

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
ESCUELA DE POSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE
INGENIERÍA QUÍMICA**



**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y VIDA ÚTIL
DE HAMBURGUESAS EXPENDIDAS EN
MERCADOS DEL DISTRITO DE LOS OLIVOS,
LIMA - PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

JAQUELINE GETRUDIS SOBERON AMADO

Callao, 2020

PERÚ

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Jaqueline Getrudis Soberon Amado".

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized initials.

HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO

La presente tesis fue sustentada virtualmente ante el jurado conformado por los siguientes Profesores ordinarios:

Dr. ANCIETA DEXTRE CARLOS ALEJANDRO	PRESIDENTE
Dra. SANEZ FALCÓN LIDA CARMEN	SECRETARIA
Dra. HERRERA SÁNCHEZ SONIA ELIZABETH	MIEMBRO
Mg. TOLEDO PALOMINO MARÍA ESTELA	MIEMBRO
Mg. ZARATE SARAPURA EDGAR	ASESOR

Según figura en el **Acta N° 013** de fecha **TRES DE JULIO DEL DOS MIL VEINTE**, para obtener el Grado Académico de Maestro en la modalidad de **Sustentación virtual de Tesis**, de acuerdo a lo normado por el Reglamento de Estudios de Posgrado vigente.

Dedicatoria

La presente tesis se la dedico a toda mi familia, en especial, a mis padres y hermanos por su gran apoyo, cariño y comprensión en cada momento de mi vida.

INDICE

	Pág.
RELACION DE TABLAS	4
RELACION DE FIGURAS	7
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	
1.1. Descripción de la realidad problemática	11
1.2. Formulación del problema	13
1.3. Objetivos	13
1.4. Limitantes de la investigación	14
II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes	16
2.2. Bases teóricas	19
2.2.1 Aspectos generales de las hamburguesas	19
2.2.1a Proceso de elaboración	20
2.2.1b Fuentes de contaminación	22
2.2.1c Alteración microbiana	22
2.2.2 Microorganismos indicadores de la calidad microbiológica	23
2.2.2a Aerobios Mesófilos	23
2.2.2b <i>Escherichia coli</i>	23
2.2.2c <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.2.2d <i>Salmonella</i> sp.	25
2.2.2e <i>Escherichia coli</i> O157:H7	26
2.2.2f <i>Listeria monocytogenes</i>	28
2.2.3 Normativa para la contaminación microbiológica	29
2.2.4. Vida útil de los alimentos	30
2.2.4a Factores que afectan la vida útil	31
2.2.4b Métodos de estimación de la vida útil	32

2.2.4c Modelo matemático de Arrhenius	33
2.3 Conceptual	34
2.4 Definición de términos básicos	36
III. VARIABLES E HIPÓTESIS	
3.1 Hipótesis	38
3.2 Definición conceptual de variables	39
3.2.1 Operacionalización de variables	40
IV. METODOLOGIA	
4.1 Tipo y diseño de investigación	41
4.2 Método de investigación	41
4.3 Población y muestra	48
4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado	50
4.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de la información	51
4.6. Análisis y procesamiento de datos	58
V. RESULTADOS	
5.1 Resultados descriptivos	60
5.1.1 Resultados de la inspección higiénico-Sanitaria a puestos expendedores de hamburguesas	60
5.1.2 Resultados de la calidad microbiológica de las Hamburguesas	60
5.1.3 Resultados de los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C	65
5.1.4 Resultados de la ecuación cinética de reacción mediante el modelo matemático de Arrhenius	68
5.2 Resultados inferenciales	72
5.2.1 Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas con las condiciones higiénico-sanitarias y análisis microbiológicos	72
5.2.2 Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y	

vida útil de las hamburguesas con los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C	73
5.2.3 Regresión múltiple y coeficiente de correlación de Pearson entre calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas con el tiempo estimado de la ecuación cinética de Arrhenius	75
5.2.4 Regresión múltiple y coeficiente de correlación de Pearson entre las condiciones higiénico-sanitarias y los rubros de inspección	76
5.2.5 Prueba de Chicuadrado y regresión logística binaria entre la calidad microbiológica de las hamburguesas y los indicadores microbiológicos	80
5.2.6 Coeficiente de correlación de pearson entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de almacenamiento	82
5.2.7 Regresión múltiple entre la vida útil de las hamburguesas y las variables de la ecuación cinética de Arrhenius	83
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
6.1. Contrastación de hipótesis con los resultados	85
6.2. Contrastación de resultados con otros estudios similares	88
VII. CONCLUSIONES	91
VIII. RECOMENDACIONES	92
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
X. ANEXOS	103

RELACION DE TABLAS

1. Criterios microbiológicos del subgrupo carnes y productos cárnicos procesados, refrigerados o congelados	30
2. Variables y dimensiones	40
3. Secuencia de muestreo para el análisis de las hamburguesas	47
4. Análisis microbiológico de las hamburguesas expendidas en mercados del distrito de Los Olivos	61
5. Identificación bioquímica y confirmación serológica de la cepa presuntiva de <i>Salmonella</i> sp.	62
6. Identificación bioquímica de las cepas presuntivas de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 aisladas de hamburguesas	62
7. Identificación bioquímica de las cepas presuntivas de <i>Listeria monocytogenes</i> aisladas de hamburguesas	63
8. Análisis químico de las hamburguesas	64
9. Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C	66
10. Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 15 °C	66
11. Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 25 °C	67
12. Análisis de varianza de las velocidades máximas de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C	67
13. Prueba de Tukey de las velocidades máximas de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C	68
14. Crecimiento de aerobios mesófilos en hamburguesas a 5°C, 15 °C y 25 °C	69
15. Tiempo de vida útil según la ecuación cinética de Arrhenius	70
16. Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil con las condiciones higiénico-sanitarias	72
17. Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil con los resultados del análisis microbiológico	72
18. Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C	73

19. Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 15 °C	74
20. Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 25 °C	74
21. Regresión múltiple entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius	75
22. Coeficientes de la regresión múltiple entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius	75
23. Coeficiente de correlación de Pearson entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius	76
24. Regresión múltiple entre la condición sanitaria y los rubros de inspección	77
25. Coeficientes de la regresión múltiple entre la condición sanitaria y los rubros de inspección	77
26. Coeficiente de correlación de Pearson entre las condiciones sanitarias y los rubros de inspección	80
27. Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de <i>Salmonella</i> sp.	81
28. Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	81
29. Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de <i>Listeria monocytogenes</i>	81
30. Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y la numeración de aerobios mesófilos, <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	82
31. Coeficiente de correlación de Pearson entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de almacenamiento	83
32. Regresión múltiple entre la vida útil y las variables de la ecuación cinética de Arrhenius	83
33. Coeficientes de la regresión múltiple entre la vida útil y las variables	

RELACION DE FIGURAS

1. Mercados del distrito de Los Olivos	49
2. Selección de los puestos de hamburguesas	56
3. Inspección higiénico-sanitaria a puestos expendedores de hamburguesas en los olivos	60
4. Calidad microbiológica de las hamburguesas	61
5. Muestras positivas para <i>Escherichia coli</i> O157:H7 por PCR-TR	63
6. Muestras positivas para <i>Listeria monocytogenes</i> por PCR-TR	64
7. Crecimiento de aerobios mesófilos en hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C	69
8. Gráfico del $\ln k_i$ en función de $1/t$	71
9. Gráfico del Log <i>vida útil</i> en función de las temperaturas	71
10. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. alimento	78
11. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. BPM	78
12. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. vendedor	79
13. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. Ambiente y enseres	79
14. Flujograma del recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos de acuerdo al ICMSF. 2000	115
15. Flujograma del NMP de <i>Escherichia coli</i> de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4. 2017	116
16. Flujograma del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 12. 2016	118
17. Flujograma de detección de <i>Salmonella</i> sp. de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 5. 2016	119
18. Flujograma de detección de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4A. 2017	121
19. Flujograma de detección de <i>Listeria monocytogenes</i> de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 10. 2017	123
20. Aerobios mesófilos en agar Plate Count (APC)	125

21. <i>Escherichia coli</i> en agar Eosin Methylene Blue (EMB)	125
22. Pruebas bioquímicas (IMVIC) para <i>Escherichia coli</i>	125
23. <i>Staphylococcus aureus</i> en agar Baird Parker (ABP)	126
24. Prueba de la coagulasa para <i>Staphylococcus aureus</i>	126
25. <i>Salmonella</i> sp. en agar Sulfito Bismuto (ASB)	126
26. Prueba serológica con suero polivalente Anti-Salmonella	127
27. <i>Listeria monocytogenes</i> en agar PALCAM	127
28. Prueba de motilidad para <i>Listeria monocytogenes</i>	127
29. Prueba de la hemolisina para <i>Escherichia coli</i> O157:H7	128

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad microbiológica y el tiempo de vida útil de las hamburguesas expendidas en mercados del distrito de Los Olivos. Se escogieron al azar 36 puestos expendedores de hamburguesas; en cada uno de ellos se tomó una muestra de hamburguesa, a la que se le efectuó el análisis microbiológico y posteriormente se estimó el tiempo de vida útil. Para el análisis microbiológico se tomó en consideración la Norma Técnica Sanitaria N° 071 (MINSA/DIGESA, 2008). Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas se utilizó el método ICMSF-2000, para la numeración de *Escherichia coli*, recuento de *Staphylococcus aureus*, detección de *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 se emplearon los métodos de FDA-BAM. Para la estimación de la vida útil se empleó el modelo matemático de Arrhenius utilizando como indicador el recuento de aerobios mesófilos a tres temperaturas de conservación 5 °C, 15 °C y 25 °C durante 15 días. Se obtuvo que el 58,33 % (21) de las hamburguesas fueron “no aptas” para el consumo humano; el 30,56 % (11) presentó más de 10⁶ UFC/g de bacterias aerobias mesófilas, el 30,56 % (11) más de 50 NMP/g de *Escherichia coli* y el 13,89 % (05) más de 10² UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Respecto a las bacterias patógenas, el 2,78 % (01) presentó *Salmonella* sp., el 8,33 % (03) *Escherichia coli* O157:H7 y el 19,44 % (07) *Listeria monocytogenes*. Se determinó que las hamburguesas presentaron una vida útil de 13 días a 5 °C. Los resultados obtenidos demuestran que un elevado porcentaje de las hamburguesas que se expenden en los mercados de abastos del distrito de Los Olivos es “no apto” para el consumo humano y un porcentaje significativo está contaminado con microorganismos patógenos, constituyendo un serio riesgo para la salud de los consumidores.

Palabras clave: Calidad microbiológica, Hamburguesa, Mercado, Vida útil

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the microbiological quality and the shelf life of hamburgers sold in markets in the Los Olivos district. Were selected at random 36 hamburger sales stalls, from each of which a hamburger sample has been collected and passed an microbiological test and subsequently useful lifetime was estimated. For the microbiological analysis, we use the Sanitary Technical Standard N° 071 (MINSAs / DIGESA, 2008) was taken into consideration. For the counting of mesophilic aerobic bacteria the ICMSF-2000 method was used, for the numbering of *Escherichia coli*, count of *Staphylococcus aureus*, detection of *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 were used the FDA-BAM methods. For the estimation of the useful life the mathematical model of Arrhenius was applied, using as an indicator the mesophilic aerobic count at three storage temperatures 5 °C, 15 °C and 25 °C for 15 days. It was found that 58,33% (21) of hamburgers were "not suitable" for human consumption; 30,56% (11) presented more than 10⁶ UFC/g of mesophilic aerobic bacteria, 30,56% (11) more than 50 NMP/g of *Escherichia coli* and 13,89% (05) more than 10² UFC/g of *Staphylococcus aureus*. Regarding pathogenic bacteria, 2,78% (01) presented *Salmonella* sp., 8,33% (03) *Escherichia coli* O157:H7 and 19,44% (07) *Listeria monocytogenes*. The hamburgers were determined to have a useful lifetime of 13 days at 5 °C.

The results show that a high percentage of hamburgers sold in the markets of the district of Los Olivos is " not suitable " for human consumption and a significant percentage is contaminated with pathogenic microorganisms, constituting a serious risk to the consumers' health.

Key words: Microbiological quality, Hamburger, Market, Useful life.

I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

Gonzales-Tenorio et al., (2012-2013) señalan que en Latinoamérica las hamburguesas están entre los productos cárnicos más populares y de mayor consumo. El Ministerio de Agricultura (MINAGRI, 2014), refiere que en el Perú se ha incrementado el consumo de productos cárnicos en los últimos años; siendo de 68,941 toneladas anuales; de ellas el 10,56% corresponde a Hamburguesas. En la ciudad de Lima la demanda elevada de hamburguesas se efectúa principalmente en los mercados de abastos de la zona norte, en gran parte debido a sus precios bajos. La elaboración de dichos productos se efectúa en plantas pequeñas artesanales procesadoras de productos cárnicos, las cuales no aplican correctamente las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) ocasionando la contaminación microbiana de los productos, lo cual a su vez origina la pérdida de sus características organolépticas y pone en riesgo a los comensales de contraer enfermedades infecciosas transmitidas por los alimentos.

Las hamburguesas son productos alimenticios altamente perecibles debido a que contienen hidratos de carbono, lípidos y proteínas; además de una actividad del agua elevada. Estas características favorecen la multiplicación de los microorganismos, los cuales ocasionan cambios en el color, olor, sabor, textura y pérdida de nutrientes; a lo cual se le debe agregar que entre ellos pueden haber agentes patógenos (Frazier y Westhoff, 2003).

Las hamburguesas pueden contaminarse con microorganismos desde su elaboración hasta el momento previo a su consumo.

Se considera que la contaminación microbiana puede iniciarse con los ingredientes contaminados y aumenta por la falta de higiene y desinfección de las superficies, equipos y utensilios de cocina y comedor; los malos hábitos higiénicos, las deficientes prácticas de manipulación y el transporte y

almacenamiento inadecuado (Mandell, Douglass y Benett, 1997; Narváez et al., 2001).

Los microorganismos patógenos más frecuentes y de mayor importancia en las hamburguesas son *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*; ambos pueden afectar seriamente la salud de los consumidores, principalmente aquellos que son inmunodeprimidos como niños, ancianos y pacientes que utilizan inmunodepresores (Paisan, 2001).

Karmali (1989) señala que *Escherichia coli* O157:H7 es una bacteria patógena emergente que puede causar enfermedades severas como colitis hemorrágica (CH), síndrome urémico hemolítico (SUH) y púrpura trombocitopénica trombótica.

En Latinoamérica y probablemente en el mundo, el país que registra mayor número de casos de SUH, con aproximadamente 500 por año, es Argentina (Trachtman, 2013); en el Perú no hay información precisa, pero hay datos que consideran que podría estar en alrededor de 50 casos por año (Mansilla, 2011).

Listeria monocytogenes es considerado como uno de los microorganismos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria más importantes en el Perú y el mundo (Mena, 2010); Garza-Velasco, Silva-Monzuazo y Hernández-Gómez (2007) señala que es capaz de ocasionar sepsis intrauterina con muerte del feto o neonato; y meningoencefalitis, bacteriemia e infecciones locales en el adulto. Remington y Klein, Vélez-Leal y Dávila-Ramírez, y Koopmans, Bijlsma, Brouwer, Van de Beek y Van der Ende (como se citó en Rodríguez-Auad, 2018) señalan que la incidencia neonatal de listeriosis varía según el país y puede ser de 0.61 a 13 por 100,000 nacidos vivos y su tasa de mortalidad es elevada, de 20% a 60%.

Debido al aumento en el mundo y en el Perú de la frecuencia de infecciones ocasionadas por microorganismos patógenos transmitidos por las hamburguesas; consideramos como problema que es necesario investigar, la falta de conocimiento sobre la contaminación microbiológica y su influencia sobre el tiempo de vida útil de las hamburguesas que se expenden en los

mercados de abastos del distrito de Los Olivos ubicado al norte de la ciudad de Lima.

1.2. Formulación del problema

Problema general

¿Cómo es la calidad microbiológica, y ella tendrá influencia en el tiempo de vida útil de las hamburguesas que se expenden en mercados del distrito de Los Olivos?

Problemas específicos

¿Serán adecuadas las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos?

¿La presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica en las hamburguesas, excederán los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N° 071?

¿Cuáles serán los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C?

¿Cuál es la ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius?

1.3. Objetivos

Objetivo General

Determinar la calidad microbiológica y su influencia en el tiempo de vida útil de las hamburguesas que se expenden en mercados del distrito de Los Olivos.

Objetivos específicos

- Determinar las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos.

- Determinar la presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de calidad microbiológica en las hamburguesas, y calificar si exceden o no los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N° 071.
- Obtener los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C.
- Determinar la ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius.

1.4. Limitantes de la investigación

Teórico

En el ámbito nacional son muy pocas las investigaciones referidas a la determinación de la calidad microbiológica de las hamburguesas y a la estimación de su vida útil, dicha información sirvió para analizar la situación actual del expendio de estos productos en mercados de abastos y su posible implicancia en la salud de los consumidores.

Temporal

Se tiene poca información en el Perú sobre la frecuencia de enfermedades ocasionadas por microorganismos patógenos transmitidos por la ingesta de hamburguesas expendidas en mercados de abastos. Por ello, el estudio se centró en determinar la calidad microbiológica y el tiempo de vida útil de las hamburguesas expendidas, desde abril del 2018 al presente año.

Espacial

El consumo de hamburguesas en zonas populosas tiene elevada demanda por sus costos que pueden ser económicos; sin embargo, es responsabilidad de los mercados de abastos que además de ofertar calidad a bajo precio deben incorporar necesariamente la condición de inocuidad. Los Olivos es el segundo distrito de Lima Norte con mayor número de mercados (56) y alta demanda de hamburguesas. No obstante, el 32,14 % incumplen las condiciones sanitarias

establecidas en la RM N° 282-2003-SA-DM, ocasionando el deterioro rápido de las hamburguesas y por ende generando pérdidas económicas tanto para el establecimiento como para la fábrica de cárnicos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Para la realización de este trabajo, se encontraron investigaciones científicas y tesis de grado que contribuyeron al desarrollo de esta investigación. Dentro de los cuales destacamos los siguientes:

Devlieghere et al. (2001) propuso un modelo predictivo para la estimación de la vida útil de productos cárnicos cocidos en atmosfera modificada; considerando como factores la temperatura, actividad de agua, CO disuelto y la concentración de Lactato-Na en fase acuosa, que sirvieron para determinar la tasa máxima de crecimiento y la fase de retardo empleando ecuaciones cuadráticas superficie-respuesta y el modelo Ratkowsky; finalmente los estudios de validación revelaron una mayor precisión del modelo Ratkowsky a comparación de las ecuaciones superficie-respuesta y la adición del Lactato-Na a bajas temperaturas prolongo significativamente su vida útil.

Parra et al. (2002) señala que en un estudio de 27 muestras de hamburguesas congeladas de 3 marcas distintas (A y B de res, C de pollo) procedentes de Venezuela, se encontró que para coliformes totales las hamburguesas de carne de la marca B presentó mayor NMP que la marca A, en dos de los expendios muestreados ($p < 0,05$), mientras que el NMP para coliformes fecales fue variable. *Salmonella* spp. solo estuvo presente en las hamburguesas de la marca B y los recuentos de aerobios mesófilos y *Escherichia coli* sobrepasaron los límites permitidos en ambas marcas.

Cagney et al. (2004) determinó la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas procedentes de supermercados y carnicerías en la República de Irlanda; teniendo en cuenta la aplicación del método ISO 16654 para detección de *Escherichia coli* O157:H7 y confirmación a través de la técnica molecular PCR; concluyendo que el 4,46 % de las hamburguesas procedentes

de supermercados presentaron *Escherichia coli* O157:H7 a comparación de las expendidas en carnicerías.

Narváez, Parra, Huerta-Leidenz y Rodas-González (2001) refieren que en un estudio de 56 muestras de hamburguesas derivadas de distintas fases operativas como troceado, mezclado-molido, moldeado y empaçado procedentes de Venezuela, se reportó que *Salmonella* tuvo mayor presencia en la fase de moldeado (66 %), seguida de la fase de mezclado-molido (22 %) y troceado (11 %). En cuanto a *Escherichia coli* enteropatógena y enterotoxigénica estuvo presente en todas las fases operativas. La presencia de estos patógenos en planta indica posibles fallas tanto en la aplicación de los programas sanitarios como en las prácticas de fabricación.

Mataragas, Drosinos, Vaidanis y Metaxopoulos (2006) desarrollaron un modelo predictivo para el deterioro de productos cárnicos curados; estudiando la flora de descomposición del producto que sirvió para determinar los organismos de deterioro específico (SSO) a través de cambios fisicoquímicos del producto durante su almacenamiento a temperaturas de 0 a 12 °C; concluyendo que el modelo modificado de Gompertz describe mejor el efecto de la temperatura en función del crecimiento de los SSO.

Fernández et al. (2006) evaluó el efecto de tres tiempos y tres temperaturas de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de hamburguesas preparadas en tres establecimientos comerciales procedentes de Venezuela; se realizaron recuentos de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. a temperaturas de -15 °C (venta), 5 °C (elaboración) y 15 °C (consumo) durante 0, 48 y 96 horas; concluyendo que los microorganismos estudiados mostraron una tendencia a la disminución por efecto del tiempo, mientras que las temperaturas de almacenamiento no afectaron significativamente su crecimiento.

Cravero, Ramón, Bocanera, Giménez y Ruiz (2007) afirman que en un estudio de 25 muestras de emparedados de hamburguesas procedentes de Argentina se encontró que el 80 % estaba contaminado, y de éstos, el 95 % presentó aerobios mesófilos, el 60 % coliformes, el 10 % enterobacterias, el 35 % *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 no fue detectada en ninguna muestra. Concluyendo que la aplicación de las BPM en los locales de elaboración y venta de hamburguesas fue insuficiente, lo cual se refleja en la baja calidad higiénico-sanitaria de los productos analizados, puesto que, recuentos elevados indican materias primas contaminadas, tratamientos no satisfactorios y condiciones inadecuadas de almacenamiento.

Mataragas, Skandamis, Nychas y Drosinos (2007) desarrollaron un modelo predictivo del deterioro de productos cárnicos curados y cocidos por análisis multivariado; empleando el análisis de conglomerados, análisis de componentes principales y la regresión por mínimos cuadrados parciales para asociar el deterioro con parámetros fisicoquímicos y microbiológicos; concluyendo que el modelo desarrollado fue capaz de dar predicciones precisas sobre el deterioro de los productos cárnicos.

Valero et al. (2008) refiere que en un estudio de 60 muestras de hamburguesas de pollo elaboradas en forma artesanal (marca A) e industrial (marca B) procedentes de Venezuela se obtuvo que los recuentos medios para aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* sp. fueron significativamente más elevados en la marca A, demostrando su deficiente calidad microbiológica.

Fortuna, Nascimento y Franco (2014) señalaron que en un estudio de 80 muestras de hamburguesas procedentes de Brasil se reportó que el 53,75 % (43) tuvieron recuentos de aerobios mesófilos por encima del límite permisible, lo cual indica su baja calidad higiénico sanitaria.

Martí (2015) determinó la vida útil de hamburguesas de atún y algas en atmosfera modificada y al vacío, almacenadas en refrigeración; se llevaron a cabo periódicamente análisis microbiológicos durante 17 días; concluyendo que los recuentos de aerobios mesófilos y enterobacterias aumentaron a lo largo del tiempo de estudio, siendo estos valores inferiores en el envasado en atmosfera modificada. En base al recuento de aerobios mesófilos se estableció una vida útil inferior a 10 días para las hamburguesas envasadas al vacío y de 14 días para las envasadas en atmosfera modificada.

Terrazas-Pérez, Roca-Argüelles y Zumbado-Fernández (2017) determinó la vida útil de hamburguesas elaboradas con nuez pecana en atmosfera modificada. El producto se sometió a almacenamiento por 35 días en atmosfera modificada (20 % CO₂, 2 % O₂ y 78 % N₂) a tres temperaturas: congelación (-18 °C), refrigeración (4 °C) y ambiente (21 °C). Según el análisis estadístico se obtuvo 168 días de vida útil en comparación con 150 días del producto control a temperatura de congelación (-18 °C) y 13 días en refrigeración (4 °C), mientras que el control fue de 9 días.

A nivel nacional, se conoce que Guerrero (2015) evaluó la vida útil de hamburguesas formuladas con pulpa de doncella y harina de trigo en congelación a -18 °C, teniendo en cuenta como indicadores microbiológicos a aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. y *Vibrio parahaemolyticus* examinados durante 30 días; concluyendo que no hubo presencia significativa de ningún microorganismo.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Aspectos generales de las hamburguesas

Bustacara y Joya (2007) afirman que “la hamburguesa es un producto molido fresco que se prepara con carne de diferentes especies entre ellas la de res, mezclada con grasa de cerdo, adicionada de condimentos y que debe ser

congelada para su conservación” (p. 35). Castillo (2017) señala que “este tipo de alimento es muy propenso a la oxidación lipídica por presentar en su composición alto contenido de grasas” (p.16).

Castillo (2017) afirma que “la oxidación lipídica y la contaminación bacteriana son los principales factores que contribuyen a la pérdida de su calidad microbiológica y disminución de su vida útil” (p.16).

2.2.1a Proceso de elaboración

El proceso de elaboración comprende las siguientes etapas:

- **Recepción de materia prima**

Aparicio, Cubides y Mendoza (2010) señalan que “se verifica el estado en que llega la materia prima, que sus características organolépticas sean normales, es decir libres de olores, sabores y colores extraños” (p.79).

Sánchez (2003) refiere que “las medias canales y partes correspondientes a las especies animales bovina y porcina deben recepcionarse congeladas a una temperatura entre -18 °C y -20 °C para evitar posibles contaminaciones” (p.317).

Asimismo “los aditivos, especias y demás ingredientes se deben recibir a temperatura ambiente envasadas en atmósfera modificada para su mejor conservación y deberán almacenarse un máximo de 30 días” (Sánchez, 2003, p.317).

