



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN
PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS
CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO
TERMINADO**

Ligia Rossana López Peña

Asesorado por la Inga. Krystel Marisol Monroy Mahecha

Guatemala, noviembre de 2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN
PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS
CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO
TERMINADO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN DE EPS

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

LIGIA ROSSANA LÓPEZ PEÑA

ASESORADO POR: INGA. KRISTEL MARISOL MONROY MAHECHA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANA	Ing. Aurelia Anabela Córdova
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martínez
VOCAL III	Ing. José Milton De León Bran
VOCAL IV	Br. Kevin Vladimir Armando Cruz Lorente
VOCAL V	Br. Fernando José Paz González
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
EXAMINADORA	Dra. Casta Petrona Zeceña Zeceña
EXAMINADORA	Ing. Mercedes Esther Roquel Chavez
EXAMINADOR	Ing. Gerardo Ordoñez
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha de julio 2021.

Ligia Rossana López Peña

Guatemala 01 de julio de 2021

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
U.S.A.C.
Presente.

Estimado Ingeniero Williams Álvarez:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus actividades. Por medio de la presente hago constar que yo Krystel Marisol Monroy Mahecha, con colegiado número dos mil ciento cuarenta (2140), he revisado y aprobado Informe Final de Trabajo de Graduación de EPS de 3 meses titulado: "Implementación del uso de un sistema de limpieza en el lugar y un programa de sanitización en una línea embotelladora de bebidas carbonatadas, para mejorar resultados microbiológicos de producto terminado", elaborado por el estudiante de la carrera de Ingeniería Química, Ligia Rossana López Peña quien se identifica con el registro académico 2008-14355 y con el CUI 1630 94136 01 01 a quién he podido apoyar como asesora.

Agradeciendo la atención a la presente, me suscribo de usted,

Atentamente,



Krystel Marisol Monroy Mahecha
Ingeniera Química
Colegiado No. 2140

Krystel Marisol Monroy Mahecha
ASESOR
MSc. Ingeniera Química
Colegiado activo no. 2140



Guatemala, 28 de septiembre de 2021
REF.EPS.DOC.355.08.21

Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente

Estimado Ingeniero Álvarez Mejía.

Por medio de la presente, envío a usted el informe final correspondiente a la práctica del Ejercicio Profesional Supervisado (E.P.S.), modalidad de tres (3) meses por trabajo graduación, titulado: **IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO**. Este trabajo lo desarrolló la estudiante universitaria Ligia Rossana López Peña.

En dicha modalidad de EPS, la estudiante ya ha realizado y aprobado su examen general privado, por lo que ya no se realiza evaluación final de EPS, sino que únicamente se revisa el documento final (Trabajo de Graduación)

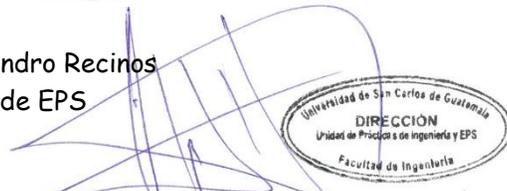
Sin otro particular y agradeciendo de antemano su comprensión y apoyo.

Atentamente,

"Id y Enseñad a Todos"



Ing. Sergio Alejandro Recinos
Supervisor de EPS



Vo.Bo. Ing. Oscar Argueta Hernández
Director Unidad de EPS

cc. Archivo
/ra
Adjunto informe final

Universidad de San Carlos de
Guatemala



Facultad de Ingeniería
Unidad de EPS

Guatemala, 22 de octubre de 2021.
REF.EPS.D.237.10.2021.

Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente

Estimado Ingeniero Álvarez Mejía.

Por este medio atentamente le envío el informe final correspondiente a la práctica del Ejercicio Profesional Supervisado, (E.P.S) titulado **"IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO"** que fue desarrollado por la estudiante universitaria Ligia Rossana López Peña, quien fue debidamente asesorada y supervisada por el Ingeniero Sergio Alejandro Recinos.

Por lo que habiendo cumplido con los objetivos y requisitos de ley del referido trabajo y existiendo la aprobación del mismo por parte del Asesor - Supervisor de EPS, en mi calidad de Director apruebo su contenido solicitándole darle el trámite respectivo.

Sin otro particular, me es grato suscribirme.

Atentamente,

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Oscar Argueta Hernández
Director Unidad de EPS



/ra

Edificio de EPS, Facultad de Ingeniería, Ciudad Universitaria, zona 12.
Teléfono directo: 2442-3509



Guatemala, 03 de noviembre de 2021.
 Ref. EIQT.TG-IF.035.2021.

Ingeniero
 Williams Guillermo Álvarez Mejía
 DIRECTOR
 Escuela de Ingeniería Química
 Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **049-2020**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL

Solicitado por el estudiante universitario: **Ligia Rossana López Peña**.
 Identificado con número de carné: **1630941360101**.
 Identificado con registro académico: **200815355**.
 Previo a optar al título de la carrera: **Ingeniería Química**.
 En la modalidad: **Informe Final EPS (3 meses), Seminario de Investigación**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

Krystel Marisol Monroy Mahecha, profesional de la Ingeniería Química

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


 Carlos Salvador Wong Davi
 profesional de la Ingeniería Química
 COORDINADOR DE TERNA
 Tribunal de Revisión
 Trabajo de Graduación



C.c.: archivo

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
 COLEGIADO. No. 561





Guatemala, 24 de noviembre de 2021
Ref. EIQ.272.2021

Aprobación del informe final del trabajo de graduación

Ingeniera
Aurelia Anabela Cordova Estrada
Decana
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Revisado el INFORME FINAL DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN (EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO), DENOMINADO **IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO** del(la) estudiante Ligia Rossana López Peña, se conceptúa que el documento presentado, reúne todas las condiciones de calidad en materia administrativa y académica (rigor, pertinencia, secuencia y coherencia metodológica), por lo tanto, se procede a la autorización del mismo, para que el(la) estudiante pueda optar al título de Ingeniería Química.

“Id y Enseñad a Todos”

Ing. Williams G. Alvarez Mejia, M.I.Q., M.U.I.E.
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química

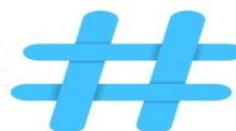
Cc. Archivo
WGAM/wgam



Agencia Centroamericana de Acreditación de
Programas de Arquitectura y de Ingeniería



Formando Ingenieros Químicos en Guatemala desde 1939



**NO SALGAS
QUÉDATE EN
CASA**



DTG.716.2021

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **IMPLEMENTACIÓN DEL USO DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA EN EL LUGAR Y UN PROGRAMA DE SANITIZACIÓN EN UNA LÍNEA EMBOTELLADORA DE BEBIDAS CARBONATADAS, PARA MEJORAR RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTO TERMINADO**, presentado por la estudiante universitaria: **Ligia Rossana López Peña**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Inga. Anabela Cordova Estrada
Decana



Guatemala, noviembre de 2021

ACE/cc

ACTO QUE DEDICO A

Dios

Por permitirme llegar hasta este momento, me enseñaste a que todo pasa por alguna razón y que nunca debo darme por vencida.

Mis padres

Alarik López y Ligia Peña, por su apoyo incondicional durante toda mi carrera, por creer en mí y confiar en cada decisión que tomaba, los amo y este logro no es sólo para mí, definitivamente es para ustedes.

Mi familia

Mis hermanos Javier y Carlos Aguilera, mis cuñadas Carina Mendoza y Lucía Molina. mis sobrinos Shirley, Carlos, Jose Ignacio y Paula Aguilera. Mis Tíos Leticia Peña, Antonio Montes, Rubelia y Norma López, Juan Marín, Mario Marroquín. Mis Primos Ana Gloria, Samanda y Fernando Santizo por su apoyo siempre y nunca dejar de creer en mí.

Mis abuelitos

Julia López (D.E.P.), Gloria Ayala y Fernando Peña porque ellos siempre creyeron en que este día llegaría.

Mi persona favorita

Por siempre apoyarme y estar a mi lado incondicionalmente.

Mis amigos

Mary Corado, Krystal Monroy, Pamela Rodas, Andrés Batten, Alejandro Martínez, Andrea Godoy, Lourdes García, Mardoqueo Monterroso por siempre preguntarme cómo va la U y nunca dejaron que me diera por vencida.

