



CONSIDERACIÓN BÁSICA SOBRE LA SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS JUGOS DE NARANJA EXPENDIDOS EN LOS ALREDEDORES DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA-SEDE QUITO, CAMPUS “EL GIRÓN”

BASIC CONSIDERATION ON THE MICROBIOLOGICAL SAFETY OF THE ORANGE
JUICES EXPENDED IN THE SURROUNDINGS OF THE SALESIAN POLYTECHNIC
UNIVERSITY-QUITO CAMPUS, CAMPUS “EL GIRÓN”

Roberto Calderón¹, Juan Diego Jácome^{1,*}, Michael Reyes¹, Danny Rojas¹ y
Lenin J. Ramírez Cando^{2,3}

¹ Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad, CIVABI, Universidad Politécnica Salesiana, Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson, Telf. (593-2) 3962800, Quito, Ecuador

² Grupo de investigación en Ciencias Ambientales (GRICAM), Universidad Politécnica Salesiana, Quito-Ecuador, Rumichaca y Morán Valverde s/n-Quito, Tel. (+593) 2 3962900/ 3962800

³ Dipartimento di Gestione di Gestione Sostenibile dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestale (GESAAF)-Università Degli Studi di Firenze, Via S. Bonaventura, 13-50145, Tel. (+39) 055 2755658, Firenze, Italy.

*Autor para correspondencia: jjacomego@est.ups.edu.ec

Manuscrito recibido el 16 de noviembre de 2016. Revisado el 17 de noviembre de 2016. Aceptado, tras revisión, el 8 de diciembre de 2016. Publicado el 31 de diciembre de 2016.

Resumen

En la presente investigación se realizó un aislamiento en medio Mac Conkey Agar y el análisis cuantitativo de bacilos Gram negativos encontrados en muestras de jugo de naranja natural elaborados y expendidos en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, Campus “El Girón”, el proyecto se realizó en el Centro de Investigación y Valoración para la Biodiversidad, para la investigación se tomaron cinco muestras de diferentes lugares del sector, trabajando a seis diluciones (10^{-1} a 10^{-6} ml) en agua fisiológica. Se cultivaron las muestras a una temperatura de 35 a 37°C durante tres días, las primeras 8 horas se cuantificaron cada 2 horas según el tiempo habitual de consumo y por lo recomendado en la norma INEN se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias hasta las 72 horas. De los resultados obtenidos se comprobó que el 40% de los jugos de naranja expendidos a los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, Campus “El Girón” no son aptos para el consumo humano ya que sobrepasan los límites permisibles máximos de coliformes totales establecidos en la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 2337:2008.

Palabras claves: jugo naranja, bacilos Gram negativos, Mac Conkey Agar, Unidades Formadoras de Colonias.

Abstract

In the present investigation, an isolation was performed in MacConkey Agar medium and the quantitative analysis of Gram negative bacilli found in samples of natural orange juice elaborated and sold in the surroundings of the Salesian Polytechnic University-Quito, Campus "EL Girón". The project was carried out at the Center for Research and Valuation for Biodiversity. For the research, five samples were taken from different places in the sector, working at six dilutions (10^{-1} to 10^{-6} ml) in physiological water. The samples were cultured at a temperature of 35 to 37°C for three days, the first 8 hours were quantified every 2 hours according to the usual time of consumption and as recommended in the INEN norm the Colony Forming Units were quantified up to 72 hours. From the results obtained it was verified that 40% of the orange juice expended in the surroundings of the Salesian Polytechnic University-Quito, Campus "El Girón" are not suitable for human consumption since they exceed the maximum permissible limits of total coliforms Established in the Ecuadorian Technical Regulation INEN 2337: 2008.

Keywords: orange juice, Gram-negative rods, MacConkey Agar, Colony Forming Units.

Forma sugerida de citar: Calderón, Roberto, Juan Diego Jácome, Michael Reyes, Danny Rojas y Lenin J. Ramírez Cando. 2017. **Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, Campus "El Girón"**. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 25(1):71-84. pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596.

1 Introducción

Consumir alimentos inocuos conlleva a una gran polémica, debido al desconocimiento de la procedencia de los ingredientes, los métodos utilizados para la fabricación de estos productos y las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), las cuales aseguran una calidad alimentaria segura para el consumo humano (Presidencia de la República, 2002).

Las ventas de productos en la calle están presentes en casi todas las grandes ciudades del mundo y desempeñan un papel integral en la vida cotidiana de millones de personas. Sin embargo, el papel dominante que desempeñan los alimentos de venta callejera en la nutrición de muchos habitantes de las ciudades plantea numerosos desafíos (FAO, 2011).

En los últimos meses, en la ciudad de Quito, ha existido una amplia proliferación de venta urbana de jugos de naranja, porque según los comerciantes es una plaza activa de trabajo, además de refrescar en el verano y días soleados (Medina, 2016).

La proliferación de las ventas informales de jugos de naranja es probablemente debido a su sabor y valor nutricional. Esta bebida es conocida por su alto contenido en vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos y otras sustancias antioxidantes (Fennema, 2000).

Sin embargo, las enfermedades generadas por la comida de la calle, como por ejemplo los jugos de naranja comercializados informalmente, son el resultado de una amplia variedad de productos comestibles contaminados por microorganismos patógenos. La prevención de las enfermedades generadas por alimentos no inocuos depende de la procedencia y manipulación cuidadosa en la cadena de producción (Bayona, 2009).