- **Almacenamiento**

La materia prima una vez recepcionada, debe ser inmediatamente almacenada, ya sea al ambiente, refrigeración y/o congelación; esto va depender de las características de las materias primas (Berrocal, Felipa y Rosario, 2011).

- **Troceado**

Berrocal, Felipa y Rosario (2011) señalan que “esta operación es realizada con una sierra eléctrica cortadora de carne con el fin de reducir los bloques descongelados de carne a un tamaño tal que permita su procesamiento en la moledora” (p.12).

- **Molienda**

Esta operación se realiza con el fin de reducir aún más el tamaño de la carne para su posterior mezclado con el resto de ingredientes. Se emplea para esta operación una maquina moledora de carne (Berrocal, Felipa y Rosario, 2011).

- **Mezclado**

En esta etapa se agregan las sustancias curantes, especias, condimentos, y demás ingredientes sobre la carne molida hasta obtener una masa uniforme y estable (Aparicio, Cubides y Mendoza, 2010).

- **Moldeado**

Se realiza en la formadora para obtener hamburguesas de tamaño y peso uniforme (Aparicio, Cubides y Mendoza, 2010).

- **Empacado**

Aparicio, Cubides y Mendoza (2010) señalan que “las hamburguesas porcionadas con un peso de 125g se empacan en bolsas de polipropileno al vacío” (p.79).

- **Almacenamiento**

Se debe almacenar en congelación para conservar sus características propias (Aparicio, Cubides y Mendoza, 2010).

2.2.1b Fuentes de contaminación

La contaminación de las hamburguesas se puede producir desde el sacrificio y evisceración del animal, las condiciones sanitarias del medio ambiente del cual proviene la carne, las propiedades y calidad microbiológica de los ingredientes, los cuidados de quien procesa y maneja el producto, y de las condiciones posteriores de almacenamiento, manejo y distribución del mismo (Restrepo, Arango, Amézquita y Restrepo, 2001).

2.2.1c Alteración microbiana

Castillo (2017) manifiesta que “las carnes son fácilmente alterables, sobre todo si están procesadas, pues tienen un pH entre 5.1 y 5.6 adecuado para el desarrollo de la mayoría de microorganismos, y un valor de actividad de agua mayor a 8.5. El crecimiento de microorganismos en los productos cárnicos puede causar deterioro y producir Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAS)” (p.20).

Según un estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017), *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Vibrio cholerae* fueron los principales patógenos causantes de ETAS, donde los principales alimentos involucrados fueron de origen animal desde alimentos crudos, como pescado y carnes, hasta alimentos listos para el consumo (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2017).

Las hamburguesas al ser elaboradas a base de carne picada presentan los mismos problemas que la carne entera, pero agravados por la manipulación a la que es sometida, ocasionando la disminución del tiempo de conservación (Castillo, 2017, p.20).

2.2.2 Microorganismos indicadores de la calidad microbiológica

2.2.2a Aerobios mesófilos

Cano (como se citó en Soberon, 2017) afirma que “en este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30 °C en las condiciones establecidas” (p.2).

Vanderzant y Splittstoesser (como se citó en Soberon, 2017) manifiestan que “las especies encontradas en los alimentos son generalmente amplias y no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano” (p.2).

Cano (como se citó en Soberon, 2017) señala que en el recuento de aerobios mesófilos, se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Un recuento bajo no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. (p.2)

2.2.2b *Escherichia coli*

Paredes (como se citó en Soberon, 2017) señala que “*Escherichia coli* forma parte de la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos Gram negativos y es capaz de producir indol, a partir de triptófano, en 21 ±3 horas a 44 ± 0.5 °C” (p.3).

Restrepo, Arango, Amézquita y Restrepo (2001) señala que “normalmente se encuentran en el tracto intestinal de animales y del hombre, y es comúnmente utilizado como indicador de contaminación fecal en productos alimenticios y en aguas” (p.11).

Estrada et al., Buchholz et al., Portera et al., Chokoshvili et al. y Croxen et al. (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) manifiestan que aunque *Escherichia coli* puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, varios estudios han documentado que ciertas cepas de *E. coli* producen diarrea y otras enfermedades extraintestinales en

humanos. Estas cepas de *E. coli* patogénicas constituyen un grupo heterogéneo de organismos con diferentes propiedades de virulencia, serotipos O:H, epidemiología y enfermedades asociadas. (p.109)

Restrepo, Arango, Amézquita y Restrepo (2001) señalan que “los principales productos cárnicos contaminados son la carne de hamburguesa y productos a base de salmón, y en general todo producto que sea manipulado bajo escasas normas higiénicas” (p.11). Así mismo señalan que “entre los factores que favorecen su contaminación se encuentra la deficiente cocción de los alimentos, la falta de higiene por parte de los manipuladores y del mismo consumidor, la demora en la refrigeración y las contaminaciones cruzadas” (Restrepo, Arango, Amézquita y Restrepo, 2001, p.11).

2.2.2c *Staphylococcus aureus*

Doyle et al. (como se citó en Soberon, 2017) manifiesta que “*Staphylococcus aureus* es una bacteria con morfología microscópica típica de cocos Gram positivos agrupados en racimos de tamaño entre 0,5 a 1,5 μm , no esporulada (asporógena) e inmóvil” (p.4).

Perdomo y Melendez (como se citó en Soberon, 2017) señalan que es una bacteria ubicua y patógena que puede causar intoxicación alimentaria, se sabe que la mayoría de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que, muy pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas (intoxicación alimentaria estafilocócica, IAE). Por ello, es importante mencionar que las enterotoxinas estafilocócicas son de las pocas toxinas bacterianas de naturaleza proteica, que presentan termorresistencia. (p.5).

La intoxicación estafilocócica es una de las principales intoxicaciones alimentarias y presenta como síntomas comunes dolor abdominal, náuseas y vómitos. Sin embargo, se ha presentado casos donde no se manifiestan todos

los síntomas. Los alimentos involucrados con frecuencia, incluyen los productos lácteos, cárnicos y sus derivados. (Palomino, 1992).

2.2.2d *Salmonella* sp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Hammack (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) señala que “son bacilos Gram negativos, no esporulados y móviles; a excepción de los serotipos *Salmonella gallinarum* y *Salmonella pullorum*, que no poseen esta última característica” (p.107). Brenner, Villar, Angulo, Tauxe y Swaminathan (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) manifiestan que “en la actualidad se reconocen dos especies: *Salmonella entérica*, la cual incluye las subespecies I, II, IIIa, IIIb, IV y VI, y *Salmonella bongori*, con la subespecie V” (p.107); Grimont y Weil (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) afirman que “dentro de estas existen más de 2500 serotipos, los cuales se clasifican de acuerdo con el antígeno flagelar H y el antígeno somático O” (p.107).

Los productos cárnicos han ganado notoriedad en años recientes como fuentes de salmonelosis humana. Centers For Disease (CDC), y McLaughlin, Castrodale, Gardner, Ahmed y Gessner (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solís y Santos, 2014) señalan que esto es debido a que “la carne molida de res es un medio ideal para el crecimiento de *Salmonella*, ya que, es rica en nutrientes y no contiene agentes inhibidores, por ello que son comúnmente responsables de brotes por este patógeno” (p.24). Bertrand et al. (2010) manifiesto que “se reportó que causa 1,4 millones de incidentes por año en Estados Unidos” (p.24).

Sorensen et al. (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) señala que “respecto a la presencia de *Salmonella* en cárnicos, a nivel mundial se ha reportado en Canadá en el 1,3 % de 1002 muestras de carne molida adquiridas en tiendas de autoservicio” (p.24), Arslan y Eyi (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) manifiestan que “en el 21,3 % de carne molida en venta al por menor en Turquía” (p.24) y Ghafir et al. (como se

citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) manifiesta que en el 3,5 % de carne molida de Bélgica” (p.24).

Bosilevac, Guerini, Kalchayanand y Koohmaraie (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) afirman que en el 2009 se reportó la presencia de *Salmonella* en el 4,2 % de las muestras de carne molida, colectada de 18 productores quienes proporcionaban la carne para diversos productos como hamburguesas o alimentos listos para consumo en restaurantes o supermercados de Estados Unidos. (p.24) Mientras que, en el 2010 en un estudio de 42 muestras de alimentos de un sector universitario procedentes de Colombia, se detectó que el 2,38 % de hamburguesas fue positivo a *Salmonella entérica* (Soto, Pérez y Estrada, 2016).

Coral (como se citó en Soberon, 2017) señala que las salmonelosis típicamente producen cuatro manifestaciones clínicas: gastroenteritis (que va desde diarrea leve a diarrea fulminante, náuseas y vómitos), bacteriemia o septicemia (accesos de fiebre alta con hemocultivos positivos), fiebre tifoidea o paratifoidea (fiebre continua con o sin diarrea) y la condición de portadoras de personas infectadas anteriormente. (p.4)

2.2.2e *Escherichia coli* O157:H7

Aunque *Escherichia coli* es una bacteria presente en la microflora de humanos y animales, existen grupos patogénicos causantes de diarrea y se les conoce como *Escherichia coli* diarrogénicas (DEC).

Kaper, Nataro y Moble, y Canizales, Gonzales, Vidal, Flores y León (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) señalan que basados en sus factores de virulencia y características fenotípicas se han clasificado en seis grupos patogénicos: *Escherichia coli* enteropatogénica (EPEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigénica (ETEC), de adherencia

difusa (DAEC), enteroinvasiva (EIEC) y productoras de toxinas Shiga (STEC). Estas últimas incluyen el subgrupo enterohemorrágico (EHEC). (p.109)

Cramer y Espié, Mariani-Kurkdjian, Filliol, Vaillant y Valk (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) manifiestan que “*Escherichia coli* O157:H7 es reconocido como uno de los serotipos más representativos de EHEC y es capaz de producir dos tipos de toxina shiga, Stx1 y Stx2, que ocasionan diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico” (p.110). Donde las hamburguesas siguen siendo el primer vehículo y el más importante identificado para su transmisión (Reitsma y Henning, 1995).

Bell y Gun, Yilmaz, Turker, Tanlasi y Yilmaz (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) afirman que el ganado bovino es un importante reservorio para *Escherichia coli* O157 y no-O157 productoras de toxinas shiga (STEC), formando parte de su flora nativa intestinal, por lo que se pueden contaminar los canales con heces y al contacto con la piel si no se cuentan con los cuidados necesarios. (p.23)

Recientemente se ha hecho evidente que las *Escherichia coli* no-O157 productoras de toxina shiga (STEC), particularmente los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, y O145 causan enfermedades similares a la causada por el serotipo O157:H7 (Gould et al, 2013). Asimismo, el Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria (FSIS) declaró que estos seis serotipos de *Escherichia coli* no-O157 son también adulterantes en la carne de res troceada.

Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos (2014) afirman que en el 2014, el FSIS confirmó la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en el 0,72 % de las muestras de carne molida cruda que era utilizada en la fabricación de productos cárnicos, en tanto que la presencia de las no-

O157 fue del 2,56 %. Por todo lo anterior, *Escherichia coli* O157:H7 ha sido catalogado como el patógeno contaminante de alimentos más peligroso para la salud humana, debido a las complicaciones severas que puede provocar. (p.23)

2.2.2f *Listeria monocytogenes*

Jay y Michanie (como se citó en Soberon, 2017) señalan que “es una bacteria aerobia y anaerobia facultativa, pero su proliferación mejora cuando los cultivos se incuban con reducción de dióxido de carbono del 5 al 10%. La temperatura mínima de desarrollo de este microorganismo psicrótrófico es de 1.1 ± 0.3 °C, la óptima de 30 a 37 °C, y la máxima de 45 °C. Puede crecer en un intervalo de pH amplio, desde 4.1 hasta alrededor de 9.6, sin embargo, su pH óptimo fluctúa entre 7.2 y 7.6” (p.7)

De curtis (como se citó en Soberon, 2017) manifiesta que “a temperaturas entre 20 y 25°C son móviles por medio de 4 flagelos peritricos, pero a temperatura de 37 °C solo forma un flagelo polar. Posee una motilidad característica tipo “*tumbling*” o “volteo”, es decir, mediante un lanzamiento rápido combinado con saltos y rotación” (p.8)

Norton et al. y Sauders et al (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) señalan que se ha reportado como un microorganismo persistente en las plantas procesadoras de alimentos, siendo la mayor fuente de contaminación para el producto. Este patógeno a menudo se encuentra en cortes frescos de carnes de res y aves. También puede crecer en productos cárnicos cocidos embutidos tales como las salchichas para “hotdog”. Resulta de suma importancia asegurarse que las carnes rojas contaminadas no contaminen productos listos para consumo. (p.25)

Khen, Lynch, Carroll, Mcdowell y Duffy (como se citó en Heredia, Dávila-Aviña, Solis y Santos, 2014) afirman que “entre el 2007 al 2009 se reportó a *Listeria monocytogenes* en el 29 % de muestras de carne molida en niveles de 100 a 200 UFC/g, procedentes de Irlanda” (p.26). En el 2014 se reportó a *Listeria monocytogenes* en el 4 % de 25 productos cárnicos procedentes de Irán analizados mediante PCR convencional (Haj Hosseini, Sharifan y Sadat, 2014).

Listeria monocytogenes es capaz de ocasionar sepsis intrauterina y muerte del feto o neonato; y meningoencefalitis, bacteriemia e infecciones locales en el adulto (Garza-Velasco, Silva-Monzuazo y Hernández-Gómez, 2007).

Soto, Perez y Estrada (2016) señalan que es el agente causal de la listeriosis, la cual se manifiesta de forma invasiva o no invasiva. La forma invasiva puede provocar mortinatos, abortos, partos prematuros, y en los recién nacidos e inmunodeprimidos puede conducir a septicemia, meningitis y encefalitis. En la forma no invasiva se producen síntomas como fiebre, dolor de cabeza y diarrea. (p. 110)

Swaminathan y Gerner (como se citó en Soto, Pérez y Estrada, 2016) manifiestan que “la mortalidad por listeriosis es del 20 al 30 % en grupos vulnerables” (p.111).

2.2.3 Normativa para la contaminación microbiológica

El Ministerio de Salud (MINSa) (2008) señala que “la normativa nacional tiene como objetivo establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados “aptos” para el consumo humano” (p.1).

Artículo 15°.- Criterios microbiológicos

“Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados “aptos” para el consumo humano” (MINSa, 2008, p.5) (véase Tabla 1).

Tabla 1

Criterios microbiológicos del subgrupo carnes y productos cárnicos procesados, refrigerados o congelados

Carnes procesadas refrigeradas o congeladas (hamburguesas , milanesas, croquetas y otros empanizados o aderezados)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁶	10 ⁷
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	50	5x10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
<i>Listeria monocytogenes</i> *	10	2	5	0	Ausencia/25g	---

*No incluye la Norma Técnica Sanitaria N° 071.

MINSa, 2008.

2.2.4 Vida útil de los alimentos

Carrillo y Reyes (2013) señalan que “la vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en la que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales, fisicoquímicas y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico” (p.1). Este periodo depende de muchas variables en donde se incluye tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque (Brody, 2003).

Charm (como se citó en Valdez, 2014) manifiesta que la vida útil se determina al someter a estrés al producto siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar predicciones de vida útil mediante la utilización de modelos matemáticos (evaluación de crecimiento y muerte), pruebas en tiempo real (alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (alimentos estables) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas. (p.30)

2.2.4a Factores que afectan la vida útil

❖ Materia prima

Carrillo y Reyes (2013) señalan que la naturaleza de las materias primas es uno de los factores que más influencia tiene en la vida útil de un alimento. Dependiendo del macronutriente que predomine, o de la combinación de estos en el alimento, será el tipo de reacciones que se lleven a cabo. (p.3)

❖ Formulación del producto

Carrillo y Reyes (2013) manifiestan que “los ingredientes y aditivos que contenga un producto afectan directamente la caducidad de un alimento” (p.3).

❖ Proceso que se aplica

Carrillo y Reyes (2013) señalan que “los alimentos pueden someterse a procesos de pasteurización, esterilización, o bien a la tecnología de obstáculos. Esta última, puede poner en riesgo la seguridad y calidad del producto si no se usan los factores de conservación de manera inteligente” (p.4).

❖ **Condiciones sanitarias del proceso**

Carrillo y Reyes (2013) manifiestan que “dependiendo de las condiciones sanitarias que se sigan durante el proceso de elaboración de un producto, será el tiempo de vida útil del mismo” (p.4).

❖ **Envasado**

Carrillo y Reyes (2013) señalan que “el envasado puede favorecer condiciones de anaerobiosis o modificar la atmosfera entre el alimento y el material de empaque, de tal manera que en tales condiciones se pueda prolongar la vida útil del alimento” (p.4).

❖ **Almacenamiento y distribución**

Carrillo y Reyes (2013) manifiestan que el lugar donde se almacenen los productos terminados, así como el tiempo en que estos se distribuyan puede acortar la vida útil de un alimento, si no se realiza bajo condiciones apropiadas. Aunque los productos alimenticios tengan una buena estabilidad física, química o microbiológica, si estos no se tratan en las condiciones que indica el fabricante, es posible que disminuya su vida útil. (p.5)

2.2.4b Métodos de estimación de la vida útil

❖ **Valores de literatura**

La estimación de la vida útil se realiza recurriendo a datos publicados, sin embargo, estos datos son muy limitados (Labuza, 1999).

❖ **Tiempo de distribución de un alimento similar**

Este método aproxima la vida útil del producto, considerando el tiempo de distribución de un producto similar (Labuza, 1999).

❖ **Pruebas extremas de distribución**

Labuza (como se citó en Estrada, 2017) señala que este método consiste en recolectar el alimento del establecimiento y se almacena en el laboratorio bajo condiciones similares a las de uso en casa. Se emplea cuando se requiere implementar una nueva legislación. La ventaja es que permite estimar la vida útil en condiciones de casa y distribución. (p.21)

❖ **Quejas del consumidor**

Labuza (como se citó en Estrada, 2017) manifiesta que “se identifica el problema de estabilidad haciendo uso de la información proporcionada por el consumidor. Muchas compañías, colocan un número sobre el empaque y almacenan en una base de datos la información de quejas, localización, etc.” (p.21).

❖ **Pruebas aceleradas**

Labuza y Schmidl (como se citó en Estrada, 2017) señala que “emplea condiciones de prueba extrema, examinando el producto periódicamente hasta el final de la vida útil. Los resultados permiten proyectar la vida útil bajo condiciones verdaderas de distribución” (p.21). Saguy (como se citó en Estrada, 2017) manifiesta que “las pruebas aceleradas isotérmicas han sido usadas extensivamente en la industria. Los alimentos son almacenados a 37 y 51 °C, y establecen correlaciones basadas en la ecuación de Arrhenius que permite extrapolar los resultados a otras temperaturas de almacenamiento” (p.21).

2.2.4c Modelo matemático de Arrhenius

Lai y Heldman (como se citó en Pérez-Flores, 2017) señalan que “el modelo matemático de Arrhenius permite la extrapolación de los datos cinéticos a diferentes temperaturas, por lo cual es una herramienta útil para completar la vida útil de un alimento” (p.545).

Las reacciones de pérdida de calidad de los alimentos han mostrado que siguen un comportamiento de Arrhenius con la temperatura, dado por la siguiente ecuación:

$$K = K_0 e^{\left(\frac{-E_a}{RT}\right)}$$

Al aplicar logaritmos a ambos lados de la ecuación se obtiene la ecuación de una línea recta con pendiente E_a/R , y se despeja el término E_a para obtener el valor de la energía de activación:

$$\ln K = \ln K_0 - \frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T}\right)$$

$$\log K = \log K_0 - \frac{E_a}{2.303R} \cdot \left(\frac{1}{T}\right)$$

Donde:

K: Constante de velocidad de reacción.

K₀: Constante de la ecuación de Arrhenius.

E_a: Energía de activación.

R: Constante de los gases ideales = 1.987 cal/mol.

T: Temperatura absoluta (k).

2.3 Conceptual

- **Calidad microbiológica**

La calidad microbiológica abarca no solo la determinación de la presencia o ausencia de microorganismos en los alimentos, sean elaborados artesanal o industrialmente, sino también implica garantizar el cumplimiento de las condiciones higiénico-sanitarias bajo las cuales fueron elaborados. El cumplimiento de ambas características garantiza que el producto elaborado es apto para ser consumido.

En los últimos años se han reportado casos de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAS) ocasionando gran preocupación y desconfianza por parte de los consumidores.

En nuestro país, existe la Norma Técnica Sanitaria N° 071 que regula el cumplimiento de los parámetros microbiológicos en los productos alimenticios; a fin de asegurar que los productos elaborados sean inocuos y no representen riesgo de ETAS.

- **Termino de referencia: Vida útil**

La vida útil de un alimento indica el periodo máximo en que se puede consumir sin que esté pierda sus características organolépticas, funcionales y nutricionales. Diversos factores influyen en el tiempo de vida útil de un producto tales como la composición del alimento, condiciones de almacenamiento, envase y procesos a los que es sometido.

Existen diversos tipos de estudio de vida útil tales como análisis de tendencias, estudios de durabilidad a tiempo real, estudios acelerados, método de supervivencia y métodos de referencia y legislación.

Últimamente se vienen empleando los estudios acelerados, debido al corto periodo de análisis y a la alta eficacia.

En este estudio a través de la calidad microbiológica inferimos el tiempo de vida útil de las hamburguesas, puesto que, los indicadores microbiológicos nos indican el estado en que se encuentra un producto.

- **Termino de referencia: Hamburguesas**

Las hamburguesas son productos cárnicos de alta demanda en la población por su rapidez y facilidad de preparación. Sin embargo, existen reportes de intoxicaciones alimentarias relacionadas con su consumo.

Su proceso de elaboración es complejo, tiene varias etapas y en cada una de ellas se debe aplicar rigurosamente las Buenas Prácticas de Manipulación (BPM), puesto que, las hamburguesas usualmente no reciben ningún tipo de tratamiento adicional que el de congelación y/o refrigeración. En su mayoría no son almacenadas adecuadamente y por ello tienden a descomponerse muy rápido, produciendo alteraciones en su composición fisicoquímica.

Resulta imprescindible controlar la calidad de la materia prima utilizada, puesto que, va influir considerablemente en su calidad microbiológica y por ende afectaría su tiempo de vida útil ocasionando problemas en la salud de los consumidores.

2.4 Definición de términos básicos

- **Hamburguesa:** Es un producto molido fresco que se prepara con carne de diferentes especies mezclada con grasa de cerdo y adicionada de condimentos.
- **Calidad microbiológica:** Producto que cumple con los criterios microbiológicos de inocuidad alimentaria.
- **Vida útil:** Es el tiempo finito después de su producción en la que tendrá pérdida de sus propiedades sensoriales, fisicoquímicas y sufrirá cambios en su perfil microbiológico.
- **Mercado:** Centro de abastecimiento al por mayor de alimentos y bebidas y que se encuentra ubicado especialmente en zonas populosas.
- **ICMSF:** International Commission on Microbiological Specifications for Foods.
- **FDA:** Food and Drug Administration.
- **BAM:** Bacteriological Analytical Manual.
- **NTS:** Norma Técnica Sanitaria.
- **ETA:** Enfermedad de Transmisión Alimentaria.
- **Listeriosis:** Síndrome producido al infectarse por *Listeria monocytogenes*, la cual se manifiesta de forma invasiva o no invasiva.
- **DEC:** *Escherichia coli* diarrogénicas.
- **EPEC:** *Escherichia coli* enteropatógena.
- **EAEC:** *Escherichia coli* enteroagregativa.
- **ETEC:** *Escherichia coli* enterotoxigénica.
- **DAEC:** *Escherichia coli* de adherencia difusa.

- **EIEC:** *Escherichia coli* enteroinvasiva.
- **STEC:** *Escherichia coli* productoras de toxinas Shiga.
- **EHEC:** *Escherichia coli* enterohemorrágico.

III. VARIABLES E HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis General

En la mayoría de las hamburguesas a analizar la calidad microbiológica será deficiente e influirá en disminuir su tiempo de vida útil.

3.1.2. Hipótesis Específicas

- La mayoría de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos, son de calidad higiénico-sanitaria deficiente.
- Se comprobará la presencia y/o recuento de microorganismos indicadores por encima del límite permisible de la Norma Técnica Sanitaria N° 071, en un número considerable de hamburguesas.
- Se establecerán los parámetros cinéticos de crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C y se comprobará que a mayor temperatura mayor tasa de crecimiento.
- La ecuación cinética de Arrhenius evidencia la disminución del tiempo de vida útil, debido a la baja calidad microbiológica y al incumplimiento de las condiciones sanitarias.

3.2. Definición conceptual de variables

Y₁: Calidad microbiológica y vida útil de hamburguesas expandidas en mercados del distrito de Los Olivos.

X₁: Condiciones higiénico-sanitarias de los puestos expendedores de hamburguesas.

X₂: Presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las hamburguesas según la Norma Técnica Sanitaria N° 071.

X₃: Parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C.

X₄: Ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius.