AGRADECIMIENTOS A

Dios	Por darme la sabiduría, paciencia, perseverancia e inteligencia necesaria para llevar a cabo con éxito todas las metas propuestas.
Ing. Krystel Monroy	Por ser mi asesora y darme la oportunidad de realizar este proyecto, compartir sin egoísmo todos sus conocimientos, amistad, la confianza y apoyo incondicional durante toda la realización del proyecto.
Ing. Alejandro Recinos	Por el apoyo como asesor supervisor.
Ing. Carlos Wong	Por el excelente aporte académico brindado y experiencia incondicional durante este proyecto.
Embotelladora La Mariposa	Por haberme dado la oportunidad de realizar el EPS.
Mis amigos de batalla	Mario Ordoñez, Andrea Godoy, Mary Corado, por la amistad y apoyo académico durante toda la carrera y realización del EPS.
Universidad de San Carlos de Guatemala	Por ser mi casa de estudios, me siento orgullosa de ser San carlista.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN	XV
OBJETIVOS	XVII
INTRODUCCIÓN	XIX
1. ANTECEDENTES	21
2. MARCO TEÓRICO	23
2.1. Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en el procesamiento de bebidas carbonatadas	23
2.1.1. Actividad del agua	23
2.1.2. pH	24
2.1.3. Componentes antimicrobianos	26
2.1.4. Presión y carbonatación	26
2.2. Microorganismos relevantes para bebidas carbonatadas	27
2.2.1. Bacterias	27
2.2.2. Levaduras	29
2.2.3. Mohos	30
2.3. Limpieza con una solución alcalina	31
2.4. Factores que influyen en la limpieza	31
2.4.1. Tiempo	32
2.4.2. Acción	32
2.4.3. Concentración	33

2.4.4.	Temperatura.....	33
2.5.	Sanitización.....	34
2.5.1.	Hipoclorito de sodio (NaOCl).....	35
2.5.2.	Compuestos de ácido peroxiacético.....	36
2.5.3.	Sanitizantes ácido-aniónicos.....	37
2.5.4.	Sanitizantes ácidos carboxílicos.....	38
2.5.5.	Yodóforos.....	38
2.5.6.	Compuestos de amonio cuaternario.....	39
2.6.	Limpieza en el lugar (CIP).....	40
2.7.	Protocolo de limpieza y sanitización para bebidas carbonatadas 5 pasos.....	41
2.7.1.	Paso 1: pre-enjuague.....	42
2.7.2.	Paso 2: Limpieza con detergente alcalino.....	42
2.7.3.	Paso 3: Enjuague Intermedio.....	43
2.7.4.	Paso 4: Sanitización.....	43
2.7.5.	Paso 5: Enjuague final.....	43
2.8.	Validación del procedimiento de limpieza y sanitización.....	44
2.8.1.	Verificación: Microbiología.....	45
2.8.2.	Verificación: Análisis de trifosfato de adenosina (ATP).....	45
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	47
3.1.	Variables.....	47
3.2.	Delimitación de campo de estudio.....	48
3.3.	Recursos humanos disponibles.....	49
3.4.	Recursos materiales disponibles.....	49
3.5.	Técnicas.....	51
3.5.1.	Técnica cuantitativa.....	51
3.5.1.1.	Cálculo de flujo para el protocolo de limpieza y sanitización ...	52
3.5.1.2.	Cálculo de detergente alcalino.....	53

3.5.1.3.	Cálculo del químico de sanitización	55
3.5.1.4.	Análisis de ATP	56
3.5.1.5.	Método filtración por membrana	56
3.5.2.	Técnica cualitativa	57
3.5.2.1.	Validación de tiempo de enjuague	57
3.5.2.2.	Liberación de sensorial	57
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	58
3.6.1.	Verificación del circuito para una limpieza en el lugar CIP.	58
3.6.2.	Elaboración del protocolo de limpieza y sanitización	59
3.6.3.	Verificación de la efectividad del protocolo de limpieza y sanitización.....	61
3.6.4.	Ejecución y estandarización del protocolo de limpieza y sanitización.....	62
3.6.5.	Eficiencias a partir del protocolo de limpieza y sanitización	63
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	63
3.8.	Análisis estadístico	83
4.	RESULTADOS.....	87
4.1.	Sistema de limpieza en el lugar (CIP)	87
4.2.	Protocolo de limpieza y sanitización	88
4.3.	Comparativo de resultados microbiológicos de agua de enjuague.....	89
4.4.	Comparativo de resultados microbiológicos de producto terminado (bebida carbonatada)	90
4.5.	Eficiencias obtenidas a partir de la implementación del protocolo de limpieza y sanitización.....	91
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	93

6. LOGROS OBTENIDOS 95

CONCLUSIONES 97

RECOMENDACIONES 99

BIBLIOGRAFÍA 101

ANEXOS 115

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Actividad del agua en los alimentos	24
2.	pH y crecimiento microbiano	25
3.	Protocolo 5 pasos	42
4.	Microsiemens vs. % de AC101	54
5.	Microsiemens vs. % de Vortexx	55
6.	Verificación del circuito de limpieza en el CIP	59
7.	Elaboración del protocolo de limpieza y sanitización	60
8.	Verificación de la efectividad del protocolo de limpieza y sanitización	61
9.	Ejecución y estandarización del protocolo de limpieza y sanitización	62
10.	Tanques y medidores del circuito de una llenadora de bebidas carbonatadas	87
11.	Tanques del equipo de limpieza y sanitización	88

TABLAS

I.	Parámetros limpieza y sanitización 5 pasos	44
II.	Parámetros de flujo de limpieza y sanitización 5 pasos	53
III.	Parámetro de concentración de AC101	54
IV.	Parámetro de concentración de Vortexx	56
V.	Listado de requisitos mínimos para tener una limpieza en el lugar con recirculación CIP	63

VI.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 1	65
VII.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 2	66
VIII.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 3	67
IX.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 4	68
X.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 5	70
XI.	Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 6	71
XII.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 1	72
XIII.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 2	72
XIV.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 3	73
XV.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 4	73
XVI.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 5	74
XVII.	Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 6	74
XVIII.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 1	75
XIX.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 2	76
XX.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 3	77
XXI.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 4	78
XXII.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 5	79
XXIII.	Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 6	80
XXIV.	Recolección de datos microbiológicos de producto terminado	81
XXV.	Consumo de agua antes y después el protocolo de limpieza y sanitización.....	82
XXVI.	Consumo de químicos antes y después el protocolo de limpieza y sanitización.....	82
XXVII.	Protocolo de limpieza y sanitización	89
XXVIII.	Comparativo de resultados microbiológicos de agua de enjuague.....	90
XXIX.	Comparativo de resultados microbiológicos de producto terminado	91
XXX.	Comparativo de tiempo de ejecución	92
XXXI.	Comparativo de consumo de agua	92
XXXII.	Comparativo de consumo de químicos	92

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
ATP	Adenosín Trifosfato
C	Concentración
ρ	Densidad
°C	Grado Celsius
g	Gramo
h	Hora
Kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metros
m²	Metros cuadrados
m³	Metros cúbicos
μS	Micro siemens
mL	Mililitro
min	Minuto
s	Segundos
URL	Unidades de luz relativa
UFC	Unidades formadoras de colonia
μ	Viscosidad del fluido
V	Volumen

GLOSARIO

Actividad del agua	Se refiere a la cantidad de agua libre que está disponible en los alimentos para el crecimiento microbiano. Se simboliza como a_w .
Automatización	Control automático de un ciclo de limpieza mediante interruptores eléctricos, temporizadores mecánicos o microprocesadores y válvulas operadas con aire.
Bacteriológica	Parte de la microbiología que tiene por objeto el estudio de las bacterias.
Bacterias acidúricas	Son las bacterias que pueden proliferar con relativa rapidez en alimentos con pH abajo de 4,6.
Caldo <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Medio de cultivo selectivo para el desarrollo del género <i>Pseudomonas</i> y diferencial para el desarrollo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Carbonatación	Proceso de disolver dióxido de carbono CO ₂ en agua.
CIP	Clean-in-place. Sistema de lavado automático in situ, sin desmontaje del equipo de producción, que consiste en recircular la solución de limpieza a través

de los componentes de la línea de proceso, tuberías, intercambiadores de calor, válvulas.