Y es que la producción y comercialización de alimentos en la vía pública (jugos de naranja) es un fenómeno de gran impacto social, en la cual se puede observar problemas sanitarios, sociales y culturales, las cuales afectan a toda la ciudadanía. (Bayona, 2009). Dentro de los problemas más significativos son los sanitarios, que conllevan al riesgo de enfermedades gastrointestinales producidas por ciertos microorganismos patógenos los cuales pueden afectar severamente a la población, provocando enfermedades gastrointestinales (diarrea) e intoxicaciones, tendiendo síntomas como dolor abdominal (Romo, 1973).

Según la Secretaría Metropolitana de Salud. La entidad a través del Laboratorio de Alimentos pú-

blico un análisis de 35 muestras de venta informal de jugo de naranja que se comercializa en la ciudad. El informe revela que el 32% de estas muestras no cumplió con la norma para el consumo humano. El análisis se realizó con jugos de naranja que fueron adquiridos en las cinco administraciones zonales de Quito entre el 1 y 15 de abril del 2016 (Medina, 2016).

La Secretaría Metropolitana de Salud aplicó la siguiente metodología, se aplicó la técnica de recuento en placa en profundidad, inicialmente se midieron 11 ml de muestra y se adicionaron a 99 ml de agua peptonada 0.1%, se agitó para homogenizar la muestra y se dejó en reposo 2 minutos. Posteriormente se transfirió 1 mililitro de la dilución 10^{-1} a un tubo con 9 ml de diluyente (agua peptonada 0.1%) para obtener la dilución 10^{-2} , se transfirió un mililitro a otro tubo con 9 ml de diluyente para obtener la dilución 10^{-3} . Finalmente se sembró por duplicado en profundidad de 1 ml de cada una de las diluciones, se agregó agar plate count, se homogenizó y una vez solidificado el agar, se incubó a 25°C de 3 a 5 días y se hizo lectura (Holguín, 1998).

Entre las causas por las que puede existir esta contaminación microbiológica puede ser: la falta de capacitación por las personas que expenden estos alimentos, por la manipulación de los ingredientes y además de las BPM (lavado, almacenamiento y preparación) lo que provoca un riesgo para la salubridad del producto que se oferta (Presidencia de la República, 2002).

1.1 Cuantificación de microorganismos

Existen diversos métodos para cuantificar el número de microorganismos presentes en muestras líquidas y sólidas. Dentro de las técnicas se encuentran los procedimientos basados en diluciones en serie, haciendo crecer microorganismos en medios de cultivo sintéticos sólidos o líquidos, como el recuento en placa de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (López L. y C. Torres, 2006).

1.2 Medio de cultivo Mac Conkey Agar

En el medio de cultivo Mac Conkey, la peptona es la fuente de aminoácidos y de otros factores de crecimiento, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, la bilis de buey estimula el crecimiento de las bacterias coliformes e inhibe a gran parte de la flora Gram positiva, y el púrpura de bromocresol es

el indicador de pH. Los coliformes, son microorganismos que fermentan la lactosa, con producción de ácido y gas. Al acidificar el medio, se produce un viraje del indicador de pH, del color púrpura al amarillo (Aryal, 2015).

Por ende sirve como un indicador visual de pH, distinguiendo así las bacterias Gram negativas que pueden fermentar la lactosa (Lac+) y las que no pueden (Lac-) (Esteves *et al.*, 2015).

Al utilizar la lactosa en el medio, bacterias (Lac+) como la *Escherichia coli*, *Enterobacter* y la *Klebsiella* producen acidez, lo cual baja el pH menor a 6,8 lo que tiene como consecuencia la aparición de colonias de color rosadas o rojas. Algunas bacterias en cambio fermentan la lactosa de manera lenta, estas siguen siendo Lac+ por ejemplo: *Serratia* y *Citrobacter* (Esteves *et al.*, 2015).

Bacterias que no fermenten la lactosa como *Salmonella*, *Proteus* y *Shigella* utilizarán la peptona en su lugar, formando amoníaco, lo cual incrementa el pH del agar, formando colonias blancas o incoloras (Esteves *et al.*, 2015).

De esta manera, el objetivo de este estudio es determinar la presencia de estos microorganismos, determinar si se encuentran dentro de los rangos permitidos por el Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN mediante el ensayo especificado en la norma INEN 1529.14:1998 y INEN 2 337:2008. Control microbiológico de los alimentos, toma, envío y preparación descritos en el Codex Alimentarius. (Codex, 2010), y así verificar que los jugos de naranja frescos elaborados en el sector "La Floresta-El Girón" sean aptos para el consumo humano.

2 Materiales y métodos

2.1 Descripción del sitio

El muestreo de los jugos de naranja se realizó en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, Campus "El Girón" ubicada en la Av. 12 de Octubre 2422 y Wilson, Cantón Quito, Provincia de Pichincha (2700 m.s.n.m., 0° 12' 29.2"S 78° 29' 14.9"W).

El proyecto se realizó en el Centro de Investigación y Valoración para la Biodiversidad (CIVABI) de la Universidad Politécnica Salesiana- Sede Quito, Campus El Girón.

La recolección de las muestras de alimentos se

realizó en base a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-2:99 donde se encuentra definida la metodología de muestreo para alimentos de comida rápida.

Estos envases al momento de ser comprados se los almacenó y conservó en un cooler previamente con fundas de hielo, protegiéndola de cambios de temperatura, iluminación y manipulación para conservar su estado con un respectivo código para cada una de las muestras (QG-01 hasta G-06). El almacenamiento, se lo realizó en conformidad con la misma norma (Chequeo de condiciones, etiquetado adecuado, de acuerdo al jugo comprado) para posteriormente realizar diluciones de las muestras en suero fisiológico la cual permitió mantenerlas en condiciones estables para el análisis microbiológico.