3.2.1 Operacionalización de variables

Tabla 2

Variables y dimensiones

Variables	Dimensiones	Indicadores	Índices	Método y técnica
Y ₁ : Calidad microbiológica y vida útil de hamburguesas expendidas en mercados del distrito de Los Olivos	Calidad microbiológica	Norma Técnica Sanitaria N° 071	Conforme	Calificación según la NTS N° 071
			No conforme	
X ₁ : Condiciones higiénico-sanitarias de los puestos expendedores de hamburguesas.	Vida útil	Temperatura	° C	Modelo matemático de Arrhenius
		Tiempo Alimento	Días	
X ₂ : Presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las hamburguesas según la Norma Técnica Sanitaria N° 071.	Calificación de la inspección según la RM N° 282-2003-SA/DM	Buenas Prácticas de Manipulación Vendedor	- Cumple -Cumple parcialmente - No cumple	Ficha de inspección higiénico-sanitaria
		Ambiente y enseres		
		Aerobios mesófilos	UFC/g	Recuento
		<i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Número Más Probable
		<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	Recuento
		<i>Salmonella</i> sp.	-Presencia/25g - Ausencia/25g	Detección
		<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-Presencia/25g - Ausencia/25g	Detección
X ₃ : Parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C.	Parámetros cinéticos	Población inicial (A ₀)	UFC/g	Ecuación cinética de crecimiento
		Velocidad de crecimiento (B)	UFC/días	
		Energía de activación (E _a)	J/mol	
X ₄ : Ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius.	Ecuación cinética de reacción	Temperatura	K	Modelo matemático de Arrhenius
		Velocidad específica de crecimiento (K)	Adimensional	

Elaboración propia.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Tipo y diseño de investigación

De acuerdo a la naturaleza del problema y a los objetivos de investigación, el presente trabajo es de tipo experimental, puesto que, se realizaron análisis microbiológicos que permitieron determinar la calidad microbiológica e inferir en el tiempo de vida útil de las hamburguesas mediante la ecuación cinética de Arrhenius.

El diseño de la investigación se caracterizó por ser longitudinal, puesto que, se recolecto datos para las siguientes etapas de la investigación: la inspección higiénico-sanitaria, los análisis microbiológicos y la determinación del tiempo de vida útil.

4.2 Método de investigación

a. Toma de muestras

Se colectó asépticamente un paquete de hamburguesa de carne por cada puesto de aproximadamente 500 g cada una para el ensayo microbiológico y se transportó en *coolers* refrigerados a una temperatura de 4 °C. Las muestras colectadas fueron rotuladas de modo tal que se tenga información respecto a su procedencia y se garantice su identificación al momento de realizar el ensayo. Las muestras fueron analizadas en un máximo de 24 horas.

b. Procesamiento de las muestras

b.1. Recuento de aerobios mesófilos

Para el recuento de aerobios mesófilos se aplicó la metodología establecida por la International Commission on microbiological specifications for foods (ICMSF) (2000); que consistió en pesar 10 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 90

mL de agua peptonada (diluyente), se homogenizó en el stomacher por 1 minuto, se preparó diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-5} , y se agregó 1 mL de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} a placas por duplicado, incorporando Agar Plate Count y se incubó a 29-31 °C durante 48 h (véase Figura 14, en la página 115).

b.2. Enumeración de *Escherichia coli*

Para la enumeración de *Escherichia coli* se aplicó la metodología establecida por el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la Food and Drug Administration (FDA); que consistió en pesar 50 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 450 mL del diluyente, se homogenizó por 1 minuto en el stomacher, se preparó diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-5} , se agregó 1 mL de cada dilución a tubos con Caldo Lauril Sulfato por triplicado y se incubó a 35 ± 1 °C por 24-48 \pm 2 h. Luego se seleccionó los tubos positivos (gas y turbidez) para confirmación por asadas en caldo EC (*Escherichia coli*) a 45.5 ± 0.2 °C por 24-48 \pm 2 h. Seguidamente se seleccionó los tubos positivos del caldo EC para sembrar por estriado en Agar Eosin Methylene Blue (EMB) y se incubó a 35 ± 1 °C por 18-24 h. Posteriormente se seleccionó 5 colonias sospechosas de cada placa y se confirmó mediante la prueba IMVIC a 35 °C por 18-24 h (Feng, Weagant, Grant y Burkhardt, 2017) (véase Figura 15, en la página 116).

b.3. Recuento de *Staphylococcus aureus*

Para el recuento de *Staphylococcus aureus* se aplicó la metodología establecida por el BAM de la FDA; que consistió en pesar 50 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 450 mL del diluyente, se homogenizó por 1 minuto en el stomacher, se preparó diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-2} , se distribuyó 1 mL de cada dilución equitativamente en 3 placas con Agar Baird Parker (0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL) y se incubó a 35 °C por 45-48 h. Luego se seleccionó más de 1 colonia de cada tipo y se transfirió a tubos con caldo Braint Heart Infusion (BHI) incubándose a 35 °C por 18-24 h. Posteriormente se realizó la prueba de la Coagulasa que consistió en añadir 0.5 mL de plasma de conejo a 0.2 mL del cultivo en BHI incubándose a 35 °C y se examinó a las primeras 4 h y

posteriormente a las 24 h para observar la formación del coagulo (Bennett y Lancette, 2016) (véase Figura 16, en la página 118).

b.4. Detección de *Salmonella* sp.

Para la detección de *Salmonella* sp. se aplicó la metodología establecida por el BAM de la FDA; que consistió en pesar 25 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 225 mL de caldo Lactosado y se incubo a $35-37$ °C por 18-24 h. Después se inoculo 1 mL de la muestra enriquecida a los caldos Tetracionato y Rappaport Vassiliadis y se incubo a 43 ± 0.05 °C por 24 h. Luego se transfirió una asada de cada caldo a los agares Sulfito Bismuto y Hektoen y se incubo a $35-37$ °C por 48 h, y en agar Xilosa Lisina Desoxicolato a $35-37$ °C por 24 h. Seguidamente se seleccionó dos o más colonias sospechosas de cada medio para sembrar por puntura y estriado en los agares Triple Sugar Iron y agar Lisina Hierro incubándose a $35-37$ °C por 24 h. Posteriormente se sembró las cepas presuntivas en Agar Tripticasa de Soya (TSA) a $35-37$ °C por 24 h para purificarlas y poder realizar las pruebas bioquímicas (tinción gram, catalasa y oxidasa) (Andrews, Wang, Jacobson y Hammack, 2016).

La confirmación de *Salmonella* sp. se hizo empleando el Suero Polivalente Anti-Salmonella PROBAC DO; que consistió en preparar una suspensión bacteriana en 0.2-0.3 mL de solución salina, se agregó 1 gota del suero polivalente, se mezcló y se movió la suspensión por 1 a 2 minutos. El resultado fue positivo si en la mezcla prueba dio una reacción de aglutinación, mientras que en el control no (véase Figura 17, en la página 119).

b.5. Detección de *Escherichia coli* O157:H7

Para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 se aplicó la metodología establecida por el BAM de la FDA; que consistió en pesar 25 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 225 mL de Agua Peptonada Bufferada modificada con piruvato (mBPW_p), se homogenizo por 2 minutos en el stomacher y se incubo a 37 ± 1 °C por 5 h, luego se agregó el suplemento de Acriflavin-Cefsulodina-Vancomicina (ACV) y se continuo la incubación a 42 ± 1 °C durante 18-24 h.

Después se transfirió una asada de la muestra enriquecida y se sembró por estriado en agar TC-SMAC incubándose a 37 ± 1 °C por 18 a 24 h. Posteriormente se seleccionó 5 colonias sospechosas del agar TC-SMAC y se sembró en placas con agar Tripticasa de Soya al 0,6 % de extracto de levadura (TSAye) para purificarlas y se incubó a 35 °C por 24 h. Seguidamente se sembró en ceparios con TSAye y se incubó a 35 °C por 24 h y posteriormente se realizó las pruebas bioquímicas en caldo EC MUG, caldo triptona, agar citrato de simmons, agar triple azúcar hierro, agar lisina hierro y agar sorbitol. También se hizo la prueba de hemólisis (Feng, Weagant y Jinneman, 2017) (véase Figura 18, en la página 121).

La confirmación de *Escherichia coli* O157:H7 se hizo mediante la prueba molecular de PCR en tiempo real; para ello previamente se extrajo el DNA de acuerdo a lo establecido en el kit DNeasy mericon food. En un tubo de microcentrifuga de 2 mL se colocó 1 mL del cultivo de enriquecimiento y se centrifugó 5 minutos a 13000 g. Posteriormente se colocó el tubo de microcentrifuga en un termobloque con agitación a 100 °C durante 10 minutos, al cabo de ese tiempo se dejó la muestra a temperatura ambiente por 2 minutos. Luego se centrifugó el tubo 5 minutos a 13000 g y se transfirió 100 µL del sobrenadante a un tubo nuevo de microcentrifuga. Posteriormente se aplicó la metodología de PCR en tiempo real según el kit *mericon Escherichia coli* O157 utilizando el termociclador Rotor Gene Q. Se preparó 10 µL de la mezcla maestra con el reactivo *mericon*, que contiene las sondas y cebadores específicos para los genes de virulencia (*eae* y *stx*), a la que se adicionó 10 µL de la muestra de DNA. Así mismo se preparó un control positivo (10 µL del reactivo *mericon* + 10 µL del control positivo DNA) y un control negativo (10 µL del reactivo *mericon* + 10 µL de agua libre de RNasa). Luego se realizó la programación del termociclador Rotor Gene Q bajo las siguientes condiciones: una activación inicial a 95 °C por 5 min, seguido de 40 ciclos de 15 s a 95 °C (denaturación), 15 s a 60 °C (annealing) y una extensión de 10 s a 72 °C, en esta última etapa se activó los canales de detección del termociclador. Para la detección de *Escherichia coli* O157 se activó el canal verde que detecta la

sonda FAM y para la detección del control interno se activó el canal amarillo que detecta la sonda MAX.

b.6 Detección de *Listeria monocytogenes*

Para la detección de *Listeria monocytogenes* se aplicó la metodología establecida por el BAM de la FDA; que consistió en pesar 25 ± 0.1 g de la muestra, se agregó 225 mL de caldo de enriquecimiento bufferado para *Listeria* (BLEB), se homogenizo por 2 minutos en el stomacher y se incubo a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 h. Luego se agregó los agentes selectivos (acriflavina, ácido nalidixico y cicloheximide) y se continuó la incubación hasta completar las 24 h. Después se transfirió una asada del caldo BLEB y se sembró por estriado en Agar Palcam incubándose a $30 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24-48 h. Seguidamente se sembró las cepas presuntivas en Agar Tripticasa de Soya con 0.6 % de extracto de levadura (TSAye) a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24-48 h para posteriormente realizar las pruebas bioquímicas como tinción gram, catalasa, oxidasa y motilidad (Hitchins, Jinneman y Chen, 2017) (véase Figura 19, en la página 123).

La confirmación de *Listeria monocytogenes* se hizo mediante la prueba molecular de PCR en tiempo real; para ello previamente se extrajo el DNA de acuerdo a lo establecido en el kit DNeasy mericon food. En un tubo de microcentrifuga de 2 mL se colocó 1 mL del cultivo de enriquecimiento y se centrifugo 5 min a 13000 g. Luego se descartó el sobrenadante, se agregó 400 μL del tampón de lisis y se homogenizo en el vórtex. Seguidamente se transfirió toda la mezcla a un tubo de lisis de patógenos, se agito en vórtex, se centrifugo 5 min a 13000 g y se transfirió 100 μL del sobrenadante a un tubo nuevo de microcentrifuga de 1.5 mL.

Posteriormente se aplicó la metodología de PCR en tiempo real según el kit mericon *Listeria monocytogenes* utilizando el termociclador Rotor Gene Q. Se preparó 10 μL de la mezcla maestra con el reactivo mericon, que contiene las sondas y cebadores específicos para *Listeria monocytogenes*, a la que se adiciono 10 μL de la muestra de DNA. Así mismo se preparó un control positivo

(10 µL del reactivo *mericon* +10 µL del control positivo DNA) y un control negativo (10 µL del reactivo *mericon* + 10 µL de agua libre de RNasa). Luego se realizó la programación del termociclador Rotor Gene Q bajo las siguientes condiciones: una activación inicial a 95 °C por 5 min, seguida de 40 ciclos de 15 s a 95 °C (denaturación), 15 s a 60 °C (annealing) y una extensión de 10 s a 72 °C, en esta última etapa se activó los canales de detección del termociclador. Para la detección de *Listeria monocytogenes* se activó el canal verde que detecta la sonda FAM y para la detección del control interno se activó el canal amarillo que detecta la sonda MAX.

c. Análisis químico de las muestras

c.1 Determinación de la acidez total (ácido láctico)

Se pesó 20 g de la muestra homogenizada en un vaso de precipitado previamente tarado, se añadió 100 mL de agua y se dejó en reposo por 1 h. Seguidamente se transfirió a un matraz aforado de 250 mL, se enrasó, se agitó y se filtró. A partir de este filtrado se tomó una alícuota de 10 mL que se transfirió a un erlenmeyer, se añadió 3 a 4 gotas de fenolftaleína y se valoró con NaOH 0.1N hasta que viro a un tono rosado (Horwitz y Latimer, 2005).

c.2 Determinación de cloruros (NaCl)

Se pesó 10 g de la muestra homogenizada en un erlenmeyer, se añadió 100 mL de agua destilada caliente y se colocó en baño maría a 100 °C durante 15 minutos. Seguidamente se agitó el contenido, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se añadió 2 mL de la solución de ferrocianuro de potasio y 2 mL de la solución de acetato de zinc y ácido acético glacial y se mezcló. Luego se dejó a temperatura ambiente por 30 minutos y se transfirió el contenido a un matraz aforado de 200 mL, se enraso con agua destilada, se mezcló y se filtró con papel filtro. Después se transfirió 20 mL del filtrado a un erlenmeyer, se añadió 5 mL de ácido nítrico, 1 mL de la solución indicadora y se transfirió 20 mL de la solución de AgNO₃ 0.1N. Posteriormente se añadió 3 mL de

nitrobenzeno, se agitó y se valoró con una solución de tiocianato de potasio hasta que vire a un color pardo rojizo (Zumbado, 2004).

c.3 Medición de pH

Se aplicó la metodología reportada por Kirk, Sawyer y Egan (1996) que consistió en calibrar el potenciómetro Adwa AD 1030 con las soluciones reguladoras de pH 4, 7 y 10. Seguidamente se mezcló 10 g de la muestra con 40 mL de agua desionizada y se homogenizó en el vortex KMC-1300V. Posteriormente se sumergió el electrodo en la suspensión, se dejó que se estabilice y se registró el pH.

c.4 Medición de la temperatura

Se midió la temperatura de las hamburguesas empleando un termómetro digital, este procedimiento se hizo antes de los análisis químicos de las muestras.

d. Estimación de la vida útil según el modelo matemático de Arrhenius

d.1 Parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos

Se realizó el recuento de aerobios mesófilos según el método ICMSF. 2000 a 450 g de hamburguesas de cada puesto, las cuales fueron mantenidas a incubación a 5 °C, 15 °C y 25 °C durante 15 días. En la Tabla 3 se muestra los intervalos de tiempo de muestreo para el análisis microbiológico.

Tabla 3

Secuencia de muestreo para el análisis de las Hamburguesas

T. A (°C)	Periodo medición (días)	Tiempo máximo almacenamiento (días)	Muestreo (días)
5			
15	1	15	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
25			

T: Temperatura, A: Almacenamiento

Elaboración propia.

Seguidamente se graficó el crecimiento de los aerobios mesófilos en función del tiempo y temperatura, a partir de la gráfica se obtuvo la ecuación que describe su comportamiento y de esta los parámetros cinéticos del crecimiento.

d.2 Vida útil de las hamburguesas

De los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos, se obtuvo la velocidad de crecimiento (K_i) a 5 °C, 15 °C y 25 °C. Se tabuló la inversa de las temperaturas, expresadas en kelvin, y el logaritmo natural de las velocidades de crecimiento (K_i), y con estos datos se hizo la gráfica correspondiente. A partir de la gráfica se obtuvo la ecuación cinética de Arrhenius, en la cual se reemplazó la temperatura a analizar, y de esta se derivó la velocidad específica de crecimiento (K). Posteriormente se reemplazó estos valores y se obtuvo una ecuación exponencial en función del tiempo (días), y de esta manera se determinó el tiempo de vida útil de las hamburguesas a una determinada temperatura.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población estuvo conformada por la totalidad de hamburguesas que se acopian y venden en los puestos expendedores ubicados en diversos mercados de abastos del distrito de Los Olivos (INEI, 2016) (véase Figura 1, en la página 49).



LEYENDA: Mercados del distrito de Los Olivos (N= 104 puestos de productos cárnicos)

A	Conzac (8)	F	Angélica Gamarra (2)	K	Minimercado La luz (2)	P	El Olivar (1)	U	Enrique Milla Ochoa (3)	Z	Agrario (6)	e	Los Olivos (4)	j	Centro Comercial Santa Rosa (1)
B	Izaguirre (7)	G	Villa del Norte (1)	L	Merprolima (5)	Q	Porvenir (1)	V	Chavarria (2)	a	Virgen del Carmen (1)	f	22 De Enero (1)	k	El Pueblo (1)
C	Covida (5)	H	Chillón (2)	M	Huandoy (5)	R	Gladys Carrillo (5)	W	Minimercado Comercial (3)	b	San Bartolomé (3)	g	Mi Caserito (1)	l	19 De Enero (1)
D	Los Alisos (1)	I	Primavera (2)	N	Buena Vista (2)	S	Minimarket Guadalupe (1)	X	Carlos Cueto Fernandini (2)	c	Alicentro (3)	h	Los Ángeles (1)	m	Ascopro (3)
E	Laura Caller (4)	J	Panamericana norte (2)	O	Santa Rosa (2)	T	Cooperativa de Pro (4)	Y	8 De Diciembre (3)	d	Minimarket (1)	i	Trebol (2)		

Figura 1. Mercados del distrito de Los Olivos

Elaboración propia.

4.3.2. Muestra

Se determinó el tamaño de la muestra (n) en base al trabajo más reciente, realizado por Miri et al. (2017), donde obtuvo que la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas fue del 3,3%. Este patógeno es de alto riesgo y está considerado dentro de la normativa nacional para el subgrupo de hamburguesas crudas, siendo su límite de ausencia.

Entonces empleando la fórmula descrita por Aguilar-Barojas (2005) para poblaciones infinitas de una variable cualitativa, se reemplazó la proporción de éxito “p” como el valor de la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas; obteniendo que el número de hamburguesas a analizar fue de 34,05 y para una mayor precisión se redondeó a 36 hamburguesas, las cuales fueron seleccionadas aleatoriamente. De cada puesto se tomó al azar 1 paquete de hamburguesa, debido a que no hubo variabilidad en el expendio de hamburguesas por puesto, haciendo un total de 36 muestras.

El cálculo se hizo de la siguiente manera:

$$n = \frac{(Z)^2(p)(q)}{(d^2)} \quad \Rightarrow \quad n = \frac{(1,96)^2(0,033)(0,967)}{(0,06)^2}$$

$n = 34,05$
 $n = 36$ hamburguesas

Fuente: Aguilar-Barojas, 2005.

Donde:

n = Tamaño de la muestra.

Z= Nivel de confianza = 95% = 1,96

p = Proporción de éxito o proporción esperada = 0,033

q= Proporción de fracaso = 0,967

d = Nivel de precisión absoluta = 0,06

4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado

Se analizó microbiológicamente las hamburguesas expandidas en puestos procedentes de mercados de abastos para la determinación de su calidad microbiológica y vida útil. Así también se recopiló información sobre sus condiciones higiénico sanitarias a través de fichas de inspección.

Los mercados de abastos están ubicados en el distrito de Los Olivos, que cuenta con un total de 104 puestos; se calculó una muestra representativa de 36 hamburguesas, una por cada puesto, en base a la fórmula descrita por Aguilar-Barojas (2005). Los puestos fueron seleccionados por muestreo aleatorio simple y para la evaluación higiénico-sanitaria se contó con la autorización de la Municipalidad del distrito de Los Olivos. El estudio se llevó a cabo desde abril del 2018 a marzo del 2019.

4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información

4.5.1. Lugar de ejecución

Las inspecciones higiénico-sanitarias se realizaron en 36 puestos expendedores de hamburguesas del distrito de Los Olivos, en coordinación con la Subgerencia de Prevención y Promoción de la Salud.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos, Aguas y Ambientes de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y la determinación del tiempo de vida útil se hizo en el Laboratorio de Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad Nacional del Callao.

4.5.2. Materia prima

La materia prima que se empleó fueron hamburguesas de carne elaboradas artesanalmente provistas por pequeñas plantas y que son expandidas en los mercados del distrito de Los Olivos.

4.5.3. Materiales, equipos y reactivos

Material biológico

- Cepas de referencia: *Escherichia coli* ATCC 3128, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150 y *Listeria monocytogenes* ATCC 35152.

Las cepas fueron proporcionadas por el Laboratorio Control de Calidad de Alimentos, Aguas y Ambientes. FCB - UNMSM.

Materiales de laboratorio

- Placas petri de vidrio.
- Frascos de vidrio de 100 mL.
- Tubos de vidrio 16x150 mm.
- Tubos de vidrio 20x150 mm.
- Pipetas de vidrio de 1 mL.
- Pipetas de vidrio de 5 mL.
- Pipetas de vidrio de 10 mL.
- Espátulas de drigalsky.
- Laminas portaobjeto.
- Matraz aforado 250 mL.
- Cuchara de acero.
- Bolsas ziploc.

Medios de cultivo (Merck®, Microgen®, Himedia®)

- Agar Plate Count (APC).
- Agar Eosin Methylene Blue (EMB).
- Agar Citrato de Simmons.
- Agar Sulfito Bismuto (SB).
- Agar Hektoen.
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).
- Agar Triple Sugar Iron (TSI).
- Agar Lisina Hierro (LIA).

- Agar Tripticasa de Soya (TSA).
- Agar PALCAM.
- Agar SIM.
- Agar Baird Parker (ABP).
- Agar TC-SMAC.
- Caldo Lauril Sulfato (CLS).
- Caldo Verde Brillante Bilis Lactosa (C. BRILA).
- Caldo *Escherichia coli* (C. EC).
- Caldo Rojo de Metilo-Voges Proskauer (MRVP).
- Caldo Triptona.
- Caldo Lactosado.
- Caldo Rappaport Vassiliadis.
- Caldo Tetrionato.
- Caldo de enriquecimiento tamponado para *Listeria* (BLEB).
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).
- Caldo Triptona Fosfato.
- Caldo EC MUG.
- Agua peptonada al 0,1%.
- Agua Peptonada Buferada.
- Extracto de levadura.
- Solución salina.

Reactivos (Merck)

- Cristal violeta.
- Lugol.
- Alcohol acetona.
- Safranina.
- Reactivo de Kovacs.
- Fenolftaleína.
- Rojo de metilo.

- Peróxido de hidrogeno.
- Tiras de oxidasa.
- Plasma de conejo.
- Solución reguladora a pH 4, 7 y 10.
- NaOH 0.1N.
- AgNO₃ 0.1N.
- Ferrocianuro de potasio.
- Acetato de zinc.
- Ácido acético glacial.
- Ácido nítrico.
- Nitrobenceno.
- Tiocianato de potasio.
- Suero polivalente Anti-Salmonella PROBAC DO.
- Kit *mericon Listeria monocytogenes*.
- Kit *mericon Escherichia coli O157*.

Equipos

- Stomacher EASYMIX™.
- Estufa calibrada a 30±0.5 °C.
- Estufa calibrada a 25±0.5 °C.
- Estufa calibrada a 35±0.5 °C.
- Estufa calibrada a 44,5±0.5 °C.
- Incubadora refrigerada Heratherm.
- Potenciómetro Adwa AD 1030.
- Baño maría a 43±0.05 °C.
- Contador de colonias digital.
- Balanza electrónica Scout® Pro.
- Termociclador Rotor Gene Q.
- Vortex KMC-1300V.
- Termómetro digital (R: -50 °C a 300 °C).

4.5.4. Inspección Higiénico-Sanitaria

Para la inspección higiénico-sanitaria se seleccionó por muestreo aleatorio simple a 36 puestos expendedores de hamburguesas de mercados de abastos del distrito de Los Olivos, utilizando como referencia la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud (véase Anexo 2, en la página 105) que establece el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abastos (MINSa, 2003) ((véase Figura 2, en la página 56).

Posteriormente se relacionó los datos obtenidos con la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas mediante la prueba de Chi-Cuadrado.



LEYENDA: Puestos de hamburguesas seleccionados al azar del distrito de Los Olivos (n = 36)

1	Puesto 9	6	Puesto 58	11	Puesto 10	16	Puesto 63	21	Puesto 59	26	Puesto 43	31	Puesto 55	36	Puesto 5
2	Puesto 1	7	Puesto 34	12	Puesto 40	17	Puesto 20	22	Puesto 37	27	Puesto 66	32	Puesto 53		
3	Puesto 4	8	Puesto 46	13	Puesto 2	18	Puesto 35	23	Puesto 14	28	Puesto 48	33	Puesto 38		
4	Puesto 8	9	Puesto 7	14	Puesto 52	19	Puesto 68	24	Puesto 50	29	Puesto 70	34	Puesto 71		
5	Puesto 32	10	Puesto 51	15	Puesto 41	20	Puesto 12	25	Puesto 33	30	Puesto 36	35	Puesto 49		

Figura 2. Selección de los puestos de Hamburguesas

Elaboración propia.

4.5.5 Análisis microbiológico

Se aplicó la metodología establecida por la ICMSF. 2000. para el Recuento de microorganismos aerobios mesófilos, FDA/BAM. Chapter 4. 2017 NMP de *Escherichia coli* (Feng, Weagant, Grant y Burkhardt, 2017), FDA/BAM. Chapter 5. 2016 Detección de *Salmonella* sp. (Andrews, Wang, Jacobson y Hammack, 2016), FDA/BAM. Chapter 12. 2016 Recuento de *Staphylococcus aureus* (Bennett y Lancette, 2016), FDA/BAM. Chapter 4A. 2017 Detección de *Escherichia coli* O157:H7 (Feng, Weagant y Jinneman, 2017) y FDA/BAM. Chapter 10. 2017 Detección de *Listeria monocytogenes* (Hitchins, Jinneman y Chen, 2017).

En base a los resultados obtenidos se determinó la calidad microbiológica de las hamburguesas según la Norma Técnica Sanitaria N° 071 y se registró a través de una ficha (véase Anexo 4, en la página 107).

