones consecutivas que incluía la serie que tengan mayor número de positivos y las series de las dos diluciones subsiguientes.
- Se confirmó en caldo lactosado verde brillante bilis (CLVBB) 2%, se sembró un inóculo de cada tubo positivo de las tres series seleccionadas, en igual número de tubos con CLVBB, la inoculación se realizó con un asa de Kolle.
- Se incubó a 37°C durante 24 horas.
- Se realizó la primera lectura. Se consideró como positivos los tubos en los cuales se observó la producción de gas, se anotaron el número de tubos confirmados como positivos y se procedió a la lectura de la tabla del NMP.

**d. Prueba confirmativa para coliformes fecales**

- Se seleccionaron tres series de tubos positivos de la prueba presuntiva (caldo lauril sulfato triptosa).
- Se confirmó en caldo EC, Medio para *Escherichia coli* se sembró un inóculo de cada tubo positivo de las tres series seleccionadas, en igual números de tubos de Medio EC.
- Se incubó en baño maría a 44.5°C durante 24 horas.
- Luego se realizó la lectura considerando como positivos los tubos de fermentación en los cuales se ha producido gas, se anotaron el número de tubos confirmados como positivos para después leer en la tabla del NMP.

**a. Cuantificación de enterococos por el método del NMP Prueba Presuntiva**

- Se inoculó 10 mL de la muestra sin diluir en 3 tubos conteniendo 10 mL de caldo azida dextrosa a concentración doble.
- Se Inoculó a otros 3 tubos con 10 mL de caldo azida dextrosa a concentración normal, 1 mL de muestra; se repitió el procedimiento en otros 3 tubos con el mismo medio inoculando esta vez 0.1 mL de muestra y así sucesivamente para cada tipo de muestra.
- Se incubó los tubos inoculados a 35 - 37 °C por 24 horas.
- Se procedió a examinar cada tubo para determinar la turbidez y viraje del indicador, considerándose así como tubos positivos (Chuchón y Apaico, 2010).

**b. Prueba Confirmativa**

- Se sometieron a la prueba confirmativa a todos los tubos con medio Azida Dextrosa que mostraron turbidez cambio de indicador a las 24 ó 48 horas de incubación.

- Se sembró un inóculo de cada tubo positivo con medio Azida Dextrosa de doble concentración en tubos con 10 ml de caldo violeta de etilo glucosa azida (EVA), y para la concentración normal se sembró un inóculo de cada tubo positivo con medio azida dextrosa a los tubos que contienen volúmenes de 1 ml y 0.1 ml en tubos con 10 ml de caldo EVA, la inoculación se realizó con un asa de Kolle en condiciones asépticas.
- Se incubó los tubos inoculados a 35 - 37 °C durante 24 horas.
- Luego se procedió a la lectura confirmativa donde se observaron el cambio de color y turbidez. Los resultados son reportados como número más probable (NMP); lo cual está basado en tablas de probabilidad estadística ya estandarizadas, este resultado permite conocer la densidad bacteriana de enterococos en la muestra y se interpreta de manera similar a la técnica de número más probable para bacterias coliformes.

### **3.5.2. Detección de *Staphylococcus aureus***

- Las muestras se procesaron mediante el método de siembra por extensión, utilizándose para ello una espátula de Drigalsky.
- El sembrado se hizo directamente de la muestra de cada tipo de chicha utilizando una pipeta de 1 ml esterilizada para cada uno de las muestras.
- Se inoculó 0.1 ml de muestra en placas por duplicado, el cultivo se realizó en agar baird – parker, a lo cual se añadieron una emulsión de yema de huevo más telurito de potasio.
- Las placas se incubaron a 37°C por 48 a 72 horas, las colonias típicas de color negro, rodeadas de un halo transparente fueron sometidas a la prueba bioquímica de la Coagulasa (Chuchón y Apaico, 2010).

#### **3.5.2.1. Prueba bioquímica de la Coagulasa**

Seleccionar las colonias sospechosas de color negro rodeadas por una zona clara. Las colonias elegidas fueron transferidas a tubos con caldo infusión cerebro corazón, se llevaron a incubación durante 20 a 24 horas a 35 – 37°C, hasta que aparezca enturbiamiento si no aparece en 24 horas, se desecha la muestra. De las muestras sospechosas se inoculó 0.1 mL con una pipeta esterilizada a los tubos que contenían 0.3 ml de plasma de conejo, luego se incubaron a 35 – 37°C, se examinó los tubos después de 4 horas para detectar la presencia de coágulos y, si la reacción es positiva se confirma la identidad de *Staphylococcus aureus* mediante la prueba de la termonucleasa.

#### **3.6. Análisis de datos**

Los datos obtenidos se representaron en gráficos y cuadros estadísticos para los respectivos agentes contaminantes.

#### IV. RESULTADOS

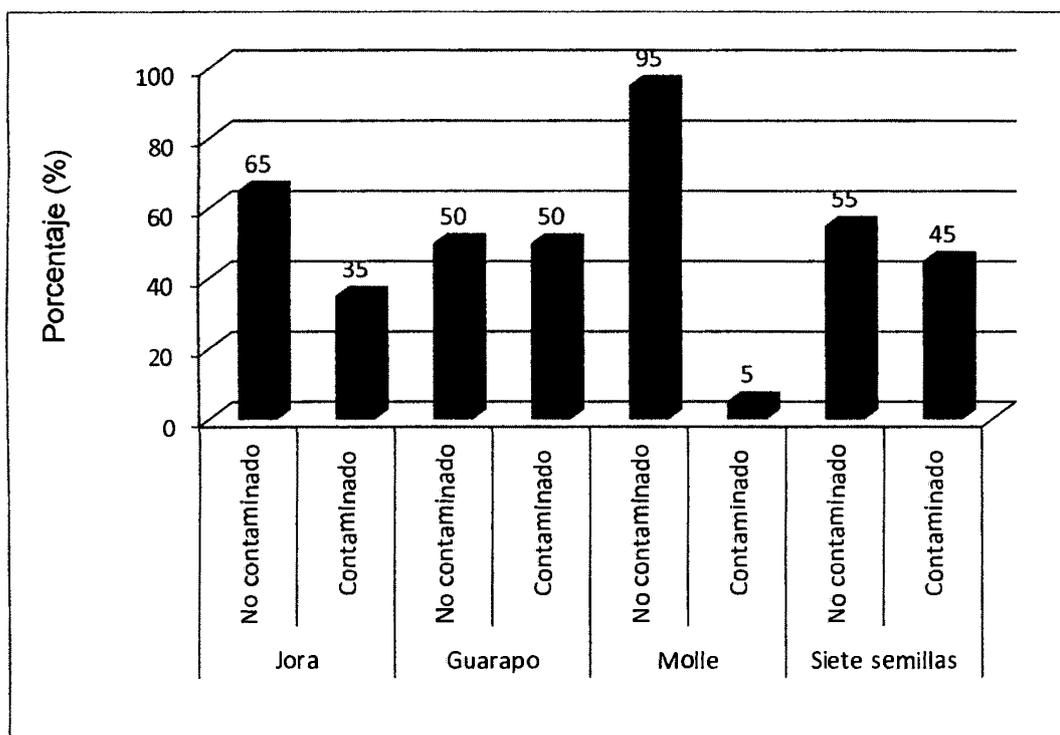


Gráfico N° 01. Porcentaje para cada una de las bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta que no cumplen con los requisitos microbiológicos de acuerdo a las Normas Legales de la DIGESA, Huanta, 2007.

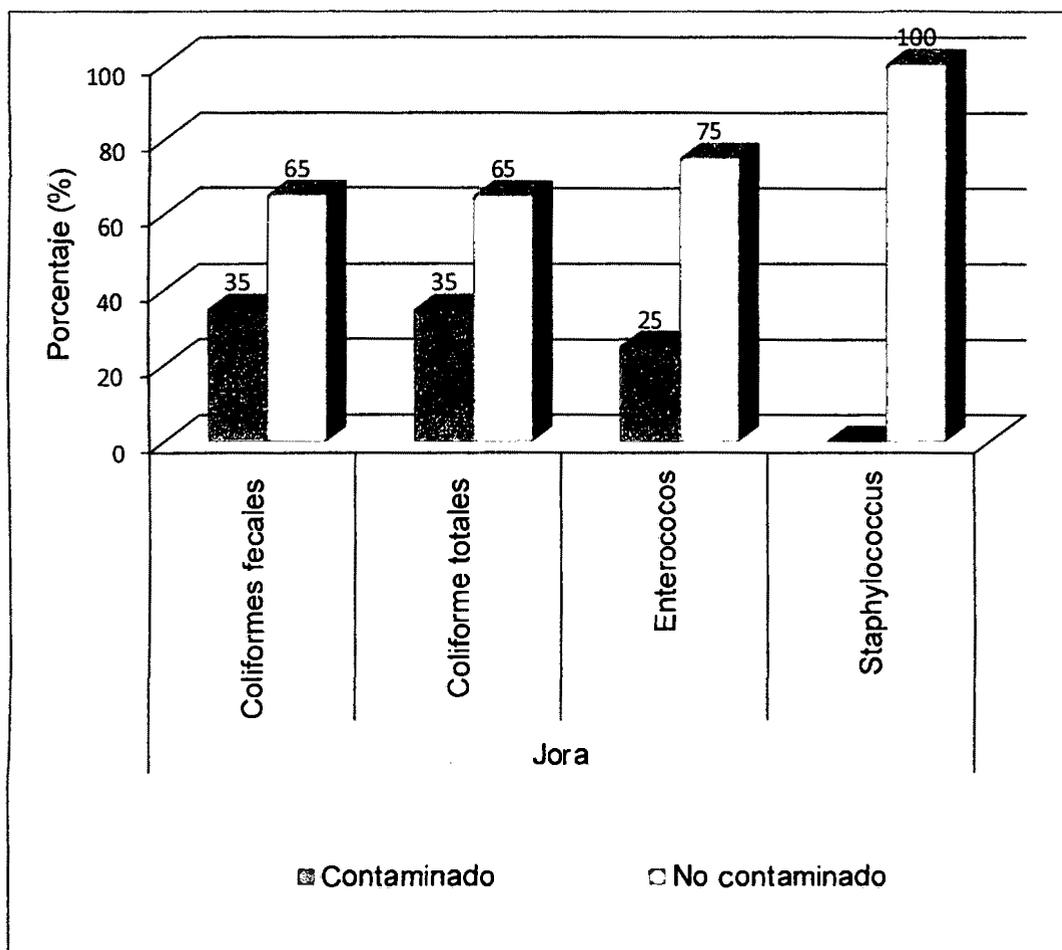


Gráfico N° 02. Porcentaje de bebidas contaminadas con microorganismos en chicha de jora elaborada artesanalmente y comercializada en la ciudad de Huanta, 2007.