Colonia	Masa de células visible a simple vista, generalmente en una placa. Es resultado de la reproducción de una sola bacteria, célula de levadura o espora de moho.
Concentración	Es la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución o, a veces, de disolvente.
Conductividad	Propiedad que tienen los cuerpos de transmitir el calor o la electricidad.
Consumo	Acción por la cual se utilizan determinados productos, bienes y servicios.
Contaminación	Ingreso de organismos o materiales indeseables en una sustancia.
Contaminación cruzada	Proceso por el cual los alimentos entran en contacto con sustancias ajenas a los componentes propios del alimento.
Desinfección	Aplicación de cualquier método o sustancia efectivos en una superficie limpia para destruir patógenos y otros organismos, en la medida en que sea práctico.

Detergente	Agente para limpiar o eliminar suciedad. Cualquiera de numerosas preparaciones sintéticas solubles en agua u orgánicas líquidas y que son químicamente diferentes del jabón, pero se le parecen por su capacidad en emulsionar grasas y poner la suciedad en suspensión.
Enjuague	Hacer pasar agua potable por un circuito, tubería o superficie.
Higiénico	Limpieza o aseo.
Hisopo de ATP	Hisopo utilizado para medir el trifosfato de adenosina (ATP), la molécula universal de energía que se encuentra en toda célula animal, vegetal, bacteriana, de las levaduras y los mohos. Los residuos de productos de materia orgánica presentes en las superficies contienen ATP que puede determinar de forma rápida si la superficie está limpia o no.
Incubar	Hacer que algo comience a desarrollarse antes de su plena manifestación.
Inocuidad	Que no hace daño.
Levaduras	Son organismos unicelulares de forma esférica, elíptica o cilíndrica, cuyo tamaño va de 1 a 5 μm de ancho y de 5 a 30 μm de longitud, miembro de un grupo mayor de microorganismos llamados hongos.

MI	Medio de cultivo selectivo para el desarrollo de bacterias coliformes y diferencial para el desarrollo de <i>Escherichia coli</i> .
Microorganismos	Ser vivo o un sistema biológico que solo puede visualizarse con el microscopio.
Microorganismos deteriorantes	Con aquellos microorganismos que causan deterioro del alimento puede ser en color, sabor, aroma o textura. Estos microorganismos no causan enfermedades.
M-green	Medio de cultivo para el desarrollo de bacterias acidúricas, levaduras y mohos.
Mohos	Son hongos filamentosos y multicelulares con un tamaño promedio más grande que las bacterias y las levaduras (10 x 40 µm).
Parámetros	Cualquier característica que pueda ayudar a definir o clasificar un sistema particular. Es un elemento de un sistema que es útil o crítico al identificar en el sistema o al evaluar su rendimiento, estado o condición.
Patógenos	Microorganismos que causan enfermedad en el ser humano.

Producto terminado	Bebida preparada con saborizantes, preservantes, endulzantes, ácidos y agua carbonatada, producida artificialmente.
Protocolo	Es un reglamento o una serie de instrucciones que se fijan.
RTCA	Reglamento Técnico Centroamericano.
Salubre	Que es beneficioso para la salud.
Sanitización	Aplicación de cualquier método o sustancia en una superficie limpia para destruir patógenos y otros organismos. Dicho tratamiento no debe afectar adversamente al equipo, el producto o a la salud del consumidor y debe ser aceptable para las autoridades sanitarias. La aplicación práctica de medidas sanitarias.
Sanitizante	Sustancia química o física para esterilizar una superficie.
Soluto	Sustancia que se disuelve.
Solvente	Sustancia que disuelve al soluto.
Sprayball	Se refiere a bolas rociadoras de acero inoxidable para hacer una limpieza uniforme en los tanques.

Validación

Establecer evidencia documentada que proporciona un alto grado de seguridad de que un proceso específico, consistentemente produce un producto que cumple las especificaciones y características de calidad e inocuidad predeterminadas.

RESUMEN

El siguiente estudio consistió en implementar la limpieza en el lugar automatizado, teniendo una recirculación de químicos (AC101 como detergen y Vortexx para la sanitización), cumpliendo con un programa de sanitización en una línea que embotella bebidas carbonatadas, para mejorar los resultados microbiológicos de Bacterias, Mohos y Levaduras. La manera de comprobar el programa de sanitización fue monitorear los cuatro parámetros principales: Tiempo, temperatura, concentración y flujo. La forma de comprobar la efectividad de la sanitización fue por medio de resultados microbiológicos de aguas del último enjuague y de producto terminado.

El trabajo se realizó, en la empresa Embotelladora La Mariposa, debido al interés de mejorar los estándares de limpieza y sanitización. Al mismo tiempo al automatizar este proceso de limpieza se reutiliza hasta 2 veces los químicos y se tuvo un ahorro de agua del 21 % en cada proceso de limpieza y sanitización.

La implementación consistió en tres etapas. La primera etapa se elaboró e implementó un listado de requisitos para garantizar que la recirculación se podía mantener y que evaluar que no existían puntos muertos.

La segunda etapa consistió en cumplir el protocolo de sanitización siguiendo los 5 pasos propuesto (enjuague, limpieza, enjuague, sanitización y enjuague). En cada uno de los pasos se establecieron parámetros que se monitorearon, tales como, flujo (L/h), temperatura (°C), tiempo (min) y concentración (μ S).

La tercera etapa consistió en recolectar muestras del último enjuague y de producto terminado para hacer análisis microbiológicos de bacterias, levaduras y mohos. La etapa dos y tres se repitió cinco veces más, para asegurar que el protocolo cumple los objetivos y que este sea estandarizado.

OBJETIVOS

General

Implementar el uso de un sistema de limpieza en el lugar (CIP) con recirculación y un programa de limpieza y sanitización, en una línea de Embotelladora de bebidas carbonatadas.

Específicos

1. Reducir los resultados microbiológicos, de las aguas del último enjuague, como mínimo 30 % comparado con las muestras antes de iniciar el proyecto
2. Reducir los resultados microbiológicos de producto terminado, como mínimo 30 % comparado con las muestras antes de iniciar el proyecto.
3. Reducir el tiempo de limpieza de 3 horas a 1,5 horas.
4. Reducir el consumo de químicos en un 50 %
5. Reducir el consumo de agua en un 20 %.

INTRODUCCIÓN

El proceso de limpieza CIP, incorpora los principios de diseño, desarrollo, implementación, mantenimiento, restauración y mejora de las prácticas de higiene. Se trata de una limpieza interna que se realiza a las tuberías y equipos que llenan bebidas, donde no se puede acceder a realizar una acción mecánica manual.

Para verificar su efectividad de limpieza se utilizaron tres métodos, uno inmediato con un hisopado de ATP Adenosín Trifosfato ($C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$), el segundo con un análisis microbiológico de las aguas del último enjuague en cada proceso de limpieza y el tercero con el análisis microbiológico del producto terminado inmediato luego del proceso de limpieza.

Los problemas de realizar una mala limpieza y sanitización, pueden ocasionar efectos negativos, capaces de afectar seriamente la aceptación de la bebida en el mercado por los clientes, por cambio sensorial o precipitación ocasionada por levaduras y mohos (microorganismos deteriorantes). Por ser productos de baja acidez y con preservantes, los análisis microbiológicos que se realizan para liberación del producto según Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67,04.50:17 (Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos) son mohos, levaduras y bacterias acidúricas y para agua de enjuague levaduras, mohos, bacterias totales, *Coliformes*, *E. Coli* y *Pseudomonas*.

Por tal razón el propósito de la implementación es proporcionar a la planta y a los empleados información específica de protocolos y parámetros para la limpieza y sanitización y establecer estándares más altos.

1. ANTECEDENTES

La industria de bebidas carbonatadas en Guatemala es muy amplia, ya que existen más de diez empresas que se dedican a esta rama de la industria alimenticia.

En 1885 fue fundada Embotelladora La Mariposa, llenando un solo sabor de bebida gasificada distribuida en la capital, para 1990 obtiene la franquicia a nivel internacional para poder producir Pepsi y sus marcas fuera de Estados Unidos. A principios de los años 90 la compañía incorpora nuevos territorios y nuevas categorías de bebidas carbonatadas. Con ello inicia la especialización operativa en la fábrica manufacturera.

La especialización operativa se realizó dependiendo del tipo de envase que se usaría para llegar al cliente contando con bag in box, lata, PET (Tereftalato de Polietileno) y vidrio, para poder garantizar productos con la mejor calidad e inocuidad y al menor costo.