2.2 Descripción del ensayo

Obtenidas las 5 muestras de jugo de naranja, se procedió a medir el pH con la ayuda de un pH metro Mettler Toledo y los Grados Brix mediante un refractómetro Atago, a partir de los Grados Brix se calculó la concentración de azúcar.

De cada muestra de jugo de naranja obtenida se tomó 1 ml y se lo diluyó en un tubo de ensayo con 9 ml de agua fisiológica, obteniendo una solución a 10^{-1} (solución madre), de esta manera se logró conseguir 5 soluciones madre respectivas de las muestras. De cada solución madre se extrajo 1 ml y se hizo la dilución en otro tubo de ensayo con 9 ml de agua fisiológica, resultando una solución de 10^{-2} . En este procedimiento se realizó hasta obtener una disolución de 10^{-6} para cada muestra.

De cada uno de los tubos de ensayo con las soluciones a diferentes concentraciones se procedió a realizar la siembra en cajas Petri con Mac Conkey Agar. Este medio es óptimo para el análisis de bacterias Gram negativas ya que las peptonas aportan los nutrientes para la proliferación bacteriana, la mezcla de sales billares y el cristal violeta son los ingredientes selectivos que inhiben el desarrollo de la flora Gram positiva, mientras tanto la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, el cual produce una disminución en el pH alrededor de la colonia, esto produce el viraje de color que es el indicador de pH, la absorción en las colonias y la precipitación de las sales billares. Los microorganismos no fermentadores de la lactosa producen colonias incoloras (Aryal, 2015).

Tabla 1. Composición Química del Medio Mac Conkey Agar. (Aryal, 2015)

| FÓRMULA | |
|------------------------------------|---------|
| Peptona de carne | 1.5 g |
| Peptona de gelatina | 17.0 g |
| Tripteina | 1.5 g |
| Lactosa | 10.0 g |
| Mezcla de sales biliares N°3 | 1.5 g |
| Cloruro de sodio | 5.0 g |
| Rojo Neutro | 0.03 g |
| Cristal violeta | 0.001 g |
| Agar | 13.5 g |
| Agua purificada | 1000 ml |
| pH final: 7.1 ± 0.2 | |

Se utilizó el medio Mac Conkey Agar, el cual se dispensó en 31 cajas para microorganismos Gram negativos, sirviendo uno como blanco, siguiendo las instrucciones como indica la etiqueta de la casa distribuidora Difco. Sus componentes se observan en la Tabla 1.

La siembra se realizó en cámara de flujo laminar vertical, con técnica de siembra estriada o por arrastrer, en la cual se tomó una pequeña cantidad del inóculo para estriar el primer cuadrante de la placa con un movimiento hacia adelante y hacia atrás. Se quemó el asa *Drigalski* en el mechero y se enfrió tocando o introduciendo en una parte de la placa de agar que no haya sido inoculada. Colocándola en un borde del área que se acabó de estriar y se estrió a partir de allí en el segundo cuadrante de la placa. Nuevamente se flameo y enfrió el asa y se extendió desde la zona estriada de la segunda área en el tercer cuadrante. Se quemó el asa, se enfrió y se estrió desde el borde del tercer cuadrante hacia el cuarto cuadrante de la placa.

Se colocó en una incubadora Memmert de 35 a 37°C y se realizó la cuantificación las 8 primeras horas cada dos horas y después cada 24 horas durante 3 días y se anotaron los resultados. La población microbiana se determinó por conteo directo de las colonias en las cajas Petri, siguiendo las reglas generales de la cuantificación bacteriana por el método de conteo directo (Camacho, 2009). Las variables microbianas se reportaron en términos de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) (Pucha *et al.*, 2006).

3 Resultados

La determinación del pH se realizó mediante pH metro Mettler Toledo, mientras que la determinación de los Grados Brix se realizó mediante la utilización de un refractómetro Atago, a partir de los Grados Brix se calculó la concentración de azúcar en cada muestra teniendo en cuenta que el volumen aproximado de cada jugo de naranja fue de 500ml, el cual dio los siguientes resultados visibles en la Tabla 2. El promedio del pH, de los Grados Brix y la Concentración de Azúcar de las 5 muestras de jugos de naranja fue de 3.6, 10.54 y 53.1 respectivamente.