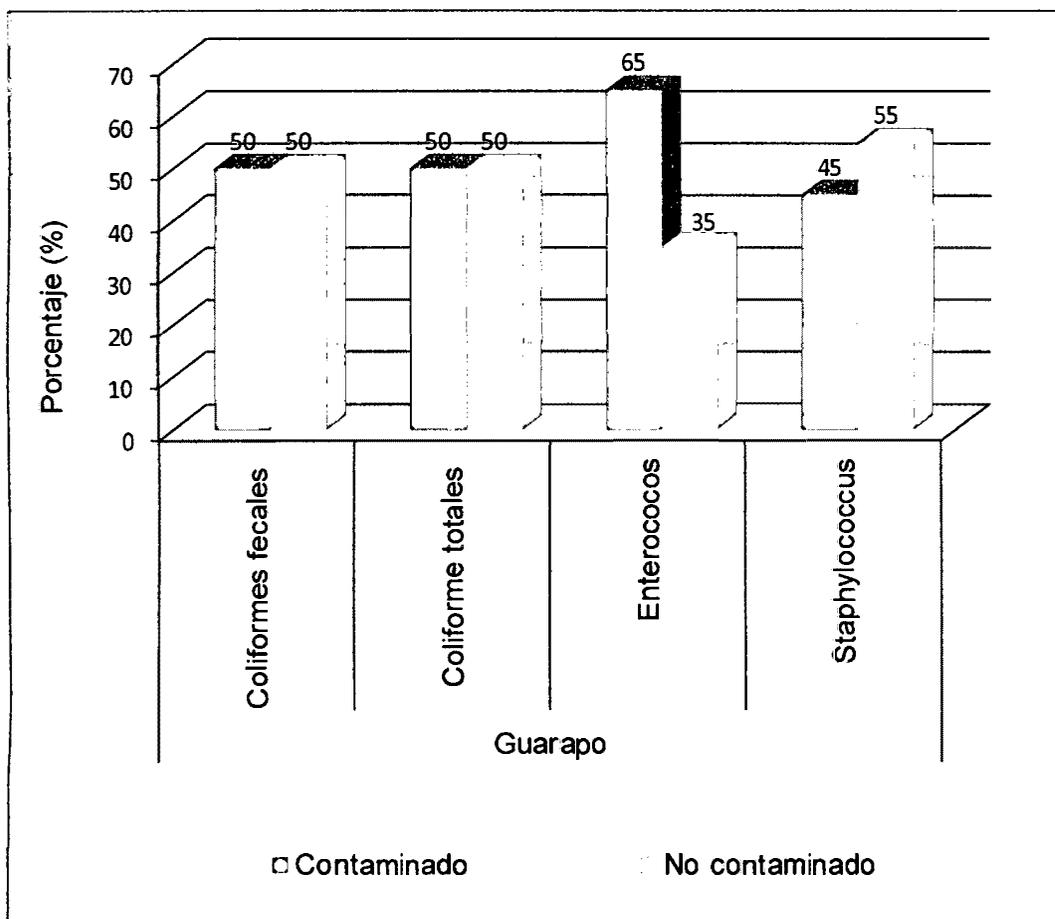


Gráfico N° 03. Porcentaje de bebidas contaminadas con microorganismos en chicha de guarapo elaborada artesanalmente y comercializada en la ciudad de Huanta, 2007.

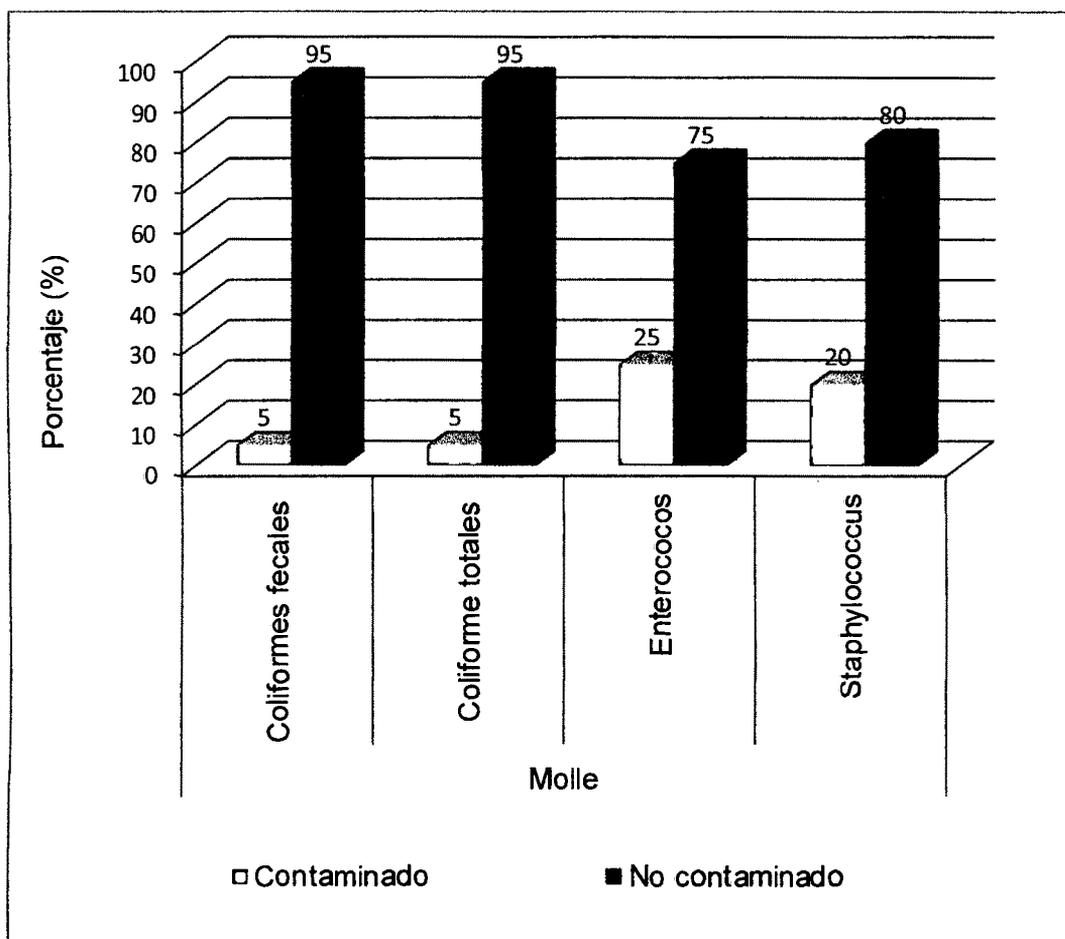


Gráfico N° 04. Porcentaje de bebidas contaminadas con microorganismos en chicha de molle elaborada artesanalmente y comercializada en la ciudad de Huanta, 2007.

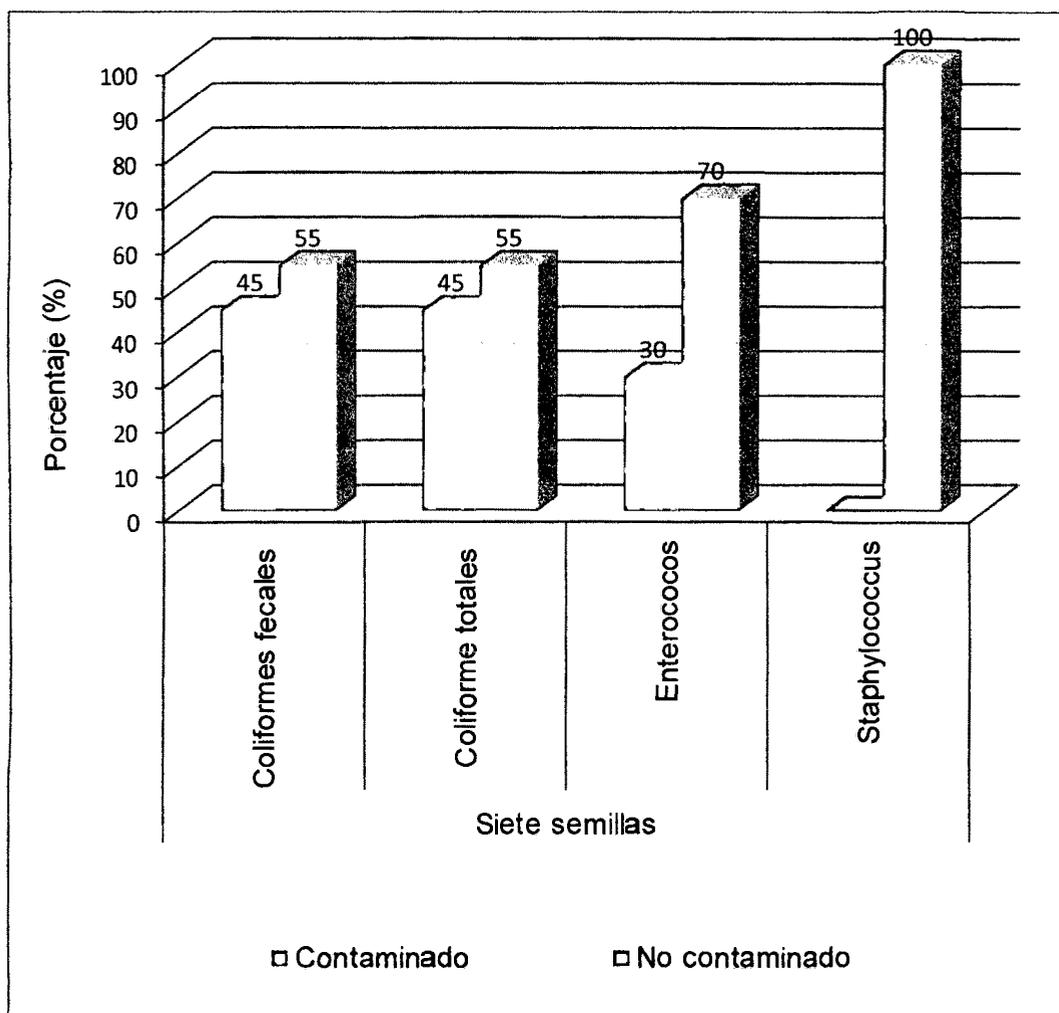


Gráfico Nº 05. Porcentaje de bebidas contaminadas con microorganismos en chicha de siete semillas elaborada artesanalmente y comercializada en la ciudad de Huanta, 2007.