La limpieza y sanitización es la creación y el mantenimiento de condiciones higiénicas en la elaboración de productos alimenticios higiénicos y saludables.

La compañía tiene responsabilidades tanto legales como éticas para proporcionarles a los consumidores bebidas carbonatadas higiénicas y saludables. Es responsabilidad de la planta garantizar que las bebidas carbonatadas se produzcan en la forma más higiénica posible.

El procedimiento de limpieza y sanitización se aplica a tanques de jarabe terminado, tuberías, tanques de mezcla, carbonatado, tuberías y llenadora. Actualmente con una frecuencia semanal. La forma de limpieza que se utiliza actualmente es por inundación, que consiste en llenar el circuito y equipos con químicos y dejarlos por un tiempo determinado.

Si bien las bebidas carbonatas elaboradas en Embotelladora La Mariposa poseen pH entre 2,5 hasta 4; no se corre riesgo que sean contaminados con microorganismos patógenos, pero sí pueden ser contaminados con microorganismos deteriorantes (Mohos, levaduras y bacterias acidúricas), por lo tanto, se crea la necesidad de implementar un sistema de limpieza y sanitización más robusto y mejorar la microbiología tanto de aguas del último enjuague como microbiología de producto terminado.

Los microorganismos deteriorantes pueden causar problemas de sabor, discrepancia de aspecto y descomposición. La forma para evitar problemas microbiológicos es mantener en todo momento un ambiente salubre en la planta de bebidas carbonatadas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en el procesamiento de bebidas carbonatadas

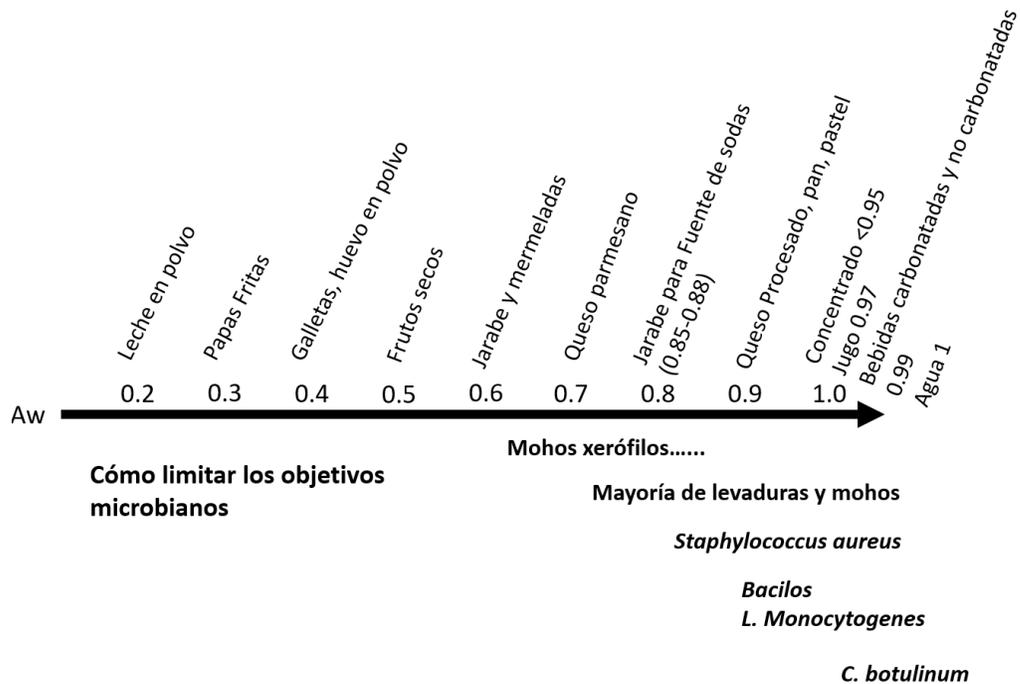
En las bebidas carbonatadas, los microorganismos que preocupan son aquellos que provocan el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias acidúricas.

2.1.1. Actividad del agua

Los microbios relevantes en general para las bebidas carbonatadas son las bacterias, las levaduras y el moho. Se puede tener una idea de la interacción entre microorganismos y bebidas carbonatadas, por su composición, dictan la flora resultante y el procesamiento que se seguirá para controlar o eliminar su crecimiento.

Todos los organismos vivientes requieren agua para poder sobrevivir y crecer. Con respecto a las bebidas carbonatadas, la limitación de la actividad del agua (la cantidad disponible de agua para uso biológico) no es una herramienta que pueda servir para inhibir el crecimiento de microbios en los productos. La actividad del agua de las bebidas carbonatadas está dentro del rango de actividad acuosa que puede favorecer el crecimiento microbiológico. Sin embargo, el control y la reducción de agua innecesaria en el ambiente de proceso ayuda a limitar el crecimiento de microorganismos que pudieran contribuir a la descomposición de las bebidas carbonatadas.

Figura 1. **Actividad del agua en los alimentos**

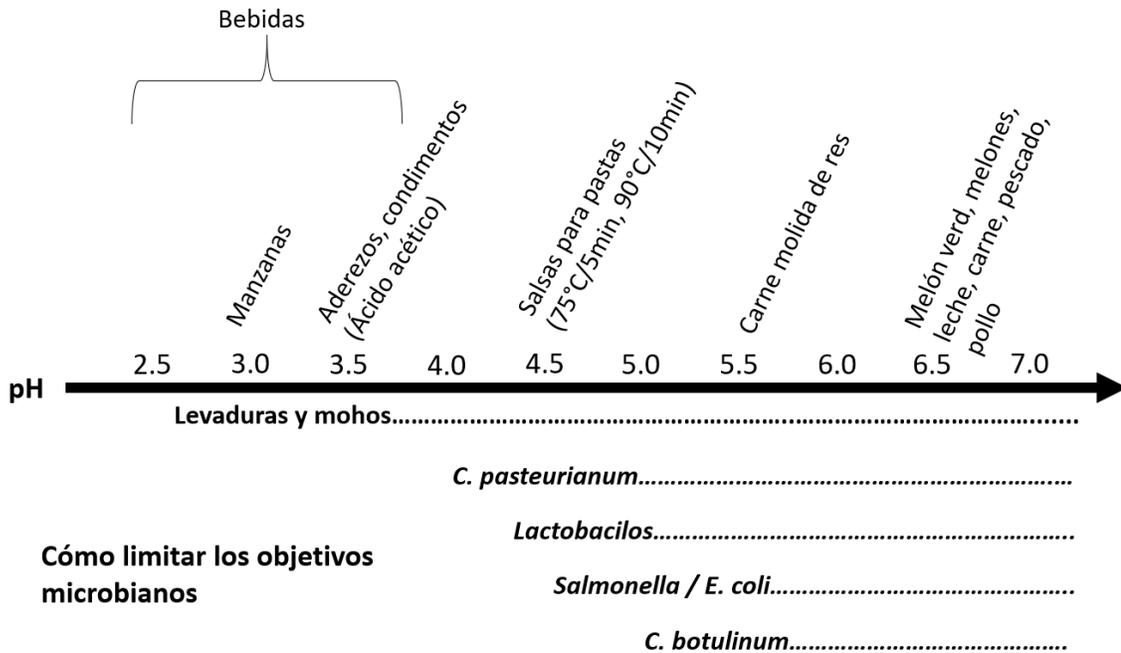


Fuente: PELCZAR, Michael; REID, Roger; CHAN, E. *Microbiología*. p. 706.

2.1.2. pH

Con algunas excepciones, la mayoría de los microorganismos prefieren un pH neutro de 6 a 7,5. Las levaduras pueden crecer en un ambiente más ácido en comparación con las bacterias. El moho puede crecer en un rango más amplio del pH, pero prefiere condiciones ligeramente ácidas

Figura 2. pH y crecimiento microbiano



Fuente: PELCZAR, Michael; REID, Roger; CHAN, E. *Microbiología*. p. 708.

Las bebidas carbonatadas y no carbonatadas tienen un rango de pH de 2,5 a 4,0. Con este valor de pH solo las bacterias acidúricas, levaduras y mohos son de relevancia para la descomposición. Las levaduras causan la mayoría de los problemas de descomposición debido a su mayor tolerancia al ácido y a su capacidad de crecer en ambientes anaeróbicos. El moho es más problemático para las bebidas de llenado en caliente, como resultado de la contaminación posterior al proceso térmico, o por mohos específicos resistentes al calor que producen ascosporas, las cuales pueden sobrevivir a las temperaturas de pasteurización.