3.1 Cuantificación de bacterias Gram negativas

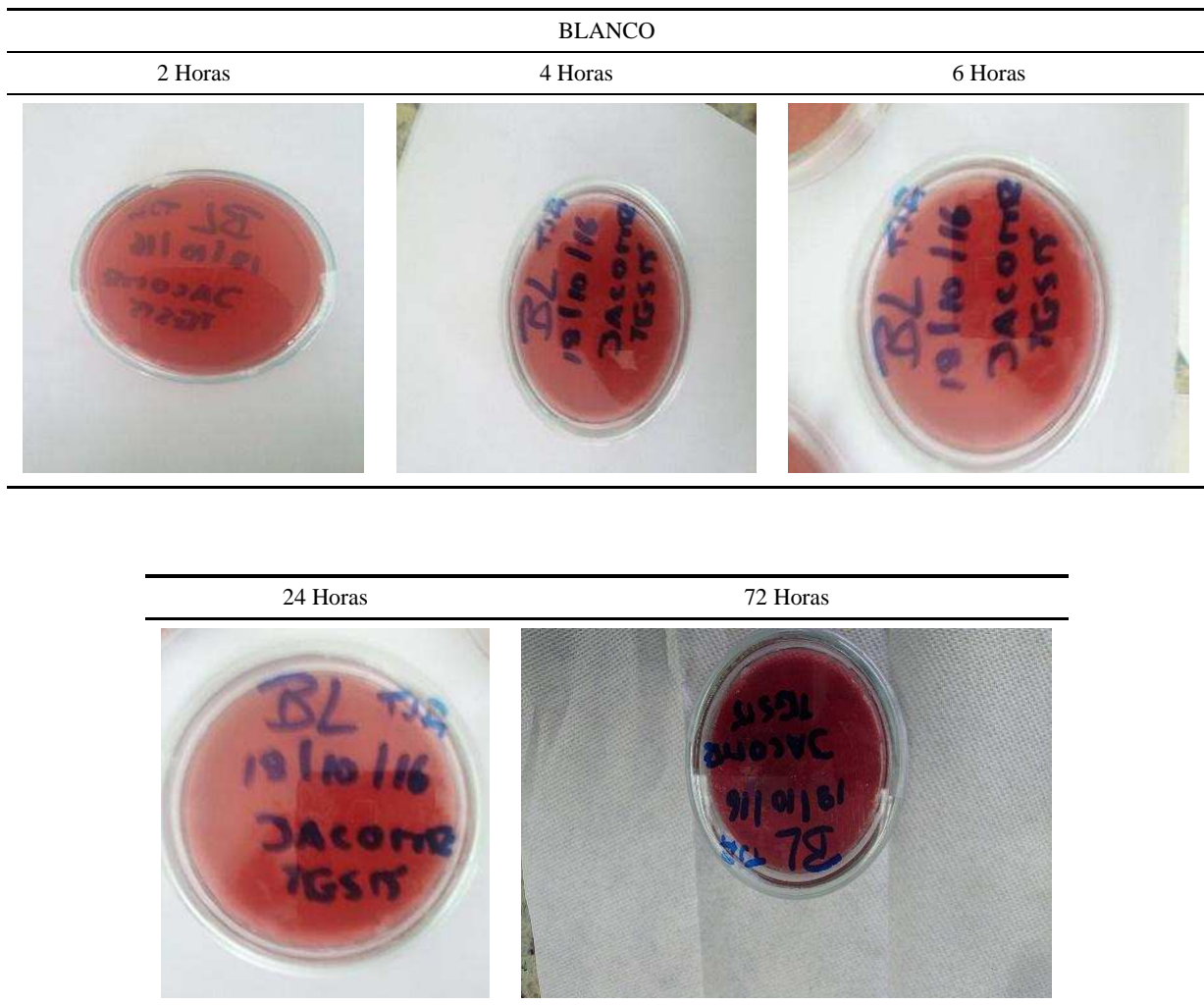
En una caja Petri con medio Mac Conkey Agar, se cultivó una sola muestra de agua fisiológica sin adicionarle jugo de naranja, esta caja Petri sirvió como el control negativo “Blanco”. Como se puede observar en la Tabla 3, el blanco desde las 2 horas hasta las 72 horas no presentó ningún tipo de cambio en cuanto al color del medio, el cual indicaría la fermentación de la lactosa, ni tampoco ningún tipo de UFC visible, por ende se lo tomó como un control negativo preciso.

Se realizó la cuantificación de UFC desde las 2 hasta las 8 horas después de la siembra, porque es el tiempo aproximado máximo de consumo de los jugos de naranja o el tiempo máximo en el cual se deberían consumir, pero se siguió con la cuantificación hasta las 72 horas.

Tabla 2. Resultados del pH, Grados Brix y concentración de azúcar de las 5 muestras analizadas.

| Muestra | pH | Grados Brix | Concentración de azúcar |
|----------|-------|-------------|-------------------------|
| M1 | 3.765 | 8,8 | 44g |
| M2 | 3.947 | 10,9 | 54,5g |
| M3 | 3.972 | 9,2 | 46g |
| M4 | 3.509 | 11,2 | 58g |
| M5 | 3.494 | 12,6 | 63g |
| Promedio | 3,6 | 10,54 | 53.1 |

Tabla 3. Resultados del control negativo.



Hasta las 8 horas no se observó ningún cambio en los medios de cultivo, lo que indica que a las 8 horas no existen UFC visibles.

Hasta las 48 horas no se observó ningún cambio en los medios de cultivo, lo que indica que a las 48 horas no existen UFC visibles.

A las 72 horas se comenzaron a apreciar pequeños cambios como se observa en el Anexo 1. En la muestra 1 "M1", se observó un ligero cambio en la coloración del medio de cultivo lo cual indica la presencia de coliformes totales de fermentación lenta de la lactosa, mientras tanto en la dilución 10^{-6} se nota una disminución del pH lo cual indica presencia de coliformes totales que no fermentan la lactosa. Pero no es visible la presencia de UFC por lo cual el valor estimado es de $< 1 \times 10$ UFC/ml por sensibilidad del método, con estos resultados se puede determinar que el jugo de naranja de la muestra 1 es apto para el consumo humano.

En la muestra 2 "M2", en el cultivo de la dilución 10^{-1} se observa claramente un cambio completo en la coloración del medio original, a las 72 horas predomina un color amarillo intenso, este color es el indicativo directo que demuestra una disminución del pH, lo cual determina la presencia de coliformes que no realizan la fermentación de la lactosa. En las demás diluciones se observa un ligero cambio de coloración en ciertas zonas, más visible en la dilución 10^{-6} , lo cual indica que la fermentación de la lactosa está comenzando. La cuantificación promedio de la muestra 2 reveló que existen 16×10^3 UFC/ml de bacterias Gram negativas.