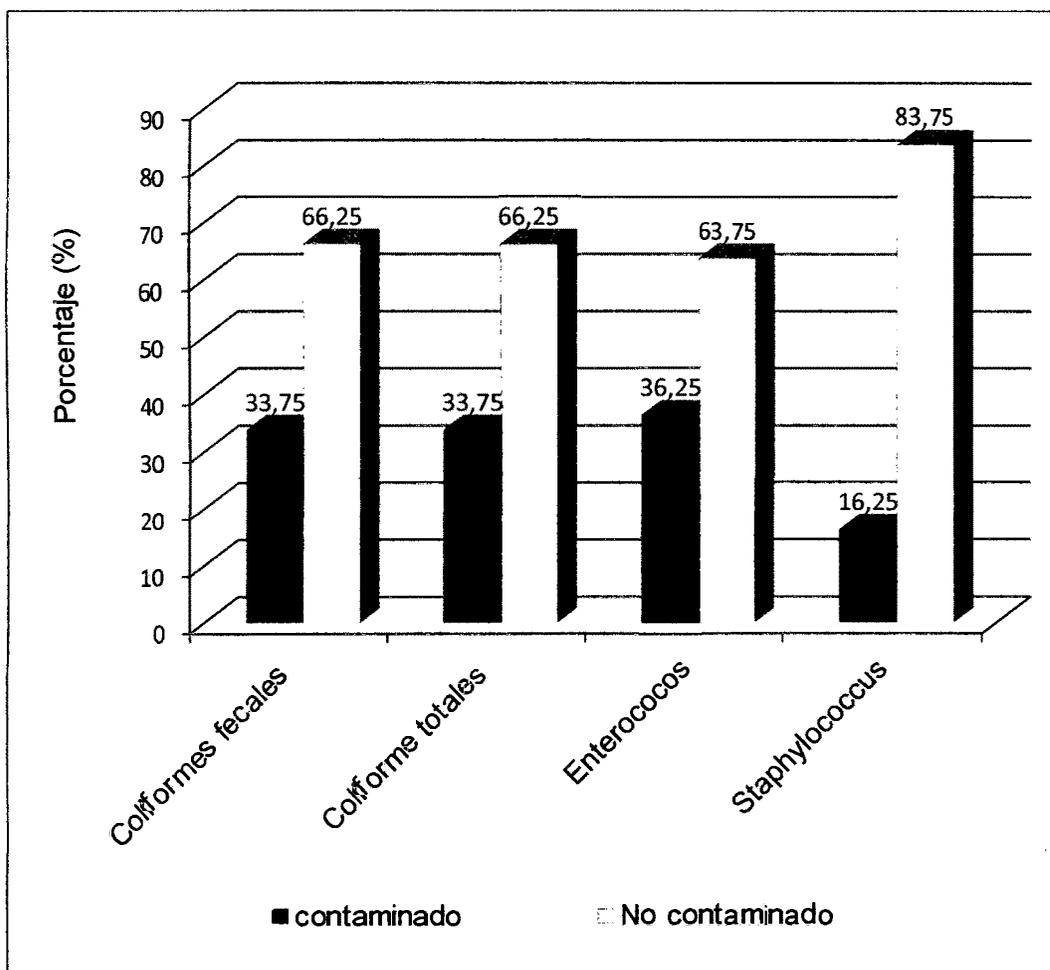


Gráfico N° 06. Porcentaje de los promedios de bebidas contaminadas con coliformes totales, coliformes fecales, enterococos y Staphylococcus en bebidas fermentadas elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta, 2007.

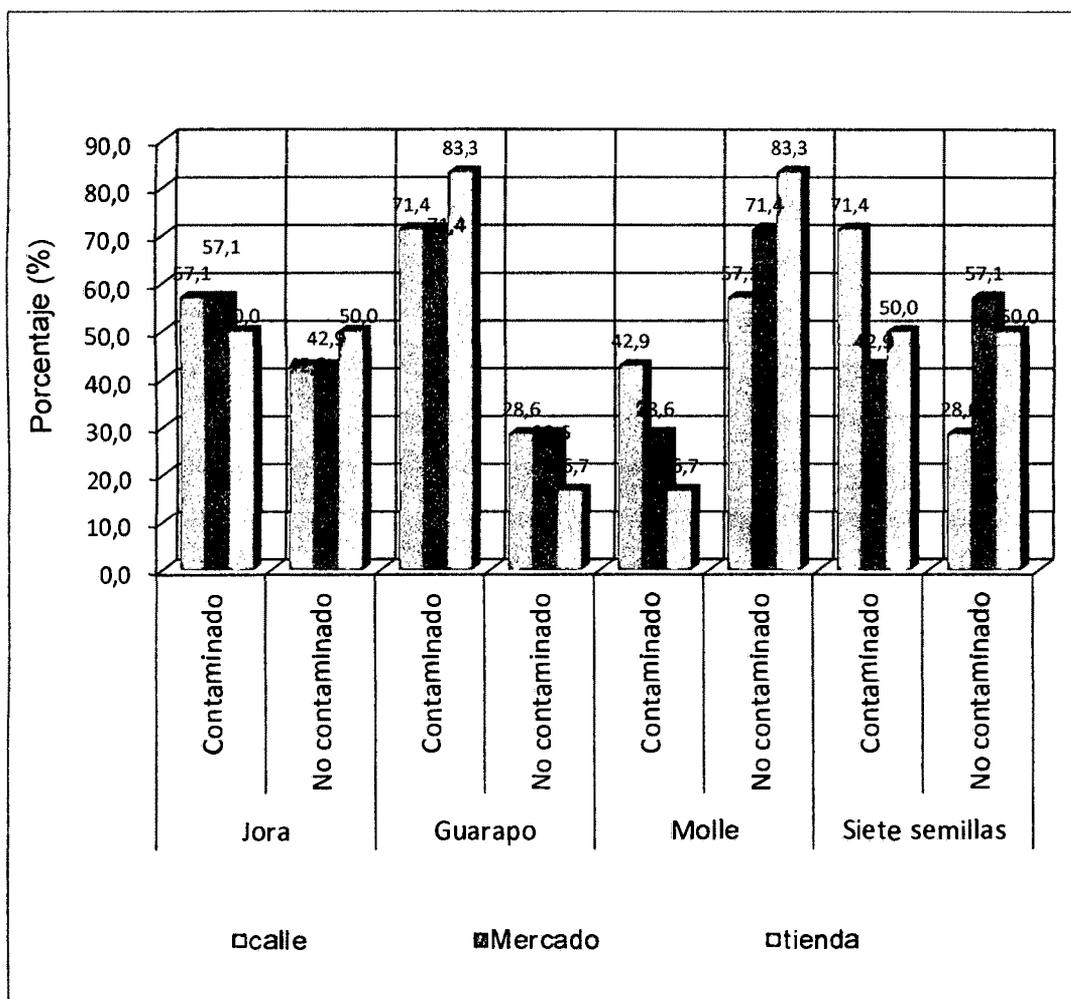


Gráfico N° 07. Porcentaje de cada una de las bebidas fermentadas elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta, contaminadas según el lugar de expendio. Huanta, 2007.

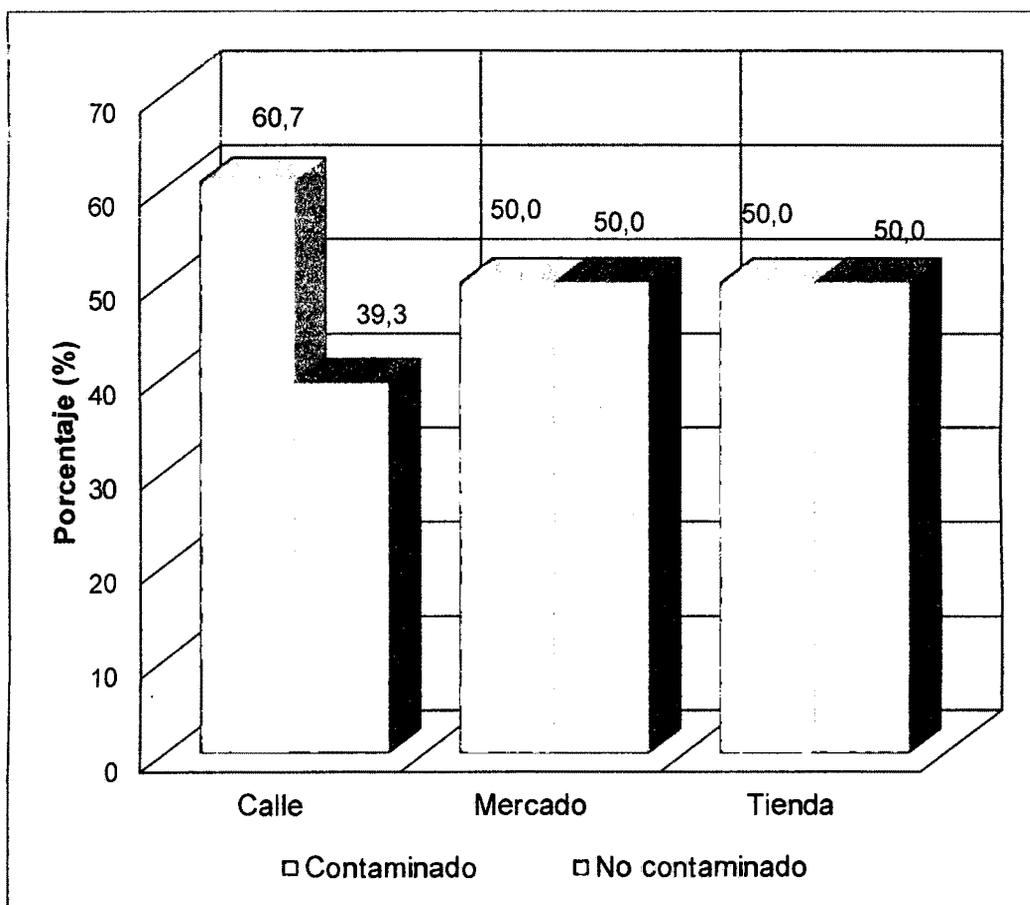


Gráfico N° 08. Porcentaje de los promedios de bebidas fermentadas elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta, contaminadas según el lugar de expendio. Huanta, 2007.

36.25% y *Staphylococcus* con 16.25% de contaminación en las diferentes chichas elaboradas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta. Precisamente estos altos índices de contaminación en estas bebidas nos indican que la chicha de guarapo no es apta para el consumo humano por presentar contaminación fecal y contaminación por bacterias que se encuentra en la piel y fosas nasales de las personas sanas. Esto nos permite entender la alta incidencia de enfermedades gastrointestinales en la población por las condiciones inestables de saneamiento ambiental que presenta la provincia de Huanta. Según otros autores como:

(Chuchón, 2003), concluye en su trabajo de Control microbiológico de bebidas fermentadas, que doce (50%) de las 24 muestras estudiadas serían no aptas para el consumo por contener Coliformes fecales, *Staphylococcus aureus* o *salmonella*.

(Méndez, 2004), en un estudio del desarrollo y validación de una prueba de fácil aplicación para determinación de Enterococos en agua de consumo humano, reporta que la prueba es capaz de detectar 2 UFC/mL de *E. faecalis* equivalente a una dilución de  $1:10^8$  bacterias y 4 UFC/mL de *E. faecium*, que también correspondió a un factor de dilución de  $1:10^8$ .