La mayoría de los patógenos vegetativos, con la excepción de algunos organismos como la *Escherichia coli* 0157:H7, no pueden crecer con un pH por

debajo de $< 3,8$. De ahí que los organismos de descomposición sean el principal motivo de preocupación en las bebidas carbonatadas muy ácidas.

2.1.3. Componentes antimicrobianos

Los antimicrobianos o conservadores, como el sorbato de sodio, el benzoato de sodio y otros agentes sinérgicos como el Hexa-meta-fosfato de sodio y los agentes quelantes (EDTA), pueden utilizarse para controlar el crecimiento de microorganismos de descomposición en bebidas carbonatadas no procesadas térmicamente.

Es importante señalar que las estrategias de conservación no son las únicas herramientas para mantenerlos bajo control. Los microorganismos, con el tiempo, tienen una tendencia a adaptarse y pueden sobreponerse a los conservantes. Es importante tener programas eficaces de limpieza y sanitización con frecuencias definidas para la limpieza y validación periódica con el fin de interrumpir el ciclo de adaptación de crecimiento.

2.1.4. Presión y carbonatación

Utilizar CO_2 puede servir para frenar el crecimiento de microorganismos. Puede inhibirse el crecimiento de bacterias con tan solo 5 % de CO_2 .

Sin embargo, el CO_2 tiene un efecto limitado en las levaduras y el moho. El CO_2 a presión (la carbonatación) ha demostrado ser bactericida. El crecimiento de levaduras se inhibe cuando el grado de carbonatación es de > 2 bares. A 20°C , 3 volúmenes de carbonatación ejercen una presión de 2,6 bares. La mayoría de las bebidas carbonatadas se producen con 2,0 a 4,0 volúmenes de gas CO_2 .

2.2. Microorganismos relevantes para bebidas carbonatadas

Los microorganismos relevantes para bebidas carbonatadas son tres, bacterias acidúricas, levaduras y mohos. Son microorganismos que pueden deteriorar las características sensoriales de las bebidas.

2.2.1. Bacterias

“Las bacterias son organismos unicelulares, ubicuos y con capacidad de rápido crecimiento. Las bacterias se reproducen asexualmente por fisión binaria o simple división de la célula y su contenido. El tiempo de duplicación o generación puede ser tan solo de 20 minutos. Ya que cada célula crece y se divide al mismo ritmo que su célula madre, esto representa un incremento de una a 10 millones de células en 11 horas en condiciones favorables.”¹

La población bacteriana se expresa en este documento en unidades formadoras de colonias (UFC/cm³).

Cuando el ambiente se hace favorable, la spora se germina, dando lugar a una sola célula bacteriana vegetativa. Algunos ejemplos de formadores de esporas que son importantes en la industria alimenticia son los miembros de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*.

Las esporas de *Clostridium botulinum* son un motivo de preocupación para los alimentos procesados sellados herméticamente. Estas esporas son muy resistentes al calor y para reducir su riesgo se requieren condiciones muy altas de procesamiento, como envasado al vacío o enlatado. En productos alimenticios con pH > 4,6 si no se procesan adecuadamente y en condiciones

¹ PELCZAR, Michael; REID, Roger; CHAN E.C.S. *Microbiología*. p. 66-89.

anaerobias, las esporas resistentes al calor pueden sobrevivir y crecer con el potencial de producir una neurotoxina estable en el calor, que puede ser fatal si se consume con el alimento.

“*Bacilos cereus* es una bacteria que forma esporas y que a menudo puede aislarse de la suciedad y de algunos alimentos. Las enfermedades causadas por bacilos transmitidos en los alimentos ocurren debido a la sobrevivencia de las endosporas bacterianas cuando el alimento se cocina y refrigera de manera inapropiada, lo que permite la germinación de endosporas con el consecuente crecimiento y producción de enterotoxinas resistentes al calor. A diferencia del *C. botulinum*, las toxinas producidas no son mortales, pero pueden conducir a dos tipos de enfermedades, diarrea y vómitos. *B. cereus* puede crecer a valores de pH entre 4,3 y 9,3, puede crecer a valores desde una actividad acuosa de 0,91, y a menudo se asocian con la refrigeración inapropiada de alimentos almidonados como el arroz y el budín.”²

La contaminación bacteriana de bebidas carbonatadas no procesadas térmicamente, aunque es rara, puede atribuirse a numerosos factores:

- Mala limpieza y sanitización.
- Error en las fórmulas.
- Insuficiencia en la conservación o en la adaptación del sistema de conservación.

² PELCZAR, Michael; REID, Roger; CHAN E.C.S. *Microbiología*. p. 111-113.

2.2.2. Levaduras

“Las levaduras son miembros de un grupo mayor de microorganismos llamados hongos. Son organismos unicelulares de forma esférica, elíptica o cilíndrica, cuyo tamaño va de 1 a 5 μm de ancho y de 5 a 30 μm de longitud”³.

A diferencia de las esporas bacterianas, las levaduras forman esporas como método de reproducción. Las levaduras están ampliamente distribuidas en la naturaleza y son comunes en frutas, granos y otros alimentos que contienen azúcar. Pueden encontrarse en el suelo, el aire, la piel y los tractos intestinales de humanos, animales e insectos.

La descomposición de bebidas carbonatadas causada por levaduras puede provocar una sedimentación visible, producción de gas y deformación del envase debido al aumento de la presión del gas, así como deterioro del olor, color o sabor.

“Las levaduras representan la mayoría de los problemas por descomposición en la industria de bebidas carbonatadas, debido a su gran tolerancia al ácido y a su capacidad de crecimiento anaeróbico. La contaminación por levaduras en bebidas carbonatadas no procesadas térmicamente generalmente es resultado de malas prácticas de limpieza y sanitización. Los tipos de levadura que pueden encontrarse son: *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Dekkera*, *Candida*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Hansenula* y *Rhodotorula*. Algunas levaduras, como *Zygosaccharomyces*, son

³ MARRIOTT, Norman; SCHILLING, Wes; GRAVANI, Robert. *Principles of Food Sanitation*. p. 110.

resistentes a los conservadores y se sabe que causan una descomposición considerable en la industria".⁴

2.2.3. Mohos

“Los mohos comúnmente se encuentran en el suelo, el aire, el agua y los alimentos. Los mohos son hongos filamentosos y multicelulares con un tamaño promedio más grande que las bacterias y las levaduras.”⁵

“La contaminación de moho es con mayor frecuencia el resultado de esporas transmitidas por aire, aunque la contaminación generada por el equipo o ingredientes crudos también puede resultar en el crecimiento de moho y descomposición. Las esporas son el medio principal de reproducción en estos hongos y se transportan fácilmente por corrientes de aire al área de procesamiento.”⁶

El moho puede sobrevivir en bebidas carbonatadas, pero no puede crecer debido a la falta de oxígeno y al efecto conservador del CO₂. La contaminación por moho puede producir deterioro del sabor y el olor. Los mohos generalmente se asocian con una característica rancia. La contaminación por moho también puede causar problemas de aspecto. Puede ocurrir deterioro del color, masas flotantes y descomposición del producto.

⁴ MARRIOTT, Norman; SCHILLING, Wes; GRAVANI, Robert. *Principles of Food Sanitation*. p. 110.

⁵ Ibid. p. 156.

⁶ Ibid. p. 156.

2.3. Limpieza con una solución alcalina

Una limpieza con un químico Alcalino hace un desplazamiento de la suciedad mediante la reacción química de saponificación y una interacción física de peptización, el más común es el hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de potasio (KOH).

El hidróxido de sodio (NaOH) caliente, a la temperatura apropiada, es un agente de limpieza potente y puede ser una herramienta importante de limpieza, aunque es un agente efectivo de limpieza y sanitización, su desventaja es que es en extremo peligroso y difícil de enjuagar a altas concentraciones. Debe tenerse mucho cuidado y asegurarse de que se elimine todo el hidróxido de sodio (NaOH) de las líneas y de que el agua de enjuague usada para eliminarla dé negativo en pruebas de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$) sin cambio de color.