En la muestra 3 "M3", se observó un cambio en la coloración en ciertas zonas del medio de cultivo, especialmente en la dilución 10^{-1} donde se nota el color indicador amarillo intenso lo cual alerta de la presencia de bacterias que no fermentan la lactosa, pero se observa claramente la proliferación de UFC rosadas, este es el indicativo de la presencia de coliformes que fermentan la lactosa y el color rosado intenso es característico de bacterias como la *E. coli* y *Klebsiella*. En las siguientes diluciones el ligero cambio de coloración no es un indicativo directo que demuestre la fermentación de la lactosa. En la cuantificación bacteriana se determinó que la muestra 3 presenta 5×10^2 UFC/ml de bacterias Gram negativas.

En la muestra 4 "M4", se observó un ligero cambio en la coloración en ciertas zonas del medio de

cultivo, especialmente en la dilución 10^{-6} , lo cual indica que el cambio del pH está comenzando.

Además no existió la presencia visible de UFC por lo cual el valor estimado es de $< 1 \times 10$ UFC/ml por sensibilidad del método, con estos resultados se puede determinar que el jugo de naranja de la muestra 4 es apto para el consumo humano.

En la muestra 5 "M5", se observó un ligero cambio en la coloración en ciertas zonas del medio de cultivo, especialmente en la dilución 10^{-5} , pero no es un indicativo directo que demuestre la fermentación de la lactosa. Y tampoco es visible la presencia de UFC por lo cual el valor estimado es de $< 1 \times 10$ UFC/ml por sensibilidad del método, con estos resultados se puede determinar que el jugo de naranja de la muestra 5 es apto para el consumo humano.

En la siguiente Tabla 4 se expresan todos los resultados obtenidos de la cuantificación de coliformes totales en función del tiempo de incubación de 35 a 37°C.

4 Discusión

El pH del jugo de naranja puede ser un indicativo directo del tiempo de preparación, es decir que mientras más tiempo esté almacenado se va a transformar en un pH más básico. El pH también puede estar alterado por el estado de madurez de la fruta, el tiempo y el modo de almacenamiento y las condiciones ambientales son fuentes directas de la alteración del pH del jugo de naranja (Chong, 2013).

El pH óptimo de crecimiento de coliformes fecales es de 7 a 7.5, con un pH mínimo de crecimiento de 4 y el valor de 8,5 es el pH máximo de crecimiento. Se puede identificar que a las 72 horas las muestras 2 y 3 presentaron coliformes totales, también que son las muestras con un pH ligeramente más básico que se aproximan a un pH de 4, lo cual indica que el pH es directamente proporcional a la proliferación de coliformes totales, a pH más básico mayor será la proliferación de coliformes fecales (Micro de Alimentos, 2008).

La concentración de azúcar en las muestras no presentó una relación directa con la proliferación de coliformes totales a pesar de ser una fuente de carbono, esto demuestra que las bacterias Gram negativas utilizan los nutrientes proporcionados por las peptonas para su proliferación (Aryal, 2015).

Tabla 4. Cuantificación de coliformes totales en función del tiempo de incubación.

| Muestra | Dilución | 8 horas | 24 horas | 40 horas | 72 horas |
|---------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------------|
| 1 | 10 ⁻¹ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻² | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻³ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁴ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁵ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁶ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| 2 | 10 ⁻¹ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 3 × 10 ² UFC/ml |
| | 10 ⁻² | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 8 × 10 ³ UFC/ml |
| | 10 ⁻³ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 4 × 10 ⁴ UFC/ml |
| | 10 ⁻⁴ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 6 × 10 ⁴ UFC/ml |
| | 10 ⁻⁵ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 2 × 10 ⁵ UFC/ml |
| | 10 ⁻⁶ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| 3 | 10 ⁻¹ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 5 × 10 ² UFC/ml |
| | 10 ⁻² | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 5 × 10 ² UFC/ml |
| | 10 ⁻³ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁴ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 3 × 10 ⁴ UFC/ml |
| | 10 ⁻⁵ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | 3 × 10 ⁵ UFC/ml |
| | 10 ⁻⁶ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| 4 | 10 ⁻¹ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻² | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻³ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁴ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁵ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁶ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| 5 | 10 ⁻¹ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻² | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻³ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁴ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁵ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| | 10 ⁻⁶ | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |
| Blanco | | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml | < 1 × 10 UFC/ml |

Según la Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 2 337:2008, el límite máximo permisible de coliformes totales en jugos de frutas es de 3 UFC/ml, pero esta normativa solo se establece para jugos de frutas tanto congelados como pasteurizados y no existe una normativa vigente que establezca los límites máximos permisibles de coliformes totales en los jugos de frutas frescas (INEN, 2008).

Caso contrario a lo que sucede en otros países vecinos como Colombia donde sí cuentan con una normativa para este tipo de jugos de frutas frescas la cual determina que el límite máximo permisible para jugos sin tratamiento térmico y sin pasteurización debe ser menor a 10 UFC/ml, además se describe de manera detallada las buenas prácticas de manufactura para este tipo de bebidas. Si nos rigié-

ramos a la Resolución 003929 decretada en Colombia, solo el jugo de naranja de la muestra 2 "M2" no sería apto para el consumo humano ya que sobrepasa los límites permisibles (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).

Según la Resolución 7992 de 1991, la cual reglamenta la elaboración, conservación y comercialización de jugos, concentrados, néctares, pulpas, pulpas azucaradas y refrescos de frutas donde especifica que estos deben elaborarse en condiciones sanitarias apropiadas, con frutas frescas, sanas y limpias. Además determina las características microbiológicas de los jugos y pulpas de frutas; y según especifica el límite máximo permisible es de 9 NMP (Número más Probable) de coliformes totales/ml, mientras que el límite máximo permisible en cuanto a coliformes fecales es de 3 NMP/ml (Ávila, G. y M. Fonseca, 2008).