4.5.6 Análisis químico

Se aplicó la metodología establecida por la AOAC 947.05 – Ed. 18 (Horwitz y Latimer, 2005) para la determinación de la acidez total (ácido láctico), método de volhard (Zumbado, 2004) para cloruros (NaCl), método de Kirk, Sawyer y Egan (1996) para pH y se midió la temperatura de las muestras. En base a los resultados obtenidos se determinó las características químicas de las hamburguesas según el Codex Alimentarius (Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization [FAO/WHO], 1993) y la Norma Técnica Colombiana 1325:1982 (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC], 1982).

4.5.7 Parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos

Para determinar los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas se empleó la ecuación cinética que describe su crecimiento a tres temperaturas (5 °C, 15 °C y 25 °C) durante 15 días.

4.5.8 Tiempo de vida útil mediante el modelo matemático de Arrhenius

Para determinar el tiempo de vida útil de las hamburguesas se empleó el modelo matemático de Arrhenius, el cual establece la relación entre la velocidad de específica de crecimiento y la inversa de la temperatura.

4.6. Análisis y procesamiento de datos

Los datos fueron registrados en una hoja de Excel para su posterior tratamiento estadístico con el programa IBM SPSS Statistics 24 (Nie, 2016) y de esa manera se comprobó la hipótesis general e hipótesis específicas.

Para demostrar la hipótesis general se aplicó la prueba de Chi-cuadrado para determinar si la primera y segunda variable independiente influyen significativamente en la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas (V.D.), mientras que para determinar si la tercera y cuarta variable independiente influyen significativamente en la V.D. se aplicó la regresión logística binaria y la regresión lineal múltiple, respectivamente.

Para demostrar la primera hipótesis específica se aplicó la regresión lineal múltiple para determinar que rubro influye significativamente en la inspección Higiénico-Sanitaria.

Mientras que para demostrar la segunda hipótesis específica se aplicó la prueba de Chi-cuadrado y regresión logística binaria para determinar que indicador microbiológico influye significativamente en la calidad microbiológica de las hamburguesas.

Para demostrar la tercera hipótesis específica se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para determinar si existe asociación entre el crecimiento de los aerobios mesófilos a temperaturas de 5 °C, 15 °C y 25 °C. Para demostrar la cuarta hipótesis específica se aplicó la regresión lineal múltiple para determinar que variable de la ecuación cinética de Arrhenius influye significativamente en el tiempo de vida útil.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados descriptivos

5.1.1 Resultados de la inspección higiénico-Sanitaria a puestos expendedores de hamburguesas

Se realizó la inspección Higiénico-Sanitaria a todos los puestos expendedores de Hamburguesas de los mercados del distrito de Los Olivos, durante los meses de Abril a Junio del 2018 obteniendo que el 80,56 % (29) resultó “Aceptable” y el 19,44 % (07) “Regular” (véase Figura 3).

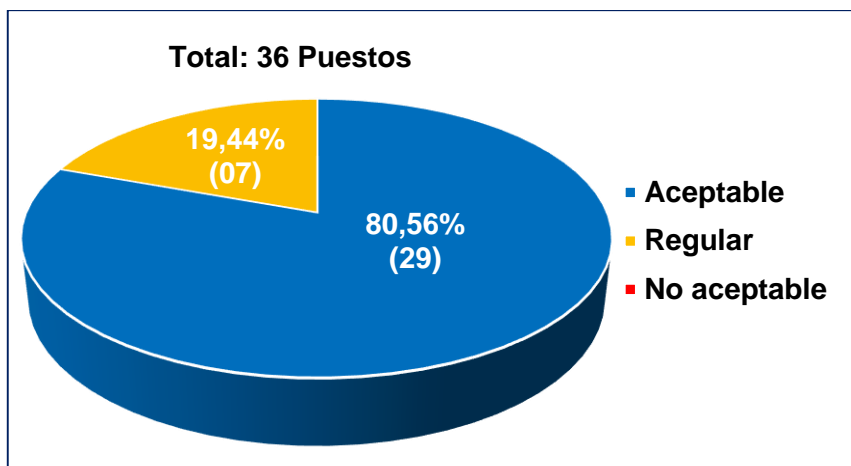


Figura 3. Inspección higiénico-sanitaria a puestos expendedores de Hamburguesas en Los Olivos.

Elaboración propia

5.1.2 Resultados de la calidad microbiológica de las hamburguesas

De acuerdo a la evaluación de la calidad microbiológica el 58,33 % (21) de las hamburguesas resultaron “No aptas” para el consumo humano según la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 071 establecida por el MINSA (2008) (véase Figura 4, en la página 61). El 30,56 % (11) presentó más de 10^6 UFC/g de bacterias aerobias mesófilas, el 30,56 % (11) más de 50 NMP/g de *Escherichia coli* y el 13,89 % (05) más de 10^2 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Respecto a las bacterias patógenas el 2,78 % (01) presentó

Salmonella sp., el 8,33 % (03) *Escherichia coli* O157:H7 y el 19,44 % (07) *Listeria monocytogenes* (véase Tabla 4).

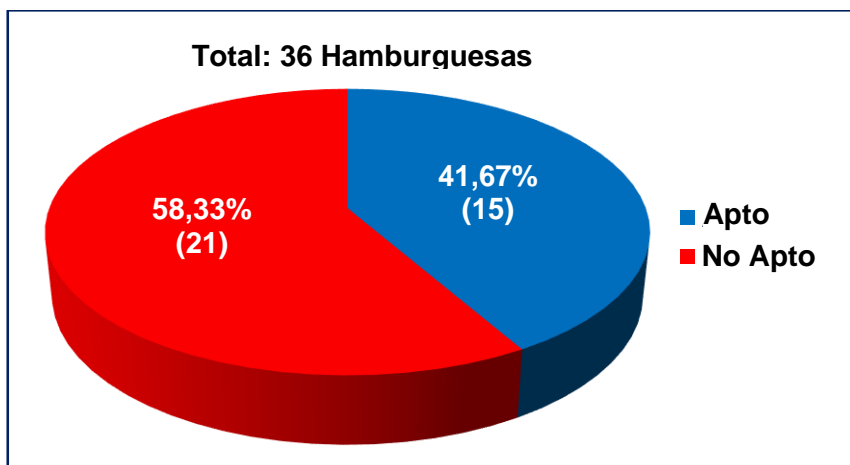


Figura 4. Calidad microbiológica de las Hamburguesas

Elaboración propia.

Tabla 4

Análisis microbiológico de las Hamburguesas expendidas en mercados del distrito de Los Olivos

Agente microbiano	Apto		No Apto	
	N	%	N	%
Aerobios mesófilos	25	69,44	11	30,56
<i>Escherichia coli</i>	25	69,44	11	30,56
<i>Staphylococcus aureus</i>	31	86,11	05	13,89
<i>Salmonella</i> sp.	35	97,22	01	2,78
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	33	91,67	03	8,33
<i>Listeria monocytogenes</i>	29	80,56	07	19,44

Elaboración propia.

En la Tabla 5 se muestra las características bioquímicas y confirmación serológica de la cepa presuntiva de *Salmonella* sp. aislada de una muestra de Hamburguesa, donde se obtuvo que son bacilos Gram (-), Catalasa (+), Oxidasa (-), produjo una reacción alcalina/alcalina con producción de gas en

el medio LIA, produjo una reacción alcalina/acido en ocasiones con producción de sulfuro de hidrogeno en el medio TSI y presento reacción de aglutinación completa en presencia del suero polivalente Anti-Salmonella.

Tabla 5

Identificación bioquímica y confirmación serológica de la cepa presuntiva de Salmonella sp.

Código	Pruebas bioquímicas					Confirmación serológica
	Gram	Catalasa	Oxidasa	TSI ^a	LIA ^b	Suero polivalente Anti-Salmonella
H22	-	+	-	K/A, H ₂ S+	K/K, G+	Aglutinación

^a Agar hierro triple azucar, ^b Agar xilosa lisina desoxicolato, K/A = Alcalinidad/ Ácido, K/K = Alcalinidad/Alcalinidad, G = Gas, H₂S = Sulfuro de hidrogeno. Elaboración propia.

En la Tabla 6 se aprecia las características bioquímicas de las cepas presuntivas de *Escherichia coli* O157:H7 aisladas de las muestras de hamburguesas. Posteriormente se hizo la confirmación molecular de las cepas obteniendo las curvas de amplificación por PCR en tiempo real (véase Figura 5, en la página 63).

Tabla 6

Identificación bioquímica de las cepas presuntivas de Escherichia coli O157:H7

Código	Indol	EC MUG ^a	TSI ^b	Citrato ^c	LIA ^d	Sorbitol
H09	+	-	A/A	-	K/K	-
H13	+	-	A/A, G+	-	K/K	-
H22	+	-	A/A, G+	-	K/K	-

^a Caldo EC con 4-Metilumbeliferil-β-D-Glucurónido (MUG), ^b Agar triple azúcar hierro, ^c Agar citrato de Simmons, ^d Agar xilosa lisina y desoxicolato, A/A = Acido/Acido, G = Gas, K/K = Alcalinidad/Alcalinidad

Elaboración propia.

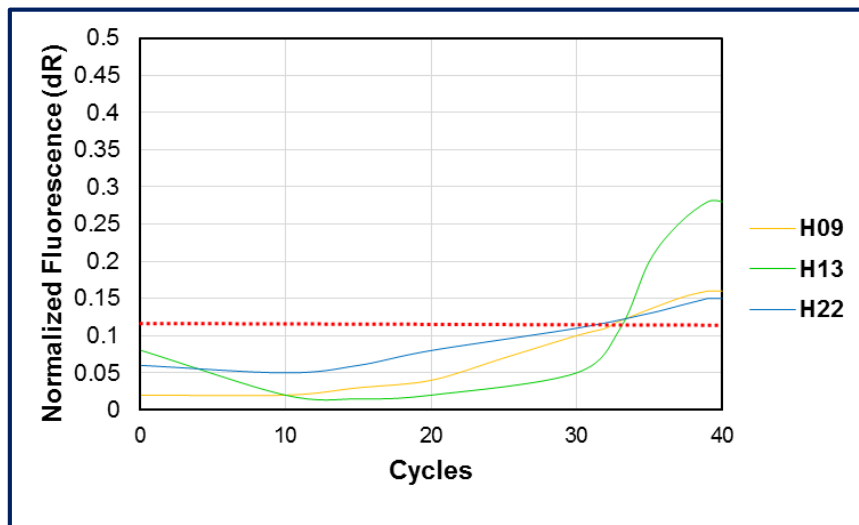


Figura 5. Muestras positivas para *Escherichia coli* O157:H7 por PCR-TR
Elaboración propia.

En la Tabla 7 se aprecia las características bioquímicas de las cepas presuntivas de *Listeria monocytogenes* aisladas de las muestras de hamburguesas. Posteriormente se hizo la confirmación molecular de las cepas obteniendo las curvas de amplificación por PCR en tiempo real (véase Figura 6, en la página 64).

Tabla 7

Identificación bioquímica de las cepas presuntivas de *Listeria monocytogenes*

Código	Pruebas Bioquímicas				
	Gram	Catalasa	Oxidasa	SIM ^a	
				25°C	37°C
H04	+	+	-	+	-
H07	+	+	-	+	-
H08	+	+	-	+	-
H10	+	+	-	+	-
H11	+	+	-	+	-
H22	+	+	-	+	-
H35	+	+	-	+	-

^a Sulfuro, indol y movilidad, +: móvil en forma de paraguas, -: inmóvil

Elaboración propia.

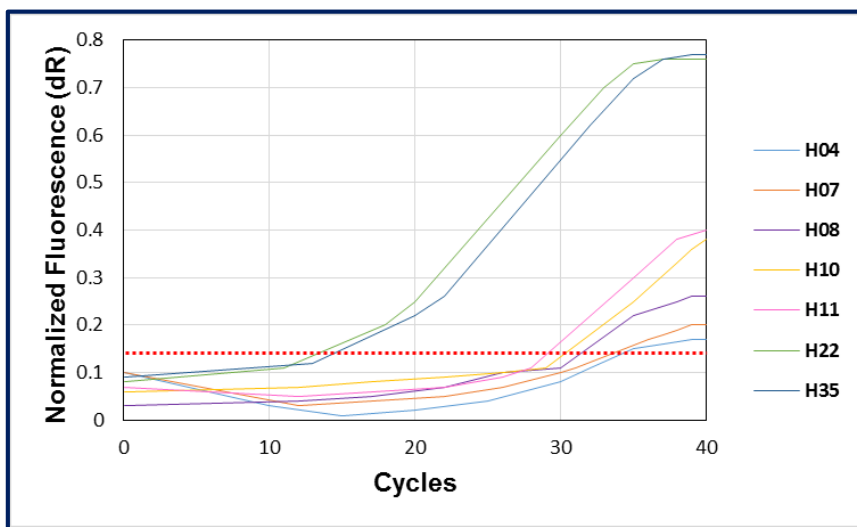


Figura 6. Muestras positivas para *Listeria monocytogenes* por PCR-TR
Elaboración propia.

En la Tabla 8 se muestran los resultados del análisis químico realizado a las hamburguesas, donde se obtuvo que el valor promedio para el ácido láctico fue 150.14 mg/kg de ácido láctico, 1.720 g/100g de cloruro de sodio, pH 6.153 y una temperatura de 5.750 °C en las muestras analizadas.

Tabla 8

Análisis químico de las Hamburguesas

Parámetros químicos	Minimo	Maximo	Media	Desviación estándar
Ácido láctico (mg/kg)	80	270	150.14	85.092
Cloruro de sodio (g/100g)	1.650	1.870	1.720	0.090
pH	6.000	6.300	6.153	0.136
Temperatura (°C)	4	7	5.750	1.500

Elaboración propia.

5.1.3 Resultados de los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C

En la Tabla 9 se obtuvo que a una temperatura de almacenamiento de 5°C la población inicial (A_0) de aerobios mesófilos va de 4.060 a 5.824Ln UFC/g con una tasa de crecimiento (μ) de 0.079 a 0.105Ln UFC/g/días presentes en las hamburguesas; produciendo una disminución del número de ciclos de crecimiento (C) que va entre 5.196 a 6.178Ln UFC/g, la cual se produjo a una velocidad de crecimiento (B) de 0.329 a 0.415Ln UFC/g/días con un tiempo (días) requerido para alcanzar la velocidad de crecimiento (M) de 7.170 a 7.890 días (véase Tabla 9, en la página 66). Mientras que a 15°C se produjo un incremento en la población inicial (A_0) de 4.314 a 5.570Ln UFC/g a una tasa de crecimiento (μ) de 0.155 a 0.163Ln UFC/g/días ocasionando un incremento en el número de ciclos de crecimiento (C) de 10.220 a 12.132Ln UFC/g a una velocidad de crecimiento (B) de 0.652 a 0.864Ln UFC/g/días con un tiempo (días) requerido para alcanzar la velocidad de crecimiento (M) de 7.192 a 7.776 (veasé Tabla 10, en la página 66).

De igual manera a 25°C se produjo un incremento en la población inicial (A_0) de 3.742 a 6.142Ln UFC/g a una tasa de crecimiento (μ) de 0.232 a 0.514Ln UFC/g/días causando un notable incremento en el número de ciclos de crecimiento (C) de 29.378 a 32.486Ln UFC/g a una velocidad de crecimiento (B) de 1.120 a 3.156Ln UFC/g/días con un tiempo (días) requerido para alcanzar la velocidad de crecimiento (M) de 5.192 a 9.124 (veasé Tabla 11, en la página 67).

Tabla 9

Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C

Parámetros cinéticos	5°C				
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
A₀ (Ln UFC/g)	36	4.060	5.824	4.942	0.730
B (Ln UFC/g/días)	36	0.329	0.415	0.372	0.035
C (Ln UFC/g)	36	5.196	6.178	5.687	0.407
μ (Ln UFC/g/días)	36	0.079	0.105	0.092	0.011
M (días)	36	7.170	7.890	7.530	0.298

Elaboración propia.

Tabla 10

Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 15 °C

Parámetros cinéticos	15°C				
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
A₀ (Ln UFC/g)	36	4.314	5.570	4.942	0.520
B (Ln UFC/g/días)	36	0.652	0.864	0.758	0.088
C (Ln UFC/g)	36	10.220	12.132	11.176	0.792
μ (Ln UFC/g/días)	36	0.155	0.163	0.159	0.003
M (días)	36	7.192	7.776	7.484	0.242

Elaboración propia.

Tabla 11

Parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 25 °C

Parámetros cinéticos	25°C				
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
A₀ (Ln UFC/g)	36	3.742	6.142	4.942	0.994
B (Ln UFC/g/días)	36	1.120	3.156	2.138	0.843
C (Ln UFC/g)	36	29.378	32.486	30.932	1.287
μ (Ln UFC/g/días)	36	0.232	0.514	0.373	0.117
M (días)	36	5.192	9.124	7.158	1.628

Elaboración propia.

En la Tabla 12 se muestran varios estadísticos donde el nivel de significancia del análisis de varianza es menor que 0.05, esto quiere decir que se rechazó la hipótesis nula de igualdad de medias y en consecuencia se obtuvo que las poblaciones definidas por la variable temperatura no poseen la misma velocidad máxima de crecimiento.

Tabla 12

Análisis de varianza de las velocidades máximas de crecimiento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrática	F	Sig.
Entre temperaturas	1.984	2	0.992	343.778	0
Entre $\mu_{m\acute{a}x}$	0.303	105	0.003		
Total	2.287	107			

Elaboración propia.

En la Tabla 13 se demostró que existen diferencias significativas entre las medias de las velocidades máximas de crecimiento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de aerobios

mesófilos entre las temperaturas de 5°C, 15°C y 25°C; siendo la $\mu_{\text{máx}}$ superior a 25 °C (véase Tabla 13, en la página 68).

Tabla 13

Prueba de Tukey de las velocidades máximas de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C

T (°C)		Diferencia de medias (I – J)	Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I)	(J)				Límite inferior	Límite superior
5	15	-0.044 ^a	0.013	0.002	-0.074	-0.014
5	25	-0.307 ^a	0.013	0.000	-0.337	-0.277
15	5	0.044 ^a	0.013	0.002	0.014	0.074
15	25	-0.263 ^a	0.013	0.000	-0.293	-0.233
25	5	0.307	0.013	0.000	0.277	0.337
25	15	0.263	0.013	0.000	0.233	0.293

^a La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Elaboración propia.

5.1.4 Resultados de la ecuación cinética de reacción mediante el modelo matemático de Arrhenius

En la Tabla 14 se presentaron los recuentos de aerobios mesófilos, expresados en función logaritmo natural, en hamburguesas sometidas a tres temperaturas de incubación durante 15 días (véase Tabla 14, en la página 69). Se puede observar en la Figura 7 que a medida que pasa el tiempo la población microbiana aumenta, ocasionando cambios severos en las características organolépticas de las hamburguesas. Este deterioro microbiano presentó una tendencia lineal con pendiente positiva (véase Figura 7, en la página 69).

Tabla 14

Crecimiento de aerobios mesófilos en Hamburguesas a 5°C, 15°C y 25°C

Tiempo (días)	Temperaturas de conservación		
	5 °C (Ln UFC/g)	15 °C (Ln UFC/g)	25 °C (Ln UFC/g)
0	4.942	4.942	4.942
1	5.467	5.570	6.142
2	5.824	6.215	7.972
3	6.309	7.119	8.604
4	6.539	8.030	10.240
5	6.837	8.636	13.019
6	7.243	9.418	13.947
7	7.712	10.241	17.232
8	8.010	10.839	19.225
9	8.517	11.725	22.167
10	8.894	12.660	23.716
11	9.120	13.101	26.663
12	9.222	13.820	28.392
13	9.983	14.974	31.924
14	10.351	15.425	33.284
15	10.628	16.118	35.874

Elaboracion propia.

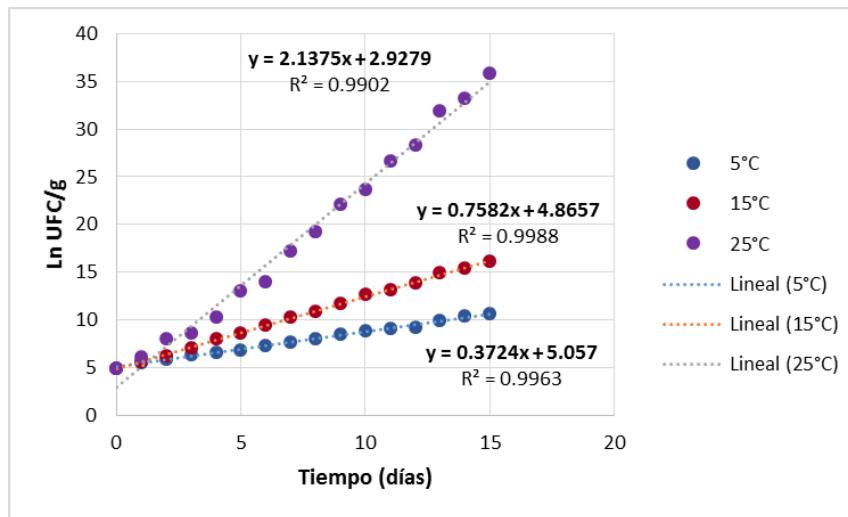


Figura 7. Crecimiento de aerobios mesófilos en Hamburguesas a 5°C, 15 °C y 25 °C.

Elaboracion propia.

En la Tabla 15 se muestran los parámetros de la ecuación cinética de Arrhenius para cada temperatura de incubación. A partir de las tres constantes de velocidad (K_i), obtenidas por el promedio de μ para cada temperatura de incubación, se construyó el gráfico de $\ln K_i$ en función de la inversa de la temperatura en grados kelvin ($1/T$). Cabe mencionar que el valor de la energía de activación (E_a) se obtuvo del producto de la constante de gases ideales (R) con la pendiente de dicha ecuación (Véase Figura 8, en la página 71).

Según la Norma Técnica Sanitaria N° 071 para el grupo de carnes y productos cárnicos, subgrupo carnes procesadas refrigeradas o congeladas; establece que el producto no reúne las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad, cuando el recuento de aerobios mesófilos supera el límite (m) de 10^6 UFC/g. Este valor es convertido a logaritmo natural y se dividió entre la velocidad específica de crecimiento (K) expresado en función exponencial (véase Tabla 15) obteniéndose que las hamburguesas almacenadas a 283 °K, 293 °K y 303 °K tienen una vida útil de 13 días, 12 días y 10 días, respectivamente.

Seguidamente se graficó el logaritmo del tiempo de vida útil en función de las temperaturas de estudio obteniendo una ecuación lineal que permitió estimar la vida útil de las hamburguesas a diferentes temperaturas de almacenamiento (véase Figura 9, en la página 71).

Tabla 15

Tiempo de vida útil según la ecuación cinética de Arrhenius

Temperatura (°K)	Energía de activación (E_a) (cal/mol)	$\ln K_0$ (UFC/g.días ⁻¹)	Ecuación cinética	Velocidad específica de crecimiento (K) (Ln UFC/g.días ⁻¹)	m_{AM} (UFC/g)	Tiempo de vida útil (días)
283	49752.1376	18.702	$K = \exp (\ln K_0 - (E_a / RT))$	0.0869	10^6	12.666
293	49752.1376	18.702	$K = \exp (\ln K_0 - (E_a / RT))$	0.1789	10^6	11.552
303	49752.1376	18.702	$K = \exp (\ln K_0 - (E_a / RT))$	0.3512	10^6	9.724

R: Constante de los gases ideales (8.314472J/°K/mol), m_{AM} : Límite del recuento de aerobios mesófilos por gramo de la NTS N° 071 MINSA.

Elaboración propia.

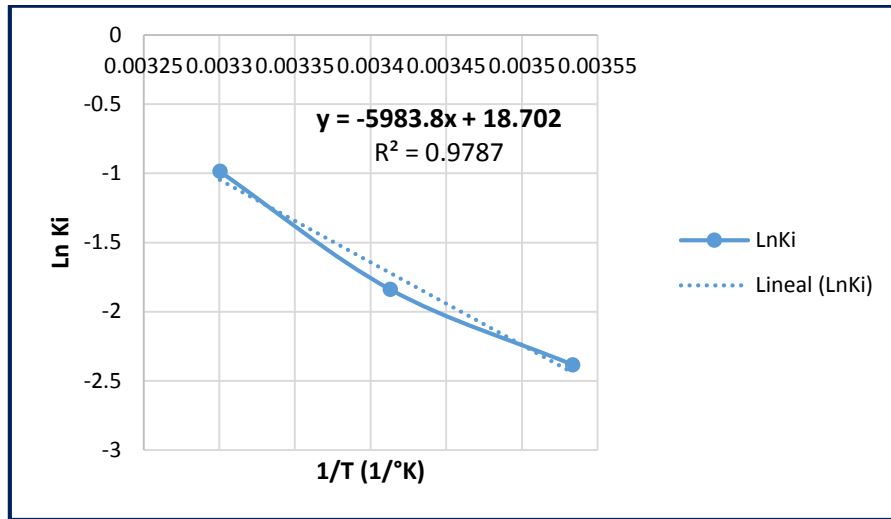


Figura 8. Gráfico del $\text{Ln } K_i$ en función de $1/T$.

Elaboracion propia.

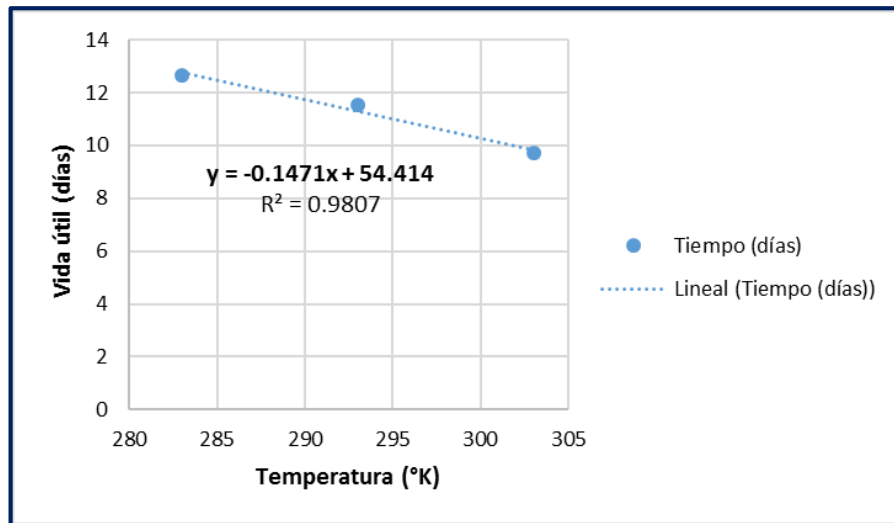


Figura 9. Gráfico del Log *vida útil* en función de las temperaturas.