La concentración de hidróxido de sodio (NaOH) se debe de mantener entre 1,5 % y 2,0 %. Al manejar esta sustancia química, se deben seguir las precauciones de seguridad apropiadas para evitar lesiones al personal. Todos los empleados involucrados en el manejo de la sosa deben usar el equipo de protección personal (EPP) necesario y adecuado, como gafas de seguridad, máscaras, guantes y ropa protectora.

2.4. Factores que influyen en la limpieza

Existen 3 principales factores que influyen en una buena limpieza, el tiempo, temperatura, concentración y acción mecánica. Si alguno de estos no se cumple se debería compensar con algún otro.

2.4.1. Tiempo

Durante la limpieza entre más tiempo se deje en contacto la solución limpiadora con la suciedad, el efecto es mejor. Cada sustancia tiene su propio tiempo de contacto. Este debe de ser revisado en la ficha técnica del proveedor del químico. Las pautas de la industria son entre 10-15 minutos antes de enjuagar.

La suciedad usualmente se elimina rápidamente al principio del proceso de limpieza. La razón de esto es que al final del ciclo de limpieza normalmente es más difícil romper la adhesión entre la suciedad y la superficie que se limpia.

2.4.2. Acción

La acción mejora en gran medida la eliminación de la suciedad. La acción puede ser manual, como tallar, o mecánica cumpliendo con un flujo turbulento, generada en un sistema CIP (Limpieza en el lugar). Durante la CIP, hay que medir las tasas de flujo para asegurarse de que se esté realizando la acción apropiada.

Se define como un flujo turbulento si el número de Reynolds se encuentra en $4,000 < Re < 10^5$ Fuente: PERRY, Robert H. GREEN, Don W. *Manual del ingeniero Químico*. p.6-13.

$$Re = \frac{DV\rho}{\mu}$$

Ecuación 1

Donde:

D = diámetro del tubo (m).

V = velocidad (m/s).

ρ = densidad (Kg/m³).

μ = viscosidad del fluido (kg/m*s).

2.4.3. Concentración

A medida que se eleva la concentración del limpiador, la limpieza se hace más eficaz. Esencialmente, hay más sustancia química disponible para romper las adhesiones que mantienen la suciedad en la superficie. Sin embargo, hay un punto en que el aumento de concentración no rinde beneficios adicionales y, de hecho, puede provocar la formación de sedimentos y reducir la eficacia del detergente. Aquí es siempre importante confirmar el uso de la concentración recomendada por el proveedor, consultando las hojas de datos técnicos que proporciona el proveedor. Los químicos a utilizar es AC101 como detergente (componente activo NaOH) y Vortexx como sanitizante (componente activo ácido peroxiacético C₂H₄O₃).

2.4.4. Temperatura

La eficacia de la limpieza mejora en gran medida a temperatura elevada (60 °C). Pero aquí también, hay límites a qué tan alto se puede elevar la temperatura. En temperaturas mayores de 72°C, puede haber problemas con la descomposición del hipoclorito de sodio (NaOCl) y la desnaturalización de la suciedad de proteínas. Las altas temperaturas también pueden hacer que se quemen depósitos en las superficies en contacto con alimentos. Por otro lado, hay detergentes que están elaborados para usarse a 85°C. Siempre es importante confirmar la temperatura correcta en base a la recomendación del proveedor o a las instrucciones de operación corporativa.

2.5. Sanitización

“El proceso de sanitización es cuando se utiliza un sanitizante como una sustancia que elimina los contaminantes microbianos sobre superficies hasta niveles que se consideran seguros desde el punto de vista de la salud. Mohos, levaduras y bacterias acidúricas para evitar la degradación de la bebida carbonatada”.⁷

Hacer una sanitización tiene como objetivo eliminar los organismos viables (es decir, posibles organismos de descomposición y patógenos) en el equipo del proceso que no hubieran sido eliminados cuantitativamente mediante un procedimiento de limpieza precedente.

Existen varios factores que pueden influir en la acción de un agente sanitizante. Entre estos encontramos los siguientes:

- Superficie limpia y completamente enjuagada.
- Contacto directo con el microorganismo.
- Temperatura y concentración adecuadas.
- Tiempo adecuado de contacto.
- Composición del agua usada como vehículo del agente sanitizante.
- Tipo de microorganismos que se quiere eliminar.

⁷ HUI, Yan; BRUINSMA, Bernard; GORHAN, Richard; NIP, Wait-Kit; TONG, Phillip. VENTRESCA, Phil. *Food Plant Sanitation*. p. 5-7.

- Cantidad de microorganismos presentes.

La sanitización interna usando equipos de circulación de limpieza en el lugar (CIP) es la forma más efectiva de limpieza y sanitización en equipos para el procesamiento de bebidas carbonatadas.

Existe gran cantidad de agentes químicos que pueden usarse. Sin embargo, no todos son adecuados para superficies de contacto con alimentos porque algunos pueden corroer, manchar o dejar una película sobre la superficie. Otros pueden ser altamente tóxicos o caros.

Las soluciones químicas deben prepararse según las instrucciones del proveedor del químico. El químico a utilizar es AC101 (agente activo hidróxido de Sodio NaOH) y Vortexx (agente activo ácido peroxiacético $C_2H_4O_3$)

2.5.1. Hipoclorito de sodio (NaOCl)

El hipoclorito de sodio (NaOCl) se usa frecuentemente como agente sanitizante en plantas de bebidas carbonatadas. Es efectivo contra gran variedad de bacterias, hongos y virus.

Un punto débil del hipoclorito de sodio (NaOCl) es que no puede penetrar en las grietas en las juntas o en áreas de difícil acceso a menos que el equipo esté inundado y se identifiquen y corrijan las áreas problemáticas. Aparte de esto, es un excelente agente sanitizante con buena efectividad de exterminación.

Tiene la ventaja de ser relativamente barato y se le prefiere porque no hace espuma. Las desventajas de los sanitizantes de hipoclorito de sodio (NaOCl) son el potencial de emisión de gases tóxicos y que pueden ser corrosivo para muchos metales. Se degradan con el tiempo, por lo que tienen que prepararse con mayor frecuencia que otros sanitizantes.

El Cloro (Cl_2), se puede utilizar como hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), generalmente con una potencia de 70 % de cloro (Cl_2), y como hipoclorito de sodio (NaOCl), con una potencia de 15 % de cloro (Cl_2). El gas de cloro (Cl_2) puede ofrecer ventajas económicas, pero requiere medidas de precaución especiales.

2.5.2. Compuestos de ácido peroxiacético

Son fuertes y de acción rápida, cuya función se basa en sus propiedades de oxidación. Tienen bajas características de formación de espuma, de forma similar al cloro (Cl_2), a la vez que ofrecen actividad en un amplio rango de temperaturas. Estos sanitizantes no dejan residuos y generalmente no son corrosivos para el acero inoxidable y el aluminio en aplicaciones de superficies comunes. Tienen una amplia actividad bactericida y pueden usarse en un rango de pH más amplio que otros sanitizantes de tipo ácido, manteniendo su actividad en pH de hasta 7,5.

Entre las desventajas está la pérdida de efectividad en presencia de algunos metales, como cobre (Cu), titanio (Ti) y cobalto (Co), contenidos en agua en una concentración superior a 0,2 ppm. También pueden ser corrosivos para algunos metales, como cobre (Cu), acero dulce y acero galvanizado.

Esta corrosividad puede acelerarse en presencia de gran cantidad de cloruros en el agua (a una concentración superior a 75 ppm), así como a altas temperaturas.

2.5.3. Sanitizantes ácido-aniónicos

Los sanitizantes ácido-aniónicos son una combinación de surfactantes aniónicos y ácidos con doble acción, pues desinfectan las superficies de los equipos y efectúan un enjuague ácido que previene la acumulación mineral en las superficies de los equipos. Una de las principales ventajas de los sanitizantes ácido-aniónicos es su estabilidad en soluciones tanto concentradas como diluidas. Además, no son corrosivos para el acero inoxidable, a menos que el agua contenga muchos cloruros.

Entre las principales desventajas de los sanitizantes ácido-aniónicos se encuentran su poca efectividad, la formación de espuma y su costo relativamente alto. Además, estos sanitizantes solo son efectivos a niveles bajos de pH entre 2 y 3, la cual se reduce rápidamente en pH superior a 3. Más aún, los sanitizantes ácido-aniónicos tienen una actividad antimicrobiana limitada ya que son más efectivos contra bacterias Gram positivas que contra bacterias Gram negativas.