(Silva, 1997), en el trabajo de tesis realizado salmonella y *Staphylococcus aureus* en bebidas tradicionales reporta, que de 50 muestras de chicha morada el 38.1% y un 41.7% de 50 muestras de chicha de jora, resultaron positivas para la prueba de identificación de *Staphylococcus aureus*.

En el gráfico N° 07, se observa el porcentaje de bebidas fermentadas expendidas en diferentes lugares de la ciudad de Huanta, se observa que la chicha de jora que son bebidas procedentes de calles presentan un 57.1% de contaminación al igual que las bebidas procedentes del mercado y las bebidas que son procedentes de tiendas con un porcentaje de 50% de contaminación. En

la chicha de guarapo se observa que la contaminación es mayor en muestras procedentes de tiendas con un porcentaje de 83% seguido de bebidas procedentes de vía pública (calles) y las bebidas procedentes del mercado con porcentaje de 71.4%. En la chicha de molle el mayor porcentaje de contaminación lo obtienen las bebidas expendidas en las calles con 42.9% y en menor porcentaje las bebidas procedentes de tiendas con 16.7%. Para la chicha de siete semillas se observa que la contaminación es más alta en bebidas procedentes de las calles con 71.4% y en menor porcentaje en bebidas provenientes de mercado con 42.9% de contaminación, con respecto a la distribución promedio de contaminación de las bebidas fermentadas comercializadas en la ciudad de Huanta según lugar de expendio, se aprecia que el 60.7% de bebidas provenientes de las calles están contaminadas, seguida de bebidas provenientes del mercado y tiendas con un porcentaje igual al 50%, esto nos indica en el gráfico N° 08. En consecuencia se puede afirmar que las bebidas provenientes de vía pública (calles) presentan mayor porcentaje de contaminación ya sea por la existencia de basura e intenso tráfico vehicular con la abundante presencia de polvo o lugares donde los buzones de desagüe cercanos se obstruyen permanentemente.

Al comparar nuestros resultados con otros autores podemos precisar que los resultados obtenidos son similares a los hallados por (Serrano, 2000), en chicha de siete semillas en la ciudad de Huanta quien reportó que el 51.2% de muestras procedentes de calles estuvieron contaminados con Coliformes fecales, el 26.6% de muestras contaminados fueron de las tiendas y las muestras procedentes del mercados con un 48% de contaminación.

(Silva, 1997), en el trabajo de tesis realizado salmonella y *Staphylococcus aureus* en bebidas tradicionales que se expenden en la localidad de Huamanga, reporta que las chichas expendidas en las calles adyacentes a centros

educacionales, fueron las que mayor contaminación presentaron con 10% de presencia de *Salmonella* y 22% para *Staphylococcus aureus* mientras que las chichas expendidas en restaurantes y/o casas particulares resultaron ser las menos contaminadas.

## **VI. CONCLUSIONES**

- 1. De las 80 muestras de chicha comercializadas en la ciudad de Huanta el 33.75% estuvieron contaminadas con coliformes totales y coliformes fecales seguido de un 36.25% con enterococos y 16.25% con Staphylococcus.**
- 2. El 60.7% de las bebidas comercializadas en las calles muestran contaminación con coliformes totales, coliformes fecales, enterococos y Staphylococcus seguido de bebidas comercializadas en el mercado y de las bebidas comercializadas en tiendas con 50% de contaminación.**
- 3. No cumplen los requisitos de control microbiológico para coliformes según las normas legales de la DIGESA, 35% para la chicha de jora, 50% para la chicha de guarapo, 45% para la chicha de siete semillas y 5% para la chicha de molle.**

## VII. RECOMENDACIONES

1. Capacitar y orientar de manera individual o colectiva a las personas micro comerciantes que se dedican a la actividad de venta de bebidas fermentadas elaboradas artesanalmente, en todos los puestos de venta de la ciudad de Huanta y demás, la capacitación debe ser efectuada por los funcionarios del Gobierno Local y Organizaciones con fines no lucrativos, y el control debería ser por las mismas instancias, sin perjuicio de ser sancionados administrativamente y judicialmente para aquellas personas irresponsables que atenta contra la salud pública.
2. Promover, fomentar y propiciar a las actividades económicas informales en una actividad empresarial y certificada.
3. Es necesario llevar acabo más estudios de investigación no solo en bebidas, sino, en una serie de alimentos que se distribuyen en forma ambulatoria, cuya venta se realiza sin una adecuada condición sanitaria, y así poder proporcionarlas medidas preventivas que el caso lo requiera.
4. Realizar estudios que conduzcan a formular la Norma Técnica Peruana para bebidas fermentadas artesanalmente.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Alvarado, A.** 2008. Huanta Mostrando al mundo nuestra imagen. Disponible en: <http://www.huanta.com/datos-generales/>
2. **Bécquer, A.**1996. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.
3. **Brooks, G., Botel, J. y Morse, S.** 2005. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelbe Edición dieciochoava. Editorial El Manual Moderno S.A. México.
4. **Carrasco, E.**1998. Estudio de los aceites y determinación de la actividad antimicrobiana del fruto de *Schinus molle* L. Tesis de Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos. UNMSM. Lima
5. **Cuba, G.** 1997. Contaminación Fecal y *Staphylococcus aureus* en Alimentos Expendidos en la Vía Pública – Ayacucho. TESIS UNSCH
6. **Chuchón, S.** 2003. Control Microbiológico de las Bebidas fermentadas Tradicionales del Departamento de Ayacucho.
7. **Chuchón, S. y Apaico, N.** 2010. Manual de prácticas de microbiología ambiental. UNSCH.
8. **Díaz, M., Rodríguez, C. y Zhurbenko, R.** 2010. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Centro Nacional de Biopreparados de ciudad de La Habana Cuba.
9. **Eley, A.** 2009. Intoxicaciones Alimentarias de Etiología Microbiana. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España. (Última modificación por Agustín León Alonso-Cortés).
10. **Frazier, W.** 2003. Microbiología de los Alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza- España (última modificación).
11. **Jiménez, R., González, N., Magaña, A. y Corona, A.** 2010. Evaluación Microbiológica y Sensorial de Fermentados de Pozol blanco, con cacao (*Theobroma cacao*) y coco (*Cocos nucifera*). Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.  
Disponible en: URL: [http:// www.rvcta.org](http://www.rvcta.org) (Acceso abril 2011).
12. **López, I., Orozco, E. y Elton, P.** 2003. Calidad Sanitaria de Bebidas Preparadas que se Ofrecen al Público en una Institución de Educación Superior en Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

13. **Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J.** 2008. Brock Biología de los Microorganismos. Décima edición. Editorial Pearson.
14. **Méndez, A.** 2004. Desarrollo y Validación de una Prueba de Fácil Aplicación para Determinación de Enterococos en Agua de Consumo Humano. Universidad de Guatemala.
15. **MINSA/DIGESA.** 2003. Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de consumo Humano. Disponible en: URL:  
<http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/362.pdf>
16. **Mujica, F.** 2003. Caracterización Bioquímica y Tecnológica de Bebidas Fermentadas Tradicionales – Ayacucho.
17. **Nelson, D. y Cox, M.** 2006. Lehninger Principios de Bioquímica. Cuarta edición. Editorial Omega, España.
18. **Olarte, M., Martínez, J., Acosta, P. y Garzón, M.** 2007. Determinación de los Niveles de Etanol, Metanol y Acetaldehído en el Guarapo Elaborado en los Municipios de Cundinamarca. Colombia.
19. **Organización Mundial de la Salud.** 2007. Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. Departamento de Inocuidad de los Alimentos, Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria.  
Disponible en: URL:  
[http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual\\_keys\\_es.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf)
20. **Pauli, A.** 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. International journal of aromatherapy.
21. **Páez, C.** 2009. Determinación de Coliformes Fecales y Totales en Expendio de Alimentos en Establecimientos Formales en el distrito de la ciudad de la Paz. Bolivia. Disponible en: URL:  
<http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/638/1/TN1034.pdf>
22. **Pardo, O.** 2007. Las Chichas en el Chile Precolombino. Revista chilena de flora y vegetación. Chile.
23. **Pelczar, M., Chan, E. y Krieg, N.** 1999. Microbiología. Cuarta edición. Editorial Mc Graw Hill. España.
24. **Quillama, E.** 2009 Ficha de Requisitos Técnicos de Acceso Al Mercado de EE.UU.

Proyecto chicha de jora. Disponible en: URL:

<http://www.piuracomercioyturismo.org/Comercio/docs/Fichas/TOMO%20V%20VEGETALES%20Y%20OTROS%20III/Chicha%20de%20Jora.pdf> (Acceso abril 2011).

25. **Sánchez, P.** 1996. Curso: Métodos actuales para la evaluación microbiológica de la calidad del agua. CEPIS. Lima
26. **Serrano, E.** 2000. Determinación de puntos de contaminación por Coliformes fecales (*Escherichia coli*) y *Staphylococcus aureus* en la elaboración de chicha de siete semillas que se expende en la ciudad de Huanta 1999. Tesis para optar el título de Bióloga. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH. Ayacucho – Perú.
27. **Schlegel, H.** 1997. Microbiología general. Editorial Omega S.A. Barcelona - España.
28. **Silva, S.** 1998. *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en Bebidas Tradicionales: Chicha de Jora y Chicha de Maíz Morado, que se expenden en la Localidad de Huamanga –Ayacucho. TESIS UNSCH.
29. **Wacher, C.** 1999. Alimentos y Bebidas Fermentados Tradicionales. En Biotecnología Alimentaria. Editorial LIMUSA, México.
30. **Zambrano, M. y Clarixia, L.** 2009. Caracterización Microbiológica de dos Bebidas fermentadas Autóctonas (Chicha de Maíz y Masato de arroz) Provenientes de un establecimiento del Estado de Táchira, Venezuela. Universidad Nacional Experimental del Táchira.
31. **Zorimar, R. y Elba, J.** 2002. Comparación de coliformes y colifagos como indicadores microbiológicos de la calidad del agua en los embalses dos bocas y las curias. Puerto Rico.

## ANEXOS

ANEXO N° 01

Distribución de los lugares de contaminación según lugar de expendio de los diferentes tipos de chicha fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho 2007.

Procedencia	Jora		Guarapo		Molle		Siete semillas	
	contaminado	no contaminado	contaminado	no contaminado	contaminado	no contaminado	contaminado	no contaminado
Calle		+		+		+		+
Mercado	+		+			+	+	
Tienda	+		+			+	+	
Calle	+		+		+		+	
Mercado	+		+			+	+	
Tienda		+		+		+		+
Calle		+		+	+		+	
Mercado		+	+		+		+	
Tienda	+		+		+		+	
Calle	+		+			+	+	
Mercado	+		+		+			+
Tienda		+	+			+		+
Calle	+		+			+	+	
Mercado		+		+		+		+
Tienda		+	+			+		+
Calle	+		+			+	+	
Mercado	+		+			+		+
Tienda	+		+			+	+	
Calle		+	+		+			+
Mercado		+		+		+		+
TOTAL	11	9	15	5	6	14	11	9
PORCENTAJE	55	45	75	25	30	70	55	45

ANEXO N° 02

Distribución porcentual según lugar de expendio de chichas contaminadas y no contaminadas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho 2007.