Por ende, en Ecuador dada la proliferación de vendedores urbanos de jugo de naranja en toda la ciudad de Quito, es necesaria la implementación de una Normativa Técnica que especifique claramente los límites permisibles de microorganismos de este tipo de bebidas frescas, dado que también se depende en ciertas zonas de la capital jugos de coco, guayaba, así como ensalada de frutas. La normativa deberá enfatizar en la salud poblacional pero respetando y otorgando el derecho a trabajar de los ciudadanos en este caso de los vendedores ambulantes.

5 Conclusiones

Según la Norma Técnica INEN 2 337:2008. El contenido mínimo de sólidos solubles en los jugos de naranja es de 9° Brix a 20°C, y de 4,5° Brix con exclusión de azúcar a 20°C. Mediante los resultados obtenidos solo la muestra 1 infringe esta normativa. (INEN, 2008)

Es conocido que el jugo de naranja natural tiene un pH ácido de 3 al instante de ser preparado (Chong, 2013). Mediante los resultados obtenidos se determinó que el pH promedio de las 5 muestras es de 3,7; es decir, el promedio del pH es ligeramente menos ácido, e individualmente todas las muestras sobrepasan el pH estándar (pH 3) en un rango que va desde 3,4 hasta 3,9.

La cuantificación de microorganismos, específicamente de bacterias Gram negativas, tanto fermentadoras o no fermentadoras de lactosa reveló que los jugos de naranja de las muestras 1, 4 y 5 son ap-

tas para el consumo humano ya que el valor estimado es de $< 1 \times 10$ UFC/ml por sensibilidad del método. Pero los jugos de naranja de las muestras 2 y 3 no son aptos para el consumo humano a las 72 horas por la presencia de 16×10^3 UFC/ml y 5×10^2 UFC/ml de coliformes totales respectivamente.

Según la NTE INEN 2 337:2008, el límite máximo permisible de coliformes totales en jugos de frutas tanto congelados como pasteurizados es de 3 UFC/ml, por ende según las 5 muestras analizadas en este estudio se demuestra que el 40% de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito, Campus El Girón, no son aptos para el consumo humano ya que sobrepasan los límites máximos permisibles de coliformes totales a las 72 horas, pero a las 24 horas sí son aptas para el consumo humano ya que las 5 muestras presentaron un valor menor a 1 UFC/ml, el cual no sobrepasa el límite permisible (INEN, 2008).

6 Recomendaciones

Se recomienda realizar una cuantificación microbiológica de los jugos de naranja primero en las diferentes parroquias de la ciudad de Quito, con un muestreo más amplio. Además de poder realizar otras metodologías para el análisis y cuantificación de estas muestras como por ejemplo el método del Número Más Probable (NMP), donde se puede determinar, cuantificar y a la vez determinar el tipo de microorganismo presente por medio de cambios de coloración y fluorescencia.

También se puede utilizar el método de dilución directa en el medio de cultivo para tener un volumen exacto de siembra y así poder realizar la cuantificación por el método de conteo directo de caja Petri conociendo exactamente el volumen inoculado.

Por otro lado, sería de utilidad incubar las muestras a 43°C para cuantificar precisamente los coliformes fecales, ya que estos fermentan mejor la lactosa a esta temperatura y así poder determinar de mejor manera los microorganismos presentes que pueden generar enfermedades en la salud pública.

Implementar un programa de capacitación en la preparación e higiene que debe existir al momento de elaborar los jugos y durante toda su preparación hasta llegar al consumidor ya que esta es una de las razones más frecuentes de contaminación

en los alimentos manipulados, otorgando salud a la población consumidora de estas bebidas, así como plazas de trabajo a los comerciantes de estos productos.