Elaboracion propia.

5.2 Resultados inferenciales

5.2.1 Prueba de Chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas con las condiciones higiénico-sanitarias y análisis microbiológicos

En la Tabla 16 se muestra varios estadísticos donde el nivel de significación de la prueba de Chi-cuadrado es 0.434, esto quiere decir que se aceptó la hipótesis nula de independencia y en consecuencia se afirmó que no existe asociación entre la calidad microbiológica y vida útil con las condiciones higiénico-sanitarias.

Tabla 16

Prueba de Chi-Cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil con las condiciones higiénico-sanitarias

	Valor	g.l.	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0.613	1	0.434

Elaboración propia.

En la Tabla 17 se muestra varios estadísticos donde el nivel de significación de la prueba de Chi-cuadrado es nulo, esto quiere decir que se rechazó la hipótesis nula de independencia y en consecuencia se afirmó que existe dependencia entre la calidad microbiológica y vida útil con los resultados del análisis microbiológico.

Tabla 17

Prueba de Chi-Cuadrado entre la calidad microbiológica y vida útil con los resultados del análisis microbiológico

	Valor	g.l.	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	36	1	0

Elaboración propia.

5.2.2 Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas con los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C

Se aplicó el análisis de regresión logística binaria para predecir el resultado de la variable categórica calidad microbiológica y vida útil en función de los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos, y de esta manera demostrar si existe o no relación entre la variable dependiente y las variables independientes.

Se obtuvo que la significación estadística con la prueba de Wald, que es un estadístico que sigue una ley Chi-cuadrado con un grado de libertad, resulto mayor a 0.05 para todas las variables demostrando que no existe relación entre la variable categórica y las covariables a 5 °C (véase Tabla 18).

Tabla 18

Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 5 °C

VARIABLES	B	E.T.	Wald	g.l.	Sig.
A₀	-3.883	2.154	3.250	1	0.071
B	0.452	21.575	0	1	0.983
C	0.054	1.602	0.001	1	0.973
μ	42.012	24.308	2.987	1	0.084
M	-0.429	0.686	0.392	1	0.531
Constante	3.588	6.270	0.327	1	0.567

Elaboración propia.

En la Tabla 19 se obtuvo que la significación estadística con la prueba de Wald resulto mayor a 0.05 para todas las variables demostrando que no existe relación entre la variable categórica y las covariables a 15 °C (véase Tabla 19, en la página 74).

Tabla 19

Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 15 °C

Variab les	B	E.T.	Wald	g.l.	Sig.
A₀	-0.828	0.528	2.456	1	0.117
B	92.132	52.590	3.069	1	0.080
C	-4.236	2.336	3.287	1	0.070
μ	23.408	32.881	0.507	1	0.477
M	-1.456	1.617	0.811	1	0.368
Constante	11.920	13.587	0.770	1	0.380

Elaboracion propia.

En la Tabla 20 se obtuvo que la significacion estadistica con la prueba de Wald resulto mayor a 0.05 para todas las variables demostrando que no existe relación entre la variable categórica y las covariables a 25 °C.

Tabla 20

Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y vida útil con los parámetros cinéticos de aerobios mesófilos a 25 °C

Variab les	B	E.T.	Wald	g.l.	Sig.
A₀	-0.894	0.595	2.263	1	0.132
B	-60.084	74.910	0.643	1	0.423
C	77.993	42017.006	0	1	0.999
μ	-2105.343	1285808.641	0	1	0.999
M	-5.427	3.817	2.021	1	0.155
Constante	42.527	30.088	1.998	1	0.158

Elaboracion propia.

5.2.3 Regresión múltiple y coeficiente de correlación de Pearson entre calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas con el tiempo estimado de la ecuación cinética de Arrhenius

Se empleó el análisis de regresión múltiple para evaluar si el tiempo estimado de la ecuación cinética de Arrhenius influye en la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas; obteniendo que el coeficiente de determinación (R^2) fue 0.682 con un error estándar de estimación de 13.231, lo que significa que la calidad microbiológica y vida útil quedo explicada en un 68,20% por la variable independiente y que existio una buena relación entre las variables (véase Tabla 21). También se calculó el valor de los coeficientes β_0 y β_1 con un error típico de estimación menor y el p-valor (sig.) fue significativo demostrando que el tiempo de estimación de la ecuación cinética de Arrhenius influyo significativamente en la calidad microbiológica y vida útil de las hamburguesas (véase Tabla 22).

Tabla 21

Regresión múltiple entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius

Regresión	R	R ² corregido	Error estándar de estimación
Múltiple	0.831	0.682	13.231

Elaboracion propia.

Tabla 22

Coefficientes de la regresión múltiple entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius

Regresión múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
Constante (β_0)	-9.611	5.437	0.086
Tiempo estimado (β_1)	2.704	0.310	0.000

Elaboracion propia.

En la Tabla 23 se muestra el coeficiente de correlación de Pearson entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado de la ecuación cinética de Arrhenius, resultando ser 0.831. Esto demostro que hay una correlación positiva entre las variables.

Tabla 23

Coeficiente de correlación de pearson entre la calidad microbiológica y vida útil con el tiempo estimado según Arrhenius

		Tiempo estimado
Calidad microbiológica y vida útil	Correlación de Pearson	0.831**
	Sig. (bilateral)	0.000
	N	36

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)

Elaboracion propia.

5.2.4 Regresión múltiple y coeficiente de correlación de Pearson entre las condiciones higiénico-sanitarias y los rubros de inspección

En la Tabla 24 se observa que el coeficiente de determinación (R^2) fue 0.979 con un error estándar de la estimación de 1.290, esto indica que las condiciones higiénico-sanitarias fueron explicadas en un 97,90% por los rubros de la inspección y que existio una buena relación entre las variables (véase Tabla 24, en la página 77). Además se obtuvo que los coeficientes β_0 , β_1 , β_2 , β_3 y β_4 resultaron ser -3.226, 0.121, 0.239, 0.222 y 0.459 respectivamente, con un error tipico de estimación menor y el p-valor (sig.) fue significativo para todas las variables demostrando que influyen significativamente en la inspección (véase Tabla 25, en la página 77).

Tabla 24

Regresión múltiple entre la condición sanitaria y los rubros de inspección

Regresión	R	R ² corregido	Error estándar de estimación
Múltiple	0.991	0.979	1.290

Elaboración propia.

Tabla 25

Coefficientes de regresión múltiple entre la condición sanitaria y los rubros de inspección

Regresión múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
Constante (β_0)	-3.226	2.702	0.242
Alimento (β_1)	0.121	0.013	0.000
BPM (β_2)	0.239	0.015	0.000
Vendedor (β_3)	0.222	0.013	0.000
Ambiente y enseres (β_4)	0.459	0.029	0.000

Elaboración propia.

En las Figuras 10, 11, 12 y 13 se puede observar la distribución de los resultados en la recta de regresión ajustada, donde los coeficientes obtenidos demostraron que por cada aumento en el porcentaje de cumplimiento de los rubros alimento, BPM, vendedor y ambiente y enseres, se esperó un cambio de 0.167, 0.313, 0.250 y 0.667 respectivamente en el porcentaje del puntaje obtenido de las condiciones sanitarias (Véase Figuras 10, 11, 12 y 13, en las páginas 78 y 79).

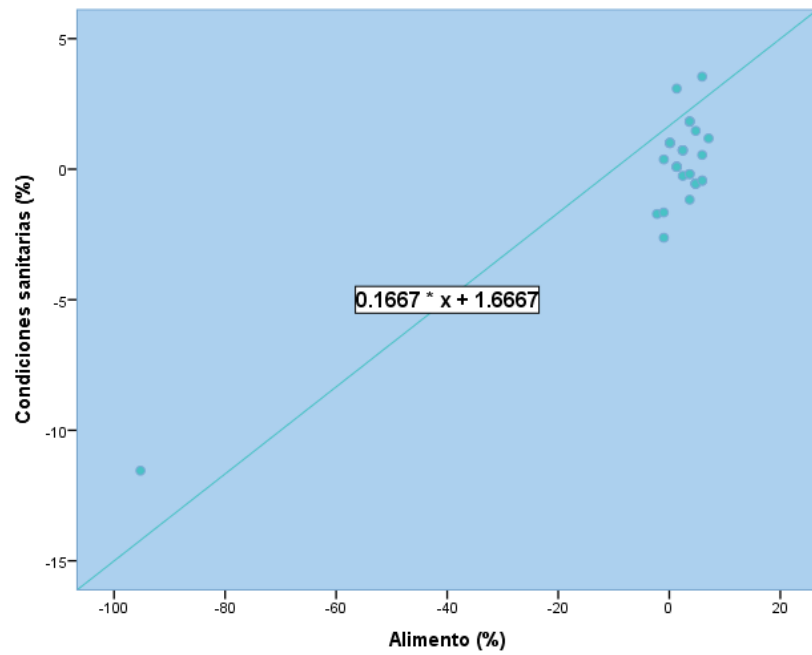


Figura 10. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. Alimento.
Elaboracion propia.

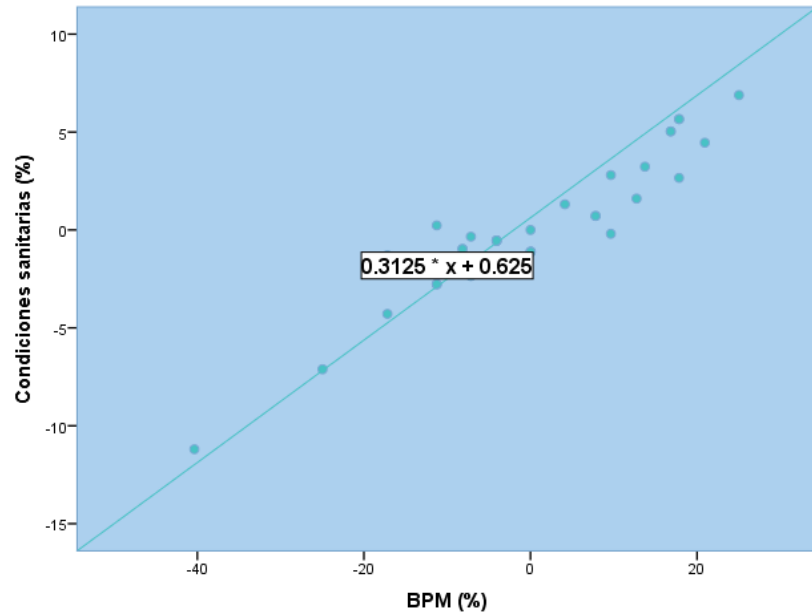


Figura 11. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. BPM.
Elaboracion propia.

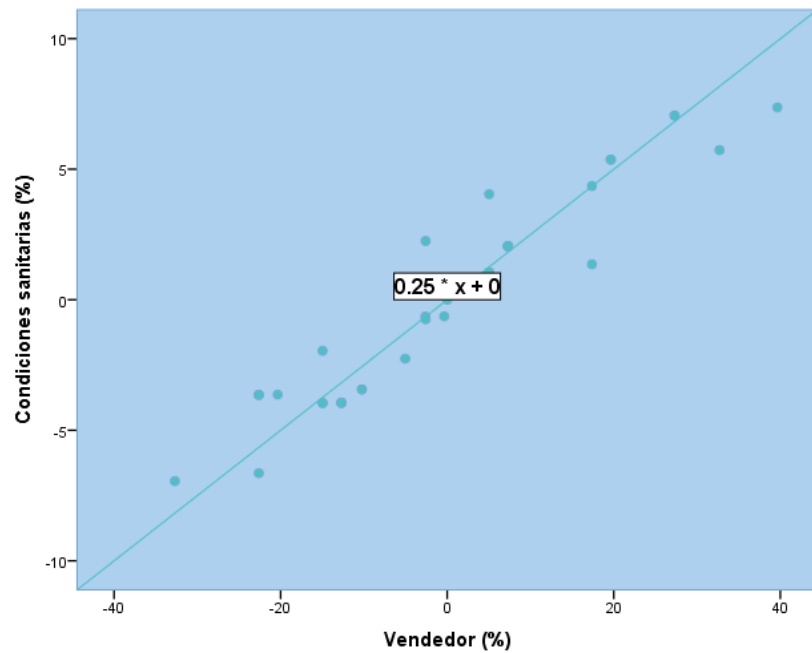


Figura 12. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. Vendedor.
Elaboracion propia.

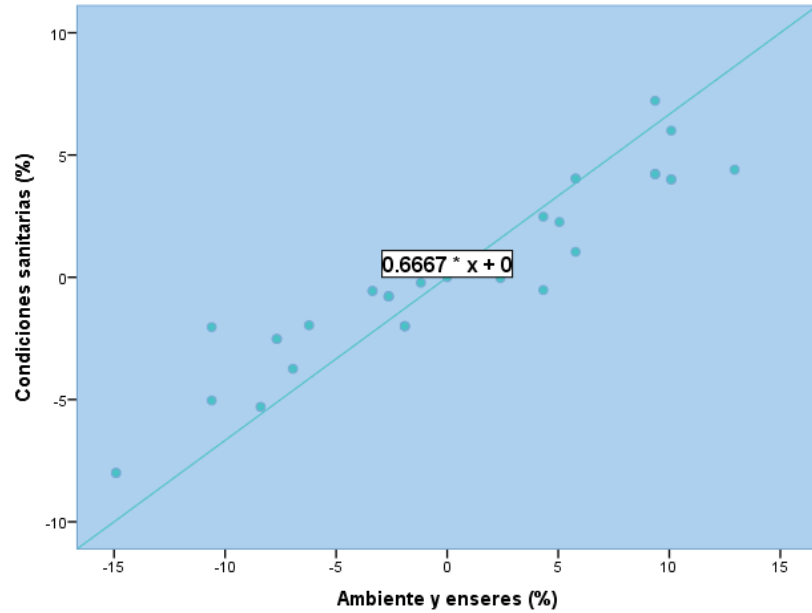


Figura 13. Curva de regresión entre las condiciones sanitarias vs. Ambiente y enseres.
Elaboración propia.

En la Tabla 26 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre las condiciones sanitarias y las variables Alimento, BPM, Vendedor y Ambiente

y enseres, resultando ser 0.341, 0.720, 0.692 y 0.672 respectivamente. Se demostró que existe una correlación positiva entre las condiciones sanitarias y los rubros de inspección, siendo mayor con los rubros BPM, Vendedor y Ambiente y enseres.

Tabla 26

Coefficiente de correlación de Pearson entre las condiciones sanitarias y los rubros de inspección

		Alimento	Vendedor	BPM	Ambiente y enseres
Condiciones sanitarias	Correlación de Pearson	0.341*	0.720**	0.692**	0.672**
	Sig. (bilateral)	0.042	0.000	0.000	0.000
	N	36	36	36	36

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Elaboración propia.

5.2.5 Prueba de Chicuadrado y regresión logística binaria entre la calidad microbiológica de las hamburguesas y los indicadores microbiológicos

En la Tabla 27 se muestran varios estadísticos donde el nivel de significancia de la prueba de Chi-cuadrado fue 0.391, demostrando que se aceptó la hipótesis nula de independencia y en consecuencia se afirmó que los resultados de la calidad microbiológica y la detección de *Salmonella* sp. son variables independientes y que no existió relación entre ellas (véase Tabla 27, en la página 81). De igual manera se aceptó la hipótesis nula de independencia entre la calidad microbiológica y la detección de *Escherichia coli* O157:H7, puesto que, el nivel de significancia de la prueba de Chi-cuadrado fue 0.126 demostrando que no existe relación entre ambas variables (véase Tabla 28, en la página 81). Por el contrario se demostró que existe asociación o dependencia entre el resultado de la calidad microbiológica y la detección de

Listeria monocytogenes, debido a que el nivel de significancia de la prueba de Chi-cuadrado fue 0.013 (véase Tabla 29).

Tabla 27

Prueba de Chi-Cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de *Salmonella sp.*

	Valor	g.l.	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0.735	1	0.391

Elaboracion propia.

Tabla 28

Prueba de chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de *Escherichia coli* O157:H7

	Valor	g.l.	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2.338	1	0.126

Elaboracion propia.

Tabla 29

Prueba de chi-cuadrado entre la calidad microbiológica y detección de *Listeria monocytogenes*

	Valor	g.l.	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6.207	1	0.013

Elaboracion propia.

En la Tabla 30 se muestran los coeficientes para las variables β_0 , β_1 , β_2 , β_3 y β_4 que resultaron -8.593, -0.028, 0.045 y 0.081 con un error estándar menor para todas las variables. Asimismo se observó que la significación estadística con la prueba de Wald resultó mayor a 0.05 para todas las variables, excepto para la variable *Escherichia coli* y su valor de OR (Exp (B)) fue mayor a 1, lo que significa que existe una asociación positiva estadísticamente significativa, es decir, que la presencia de *Escherichia coli* se asocia con la “no conformidad”

en la calidad microbiológica de las hamburguesas (véase Tabla 30, en la pagina 82).

Tabla 30

Regresión logística binaria entre la calidad microbiológica y numeración de aerobios mesófilos, Escherichia coli y Staphylococcus aureus

Variables	B	E.T.	Wald	g.l.	Sig.
Aerobios mesófilos (β_1)	-0.028	0.062	0.207	1	0.649
Escherichia coli (β_2)	0.045	0.020	5.021	1	0.025
Staphylococcus aureus (β_3)	0.081	0.052	2.473	1	0.116
Constante (β_0)	-8.593	5.115	2.822	1	0.093

Elaboracion propia.

5.2.6 Coeficiente de correlación de pearson entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de almacenamiento

En la Tabla 31 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de 5 °C, 15 °C y 25 °C, resultando ser 0.998, 0.999 y 0.995 respectivamente. Esto demostro que existe una correlación positiva entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de almacenamiento siendo la fuerza de correlación mayor con todas las variables (véase Tabla 31, en la página 83).

Tabla 31

Coefficiente de correlación de Pearson entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las temperaturas de almacenamiento

		5 °C	15 °C	25 °C
Aerobios mesófilos	Correlación de Pearson	0.998**	0.999**	0.995**
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000	0.000
	N	16	16	16

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Elaboracion propia.

5.2.7 Regresión lineal múltiple entre la vida útil de las hamburguesas y las variables de la ecuación cinética de Arrhenius

En la Tabla 32 se observa que el coeficiente de determinación (R^2) fue 1.000 con un error estándar de la estimación nulo, esto quiere decir que la vida útil fue explicada en un 100% por las variables independientes y que existe una buena relación entre las variables. Además se obtuvo el valor de los coeficientes β_0 , β_1 y β_2 con un error estándar nulo y el p-valor (sig.) fue significativo para todas las variables demostrando que influyen significativamente en el tiempo de vida útil (véase Tabla 33, en la página 84).

Tabla 32

Regresión múltiple entre la vida útil y las variables de la ecuación cinética de Arrhenius

Regresión	R	R^2 corregido	Error estándar de estimación
Múltiple	1.000	1.000	0.000

Elaboracion propia.

Tabla 33

Coefficientes de la regresión múltiple entre la vida útil y las variables de la ecuación cinética de Arrhenius

Regresión múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
Constante (β_0)	9.959	0.000	0.000
Constante de velocidad (β_1)	-12.453	0.000	0.000
Temperatura (β_2)	0.015	0.000	0.000

Elaboracion propia.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

Hipótesis general: “En la mayoría de las hamburguesas a analizar la calidad microbiológica será deficiente e influirá en disminuir su tiempo de vida útil”

En el presente estudio se demostró, mediante los análisis microbiológicos que las hamburguesas expendidas en los mercados del distrito de Los Olivos son en su mayoría de calidad microbiológica deficiente según la Norma Técnica Sanitaria N° 071. Además se demostró que la calidad microbiológica influye en un 68,20% del tiempo de vida útil. Esto nos indica que las condiciones sanitarias bajo las cuales se están expendiendo las hamburguesas no son adecuadas, puesto que, la calidad microbiológica obtenida evidencia el deterioro de las hamburguesas y la disminución de su tiempo de vida útil.

Primera hipótesis específica: “La mayoría de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos, son de calidad higiénico-sanitaria deficiente”

Respecto a las inspecciones higiénico-sanitarias se obtuvo que el 80,56% (29) de los puestos expendedores resultaron “aceptables” y el 19,44% (07) “regular”, esto es debido a que la mayoría de los puestos expendedores de hamburguesas cumplían casi en su totalidad con los rubros de inspección; sin embargo, hubo deficiencias en los sistemas de conservación, desinfección y no se aplicaban las Buenas Prácticas de Manipulación (BPM) (véase Figura 3, en la página 60).

Se determinó mediante el análisis de regresión múltiple que los rubros de inspección influyen en un 97,90% sobre el resultado de las condiciones sanitarias (véase Tabla 24 y 25, en la página 77), y existe una correlación directa con todos los rubros siendo mayor con los rubros Vendedor, BPM y Ambiente y enseres (véase Tabla 26, en la página 80). Esto demuestra que dichas variables son determinantes para establecer las condiciones sanitarias

bajo las cuales se deben expender las hamburguesas, ya que, se garantiza que el producto cumpla con las medidas que establece el MINSA para el funcionamiento de los mercados de abastos (2003).

Segunda hipótesis específica: “Se comprobará la presencia y/o recuento de microorganismos indicadores por encima del límite permisible de la Norma Técnica Sanitaria N° 071, en un número considerable de hamburguesas”

En cuanto a la calidad microbiológica se determinó que el 58,33% (21) de las hamburguesas resultaron “no aptas” para el consumo humano según la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 071 establecida por el MINSA (2008) (véase Figura 4, en la página 61). El 30,56 % (11) presentó más de 10^6 UFC/g de aerobios mesófilos, el 30,56 % (11) más de 50 NMP/g de *Escherichia coli* y el 13,89 % (05) más de 10^2 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Respecto a las bacterias patógenas el 2,78 % (01) presentó *Salmonella* sp., el 8,33 % (03) *Escherichia coli* O157:H7 y el 19,44 % (07) *Listeria monocytogenes* (véase Tabla 4, en la página 61).

Se obtuvo que la numeración de *Escherichia coli* influye significativamente sobre la calidad microbiológica, demostrando que existe una asociación positiva estadísticamente significativa, es decir, que la presencia de *Escherichia coli* en las hamburguesas se relaciona con la “No Conformidad” de la calidad microbiológica. De igual manera se demostró que la presencia de *Listeria monocytogenes* influye significativamente sobre la calidad microbiológica, evidenciando una relación de dependencia entre la “No Conformidad” del análisis microbiológico y la presencia de *Listeria monocytogenes* (véase Tabla 29, en la página 81).

Tercera hipótesis específica: “Se establecerán los parámetros cinéticos de crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C y se comprobará que a mayor temperatura mayor tasa de crecimiento”

El ambiente que presentó las hamburguesas fue propicio para que a partir de una población inicial de aerobios mesófilos (A_0) de 4.942Ln UFC/g a las

temperaturas de almacenamiento de 5 °C, 15 °C y 25 °C produjera un incremento en el número de ciclos de crecimiento (C) entre 5.687 a 30.932Ln UFC/g, la cual se produjo a una velocidad de crecimiento (B) de 0.372 a 2.138Ln UFC/g/días, ocasionando una disminución del tiempo requerido (M) para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento que va desde 7.530 a 7.158 días (véase Tablas 9 y 10, en la página 66; Tabla 11, en la página 67). Mediante un ajuste al modelo de Arrhenius se estimó los parámetros cinéticos A_0 , B, C, μ y M; encontrando que el parámetro de crecimiento C se incrementó a razón directa a la temperatura desde 5.687 hasta 30.932Ln UFC/g, sin embargo, este parámetro depende la población inicial que logro adaptarse en el menor tiempo posible y a su vez, el tiempo se relacionó inversamente con la temperatura. Del mismo modo, el incremento del parámetro C estuvo relacionado directamente a su velocidad de crecimiento (B).

Después del periodo de adaptación surgió el punto de inflexión (M) que se alcanzó a una velocidad máxima de crecimiento (μ) entre 0.092 a 0.373Ln UFC/g/días favoreciendo una mayor producción de unidades formadoras de colonias y que contribuyo al aprovechamiento del sustrato rico en proteínas y lípidos que cubren los requerimientos nutritivos de los aerobios mesófilos. Mediante Análisis de varianza se demostró estadísticamente que las temperaturas 5 °C, 15 °C y 25 °C no poseen la misma velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) a un nivel de significancia de 0.05 (véase Tabla 12, en la página 67) y que existe diferencias significativas entre ambos parámetros; siendo la μ_{max} mayor a 25 °C.

Se demostró la ineficiencia de las temperaturas de conservación a 5 °C, 15 °C y 25 °C puesto que no evito el deterioro microbiano en las hamburguesas, por el contrario contribuyo con su energía en el comportamiento acelerado de las enzimas bacterianas. Así también la actividad de agua de las hamburguesas favoreció las reacciones de oxidación e hidrolisis del sustrato aportando energía para la síntesis intracelular.

Se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson que existe una asociación positiva entre el crecimiento de aerobios mesófilos y las

temperaturas de almacenamiento, siendo la fuerza de asociación mayor con todas las variables (véase Tabla 31, en la página 83). Esto evidencia que existe dependencia entre ambas variables.