Tipo de muestras	Jora		Guarapo		Molle		7 semillas	
	Contaminado	No contaminado						
Calle	57.1	42.9	71.4	28.6	42.9	57.1	71.4	28.6
Mercado	57.1	42.9	71.4	28.6	28.6	71.4	42.9	57.1
Tienda	50.0	50.0	83.3	16.7	16.7	83.3	50.0	50.0

ANEXO N° 03

Resultados del análisis de control microbiológico de chicha de jora comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho –2007.

N°	MUESTRA Chicha de:	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS			
		Coliformes fecales NMP/100 ml	Coliformes totales NMP/100 ml	Enterococos	Staphylococcus
1	Jora	<3	<3	<3	AUSENTE
2	Jora	40x10 <sup>1</sup>	40x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
3	Jora	< 3	< 3	23	AUSENTE
4	Jora	< 3	< 3	4	AUSENTE
5	Jora	90x10 <sup>1</sup>	90x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
6	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
7	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
8	Jora	< 3	< 3	3	AUSENTE
9	Jora	< 3	< 3	4	AUSENTE
10	Jora	15x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>2</sup>	<3	AUSENTE
11	Jora	90x10 <sup>1</sup>	90x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
12	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
13	Jora	15x10 <sup>3</sup>	15x10 <sup>3</sup>	< 3	AUSENTE
14	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
15	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
16	Jora	15x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
17	Jora	< 3	< 3	4	AUSENTE
18	Jora	15x10 <sup>2</sup>	21x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
19	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
20	Jora	< 3	< 3	< 3	AUSENTE

ANEXO N° 04

Resultados del análisis de control microbiológico de chicha de guarapo comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho – 2007.

N°	MUESTRA Chicha de:	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS			
		Coliformes fecales NMP/100 ml	Coliformes totales NMP/100 ml	Enterococos	Staphylococcus
1	Guarapo	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
2	Guarapo	43x10 <sup>2</sup>	43x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
3	Guarapo	< 3	< 3	7	AUSENTE
4	Guarapo	75x10 <sup>2</sup>	75x10 <sup>2</sup>	7	PRESENTE
5	Guarapo	43x10 <sup>2</sup>	43x10 <sup>2</sup>	46x10 <sup>1</sup>	PRESENTE
6	Guarapo	< 3	< 3	3	PRESENTE
7	Guarapo	< 3	< 3	3	AUSENTE
8	Guarapo	93x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>3</sup>	15	PRESENTE
9	Guarapo	< 3	< 3	15	PRESENTE
10	Guarapo	20x10 <sup>2</sup>	20x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
11	Guarapo	90x10 <sup>1</sup>	90x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
12	Guarapo	11x10 <sup>4</sup>	11x10 <sup>4</sup>	< 3	AUSENTE
13	Guarapo	46x10 <sup>3</sup>	46x10 <sup>3</sup>	4	AUSENTE
14	Guarapo	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
15	Guarapo	< 3	< 3	7	PRESENTE
16	Guarapo	93x10 <sup>2</sup>	93x10 <sup>2</sup>	4	PRESENTE
17	Guarapo	< 3	< 3	4	PRESENTE
18	Guarapo	93x10 <sup>2</sup>	93x10 <sup>2</sup>	4	AUSENTE
19	Guarapo	< 3	< 3	7	PRESENTE
20	Guarapo	< 3	< 3	< 3	AUSENTE

ANEXO N° 05

Resultados del análisis de control microbiológico de chicha de molle comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho-2007.

N°	MUESTRA Chicha de:	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS			
		Coliformes fecales NMP/100 ml	Coliformes totales NMP/100 ml	Enterococos	Staphylococcus
1	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
2	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
3	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
4	MOLLE	< 3	< 3	7	PRESENTE
5	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
6	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
7	MOLLE	< 3	< 3	4	AUSENTE
8	MOLLE	< 3	< 3	4	PRESENTE
9	MOLLE	< 3	< 3	4	PRESENTE
10	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
11	MOLLE	40x10 <sup>1</sup>	40x10 <sup>1</sup>	<3	AUSENTE
12	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
13	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
14	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
15	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
16	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
17	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
18	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE
19	MOLLE	< 3	< 3	4	PRESENTE
20	MOLLE	< 3	< 3	<3	AUSENTE

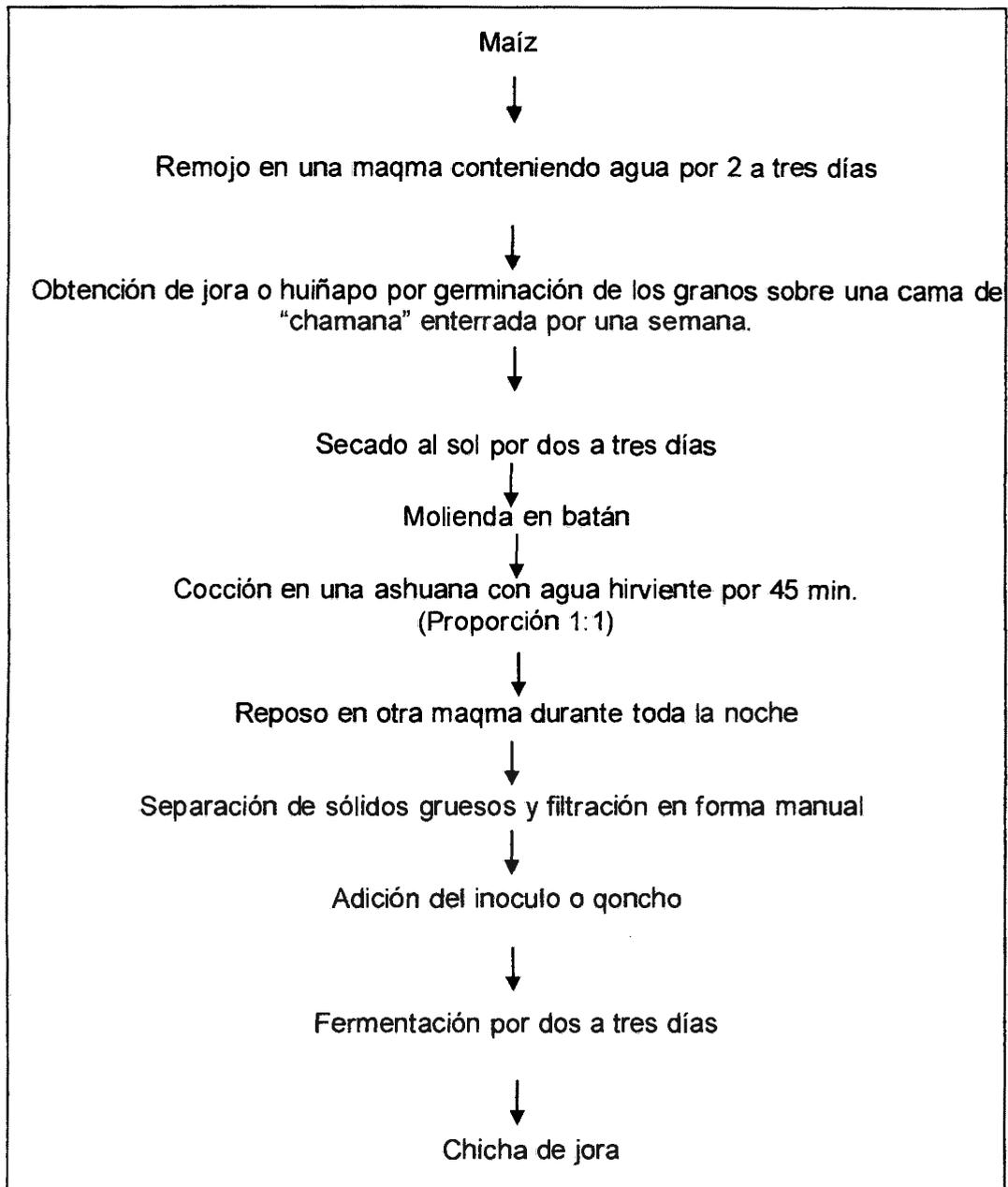
## ANEXO N° 06

Resultados del análisis de control microbiológico de chicha de siete semillas comercializadas en la ciudad de Huanta. Ayacucho–2007.

N°	MUESTRA Chicha de:	PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS			
		Coliformes fecales NMP/100 ml	Coliformes totales NMP/100 ml	Enterococos	Staphylococcus
1	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
2	7 SEMILLAS	43x10 <sup>2</sup>	43x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
3	7 SEMILLAS	90x10 <sup>1</sup>	90x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
4	7 SEMILLAS	21x10 <sup>2</sup>	93x10 <sup>2</sup>	4	AUSENTE
5	7 SEMILLAS	40x10 <sup>1</sup>	40x10 <sup>1</sup>	7	AUSENTE
6	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
7	7 SEMILLAS	43x10 <sup>2</sup>	93x10 <sup>2</sup>	7	AUSENTE
8	7 SEMILLAS	15x10 <sup>3</sup>	15x10 <sup>3</sup>	7	AUSENTE
9	7 SEMILLAS	< 3	< 3	7	AUSENTE
10	7 SEMILLAS	70x10 <sup>1</sup>	70x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
11	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
12	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
13	7 SEMILLAS	70x10 <sup>1</sup>	70x10 <sup>1</sup>	< 3	AUSENTE
14	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
15	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
16	7 SEMILLAS	15x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>2</sup>	< 3	AUSENTE
17	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
18	7 SEMILLAS	< 3	< 3	7	AUSENTE
19	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE
20	7 SEMILLAS	< 3	< 3	< 3	AUSENTE