Son efectivos contra bacteriófagos, pero tienen poca actividad contra levaduras y mohos. Como resultado de los requisitos de pH bajo de estos sanitizantes, pueden ser corrosivos en presencia de altos niveles de cloruro.

2.5.4. Sanitizantes ácidos carboxílicos

Son conocidos también como sanitizantes de ácidos grasos. Estos sanitizantes pueden estar compuestos por ácidos grasos libres, ácidos grasos sulfonados y otros ácidos orgánicos. Además, pueden contener un ácido mineral, siendo el preferido el fosfórico. En forma similar a los sanitizantes ácido-aniónicos, los sanitizantes ácidos carboxílicos realizan la sanitización con un enjuague ácido al mismo tiempo. Sin embargo, tienen características considerablemente más bajas de formación de espuma y se pueden usar en aplicaciones tanto mecánicas como de limpieza en el lugar (CIP).

El uso de los sanitizantes de ácidos grasos proporciona diversas ventajas. Poseen una amplia actividad bactericida, que abarca bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas y bacteriófagos. Son soluciones estables en presencia de materia orgánica y a altas temperaturas. Los sanitizantes de ácidos grasos no son corrosivos para el acero inoxidable, tienen buena vida útil y son relativamente económicos.

Entre las desventajas de los sanitizantes ácidos carboxílicos están que son menos efectivos contra levaduras, tienen actividad limitada contra los mohos y no son efectivos en un pH mayor de 3,5 – 4,0. Estos sanitizantes pueden ser corrosivos para el acero no inoxidable y pueden dañar ciertos materiales de plástico y goma a una temperatura superior a 37,7 °C (100 °F).

2.5.5. Yodóforos

“Los yodóforos son compuestos que contienen yodo (I) formando un complejo con un vehículo surfactante y un ácido. El vehículo surfactante

proporciona un medio soluble y estable para el yodo (I). El vehículo surfactante ayuda en la penetración en la suciedad orgánica.

Los yodóforos proporcionan amplia actividad antimicrobiana, incluso contra levaduras y mohos. Ofrecen baja toxicidad y tienen un rango de pH efectivo más amplio que el cloro (Cl₂). En general, son más efectivos en un rango de pH de 2-5 y ofrecen una eficacia de sanitización aceptable a un pH ligeramente alcalino, dependiendo de la fórmula y de las condiciones. Los yodóforos son menos corrosivos que el cloro (Cl₂) cuando se usan a temperaturas inferiores a 48,9°C y su actividad no se pierde tan rápidamente como la del cloro (Cl₂) en presencia de materia orgánica, especialmente en pH bajo”.⁸

Hay algunas desventajas en usar yodóforos. Por ejemplo, pueden verse afectados más adversamente por la dureza del agua que el cloro (Cl₂) y tienen una actividad deficiente contra bacteriófagos. Además, los yodóforos pueden causar manchas sensoriales. Las bajas temperaturas afectan adversamente la eficacia de los yodóforos que, además, no pueden usarse a temperaturas superiores a 48,9 °C o en equipos calientes. Esto haría que se evaporara el yodo (I), lo que es muy corrosivo para los equipos. Por esta razón no suelen usarse yodóforos como sanitizante CIP en bebidas carbonatadas.

2.5.6. Compuestos de amonio cuaternario

Los compuestos de amonio cuaternario son agentes surfactantes sintéticos. Entre estos están el cloruro de benzalconio (C₉H₁₃N-RCI), cloruros de benzalconio (C₉H₁₃N-RCI), sustituidos, quats duales y quats de cadena

⁸ HUI, Yan; BRUINSMA, Bernard; GORHAN, Richard; NIP, Wait-Kit; TONG, Phillip. VENTRESCA, Phil. *Food Plant Sanitation*. p. 9.

doble. Tienen diversas ventajas como el hecho de que son relativamente inodoros, incoloros y no corrosivos. Son estables ante el calor y relativamente estables en presencia de materia orgánica”.⁹

Poseen ciertas propiedades detergentes gracias a su actividad surfactante. Son activos contra los microorganismos, incluso levaduras y mohos, al tiempo que ofrecen alguna actividad antimicrobiana residual en aplicaciones sin enjuague.

Generalmente son considerados menos efectivos contra bacterias Gram negativas que contra bacterias Gram positivas. Sin embargo, son menos efectivos contra bacteriófagos y debido a que son moléculas catiónicas, son incompatibles con jabones y detergentes aniónicos. Por esta razón, las superficies deben enjuagarse minuciosamente entre el paso de limpieza y el de sanitización, para evitar la desactivación. A bajas temperaturas, no son tan efectivos como el cloro (Cl₂) o el ácido peroxiacético (C₂H₄O₃). No se recomiendan para la CIP (*Clean in Place*) en bebidas carbonatadas, porque cuando se usan en operaciones mecánicas pueden causar problemas de formación de espuma.

2.6. Limpieza en el lugar (CIP)

En la limpieza en el lugar o bien llamado CIP por sus siglas en inglés (*Clean in Place*) se usan tuberías fijas, dispositivos de rocío, válvulas, tanques, sensores y controles, para efectuar una limpieza de “circuito cerrado” y mejorar la eficiencia y repetición del proceso de limpieza y sanitización. Los sistemas CIP ofrecen algunas ventajas clave:

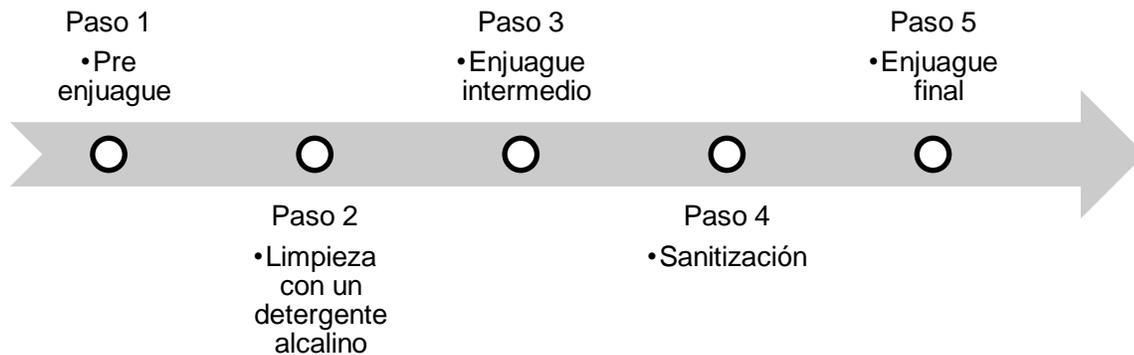
⁹ Ibid. p. 13.

- Pueden aplicarse procedimientos automatizados, paso a paso, para asegurarse de que se siga todo un programa de limpieza y sanitización con el flujo y tiempo de retención debidos.
- Los controles de proceso mantienen la temperatura en el punto correcto para una limpieza eficaz y aseguran el tiempo debido de retención, con menos posibilidad de zonas de calor alto o bajo (ya que la solución recirculante se mantiene a temperatura constante).
- Los sistemas de limpieza en el lugar por sus (CIP) causan menos desperdicio de sustancias químicas y agua.

2.7. Protocolo de limpieza y sanitización para bebidas carbonatadas 5 pasos

Todas las superficies deben entrar en contacto con cada paso. Esto significa que los tanques, llenadora, tuberías, etcétera, deben llenarse por completo, para asegurar el contacto pleno. Los tanques deben de contar con *sprayball*.

Figura 3. **Protocolo 5 pasos**



Fuente: elaboración propia, empleando SmartArt.

2.7.1. Paso 1: pre-enjuague

Requiere que todas las superficies sean enjuagadas con agua hasta que el jarabe y residuos de bebida carbonatadas sean removidos. Esta etapa también incrementa la efectividad del detergente a utilizar. El pre-enjuague siempre va al drenaje ya que tiene un alto nivel de producto y suciedad.

2.7.2. Paso 2: limpieza con detergente alcalino

El paso de limpieza es un elemento importante. Es difícil realizar la sanitización con equipos que no estén completamente limpios y enjuagados. Los residuos de producto pueden contribuir sitios de crecimiento y refugio de microorganismos. Estos residuos también pueden formar una película protectora alrededor de los microorganismos que impida que las soluciones sanitizantes entren en contacto con los microorganismos y los maten. Si bien el enjuague previo (paso 1) elimina la suciedad suelta, solo suaviza algunos residuos que son difíciles de eliminar.