Cuarta hipótesis específica: “La ecuación cinética de Arrhenius evidencia la disminución del tiempo de vida útil, debido a la baja calidad microbiológica y al incumplimiento de las condiciones sanitarias”

La ecuación matemática obtenido por ajuste al modelo de Arrhenius $K = \text{Exp}(18.702 - (5983.800 \times 1/T))$ describe la velocidad específica de crecimiento (K) que se incrementó conforme se elevó la temperatura de refrigeración (véase Tabla 15, en la página 70), obteniendo que las hamburguesas almacenadas a 5 °C, 15 °C y 25 °C tienen una vida útil de 13 días, 12 días y 10 días, respectivamente. Así también, se obtuvo que las variables de la ecuación cinética de Arrhenius explican en un 100% el tiempo de vida útil de las hamburguesas con un nivel de significación del 0.05; demostrando así la eficacia del modelo empleado para la predicción de la vida útil. En contraste, Mataragas, Skandamis, Nychas y Drosinos (2007) desarrollaron un modelo predictivo del deterioro de productos cárnicos curados y cocidos por análisis multivariado asociando el deterioro con parámetros fisicoquímicos y microbiológicos.

6.2 Contratación de los resultados con otros estudios similares

En cuanto a la calidad microbiológica nuestros resultados difieren con el estudio realizado por Cravero, Ramón, Bocanera, Giménez y Ruiz (2007), en Argentina, donde de 20 hamburguesas se encontró que el 95% (19) presentó aerobios mesófilos, el 35% (07) *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 no fue detectada en ninguna muestra. De lo anterior se deduce que hubo una deficiente aplicación de las BPM, mal manejo de los sistemas de almacenamiento, inadecuada manipulación y posiblemente se evidencia la utilización de materia prima contaminada, que se reflejó en el elevado porcentaje de aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus*.

Respecto a las bacterias patógenas nuestros resultados difieren del estudio, realizado por Narváez, Parre, Huerta-Leidenz y Rodas-Gonzales (2001) en Venezuela, donde se reportó que el 66% (37) de 56 hamburguesas presentaron *Salmonella* sp. en la fase de moldeado, 22% (12) en la fase de mezclado-molido y 11% (06) en la fase de troceado. En cambio, la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 fue superior a lo reportado por Miri et al. (2017) donde de 120 hamburguesas procedentes de Irán el 3,30% presentó *Escherichia coli* O157:H7 y en el 2014 en un estudio de 25 productos cárnicos procedentes de Irán se reportó que el 4% presentó *Listeria monocytogenes* (Haj Hosseini, Sharifan y Sadat, 2014).

De lo mencionado en el párrafo anterior, se deduce que los equipos y las superficies de trabajo junto con las malas prácticas de higiene favorecen la presencia de *Salmonella* sp. Además, se encontró en porcentaje significativo la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* en la producción artesanal que en la industrial. Esto significa que no se viene aplicando correctamente las BPM, las BPH, inadecuados procesos de desinfección de los equipos, utensilios y sistemas de conservación de frío, lo cual estaría favoreciendo la persistencia de ambos patógenos en el proceso de elaboración. Muy importante también las capacitaciones sobre patógenos de importancia alimentaria, puesto que, durante las inspecciones gran parte de los vendedores de hamburguesas señalaron no haber recibido constantes capacitaciones sobre estos temas y es realmente preocupante dada las consecuencias que conllevaría posibles brotes.

En el 2015, en un estudio de hamburguesas formuladas a base de pulpa de doncella y harina de trigo, procedentes de Piura, fueron sometidas a congelación (-18 °C) por 30 días obteniendo recuentos de aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. por debajo de los límites permisibles, demostrando así que el producto fue procesado con un estricto cuidado sanitario (Guerrero, 2015)

Estudios realizados a nivel internacional reportaron que en el 2017 hamburguesas elaboradas con nuez pecana en atmosfera modificada,

sometidas a congelación (-18 °C) y refrigeración (4 °C) tuvieron una vida útil de 168 y 13 días, respectivamente (Terrazas-Pérez, Roca-Argüelles y Zumbado-Fernández, 2017). Mientras que, en el 2015 hamburguesas elaboradas a base de atún y algas tuvieron una vida útil de 10 días envasadas al vacío y de 14 días en atmosfera modificada (Martí, 2015).

Por lo antes dicho, se tiene que el envasado al vacío y en atmosfera modificada no garantizo a las hamburguesas una mayor extensión de su tiempo de vida útil, puesto que, los resultados obtenidos por los autores mencionados anteriormente fueron similares a nuestros resultados; a pesar de que las hamburguesas que hemos muestreado no fueron sometidas a esas tecnologías de envasado. Esto posiblemente se deba a que no se tuvo un estricto cuidado sanitario durante la elaboración de dichas hamburguesas.

Nuestros resultados en gran parte se deben a las malas prácticas de manipulación, los inadecuados procesos de desinfección de las superficies y equipos, la falta de higiene en los equipos de trabajo, la presencia de vectores, los malos hábitos higiénicos por parte de los manipuladores y la falta de indumentaria apropiada para el expendio de las hamburguesas.

VII.CONCLUSIONES

- Se determinó que la calidad microbiológica de las hamburguesas expandidas en mercados de abastos del distrito de Los Olivos fue el 58,33 % (21) “no aptas” para el consumo humano y presentó una vida útil de 13 días a 5 °C, constituyendo un serio riesgo para la salud de los comensales.
- Respecto a la inspección higiénico-sanitaria se obtuvo que el 80,56 % (29) resultó “Aceptable” y el 19,44 % (07) “Regular” según el Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abastos (MINSA, 2003). Según la Norma Técnica Sanitaria N° 071, el 30,56 % (11) presentó más de 10^6 UFC/g de bacterias aerobias mesófilas, el 30,56 % (11) más de 50 NMP/g de *Escherichia coli* y el 13, 89 % (05) más de 10^2 UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Respecto a las bacterias patógenas el 2,78 % (01) presentó *Salmonella* sp., el 8,33 % (03) *Escherichia coli* O157:H7 y el 19,44 % (07) *Listeria monocytogenes*.
- Respecto a los parámetros cinéticos, se obtuvo una población inicial de aerobios mesófilos (A_0) de 4.942Ln UFC/g a las temperaturas de almacenamiento de 5 °C, 15 °C y 25 °C produciendo un incremento en el número de ciclos de crecimiento (C) entre 5.687 a 30.932Ln UFC/g, la cual se produce a una velocidad de crecimiento (B) de 0.372 a 2.138Ln UFC/g/días, ocasionando una disminución del tiempo requerido (M) de 7.530 a 7.158 días para alcanzar la velocidad de crecimiento máxima que va desde 0.092 a 0.373Ln UFC/g/días.
- Se determinó la ecuación cinética de reacción mediante el modelo matemático de Arrhenius, cuya expresión es $K = \text{Exp}(18.702 - (5983.800 \times 1/T))$, en la que la velocidad específica de crecimiento (K) se incrementa conforme se eleva la temperatura.

VIII. RECOMENDACIONES

- La Subgerencia de Prevención y Promoción de la Salud de la municipalidad de Los Olivos debe poner especial énfasis en el control de los patógenos *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*, puesto que, se encontró en cantidades significativas en las hamburguesas y esto refleja que gran parte de los mercados de abastos expenden los productos sin los cuidados sanitarios requeridos.
- Fomentar el programa “mercado saludable” a fin de que los mercados de abastos cumplan con todas las medidas establecidas por el MINSA (2003) que no solamente implique realizar inspecciones sanitarias sino complementarlas con análisis microbiológicos de muestras representativas. Esto contribuiría a tener un mejor control sanitario sobre los productos que se expenden y disminuiría considerablemente la contaminación microbiana.
- Si bien es cierto la normativa nacional no especifica la detección de *Listeria monocytogenes* en hamburguesas crudas, es necesario que se asegure que estos alimentos no representen riesgo real de Listeriosis.
- Brindar mayores capacitaciones a los puestos expendedores de productos cárnicos para la mejora en las condiciones higiénico-sanitarias. Se recomienda que las capacitaciones sean trimestrales y que se haga un seguimiento a los resultados obtenidos a fin de verificar la mejora en los procesos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, vol. 11(1-2), 333-338. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/487/48711206.pdf>.
- Andrews, W., Wang, H., Jacobson, A. y Hammack, T. (2016). Salmonella. En K. Jinneman. (Ed.), *Bacteriological analytical manual*. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>.
- Aparicio, P., Cubides, Y., & Mendoza, Y. (2010). *Estudio de factibilidad para la realización de hamburguesas a base de gluten de trigo en la localidad de Kennedy* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bogotá, Colombia.
- Bennett, R. y Lancette, G. (2016). Staphylococcus aureus. En K. Jinneman., (Ed.), *Bacteriological analytical manual*. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>.
- Berrocal, P., Felipa, G., y Rosario, A. (2011). Elaboración de un plan HACPP. [Versión electrónica]. Lima, Perú: Academia, https://www.academia.edu/17073435/Proceso_haccp_hamburguesas.
- Bertrand, S., Dierick, K., Heylen, K., De Baere, T., Pochet, B., y Robesyn E. (2010). Lessons learned from the management of a national outbreak of Salmonella Ohio linked to pork meat processing and distribution. *Journal of Food Protection*, 73(3), 529-534. Recuperado de <https://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-73.3.529>.
- Brody, A. (2003). Predicting Packaged Food Shelf Life. *Food Technology*, 57(4), 100-102.

- Buchholz, U., Bernard, H., Werber, D., Böhmer, M., Remschmidt, C., Wilking, H... Kühne, M. (2011). German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N. Engl. J. Med.*, 365(19), 1763-1770. doi 10.1056/NEJMoa1106482.
- Bustacara, A. & Joya, F. (2007). *Elaboración de tres productos cárnicos: chorizo, longaniza y hamburguesa, con 100% carne de babilla*. (Tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
- Cagney, C., Crowley, H., Duffy, G., Sheridan, J., Brien S., Carney E... Bishop, R. (2004). Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. *Food Microbiology*, 21(2), 203-212. doi 10.1016/S0740-0020(03)00052-2.
- Carrillo, M., y Reyes, A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2(3), 1-25. Recuperado de <http://www.ciba.org.mx/index.php/CIBA/article/view/20>.
- Castillo, María. (2017). *Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.
- Cravero, A., Ramón, A., Bocanera, B., Giménez, M., Ruiz, C. (2007). Aplicación de buenas prácticas de manufactura y determinación de agentes contaminantes en hamburguesas expandidas en salta (Argentina). *Revista Salud Pública y Nutrición*, 7(4), 1-7. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2007/spn074d.pdf>.
- Devlieghere, F., Geeraerd, H., Versyck, K., Vandewaetere, B., Van Impe, J. y Debevere, J. (2001). Growth of *Listeria monocytogenes* in modified

atmosphere packed cooked meat products: a predictive model. *Food microbiology*, 18, 53-66. doi: 10.1006/fmic.2000.0378.

Estrada, J. (2017). *Procesamiento y vida en anaquel de miel de abejas peruanas* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

Feng, P., Weagant, S. y Jinneman, K. (2017). Diarrheagenic *Escherichia coli*. En K. Jinneman. (Ed.), *Bacteriological analytical manual*. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>.

Feng, P., Weagant, S., Grant, M., y Burkhardt, W. (2017). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. En K. Jinneman. (Ed.), *Bacteriological analytical manual*. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>.

Fernández, A., Izquierdo, P., Valero, K., Allara, M., Piñero, M., García, A. (2006). Efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de carne de hamburguesa. *Revista Científica FCV-LUZ*, XVI(4), 428-437. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000400013.

Fortuna, J., Nascimento, E., Franco, R., (2014). Influência da temperatura de armazenamento sobre a qualidade microbiológica de hambúrgueres cruz comercializados em Niterói-RJ. *Scientia Plena*, 10(5), 1-7. Recuperado de <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1755/985>.

- Frazier, W., y westhoff, D. (2003). *Microbiología de los alimentos*. España: Acribia S.A.
- Garza-Velasco, R., Silva-Monzuazo, T., Hernández-Gómez, L. (2007). La Listeriosis humana y el ciclo infeccioso asociado a su agente etiológico. *Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM*. Recuperado de <http://depa.fquim.unam.mx/bacteriologia/pdfs/ART%20CDC-Listeria.pdf>.
- González-Tenorio, R., Caro, I., Soto-Simental, S., Rodríguez-Pastrana, B., Mateo, J. (2012). Características microbiológicas de cuatro tipos de chorizo comercializados en el Estado de Hidalgo. *Nacameh*, 6(2), 25-32. Recuperado de http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v6n2/Nacameh_v6n2_025_GonzalezTenorio_et al.pdf.
- González-Tenorio, R., Totosa, A., Caro, I., Mateo, J. (2013). Caracterización de Propiedades Químicas y Fisicoquímicas de Chorizos comercializados en la Zona Centro de México. *Información Tecnológica*, 24(2), 3-14. doi: 10.4067/S0718-07642013000200002.
- Gould, L., Mody, R., Ong, K., Clogher, P., Cronquist, A., Garman K...Mahon, B. (2013). Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: Epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157. *Infections. Foodborne Pathogens and Disease*, 10(5), 453-460. doi: 10.1089/fpd.2012.1401.
- Guerrero, P. (2015). *Determinación de la vida útil en congelación de hamburguesas de pescado formulada con pulpa de doncella (Hemanthias peruanus-Steindachner, 1874) y harina de trigo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.

- Haj Hosseini, A., Sharifan, A., y Sadat, A. (2014). Isolation of *Listeria monocytogenes* from Meat and Dairy Products. *J Med Microbiol Infect Dis*, 2(4), 159-162. Recuperado de <https://jommid.pasteur.ac.ir/article-1-84-en.pdf>.
- Heredia, N., Dávila-Aviña, J., Solis, L., García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8(1), 20-42. Recuperado de http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v8s1/Nacameh_v8s1_20-42Heredia-et al.pdf.
- Hitchins, A., Jinneman, K., y Chen, Y. (2017). Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. En K. Jinneman (Ed.), *Bacteriological analytical manual*. Recuperado de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>.
- Horwitz, W. y Latimer, G. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC international 947.05*. Washington, D.C., Estados Unidos: Association of Officiating Analytical Chemists.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2000). *Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración*. Zaragoza, España: ACRIBIA S.A.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (2008). *Norma Técnica Colombiana 1325 Industrias alimentarias. Productos cárnicos procesados no enlatados*. Recuperado de https://www.academia.edu/38931022/NORMA_T%C3%89CNICA_NT_C_COLOMBIANA_1325.

- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2016). *Censo Nacional de Mercados de Abastos 2016*. Recuperado de <http://webinei.inei.gob.pe/cenama/mapa.html>.
- Karmali, M. (1989). Infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 2(1),15-38. doi: 10.1128/cmr.2.1.15.
- Kirk, R., Sawyer, R., Egan, H. (1996). *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. México: Compañía Editorial Continental.
- Labuza, T. (1999). *Determination of the Shelf Life of Food*.
- Mandell, G., Douglas, R., Benett, J. (1997). *Enfermedades infecciosas, principios y prácticas*. España: Editorial Medica Panamericana.
- Mansilla, P. (2011). *Características clínico-epidemiológicas de pacientes con diagnóstico de Síndrome Urémico Hemolítico* (Tesis de pregrado). Universidad San Martín de Porres, Lima, Perú.
- Martí, L. (2015). *Evaluación de la vida útil de hamburguesas elaboradas a base de pescado y algas* (Tesis de maestría). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Mataragas, M., Drosinos, E., Vaidanis, A., y Metaxopoulos. (2006). Development of a Predictive Model for Spoilage of Cooked Cured Meat Products and Its Validation Under Constant and Dynamic Temperature Storage Conditions. *Food Microbiology and Safety*, 71(6), 157-167. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2006.00058.x>.
- Mataragas, M., Skandamis, P., Nychas, G., Drosinos E. (2007). Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. *Elsevier*, 77(3), 348-356. Recuperado de

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174007001155>.

Mena, M. (2010). *Evaluación de la prevalencia de Listeria monocytogenes en productos lácteos y embutidos en tres mercados de la ciudad de Quito mediante la Técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Ministerio de Agricultura. (2014). *Anuario de Producción Agroindustrial Alimentaria 2014*. Recuperado de <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=noticias/anuario-de-la-produccion-agroindustrial-alimentaria-2014>.

Ministerio de Salud. (2003). *Reglamento Sanitario de Funcionamiento de Mercados de Abasto*. RM N° 282. Recuperado de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3336.pdf>.

Ministerio de Salud. (2008). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano NTP 071*. Recuperado de https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf.

Miri, A., Rahimi, E., Mirlohi, M., Mahaki, B., Jalali, M., Ghasemian, H. (2017). Isolation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7/NM from hamburger and chicken nugget. *International Journal of Environmental Health Engineering*, 3(1), 19-23. Recuperado de <http://www.ijehe.org/article.asp?issn=2277-9183;year=2014;volume=3;issue=1;spage=20;epage=20;aulast=Miri;type=0>.

- Narvaez, C., Parre, K., Huerta-Leidenz, N., y Rodas-Gonzales, A. (2001). Evaluación del desempeño higiénico al procesar hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo. *Rev. Cientif FCV-LUZ*, XI(6), 524-532. Recuperado de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/14810>.
- Nie, N. (2016). *IBM Support: IBM SPSS Statistics 24*. EE.UU. recuperado de <http://www-01.ibm.com/support/docview.wss?uid=swg24041224>.
- Organización Mundial de la Salud. (2017). *Organización Mundial de la Salud*. Estados Unidos. Recuperado de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es.
- Paisan, L. (2001). Creciente demanda de alimentos inocuos la tecnología de las radiaciones constituye una respuesta oportuna. *Boletín del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA)*. Recuperado de https://www.iaea.org/sites/default/files/43205783742_es.pdf.
- Palomino, J. (1992). Protección alimentaria y actividades de salud pública y veterinaria. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 11(1), 169-190. Recuperado de <https://www.oie.int/doc/ged/D8631.PDF>.
- Parra, K., Piñero, M., Narvaez, C., Uzcátegui, S., Arenas, L., Huerta-Leidenz, N. (2002). Evaluación microbiológica y físico química de hamburguesas congeladas, expandidas en Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. *Rev. Cientif FCV-LUZ*, XII(6), 715-720. Recuperado de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/27732/articulo6.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.
- Pérez-Flores, J., Castañeda-Ovando, A., Jaime-Ordaz, J., Añorve-Morga, J., Gonzáles-Olivares, L., Ramírez-Godínez, J., Contreras-López E.

(2017). Modelo matemático para la estimación de la vida útil de compotas de mango y durazno durante su almacenamiento a diferentes temperaturas. *Revista de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 544-549. Recuperado de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume2/3/10/89.pdf>.

Reitsma, C., y Henning, D. (1995). Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 during the manufacture and curing of cheddar cheese. *J. Food Prot*, 59(5), 460-464. Recuperado de <https://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-59.5.460>.

Restrepo, D., Arango, C., Amézquita, A., y Restrepo, R. (2001). *Microbiología de la carne*. Recuperado de academia.edu/20666445/UNIVERSIDAD_NACIONAL_DE_COLOMBIA_DIEGO_ALONSO_RESTREPO_MOLINA_CLAUDIA_MARÍA_ARANGO_MEJÍA_ALEJANDRO_AMÉZQUITA_CAMPUZANO_RENATO_ARTURO_RESTREPO_DIGIAMMARCO.

Rodriguez-Aud, J. (2018). Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. *Rev. Chil. Infectol*, 35(6), 649-657. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v35n6/0716-1018-rci-35-06-0649.pdf>.

Sánchez, M., y De las infantas P. (2003). *Procesos de elaboración de alimentos y bebidas*. Madrid, España: S.A. MUNDI-PRENSA LIBROS.

Soberon, J. (2017). *Calidad microbiana y Listeria monocytogenes en ensaladas expendidas en pollerías del distrito de Los Olivos, Lima-Perú* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Soto Z., Perez L., y Estrada D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Científica*

Salud Uninorte, 32(1), 105-122. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>.

Terrazas-Perez, S., Roca-Argüelles, M., y Zumbado-Fernández, H. (2017). Determinación de la vida útil de hamburguesa elaborada con nuez pecana conservada en atmósfera modificada. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 27, 54-57. Recuperado de <http://revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/463/432>

Trachtman, H. (2013). HUS and TTP in Children. *Pediatric Rev. Clin North Am*, 60(6), 1513-1526. doi: 10.1016/j.pcl.2013.08.007.

Valdez, K. (2014). *Estimación de la vida útil de productos snacks procesados en la empresa procesos Velsac S.A.C. mediante análisis fisicoquímicos y sensoriales* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Callao, Lima, Perú.

Valero, K., Safadi, S., Bermudez, A., Avila, Y. Sandra, L., y Garcia, A. (2008). Comparación de la calidad microbiológica de hamburguesa de pollo elaborada en forma artesanal e industrial. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XVIII(5), 624-630. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592008000500014.

Zumbado, H. (2004). *Análisis Químico de los Alimentos, Métodos Clásicos*. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana. Recuperado de <https://juliocruz82.files.wordpress.com/2011/08/analisis-quimico-de-los-alimentos-mc3a9todos-clc3a1sicos.pdf>.

x. ANEXOS

Anexo 1

Matriz de consistencia

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Dimensiones	Indicadores
<p>Problema General ¿Cómo es la calidad microbiológica, y ella tendrá influencia en el tiempo de vida útil de las hamburguesas que se expenden en mercados del distrito de Los Olivos?</p> <p>Problemas Específicos ¿Serán adecuadas las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos?</p> <p>¿La presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica en las hamburguesas, excederán los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N° 071?</p> <p>¿Cuáles serán los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C?</p> <p>¿Cuál es la ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius?</p>	<p>Objetivo General Determinar la calidad microbiológica y su influencia en el tiempo de vida útil de las hamburguesas que se expenden en mercados del distrito de Los Olivos.</p> <p>Objetivos Específicos Determinar las condiciones higiénico-sanitarias de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos.</p> <p>Determinar la presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de calidad microbiológica en las hamburguesas, y calificar si exceden o no los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N° 071.</p> <p>Obtener los parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C.</p> <p>Determinar la ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius.</p>	<p>Hipótesis General En la mayoría de las hamburguesas a analizar la calidad microbiológica será deficiente e influirá en disminuir su tiempo de vida útil.</p> <p>Hipótesis Específicas La mayoría de los puestos de expendio de hamburguesas en mercados del distrito de Los Olivos, son de calidad higiénico-sanitaria deficiente.</p> <p>Se comprobará la presencia y/o recuento de microorganismos indicadores por encima del límite permisible de la Norma Técnica Sanitaria N° 071, en un número considerable de hamburguesas.</p> <p>Se establecerán los parámetros cinéticos de crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C y se comprobará que a mayor temperatura mayor tasa de crecimiento.</p> <p>La ecuación cinética de Arrhenius evidencia la disminución del tiempo de vida útil, debido a la baja calidad microbiológica y al incumplimiento de las condiciones sanitarias.</p>	<p>Y₁: Calidad microbiológica y vida útil de hamburguesas expandidas en mercados del distrito de Los Olivos.</p> <p>X₁: Condiciones higiénico-sanitarias de los puestos expendedores de hamburguesas.</p> <p>X₂: Presencia y/o recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las hamburguesas según la Norma Técnica Sanitaria N° 071.</p> <p>X₃: Parámetros cinéticos del crecimiento de aerobios mesófilos en las hamburguesas a 5 °C, 15 °C y 25 °C.</p> <p>X₄: Ecuación cinética de reacción de las hamburguesas mediante el modelo matemático de Arrhenius.</p>	<p>Calidad microbiológica</p> <p>Vida útil</p> <p>Calificación de la inspección según la RM N° 282-2003-SA/DM</p> <p>Calificación de las hamburguesas analizadas según la NTS N° 071.</p> <p>Parámetros cinéticos</p> <p>Ecuación cinética de reacción</p>	<p>Norma Técnica Sanitaria N° 071</p> <p>Temperatura</p> <p>Tiempo</p> <p>Alimento</p> <p>Buenas Prácticas de Manipulación Vendedor</p> <p>Ambiente y enseres</p> <p>Aerobios mesófilos.</p> <p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><i>Salmonella sp.</i></p> <p><i>Escherichia coli</i> O157:H7</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i></p> <p>Población inicial (A₀)</p> <p>Velocidad de crecimiento (B)</p> <p>Ciclos de crecimiento (C)</p> <p>Tasa de crecimiento (μ)</p> <p>Tiempo (M)</p> <p>Energía de activación (E_a)</p> <p>Temperatura</p> <p>Velocidad específica de crecimiento (k)</p>

Elaboración propia.