ANEXO N° 07

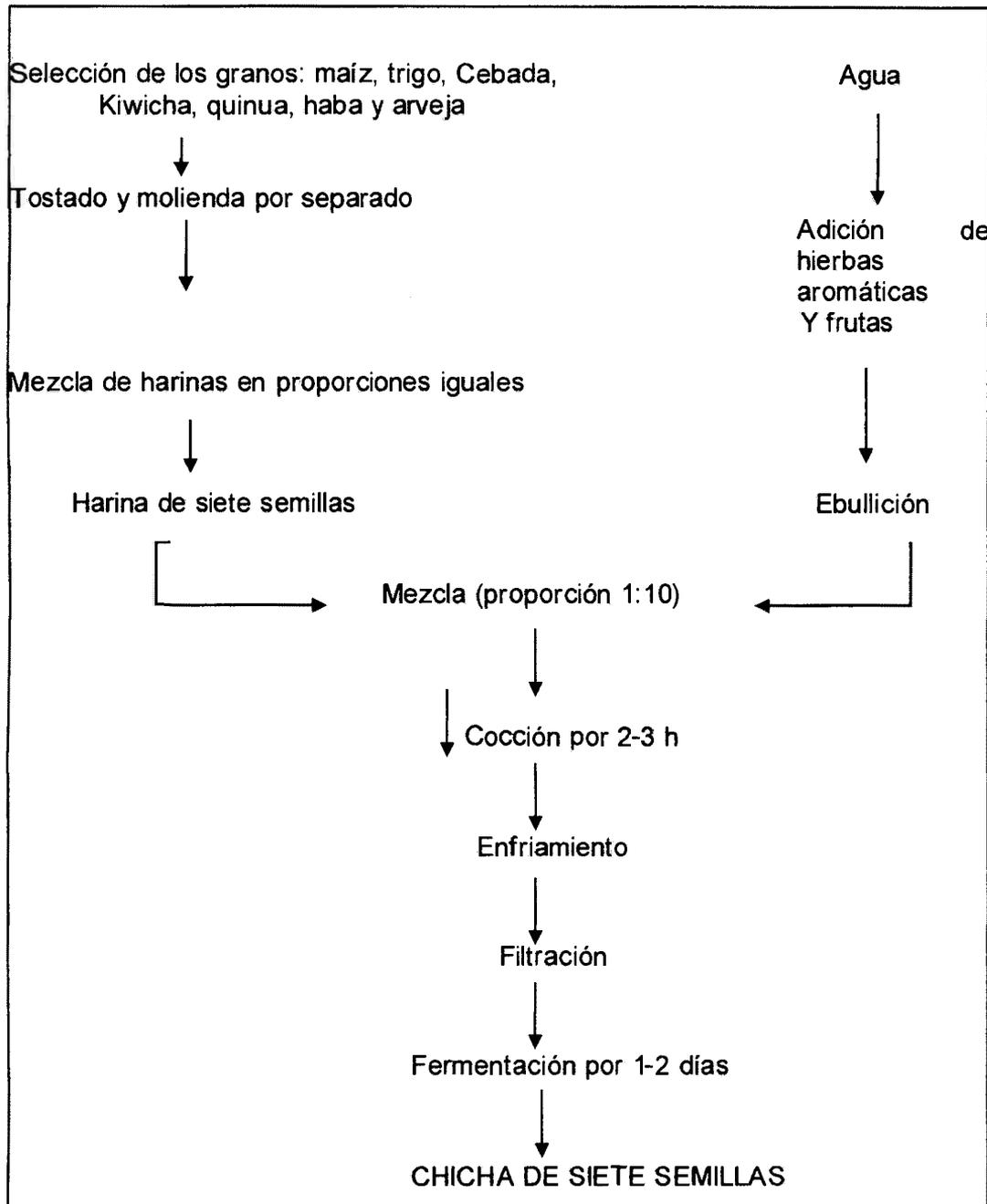
**Flujo de la producción de la chicha de jora**



Fuente: Mujica, 2003

ANEXO N° 08

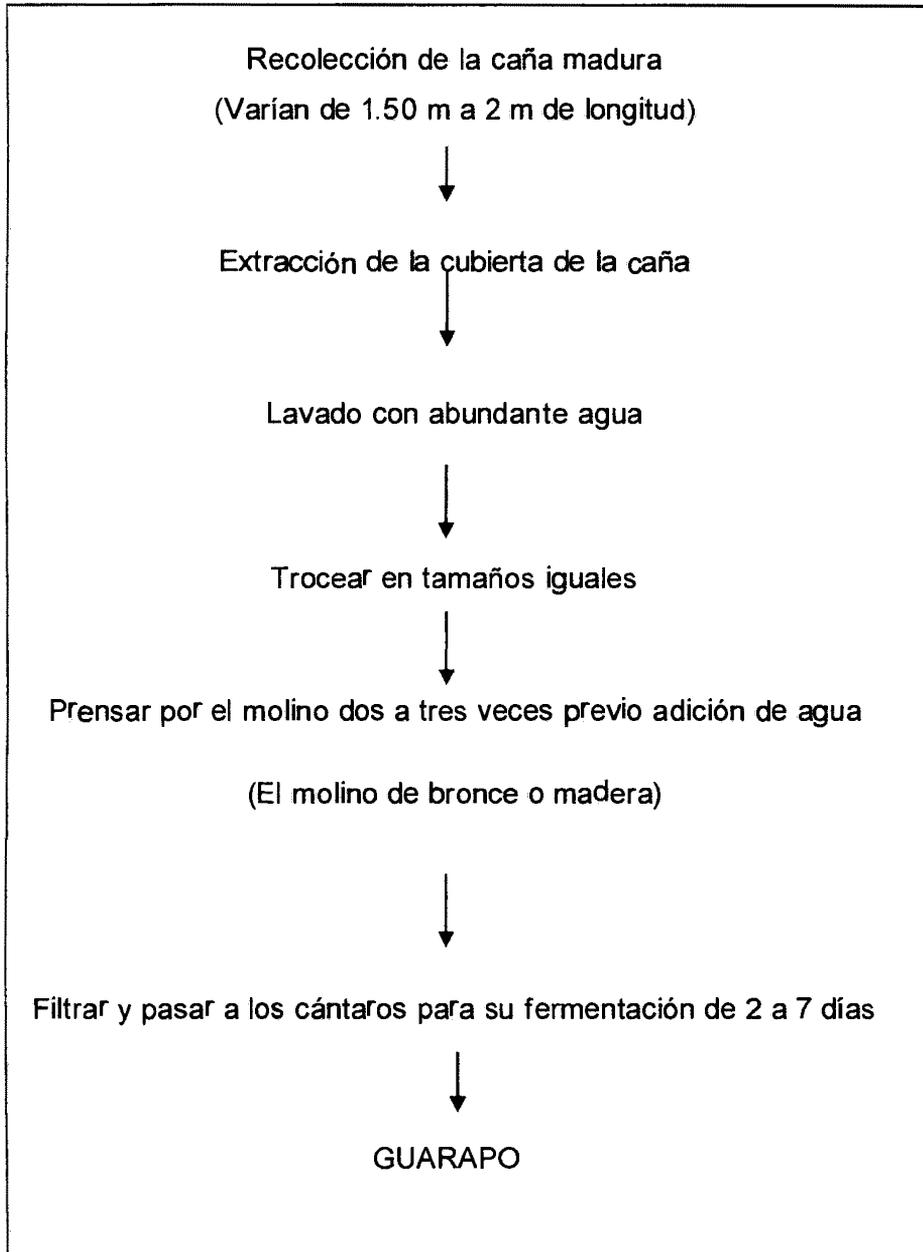
**Flujo de la producción de la chicha de siete semillas**



Fuente: Mujica, 2003

ANEXON° 09

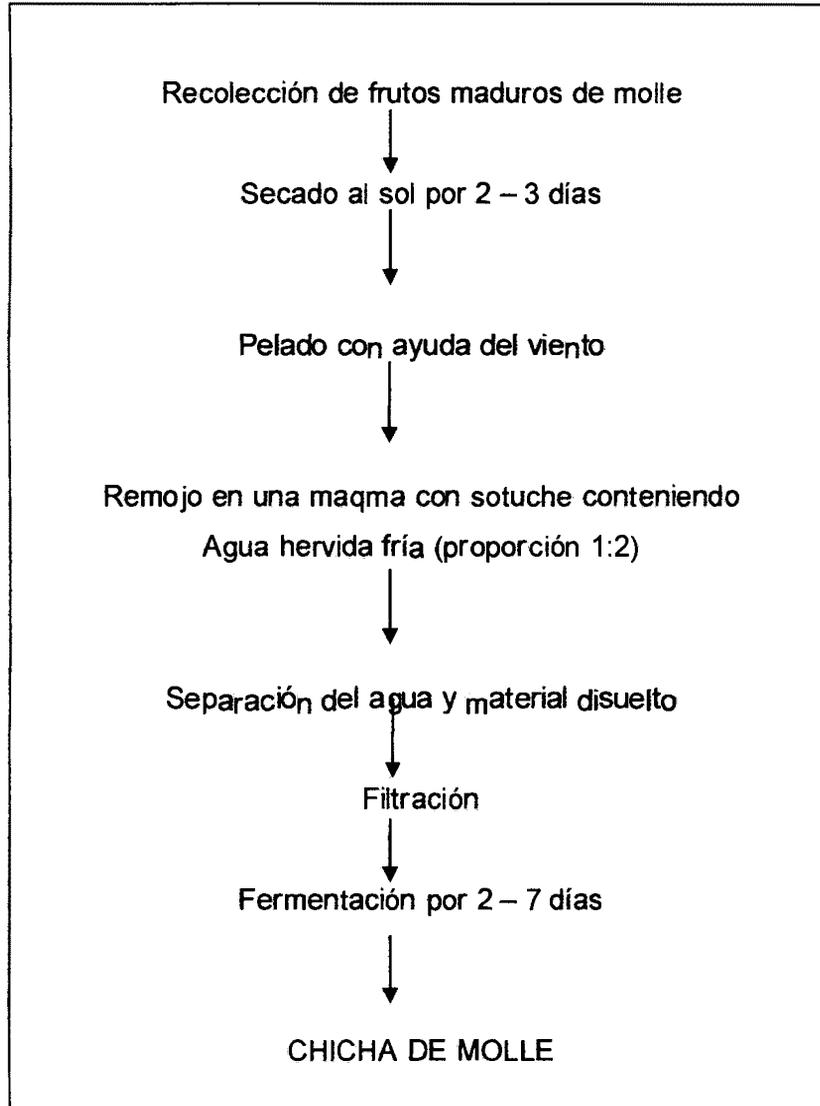
**Flujo de la producción de la chicha de caña o guarapo**