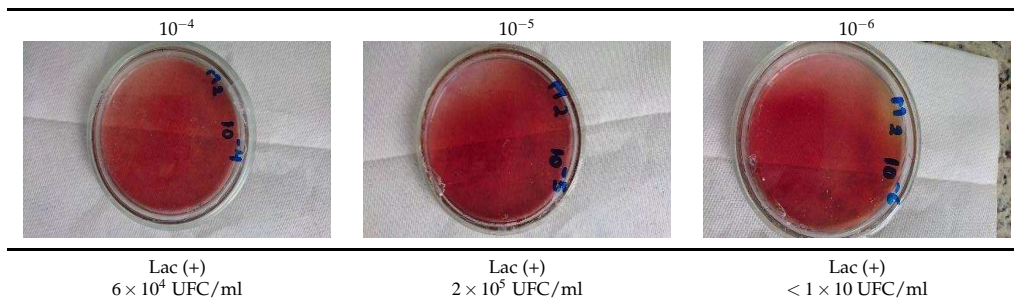
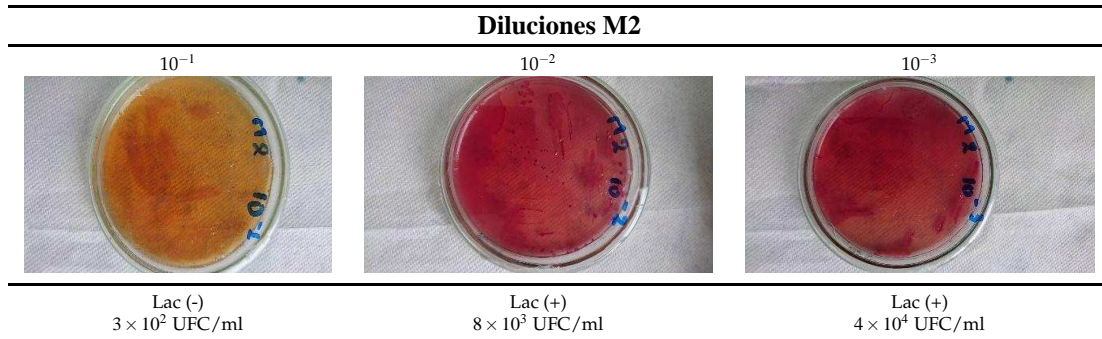
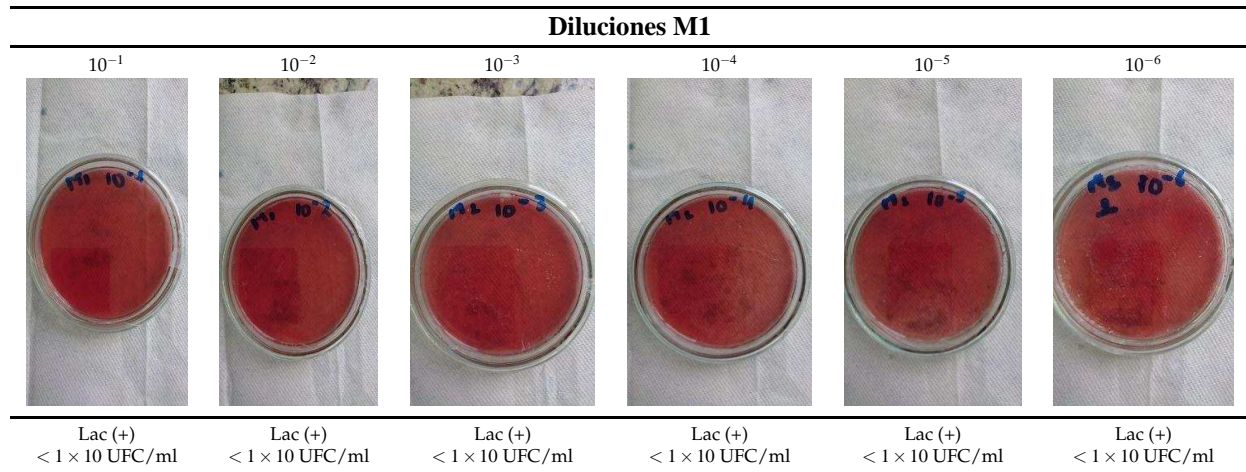
Referencias

- Anderson, P. 2000. Metodología analítica para Alimentos. Montevideo: Díaz de Santos.
- Aryal, S. 2015. MacConkey Agar-Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology. **Microbiologyinfo**. 30 de septiembre. <http://www.microbiologyinfo.com/macconkey-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/>
- Ávila, G. y M. Fonseca. 2008. Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de Bienestar Familiar en la zona norte de Cundinamarca. **Pontificia Universidad Javeriana**. 30 de enero. <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis105.pdf>
- Bayona, A. 2009. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública. **Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública**. 12 de junio. <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v12n2/v12n2a02.pdf>
- Camacho, A. M. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. Edición 2^{da}. **Universidad Nacional Autónoma de México**.
- Carrascal, A. 2003. Manual de laboratorio, microbiológico de alimentos. **Pontificia Universidad Javeriana**. Bogotá.
- Chong, M. 2013. Importancia del PH de la naranja. **Prezi**. 30 de octubre. <https://prezi.com/oxau0wizvpgt/importancia-del-ph-de-la-naranja/>
- Codex, A. 2010. Código de prácticas de higiene para la elaboración y expendio de alimentos en la vía pública en América. 5 de enero. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/28/RCP_043s.pdf
- Doyle, M. B. 2001. Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. **Acribia**. Zaragoza.
- Eley, A. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. **Acribia**. España.
- Esteves, R., E. Damiáni y E. Torrico. 2015. Bacterias Gram negativas Fermentadoras: Enterobacterias. **Vigilancia, prevención y control de infecciones asociadas a servicios de salud**. <http://www.ops.org.bo/textocompleto/nent/erobac32452.pdf>
- FAO. 2011. Alimentos de venta callejera: el camino a seguir para una mejor seguridad alimentaria y nutrición. 26 de octubre. http://www.fao.org/fsnforum/sites/default/files/file/73_street_foods/summary_73_street_food_sp.pdf
- Fennema, O. 2000. Química de los alimentos. Edición 2^{da}. **Acribia**. 15 de marzo. Zaragoza.
- Fuentes, Anacleto Félix, Olga Nydia Campas-Baypoli y Mercedes Meza-Montenegro. 2005. Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón. **Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora**. Sonora, México.
- Gutierrez, José Bello. 2000. Ciencia bromatológica. Principios generales de los alimentos. **Díaz de Santos**. Madrid.
- Holguín, García T. M., I. Higuera, L. Rubio, M. Vargas, A. Muñoz, *et al.* 1998. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. INVIMA-Bogotá, Colombia. **INVIMA. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano**. Bogotá: Invima; 1998
- Huerta, L. 2009. Diluciones. **Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos**. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12656/14%20Art%C3%ADculo%20docente%20Diluciones.pdf?sequence=1>
- INEN. 2008. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 337:2008. **Instituto Ecuatoriano de Normalización**. <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2337.2008.pdf>
- López, L. y C. Torres. 2006. Estudio cuantitativo de bacterias. **Universidad Nacional del Nordeste**.