Anexo 2

Ficha de inspección higiénico-sanitaria a mercados

Identificación del mercado y del puesto							
Nombre del mercado:							
Razón social:							
Nº de puesto:							
Vendedor 1 o titular:							
Nota: Para cada ítem se considera la siguiente escala (depende del máximo puntaje).				0: No aceptable	1: Regular	2: Aceptable	
				0: No aceptable	2: Regular	4: Aceptable	
Nº	RUBROS				Escala		Puntaje
1 ALIMENTO							
1.1	Productos en buen estado (no deteriorado)				0	2	4
1.2	Aspecto normal de envasados (embolsados)				0	2	4
2 BUENAS PRÁCTICAS DE MANIPULACIÓN (BPM)							
2.1	Aplica frío (5°C o menos) en conservación de hamburguesas				0	2	4
2.2	Exhibe ordenadamente, separado por producto en recipientes de fácil limpieza				0	2	4
2.3	Desinfecta superficies, paños y equipos				0	2	4
2.4	Realiza rotación de stock				0	2	4
3 VENDEDOR							
3.1	Acredita buena salud.				0	2	4
3.2	Manos limpias y sin joyas, con uñas cortas, limpias y sin esmalte				0	2	4
3.3	Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial				0	1	2
3.4	Uniforme completo, limpio y de color claro				0	1	2
3.5	Cuenta con capacitación sobre BPM				0	1	2
4 AMBIENTE Y ENSERES							
4.1	Exterior e interior del puesto limpio y ordenado				0	2	4
4.2	Equipos en buen estado y limpios				0	2	4
4.3	Mostrador de exhibición en buen estado y limpio.				0	2	4
4.4	Paños, secadores en buen estado y limpios				0	2	4
4.5	Basura bien dispuesta (tacho c/bolsa interior y tapa)				0	2	4
4.6	Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición				0	2	4
4.7	Ausencia de vectores o signos de su presencia (excretas)				0	2	4
4.8	Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos				0	2	4
TOTAL DEL PUNTAJE MÁXIMO (obtenido)					72		
PORCENTAJE DEL PUNTAJE OBTENIDO					100%		
75 a 100%: Aceptable							
50 a 74%: Regular							
Menos de 50%: No aceptable							
Nombres y apellidos: Grado académico: Mención: Institución laboral:					<hr/> Firma del juez experto DNI N°		

Anexo 3

Validación de la Ficha de Inspección por Jueces Expertos mediante alfa de Cronbach

JUECES	ÍTEM																			TOTAL (FILA)
	1.1	1.2	2.1	2.2	2.3	2.4	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	
Juez 1	2	4	4	4	0	4	4	2	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	56
Juez 2	4	4	4	4	1	4	4	4	2	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4	65
Juez 3	2	4	4	4	0	4	4	2	0	1	0	4	4	4	4	4	4	4	4	57
Total (columna)	8	12	12	12	1	12	12	8	2	2	1	12	12	12	12	12	12	12	12	178
Promedio	2.67	4	4	4	0.33	4	4	2.67	0.67	0.67	0.33	4	4	4	4	4	4	4	4	59.33
Desviación estándar	1.15	0	0	0	0.58	0	0	1.16	1.15	0.58	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	4.93
Si^2	5																			
St^2	24.33																			
k	19																			

$$\alpha = \left(\frac{k}{k-1} \right) \left(1 - \frac{Si^2}{St^2} \right) = 0.84$$

Elaboracion propia.

Anexo 4

Resultado del Ensayo Microbiológico

Procedencia :
Código de la muestra :
Cantidad :
Fecha y hora de muestreo:
Fecha y hora de recepción :
Fecha y hora de inicio de ensayo :
Fecha y hora de término de ensayo :
Observaciones :

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
ANALISIS	RESULTADO	LÍMITE PERMISIBLE*
Recuento de microorganismos Aerobios mesófilos ¹		10 ⁵ UFC/g
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> ²		10 UFC/g
Numeración de <i>Escherichia coli</i> ³		10 NMP/ g
Detección de <i>Salmonella</i> sp ⁴		Ausencia/25 g
Detección de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ⁵		Ausencia/25 g
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> ⁶		Ausencia/25g

METODOLOGÍA

1. ICMSF Vol. 1. 120-124. 2000. Recuento de microorganismos Aerobios mesófilos.
2. FDA/BAM. Chapter 12. 2016. Recuento de *Staphylococcus aureus*.
3. FDA/BAM. Chapter 4. 2017. Método del número más probable (NMP) para *Escherichia coli*.
4. FDA/BAM. Chapter 5. 2016. Detección de *Salmonella* sp.
5. FDA/BAM. Chapter 4A. 2017. Detección de *Escherichia coli* O157:H7.
6. FDA/BAM. Chapter 10. 2017. Detección de *Listeria monocytogenes*.

I.CALIFICACIÓN:

II. INTERPRETACIÓN

Elaboración propia.

Anexo 5

Base de datos de la inspección higiénico-sanitaria a 36 mercados del distrito de Los Olivos

RUBROS	PTJ. Max.	H01	H02	H03	H04	H05	H06	H07	H08	H09	H10	
1. Alimento												
1.1 Productos en buen estado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
1.2 Aspecto normal de envasados	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
2. Buenas Prácticas de Manipulación												
2.1 Aplica frio en conservación de hamburguesas	4	0	4	4	4	4	4	4	0	0	4	
2.2 Exhibe ordenadamente	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
2.3 Desinfecta superficies, paños y equipos	4	4	4	4	4	0	0	4	4	4	4	
2.4 Rotación de stock	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
3. Vendedor												
3.1 Acredita buena salud	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
3.2 Manos limpias y sin joyas, y uñas cortas, limpias y sin esmalte	4	0	4	4	0	0	4	4	4	0	0	
3.3 Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	
3.4 Uniforme completo, limpio y de color claro	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
3.5 Capacitación sobre BPM	2	0	4	4	4	0	0	0	0	4	4	
4. Ambiente y enseres												
4.1 Exterior e interior del puesto limpio y ordenado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.2 Equipos en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.3 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.4 Paños, secadores en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.5 Basura bien dispuesta	4	0	4	4	4	4	4	4	0	4	4	
4.6 Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.7 Ausencia de vectores o signos de su presencia	4	4	0	0	0	0	0	4	4	4	4	
4.8 Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
TOTAL	72	52	68	66	62	54	58	66	58	60	64	
Observación: Para cada ítem se considera la siguiente escala (depende del máximo puntaje).		0: No aceptable				1: Regular			2: Aceptable			
		0: No aceptable				2: Regular			4: Aceptable			

Elaboracion propia.

RUBROS	PTJ. Max.	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	
1. Alimento												
1.1 Productos en buen estado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
1.2 Aspecto normal de envasados	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
2. Buenas Prácticas de Manipulación												
2.1 Aplica frío en conservación de hamburguesas	4	0	0	0	4	0	0	4	4	4	4	
2.2 Exhibe ordenadamente	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
2.3 Desinfecta superficies, paños y equipos	4	4	4	0	0	4	4	4	0	0	4	
2.4 Rotación de stock	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
3. Vendedor												
3.1 Acredita buena salud	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
3.2 Manos limpias y sin joyas, y uñas cortas, limpias y sin esmalte	4	4	0	0	4	4	0	0	0	4	0	
3.3 Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2	
3.4 Uniforme completo, limpio y de color claro	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	
3.5 Capacitación sobre BPM	2	4	4	4	0	4	4	0	0	0	4	
4. Ambiente y enseres												
4.1 Exterior e interior del puesto limpio y ordenado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.2 Equipos en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.3 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.4 Paños, secadores en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.5 Basura bien dispuesta	4	0	4	4	4	0	0	4	4	4	4	
4.6 Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
4.7 Ausencia de vectores o signos de su presencia	4	4	4	4	4	4	0	4	0	4	4	
4.8 Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
TOTAL	72	62	64	60	62	62	58	62	54	62	68	
Observación: Para cada ítem se considera la siguiente escala (depende del máximo puntaje).		0: No aceptable				1: Regular			2: Aceptable			
		0: No aceptable				2: Regular			4: Aceptable			

Elaboracion propia.

RUBROS	PTJ. Max.	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30
1. Alimento											
1.1 Productos en buen estado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
1.2 Aspecto normal de envasados	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2. Buenas Prácticas de Manipulación											
2.1 Aplica frío en conservación de hamburguesas	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4
2.2 Exhibe ordenadamente	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2.3 Desinfecta superficies, paños y equipos	4	4	4	4	0	0	0	0	0	4	4
2.4 Rotación de stock	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
3. Vendedor											
3.1 Acredita buena salud	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
3.2 Manos limpias y sin joyas, y uñas cortas, limpias y sin esmalte	4	4	0	0	0	0	0	4	0	4	0
3.3 Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	4
3.4 Uniforme completo, limpio y de color claro	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.5 Capacitación sobre BPM	2	4	4	0	0	4	0	0	0	4	0
4. Ambiente y enseres											
4.1 Exterior e interior del puesto limpio y ordenado	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4.2 Equipos en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4.3 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4.4 Paños, secadores en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4.5 Basura bien dispuesta	4	0	4	4	4	4	4	4	4	4	0
4.6 Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4.7 Ausencia de vectores o signos de su presencia	4	4	4	0	4	0	4	4	0	4	4
4.8 Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
TOTAL	72	66	64	54	58	58	58	62	54	70	60
Observación: Para cada ítem se considera la siguiente escala (depende del máximo puntaje).		0: No aceptable					1: Regular			2: Aceptable	
		0: No aceptable					2: Regular			4: Aceptable	

Elaboracion propia.

RUBROS	PTJ. Max.	H31	H32	H33	H34	H35	H36
1. Alimento							
1.1 Productos en buen estado	4	4	4	0	4	4	4
1.2 Aspecto normal de envasados	4	4	4	0	4	4	4
2. Buenas Prácticas de Manipulación							
2.1 Aplica frio en conservación de hamburguesas	4	0	0	0	0	0	4
2.2 Exhibe ordenadamente	4	4	4	4	4	4	4
2.3 Desinfecta superficies, paños y equipos	4	4	0	4	0	0	0
2.4 Rotación de stock	4	4	4	4	4	4	4
3. Vendedor							
3.1 Acredita buena salud	4	4	4	4	4	4	4
3.2 Manos limpias y sin joyas, y uñas cortas, limpias y sin esmalte	4	0	0	0	0	0	0
3.3 Cabello corto o recogido, sin maquillaje facial	2	2	2	2	4	2	2
3.4 Uniforme completo, limpio y de color claro	2	0	0	0	0	0	0
3.5 Capacitación sobre BPM	2	0	0	0	0	0	0
4. Ambiente y enseres							
4.1 Exterior e interior del puesto limpio y ordenado	4	4	4	4	4	4	4
4.2 Equipos en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4
4.3 Mostrador de exhibición en buen estado y limpio	4	0	4	4	0	4	4
4.4 Paños, secadores en buen estado y limpios	4	4	4	4	4	4	4
4.5 Basura bien dispuesta	4	4	0	0	4	4	0
4.6 Desagüe con sumidero, rejilla y trampa en buena condición	4	4	4	4	4	4	4
4.7 Ausencia de vectores o signos de su presencia	4	0	0	4	0	0	0
4.8 Guarda el material de limpieza y desinfección separados de los alimentos	4	4	4	4	4	4	4
TOTAL	72	50	46	46	48	50	50
Observación: Para cada ítem se considera la siguiente escala (depende del máximo puntaje).		0: No aceptable		1: Regular		2: Aceptable	
		0: No aceptable		2: Regular		4: Aceptable	

Elaboracion propia.

Anexo 6

Base de datos de los análisis microbiológicos a las hamburguesas

Código	Recuento Aerobios mesófilos (UFC/g)	NMP de <i>E. coli</i> (NMP/g)	Recuento <i>S. aureus</i> (UFC/g)	Detección <i>Salmonella</i> sp.	Detección <i>E. coli</i> O157:H7	Detección <i>L. monocytogenes</i>	Resultado
H01	11x10 ⁵	<3	15x10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H02	15x10 ⁴	9.2	3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	Conforme
H03	17x10 ⁵	<3	15 NMP/g	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H04	17x10 ⁵	9.2	210 NMP/g	A/25	A/25	P/25	No Conforme
H05	27x10 ⁵	<3	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H06	99x10 ⁴	<3	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H07	14x10 ⁵	23	<10	A/25	A/25	P/25	No Conforme
H08	12x10 ⁶	<3	<10	A/25	A/25	P/25	No Conforme
H09	14x10 ⁴	>11x10 ²	<10	A/25	P/25	A/25	No Conforme
H10	R. Est 13x10 ²	<3	<10	P/25	A/25	P/25	No Conforme
H11	12x10 ⁵	240	21 NMP/g	A/25	A/25	P/25	No Conforme
H12	27x10 ⁵	<3	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H13	15x10 ⁴	93	<10	A/25	P/25	A/25	No Conforme
H14	10x10 ⁴	15	23	A/25	A/25	A/25	Conforme
H15	67x10 ³	21	<3	A/25	A/25	A/25	Conforme
H16	50x10 ⁴	<3	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H17	55x10 ⁴	<3	<3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	Conforme
H18	14x10 ³	<3	<3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	Conforme
H19	95x10 ²	38	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H20	20x10 ⁵	<3	<3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H21	38x10 ³	<3	<3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	Conforme
H22	12X10 ⁵	93	<10	A/25	P/25	P/25	No Conforme

Elaboracion propia.

H23	86x10 ³	<3	60	A/25	A/25	A/25	Conforme
H24	50x10 ⁴	<3	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H25	11x10 ³	93	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H26	21x10 ⁴	75	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H27	28x10 ³	11x10 ²	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H28	26x10 ⁵	11x10 ²	32x10 ²	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H29	80x10 ³	<3	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H30	39x10 ³	43	<10	A/25	A/25	A/25	Conforme
H31	70x10 ³	<3	60	A/25	A/25	A/25	Conforme
H32	25x10 ⁴	<3	<3 NMP/g	A/25	A/25	A/25	Conforme
H33	10x10 ⁴	11x10 ²	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H34	11x10 ⁴	240	<10	A/25	A/25	A/25	No Conforme
H35	26x10 ⁵	11x10 ²	32x10 ²	A/25	A/25	P/25	No Conforme
H36	16x10 ³	43	88x10 NMP/g	A/25	A/25	A/25	No Conforme
Resultado microbiológico		Conforme					
		No Conforme					

Elaboracion propia.

Anexo 7

Base de datos del recuento promedio de aerobios mesófilos a 5 °C, 15 °C y 25 °C en Hamburguesas

Tiempo (días)	Temperaturas de conservación		
	5 °C (UFC/g)	15 °C (UFC/g)	25 °C (UFC/g)
0	1.40 x10 ²	1.40 x10 ²	1.40x10 ²
1	2.37 x10 ²	2.62 x10 ²	4.65 x10 ²
2	3.38 x10 ²	5.00 x10 ²	2.90 x10 ³
3	5.49 x10 ²	1.24 x10 ³	5.46 x10 ³
4	6.92 x10 ²	3.07 x10 ³	2.80 x10 ⁴
5	9.32 x10 ²	5.63 x10 ³	4.51 x10 ⁵
6	1.40 x10 ³	1.23 x10 ⁴	1.14 x10 ⁶
7	2.24 x10 ³	2.80 x10 ⁴	3.05 x10 ⁷
8	3.01 x10 ³	5.10 x10 ⁴	2.24 x10 ⁸
9	5.00 x10 ³	1.24 x10 ⁵	4.24 x10 ⁹
10	7.29 x10 ³	3.15 x10 ⁵	2.00 x10 ¹⁰
11	9.14 x10 ³	4.89 x10 ⁵	3.80 x10 ¹¹
12	1.01 x10 ⁴	1.00 x10 ⁶	2.14 x10 ¹²
13	2.17 x10 ⁴	3.18 x10 ⁶	7.32 x10 ¹³
14	3.13 x10 ⁴	5.00 x10 ⁶	2.85 x10 ¹⁴
15	4.13 x10 ⁴	1.00 x10 ⁷	3.80 x10 ¹⁵

Elaboración propia.

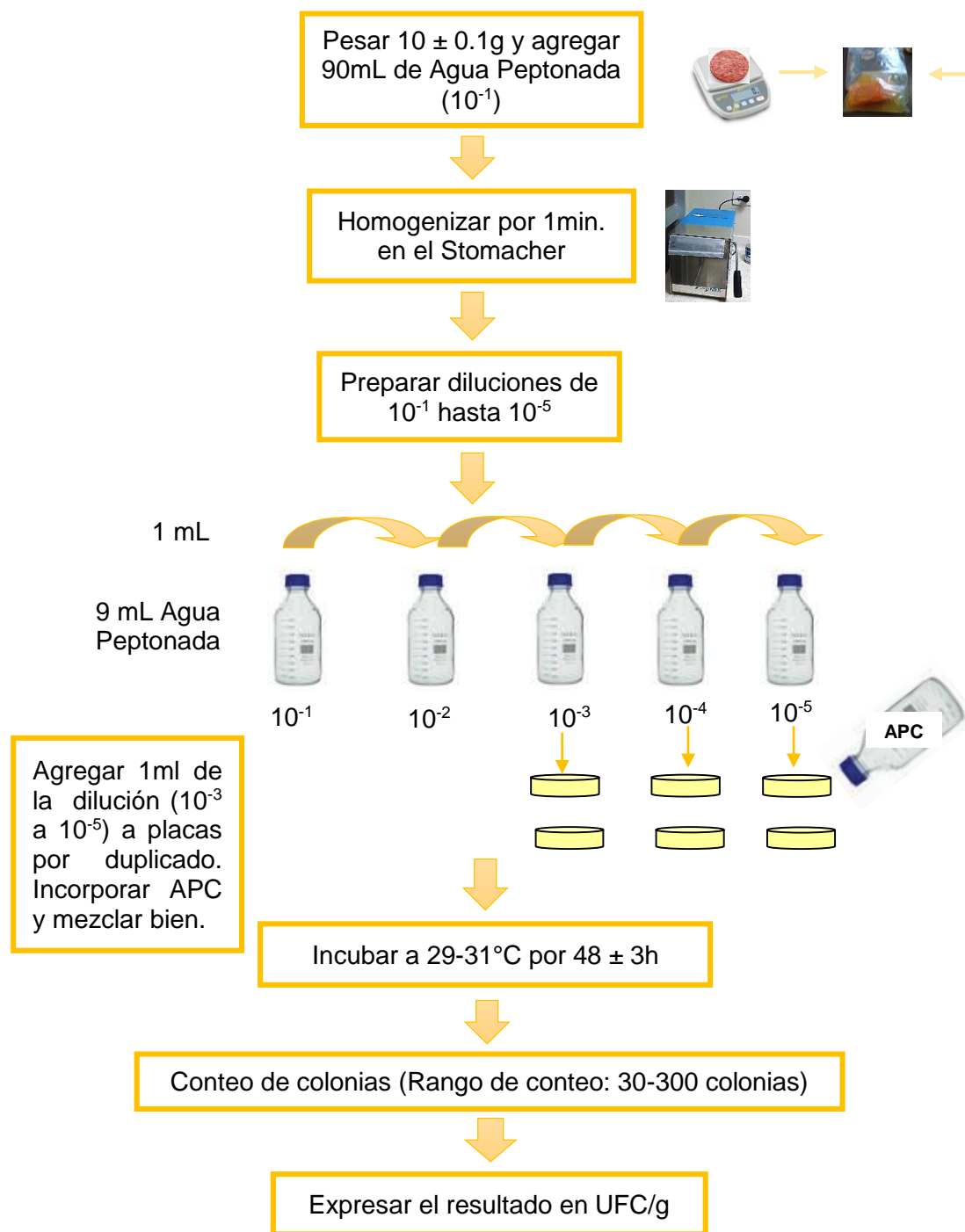


Figura 14. Flujograma del recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos de acuerdo al ICMSF. 2000.

Elaboración propia.

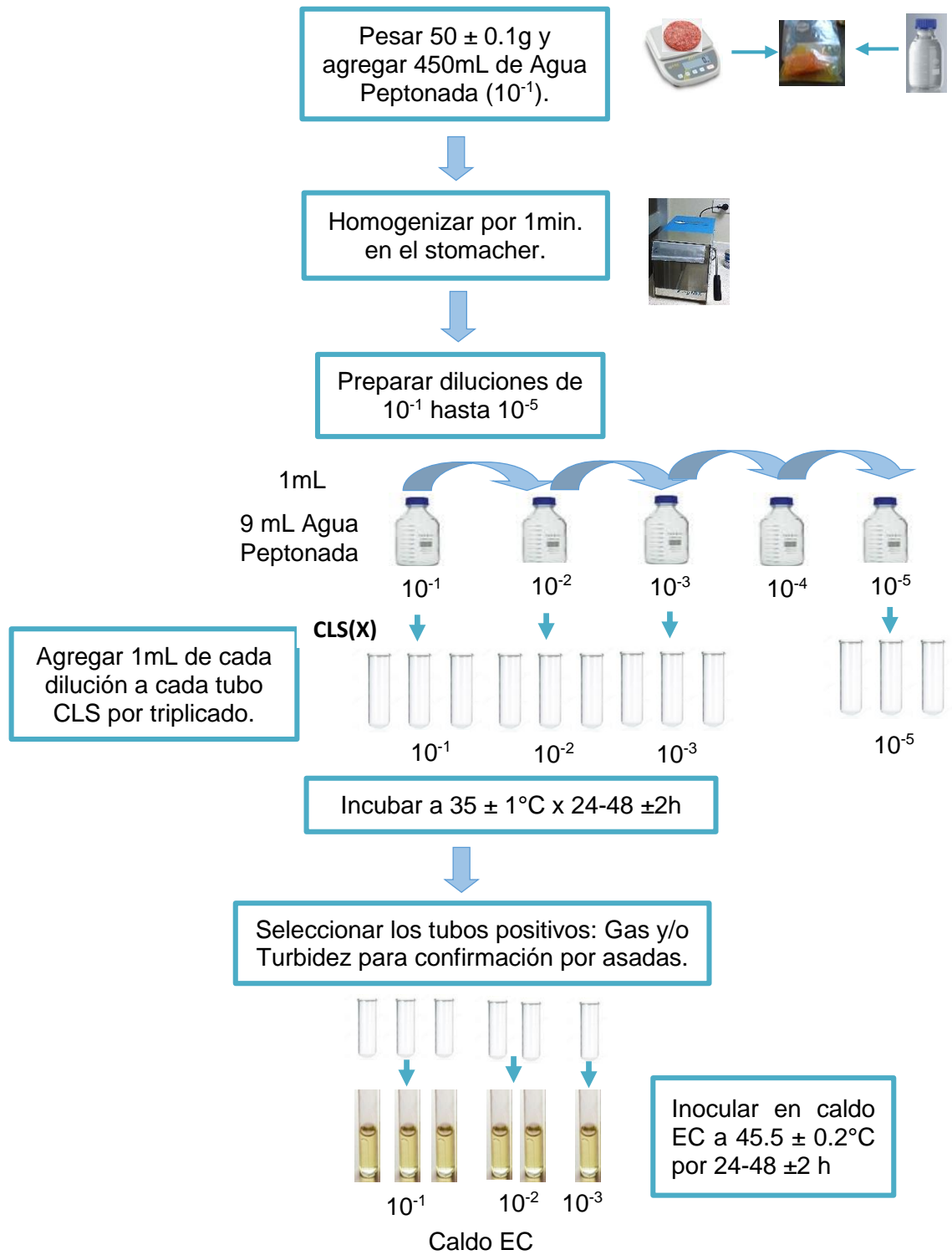


Figura 15. Flujograma del NMP de *Escherichia coli* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4. 2017

Elaboración propia.

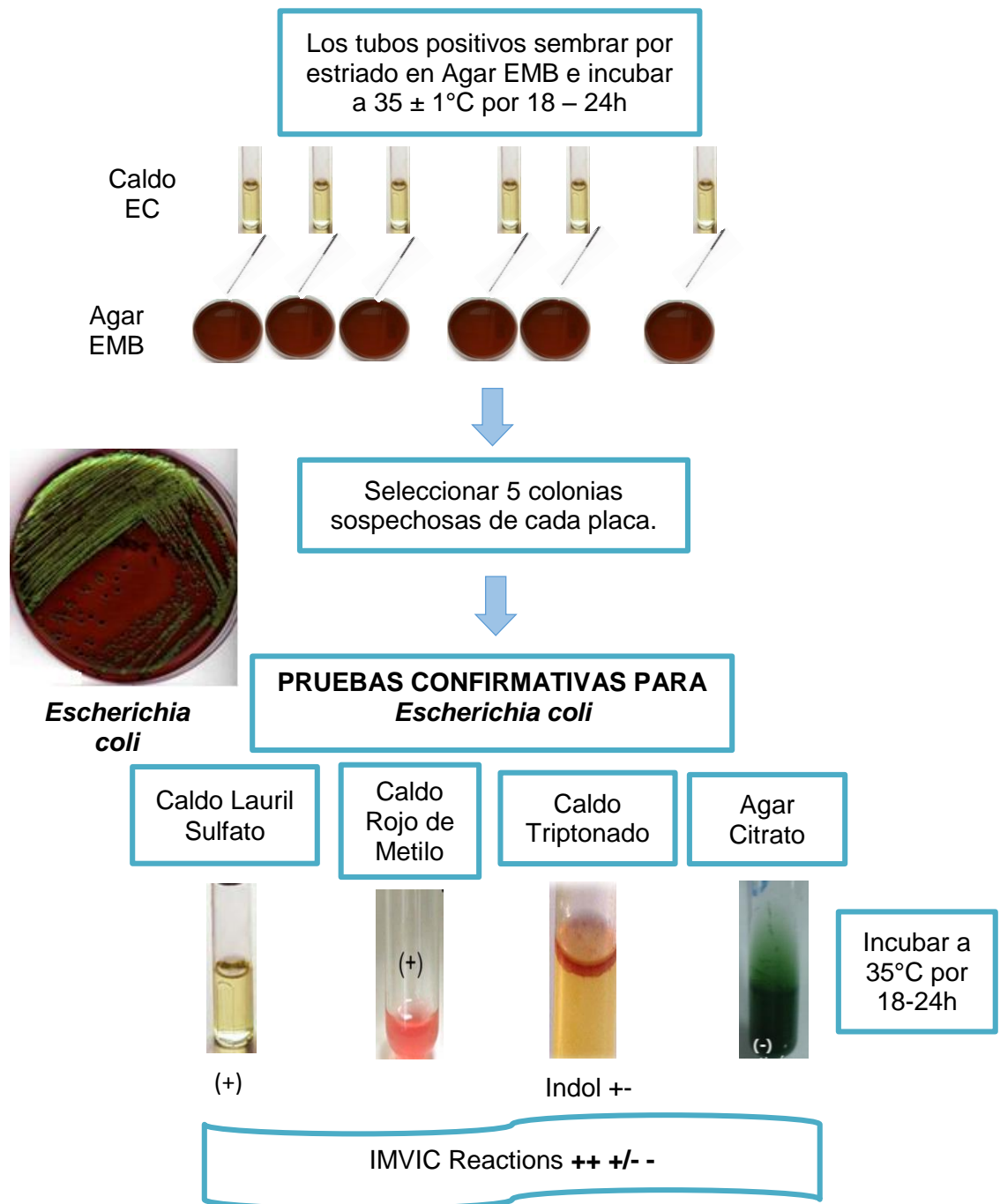


Figura 15. Flujoograma del NMP de *Escherichia coli* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4. 2017

Elaboración propia.