Fuente: Olarte, 2007

## ANEXO N° 10

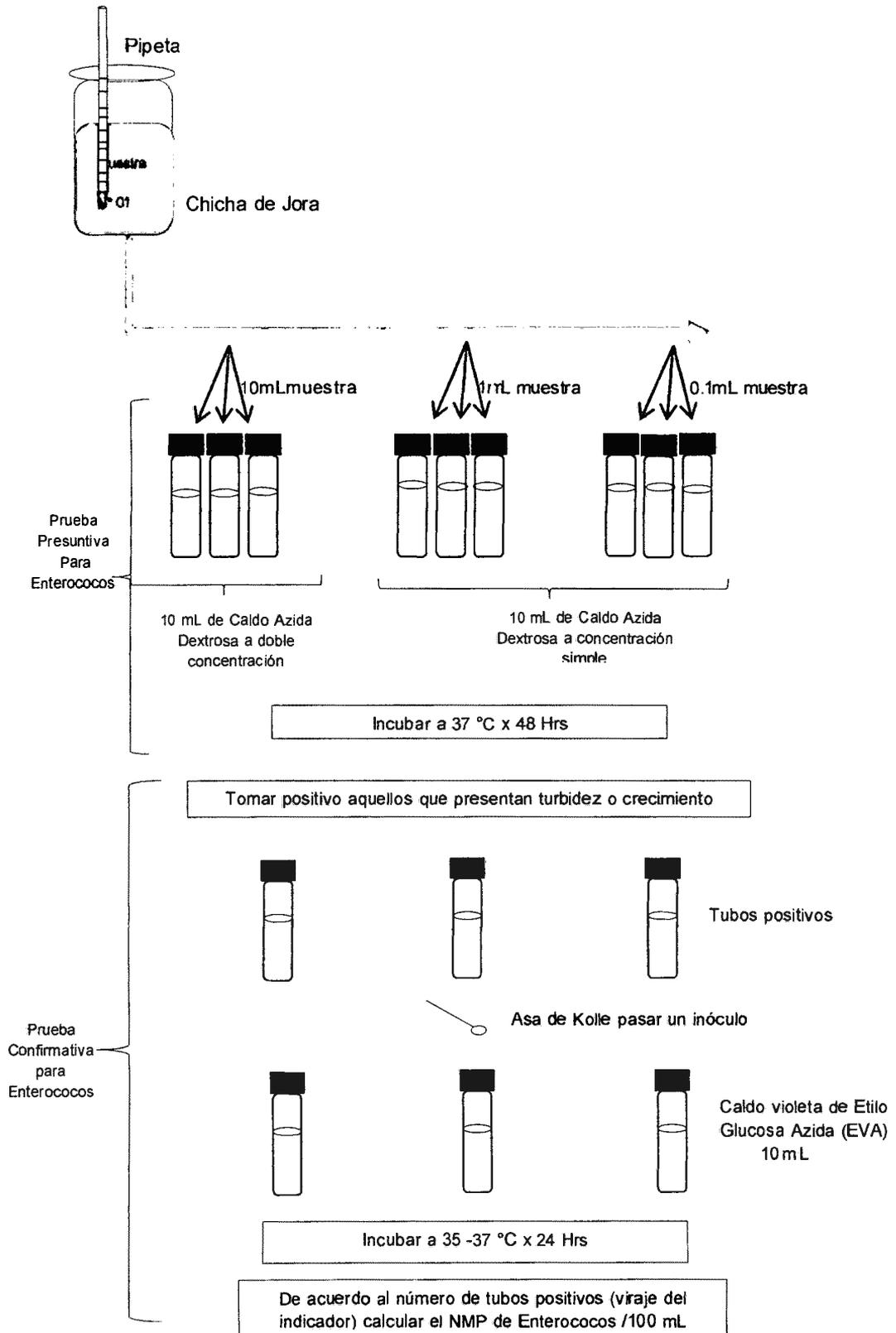
### Flujo de la preparación de la chicha de molle



Fuente: Mujica, 2003

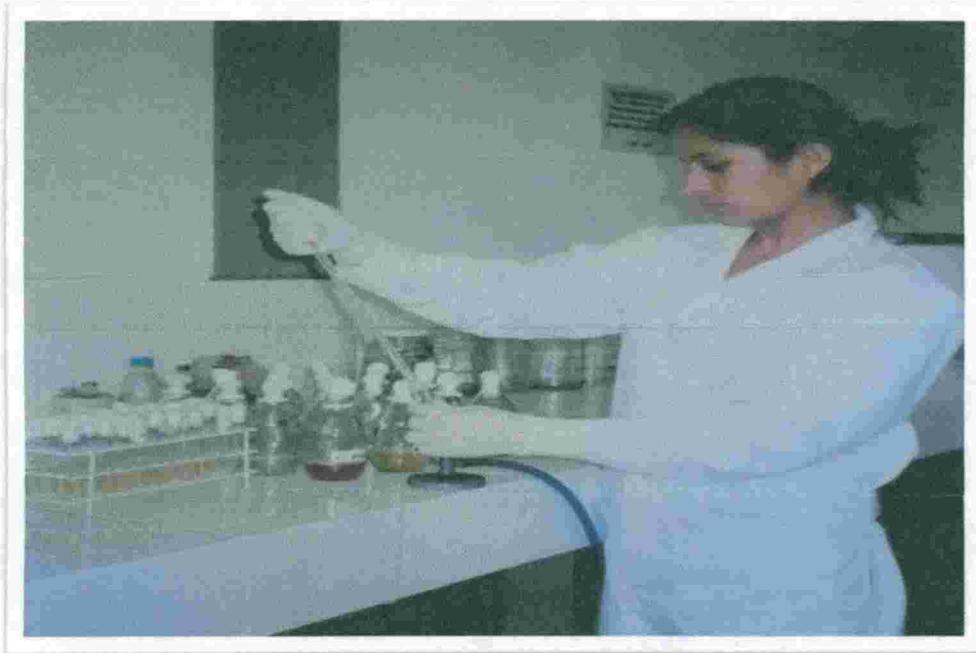
ANEXO N° 11

**Numeración de Enterococos**  
**Determinación del número más probable (NMP)**

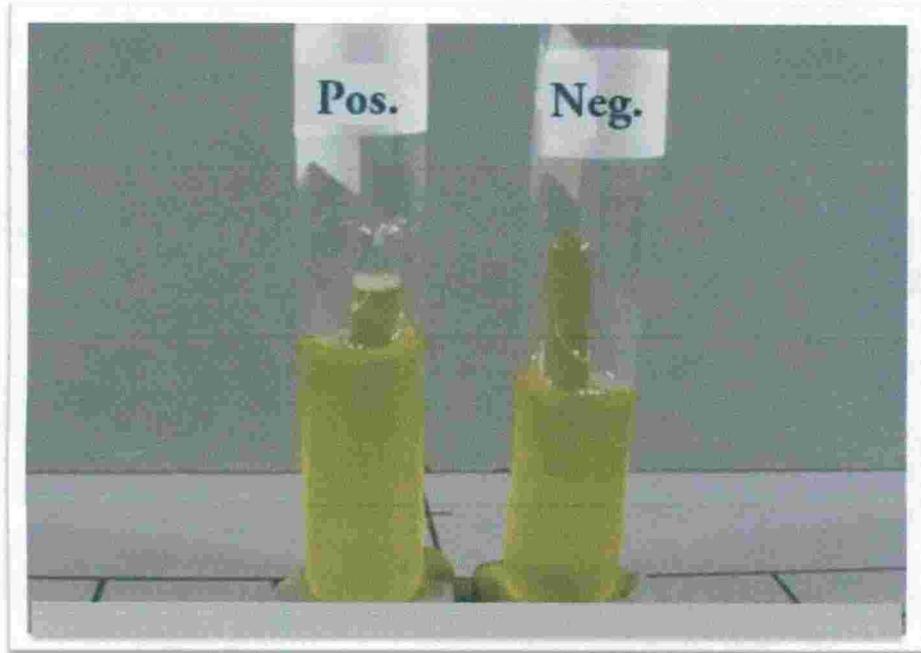




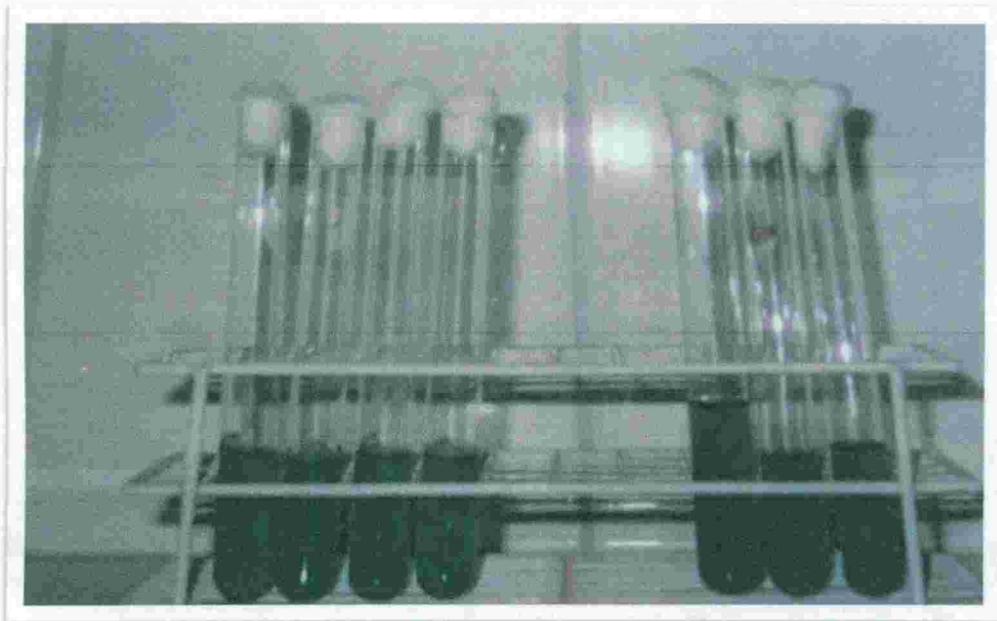
Fotografía N° 01. Frascos con muestras de chichas, para la identificación de microorganismos, recolectadas de la ciudad de Huanta. Ayacucho 2007.



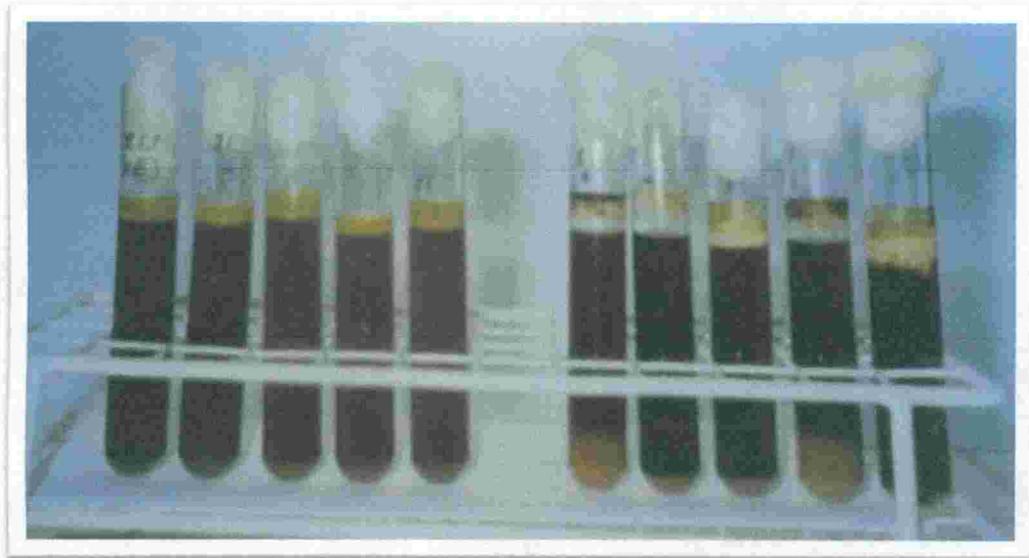
Fotografía N° 02. Preparación de las diferentes diluciones y la posterior siembra en caldo lauril sulfato triptosa.