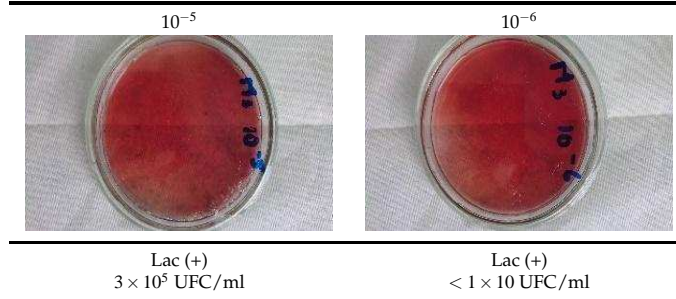
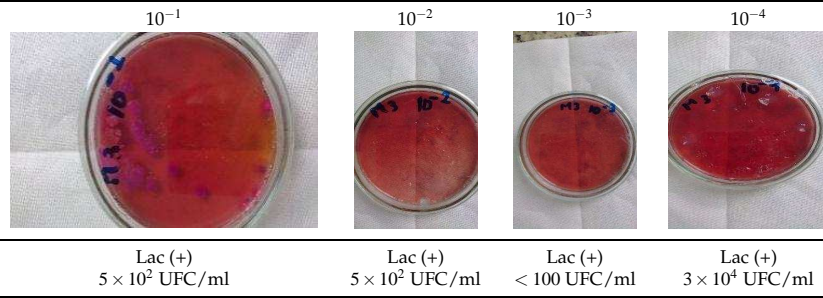
- <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf>
- Majer, E. G. L. 2002. Análisis microbiológico de alimentos y aguas: Directrices para el aseguramiento de la calidad. **Acribia**. Zaragoza.
- Medina, F. 2016. El 32% del jugo de naranja que se vende en las calles de Quito no es apto para el consumo humano. **El Comercio: Actualidad**. 4 de mayo.
- Micro de Alimentos. 2008. Coliformes totales y fecales. 27 de octubre. <http://mikroalimentos.blogspot.com/2008/10/coliformes-totales-y-fecales.html?showComment=1302395045262#c6205266410460168607>
- Ministerio de Salud y Protección Social. 2013. Resolución Número 003929. 2 de octubre. http://www.mincit.gov.co/loader.php?lServicio=Documentos&lFuncion=verPdf&id=73797&name=ResolucionMinsalud3929_Frutas.pdf&prefijo=file
- Mossel, D., B. Moreno y C. Strujk. 2002. Microbiología de los alimentos. **Acribia**. Zaragoza.
- Presidencia de la República. 2002. Reglamento de buenas prácticas para alimentos procesados. 4 de noviembre.
- <http://www.epmrq.gob.ec/images/lotaip/leyes/rbpm.pdf>
- Pucha, A., R. Ramos, R. Morales, V. Noboa y F. Romero. 2006. Verificación y Cuantificación de microorganismos involucrados en el proceso de compostaje Aerotérmico de residuos de producción orgánica certificada. **X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo**. <http://www.secsuelo.org/wp-content/uploads/2015/06/5.-Verificacion-y-Cuantificacion.pdf>
- Romo, L. A. 1973. Métodos de experimentación científica. **Edimeciem**. Ecuador.
- Salud, O. M. 1978. Aspectos microbiológicos de los aspectos de los alimentos. **Universal**. Suiza.
- Salud, O. M. 2015. Inocuidad de los alimentos. 1 de diciembre. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
- Varnam, A. y J. Sutherland. 1997. Bebidas. Tecnología, Química y Microbiología. **Acribia**. Zaragoza.
- Vergés, R. 1996. Microbiología de los alimentos: características de los patógenos micribianos. Comisión Internacional en especificaciones microbiológicas para alimentos. **Acribia**. Zaragoza.

7 Anexo 1

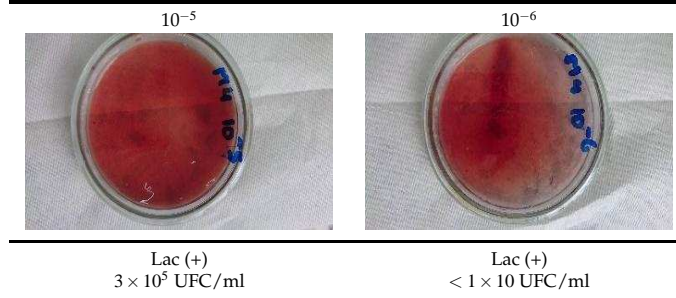
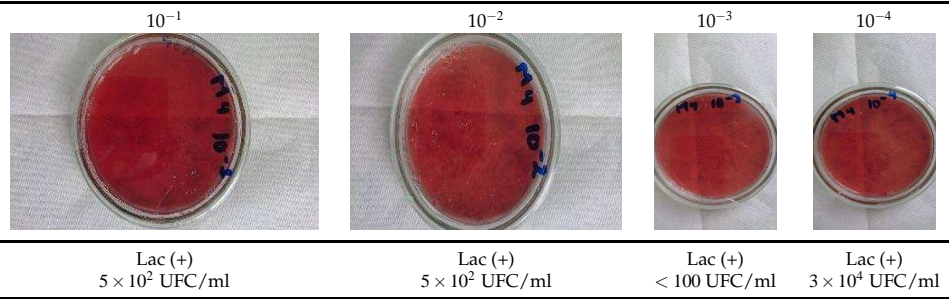
Resultados de las diluciones de cada muestra a las 72 horas.



Diluciones M3



Diluciones M4



Diluciones M5