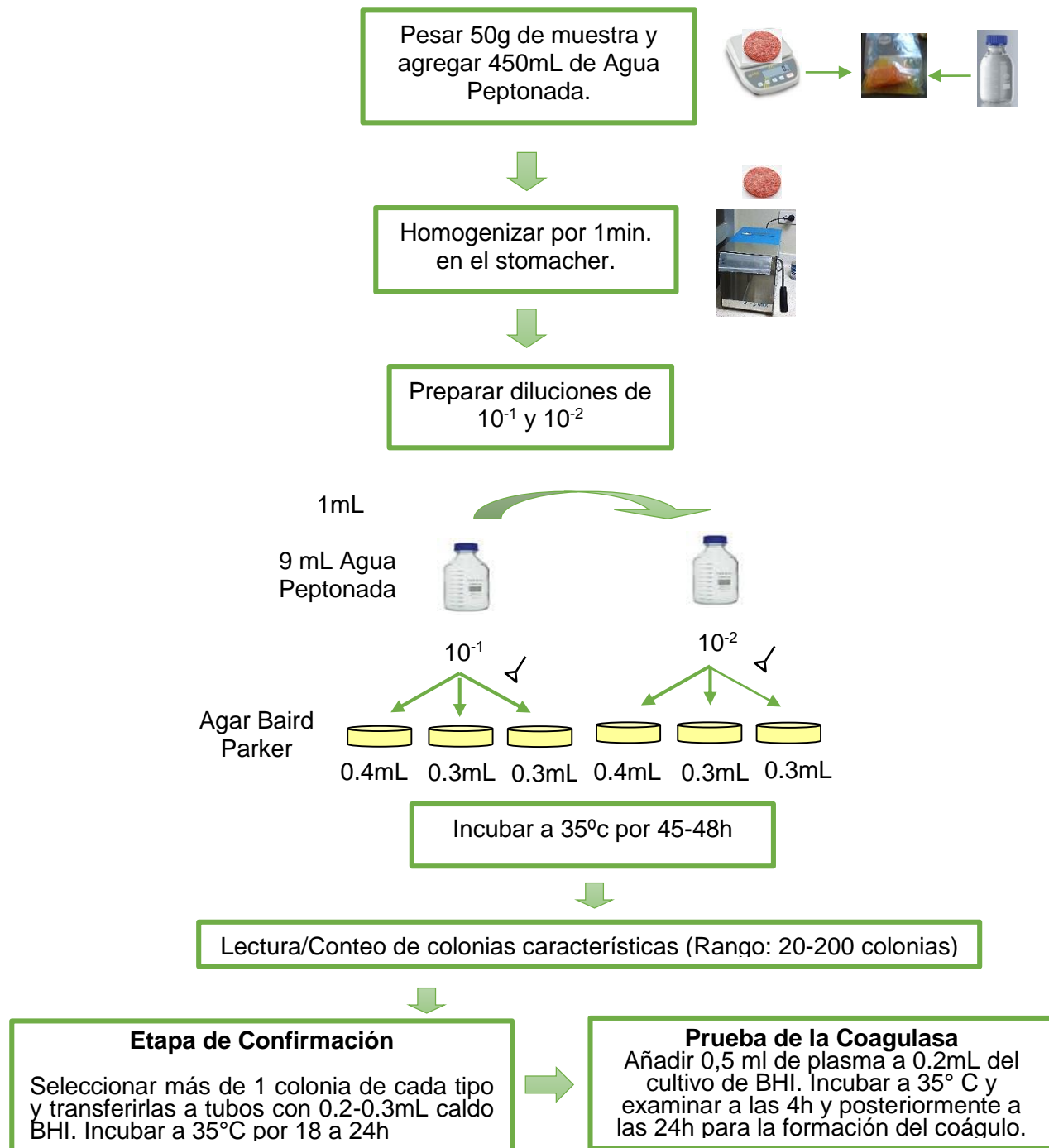


Figura 16. Flujograma del recuento de *Staphylococcus aureus* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 12. 2016.

Elaboración propia.

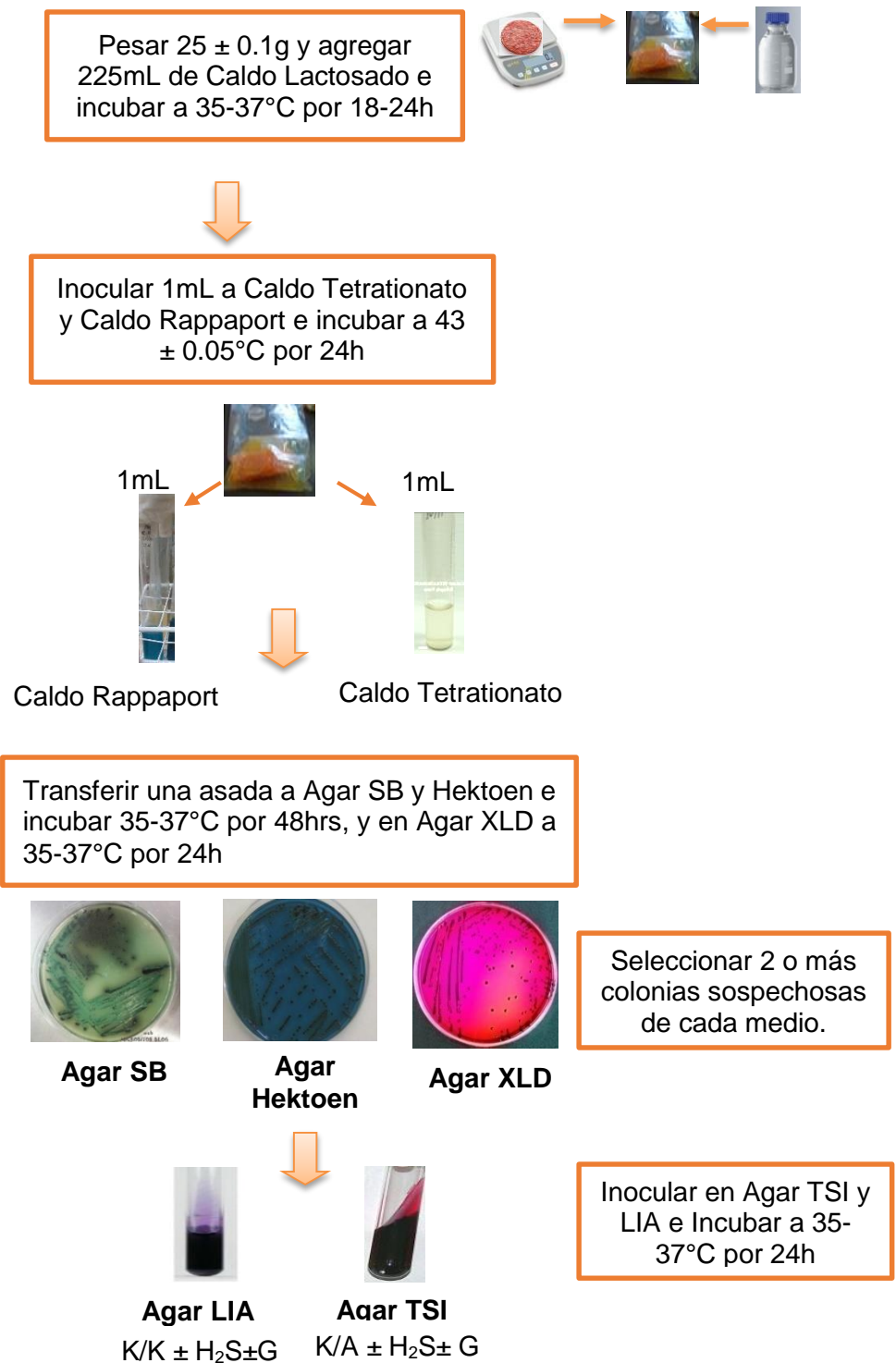


Figura 17. Flujograma de detección de *Salmonella* sp. de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 5. 2016.

Elaboración propia.

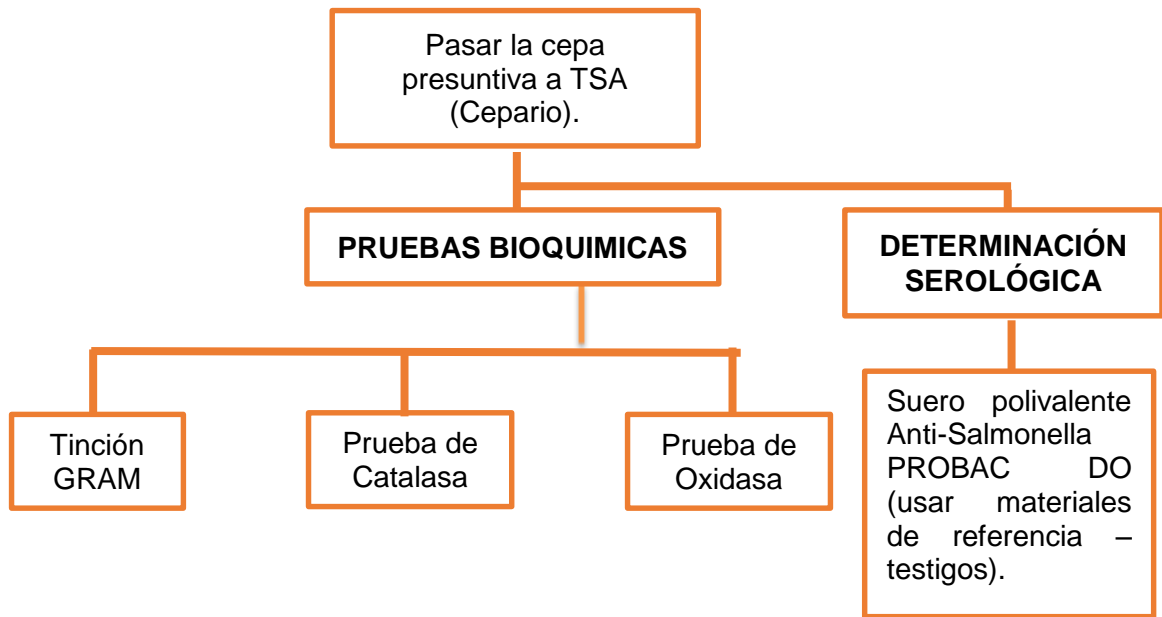


Figura 17. Flujograma de detección de *Salmonella* sp. de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 5. 2016.

Elaboración propia.

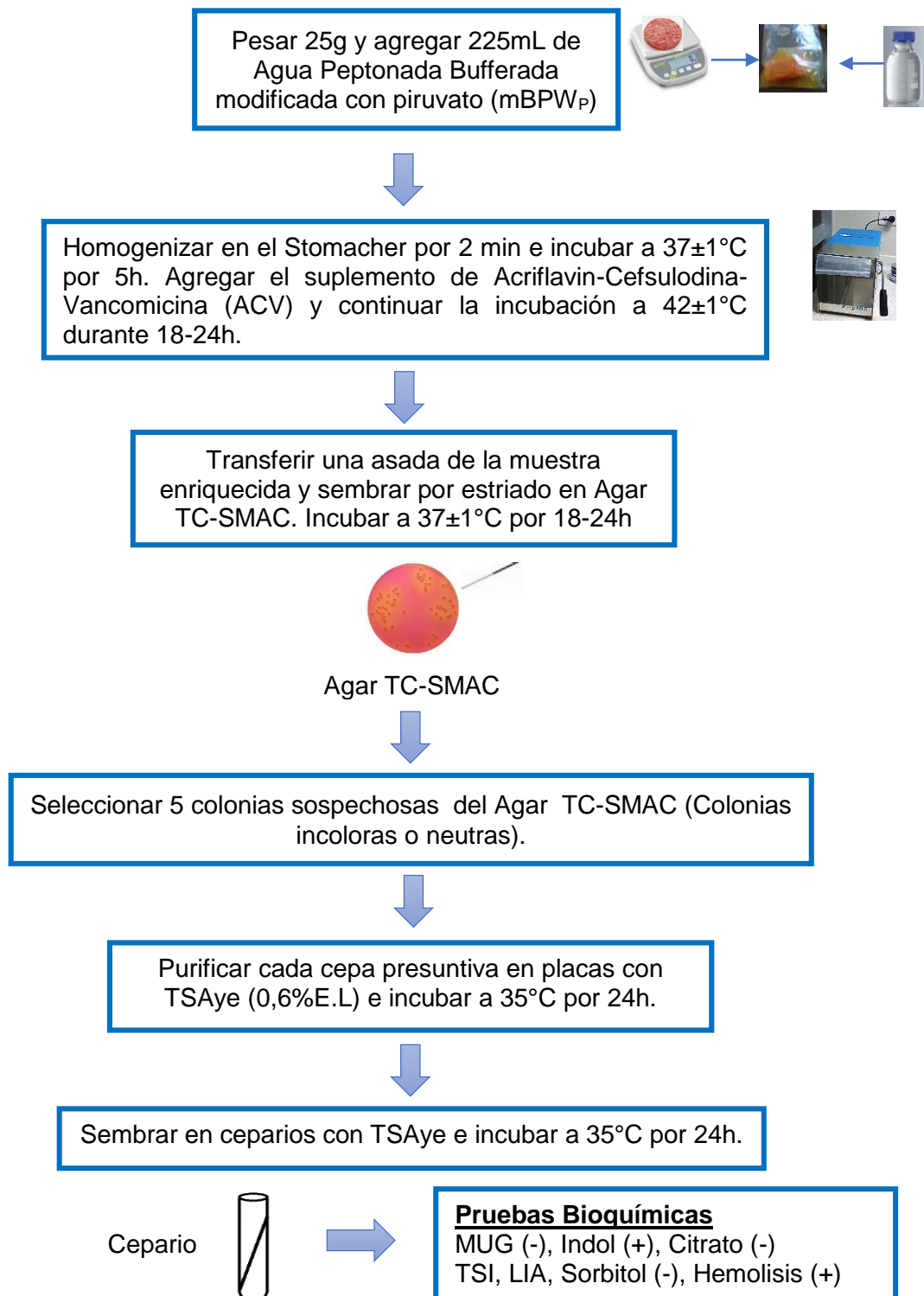


Figura 18. Flujoograma de detección de *Escherichia coli* O157:H7 de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4A. 2017.

Elaboración propia.

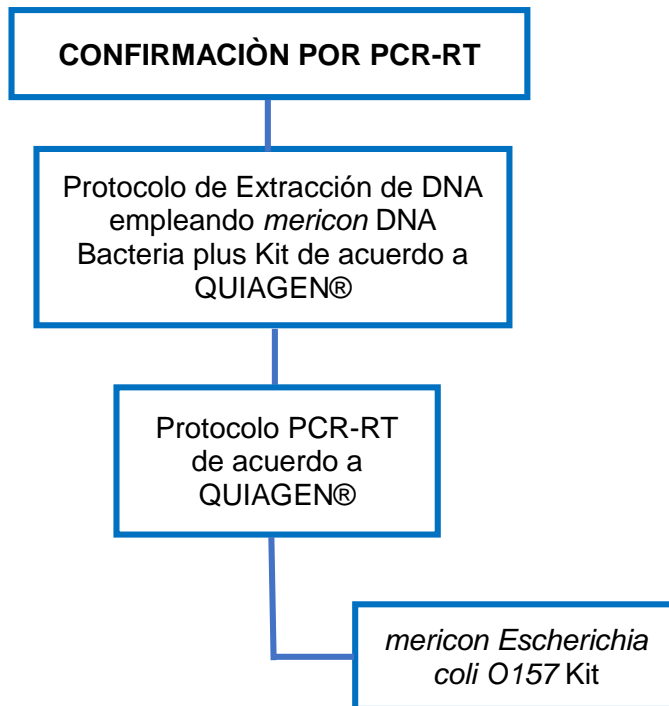


Figura 18. Flujograma de detección de *Escherichia coli* O157:H7 de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4A. 2017.

Elaboración propia.

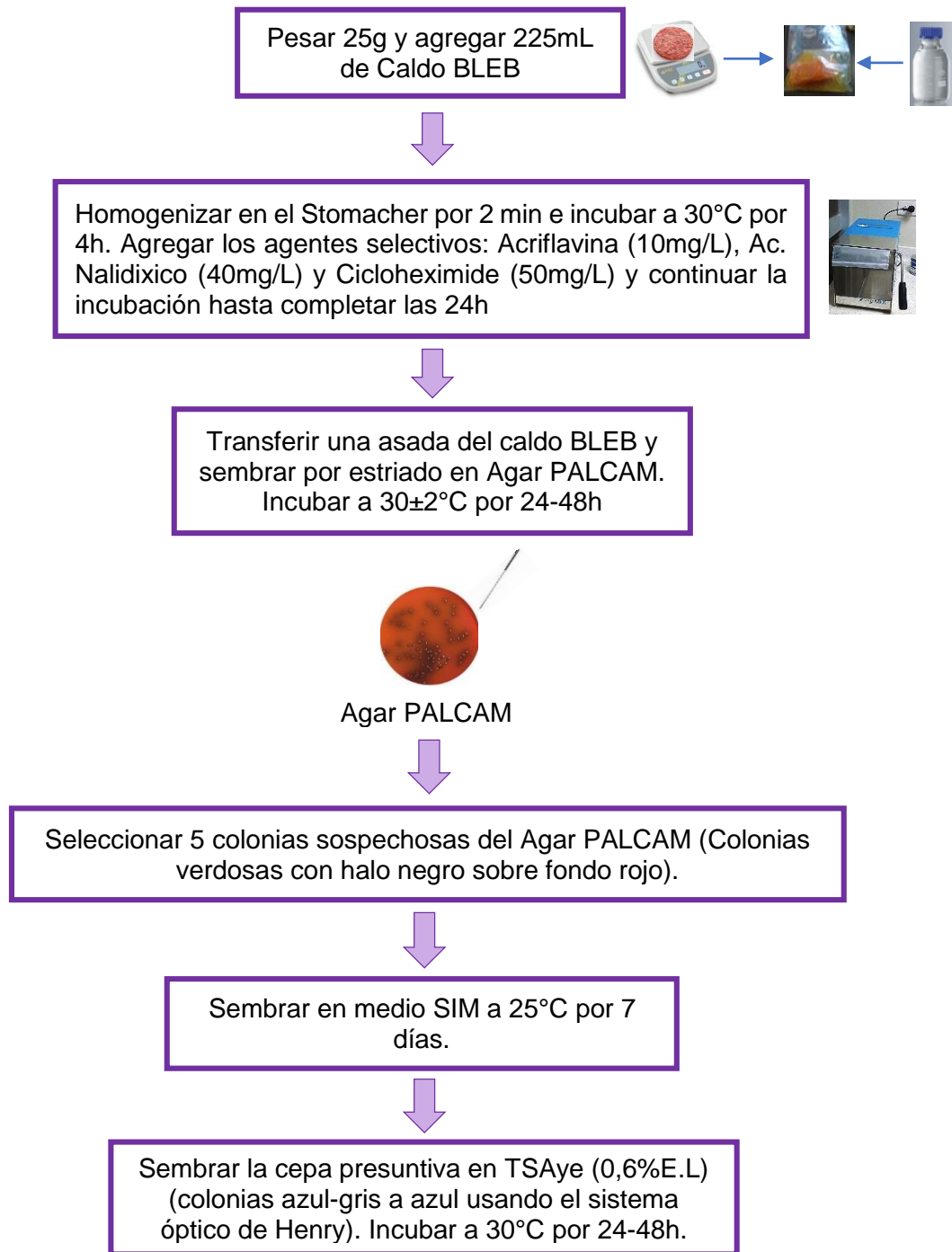


Figura 19. Flujograma de detección de *Listeria monocytogenes* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 10. 2017

Elaboración propia.

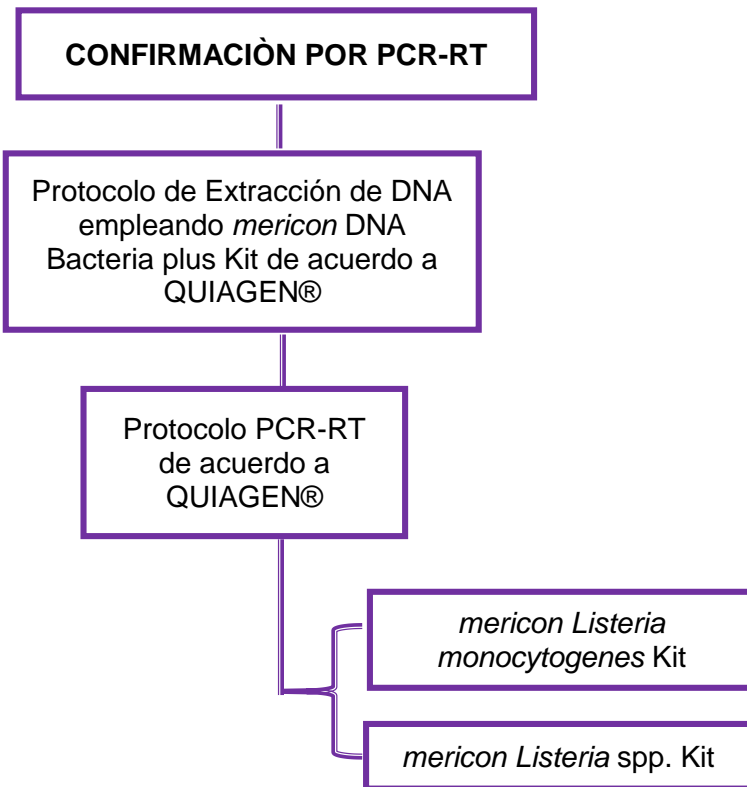
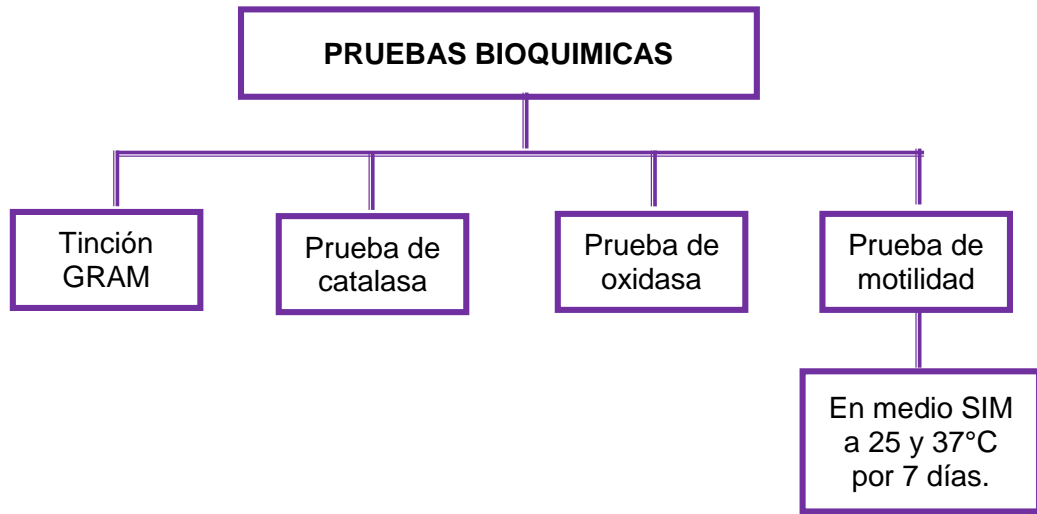


Figura 19. Flujograma de detección de *Listeria monocytogenes* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 10. 2017

Elaboración propia.



Figura 20. Aerobios mesófilos en agar Plate Count (APC).

Propia

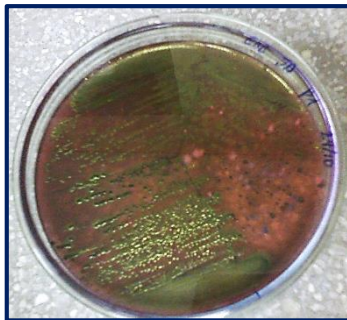


Figura 21. Escherichia coli en agar Eosin Methylene Blue (EMB).

Propia

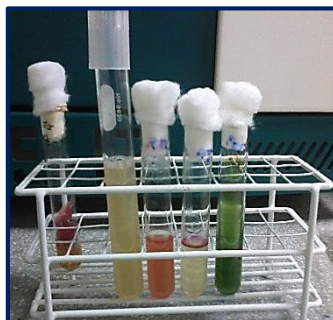


Figura 22. Pruebas bioquímicas (IMVIC) para Escherichia coli.

Propia

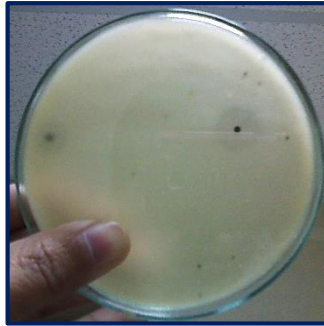


Figura 23. Staphylococcus aureus en agar Baird Parker (ABP).

Propia



Figura 24. Prueba de la coagulasa para Staphylococcus aureus.

Propia



Figura 25. Salmonella sp. en agar Sulfito Bismuto (ASB).

Propia



Figura 26. Prueba serológica con suero polivalente Anti-Salmonella.

Propia



Figura 27. *Listeria monocytogenes* en agar PALCAM.

Propia



Figura 28. Prueba de motilidad para *Listeria monocytogenes*

Propia

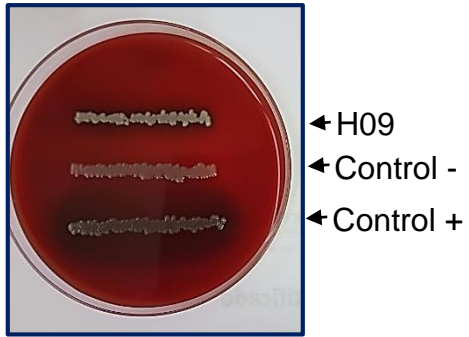


Figura 29. Prueba de la hemolisina para *Escherichia coli* O157:H7

Propia