Fotografía N° 03. Producción de CO<sub>2</sub> en tubo de fermentación con Caldo Lauryl Sulfato Tryptosa



Fotografía N° 04. Tubos negativos con caldo lactosado verde brillante billis (CLVBB)2%.



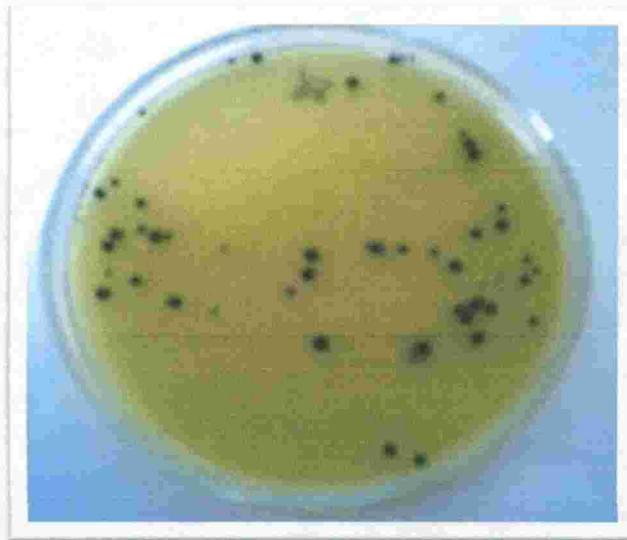
Fotografía N°05. Tubos con caldo azida dextrosa que muestran viraje del indicador y turbidez (positivos).



Fotografía N° 06. Siembra en agar selectivo para la identificación de enterococos



Fotografía N° 07. Resultado negativo en placa con agar selectivo para la identificación de enterococos



Fotografía N° 08. Resultado positivo en placas de agar Baird - Parker para aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p><i>Coliformes, Staphylococcus y Enterococcus</i> en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta, 2007.</p>	<p>¿Cuál será el grado de contaminación con <i>Coliformes, Staphylococcus</i> y <i>Enterococcus</i> de las bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar el grado de contaminación con <i>Coliformes, Staphylococcus</i> y <i>Enterococcus</i> en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.</li> </ul> <p><b>OBJETIVO ESPECÍFICO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Cuantificar coliformes totales y coliformes fecales en las bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.</li> <li>Cuantificar enterococos en las bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.</li> <li>Detectar <i>Staphylococcus</i> en las bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta.</li> </ul>	<p><b>MARCO TEÓRICO</b></p> <p><b>DESCRIPCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN ESTUDIO</b></p> <p><i>Staphylococcus aureus</i>. Se trata de un estafilococo típico que se presenta en a cúmulos, parecidos a los racimos de uvas, en parejas en forma de cadenas cortas, los cocos jóvenes son fuertemente Gram positivos después de envejecer muchas células se vuelven Gram negativos. 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.</p> <p><b>Coliformes totales</b>. Son clasificados como bacilos Gram Negativos aerobios y anaerobios facultativos no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácidos y gas, después de la incubación durante 24 - 48 horas a 37°C. El grupo está formado por tres géneros y una especie de bacterias comensales de intestino de animales homeotermicos entre ellos: <i>Citrobacter spp.</i>, <i>Klebsiella spp.</i> y <i>Escherichia coli</i>, <i>Enterobacter cloacae</i> y <i>Citrobacter freundii</i>, presentes tanto en las heces de los animales homeotermicos, como en el medio ambiente y bebidas ricas en nutrientes.</p> <p><b>Coliformes fecales</b></p> <p><i>Escherichia coli</i>. Forma parte de la microbiota normal del Intestino grueso del hombre y de los animales homeotermicos; la mayoría de las cepas de este origen no son patógenas, sin embargo, algunas cepas pueden producir infecciones del tracto urinario, de heridas entéricas, así también intoxicación alimentaria ocasionalmente septicemia y meningitis.</p> <p><b>Enterococos</b>. Forman parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales. Causan enfermedad cuando se introducen en los tejidos, sangre, sistema urinario o meninge. Los Enterococos son muy resistentes a muchos agentes antimicrobianos. Las penicilinas a menudo inhiben su crecimiento pero no los mata a menos que se halle presente un aminoglicósido.</p>	<p>El grado de contaminación con Coliformes, <i>Staphylococcus</i> y <i>Enterococcus</i> en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta no cumplen con los requisitos microbiológicos de acuerdo a las Normas Legales de la DIGESA.</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Condiciones de preparación y comercialización de las bebidas fermentadas.</p> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Contaminación con coliformes totales, coliformes fecales, <i>Staphylococcus</i> y Enterococos</p>	<p><b>Análisis microbiológico de muestras de chicha</b></p> <p><b>Prueba presuntiva y confirmativa para coliformes fecales por el método del (NMP)</b></p> <p>Se sembró 1 ml de cada una de las diluciones seleccionadas en 10 ml de caldo lauril sulfato triptosa, cada dilución se sembró con tres repeticiones. Se incubó a 37°C x 24 a 48h.</p> <p>Se realizaron las primeras lecturas de las pruebas transcurrido las 24 horas; la producción de gas en tubos de fermentación, se tomaron como resultado positivo.</p> <p>Se seleccionaron tres series de tubos positivos de la prueba presuntiva (caldo lauril sulfato triptosa). Se confirmó en caldo EC. Medio para <i>Escherichia coli</i> se sembró un inóculo de cada tubo positivo de las tres series seleccionadas, en igual número de tubos de Medio EC.</p> <p>Se incubó en baño maría a 44.5°C durante 24 horas. Realizar la lectura y leer en la tabla del NMP.</p> <p><b>Cuantificación de enterococos por el método del NMP</b></p> <p><b>Prueba Presuntiva y Prueba Confirmativa</b></p> <p>Se inoculó 10 mL de la muestra sin diluir en 3 tubos conteniendo 10 mL de caldo azida dextrosa a concentración doble.</p> <p>Se inoculó a otros 3 tubos con 10 mL de caldo azida dextrosa a concentración normal, 1 mL de muestra, se repitió el procedimiento en otros 3 tubos con el mismo medio inoculando esta vez 0.1 mL de muestra y así sucesivamente para cada tipo de muestra, luego se incubó a 37°Cx 24h.</p> <p>Se procedió a examinar cada tubo para determinar la turbidez y viraje del indicador. Se sometieron a la prueba confirmativa a todos los tubos con medio Azida Dextrosa que mostraron turbidez cambio de indicador a las 24 o 48 horas de incubación.</p> <p>Se sembró un inóculo de cada tubo positivo con medio Azida Dextrosa de doble concentración en tubos con 10 ml de caldo violeta de etilo glucosa azida (EVA), y para la concentración normal se sembró un inóculo de cada tubo positivo con medio azida dextrosa a los tubos que contienen volúmenes de 1 ml y 0.1 ml en tubos con 10 ml de caldo EVA, la inoculación se realizó con un asa de Kollie en condiciones asépticas.</p> <p>Se incubó los tubos inoculados a 35 - 37 °C x 24h. Luego se procedió a la lectura confirmativa donde se observaron el cambio de color y turbidez.</p> <p><b>Detección de <i>Staphylococcus aureus</i></b></p> <p>Se procesaron mediante el método de siembra por extensión, utilizando una espátula de Drigalsky. El sembrado se hizo directamente de la muestra de cada tipo de chicha</p> <p>Se inoculó 0.1 ml de muestra en placas por duplicado, el cultivo se realizó en agar Baird - Parker, a lo cual se añadieron una emulsión de yema de huevo más telurito de potasio.</p> <p>Las placas se incubaron a 37°C por 48 a 72 horas, las colonias típicas de color negro, rodeadas de un halo transparente fueron sometidas a la prueba bioquímica de la Coagulasa.</p> <p><b>3.7. Análisis de datos</b></p> <p>Los datos obtenidos se representaron en gráficos y cuadros estadísticos para los respectivos agentes contaminantes.</p>

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

R. D. N° 196 – 2011 – FCB - D

Bach. ROSARIO CISNEROS HUAMÁN

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y media de la tarde del día jueves treinta de junio del dos mil once en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas bajo la presidencia del MS. Elmer Ávalos Pérez como decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y con la asistencia de los docentes miembros del jurado calificador: Magister Vidalina Andía Ayme, Magister Víctor Cárdenas López (Asesor), Q.F. Mg. Hugo Roberto Luna Molero (Cuarto Jurado) actuando como secretaria docente la Magister Maricela López Sierralta para recepcionar la sustentación de Tesis: Coliformes, Staphylococcus y Enterococcus en bebidas fermentadas artesanalmente y comercializadas en la ciudad de Huanta- Ayacucho 2007.de la bachiller en Farmacia y Bioquímica Rosario Cisneros Huamán quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

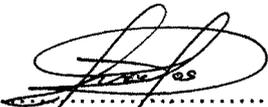
Inicia el Acto de sustentación el Decano de la Facultad, solicitando a la Secretaria Docente la revisión de los documentos en mesa y la lectura de la Resolución Decanal N° 196 – 2011 – FCB – D de fecha veinte de junio del presente año. Luego instruye a la sustentante en aspectos relacionados a la sustentación debiendo exponer en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos.

Culminada la exposición del trabajo de investigación por parte de la sustentante se da inicio a la segunda etapa del acto de sustentación en el cual los docentes miembros del jurado calificador realizan las observaciones y preguntas que crean conveniente para la evaluación correspondiente iniciando su participación el profesor Hugo Luna como cuarto jurado calificador, luego la profesora Vidalina Andía y finalmente el profesor Víctor Cárdena López (como asesor del trabajo de investigación).

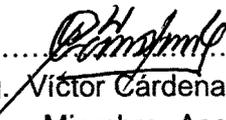
Seguidamente el Decano solicita a la sustentante y público en general que abandone el Auditorio para que el jurado calificador pueda deliberar y evaluar como sigue:

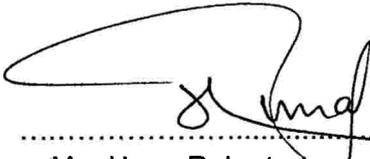
JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTAS A PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. Vidalina Andía Ayme	17	16	17
Mg. Víctor Cárdenas López	17	17	17
Mg. Hugo Roberto Luna Molero	17	17	17

De la evaluación realizada la sustentante obtiene una calificación promedio de Diecisiete (17) de lo cual dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación siendo las seis y quince de la noche.

  
.....  
MS. Elmer Avalos Pérez  
Presidente

  
.....  
Mg. Vidalina Andía Ayme  
Miembro

  
.....  
Mg. Víctor Cárdenas López  
Miembro- Asesor

  
.....  
Mg. Hugo Roberto Luna Molero  
Miembro

  
.....  
Mg. Maricela López Sierralta  
Secretaria- Docente