La limpieza se debe realizar con un detergente aprobado para uso en industrias alimenticias con la concentración recomendada por el fabricante. La tasa de flujo efectiva también es un factor esencial para eliminar mecánicamente la suciedad.

2.7.3. Paso 3: enjuague Intermedio

Este paso prepara a las líneas para la sanitización. Se debe validar la ausencia del detergente con un indicador, por ejemplo, fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄).

2.7.4. Paso 4: sanitización

La sanitización es el tratamiento de una superficie limpia para reducir los contaminantes microbianos hasta un nivel que sea seguro. La sanitización efectiva se logra mediante calor o sustancias químicas.

2.7.5. Paso 5: enjuague final

Cuando una solución química ha sido utilizada como agente sanitizante, se debe enjuagar todo hasta que las trazas del químico sean removidas. Como una buena práctica de reutilizar el agua, el enjuague final puede ser reutilizada en la etapa de Pre-enjuague.

Tabla I. **Parámetros limpieza y sanitización 5 pasos**

Paso	Compuesto	Concentración	Temperatura	Tiempo
Pre-enjuague	Agua tratada	No aplica	Ambiente	5 – 10 min
Limpieza	Detergente alcalino	Según ficha técnica del químico	50°C – 70°C	10 – 20 min
Enjuague	Agua tratada	No aplica	Preferiblemente a temperatura de etapa 2 o ambiente	5 – 10 min
Sanitización	Sanitizante aprobado para industrias de alimentos	Según ficha técnica del químico	25°C – 45°C	15 - 20 min
Enjuague final	Agua tratada	No aplica	Ambiente	5 – 10 min

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

2.8. Validación del procedimiento de limpieza y sanitización

La validación implica recabar y evaluar datos científicos e información técnica para demostrar que el sistema y los procesos de limpieza y sanitización son efectivos para el propósito deseado.

La verificación se define como aquellas actividades que determinan que el sistema de limpieza y sanitización funciona continuamente conforme a su diseño. Durante la limpieza y sanitización se debe de monitorear y medir:

- Velocidad del líquido mediante el medidor de flujo o sensores ultrasónicos a lo largo de cada circuito CIP.
- Temperatura del líquido en cada circuito CIP.
- Tiempo de enjuague, se debe concluir hasta lograr tener la conductividad del agua o se puede verificar contra pH.
- Concentración en el paso 2 y 4.

2.8.1. Verificación: Microbiología

La verificación microbiológica asegura que siempre se alcancen los objetivos de limpieza y sanitización. El método utilizado en la industria de bebidas carbonatadas es filtración en membrana. Para bebidas carbonatadas el análisis que se debe de realizar son levaduras, mohos, bacterias totales y coliformes.

2.8.2. Verificación: Análisis de trifosfato de adenosina (ATP)

El trifosfato de adenosina (ATP) es una molécula orgánica que constituye la principal fuente de energía de las células vivas. Las células animales, vegetales, bacterianas, las levaduras y los mohos producen y descomponen el ATP a fin de impulsar numerosos procesos biológicos.

Los exámenes de trifosfato de adenosina (ATP) aplican un proceso químico llamado bioluminiscencia para detectar residuos de ATP como indicador de la limpieza de una superficie. Este hisopado se utilizará sobre superficie y válvula de llenado para liberar la limpieza y sanitización después de los 5 pasos y garantizar una limpieza adecuada. La presencia de ATP indica que no se limpió adecuadamente la superficie lo que indica que tiene el potencial de albergar y soportar el crecimiento bacteriano.

Una ventaja de los análisis de trifosfato de adenosina (ATP) es su velocidad (que se mide en segundos), lo que le permite al personal realizar la inspección previa y tener tiempo de volver a limpiar la línea o el equipo.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

- Concentración de los químicos de limpieza (μS).
- Temperatura de los químicos de limpieza ($^{\circ}\text{C}$).
- Tiempo de cada etapa de la limpieza (min).
- Flujo durante cada etapa de la limpieza (L/h).
- Bacterias acidúricas en producto terminado (UFC/mL).
- Bacterias totales en agua de enjuague (UFC/mL).
- Mohos y levaduras en producto terminado (UFC/mL).
- *Coliformes* y *E Coli* en agua de enjuague (UFC/mL).
- *Pseudomonas* en agua de enjuague (UFC/mL).
- Adenosin Trifosfato (ATP) de superficie después de limpieza (URL).

3.2. Delimitación de campo de estudio

- Campo de estudio: limpieza y sanitización, en una línea de bebidas carbonatadas dentro de Embotelladora La Mariposa, en la ciudad de Guatemala.
- Proceso: implementación de la limpieza en el lugar (CIP) en un circuito cerrado. Implementar procedimiento de limpieza y sanitización. Usando AC101 como detergente y Vortexx como sanitizante con los tiempos y concentraciones según se describe en la tabla I.

El enfoque de la investigación consistió en adecuar la línea embotelladora de bebidas carbonatadas para poder hacer una limpieza y sanitización en un circuito cerrado. Una vez asegurado el circuito, se implementó un protocolo de limpieza y sanitización de 5 pasos, en el que se monitoreó temperatura, concentración, tiempo y flujo.

Para asegurar que el protocolo fue efectivo se hizo una liberación inmediata con hisopados de ATP. Al estar dentro de parámetros según tabla II se procedió a tomar muestras de agua de enjuague y producto terminado para hacer análisis microbiológicos, por filtración de membrana y así poder establecer una mejora de microbiología.

Con los resultados positivos se procedió a repetir 5 veces el protocolo realizando los mismos análisis y estandarizando el procedimiento.

Los análisis microbiológicos fueron realizados en el laboratorio de Microbiología de la planta Embotelladora La Mariposa.

3.3. Recursos humanos disponibles

Los recursos humanos con los que se contaron fueron:

- Tesista: Ligia Rossana López Peña
Estudiante Ingeniería Química
- Asesor: Inga. Krystel Marisol Monroy Mahecha
Ingeniera Química
USAC
Colegiado No. 2140
- Otros: Departamento de Aseguramiento de Calidad
Embotelladora La Mariposa, S.A.
Personal de Aseguramiento de calidad
- Otros: Departamento Producción
Embotelladora La Mariposa, S.A.
Personal de Producción

3.4. Recursos materiales disponibles

- Medidor de conductividad.
- Medidor de flujo.
- Termómetro.
- Cronómetro.

- Campana de flujo laminar.
- Bolsas estériles.
- Membrana de filtración.
- Medios de cultivo m-Green (Para bacterias acidúricas, levaduras y mohos).
- Medio de cultivo MI (Para *Coliformes* y *Escherichia coli*).
- Caldo *Pseudomonas aeruginosa* (para el desarrollo del género *Pseudomonas* y diferencial para el desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa*).
- Incubadoras.
- Refrigerador.
- Manifold de filtración por membrana.
- Equipo de computo.
- Gotero.
- AC 101.
- Vortexx.

- Autoclave.
- Atomizador.
- Alcohol Isopropílico 70 %.
- Balanza analítica.
- Tubos de ensayo.
- Estufa eléctrica.
- Refrigeradora.
- Pipetas desechables.
- Cajas Petri.
- Guantes desechables.

3.5. Técnicas

Las técnicas se detallarán en dos formas, técnicas cualitativas y técnicas cuantitativas las cuales se describen a continuación.

3.5.1. Técnica cuantitativa

Se describe como cualitativo cuando el investigador introduce determinadas variables para manipular bajo situaciones controladas.

3.5.1.1. Cálculo de flujo para el protocolo de limpieza y sanitización

La velocidad mínima que tuvo el equipo fue de 1,5m/s, para garantizar que con esta velocidad se tuvo un flujo turbulento flujo se usó la fórmula de Reynolds.

$$Re = \frac{DV\rho}{\mu}$$

Ecuación 1

Donde:

D = diámetro del tubo (m)

V = velocidad (m/s).

ρ = densidad (Kg/m³).

μ = viscosidad del fluido (Kg/m*s)

Para confirmar que el flujo mínimo cumplió con un flujo turbulento, se realizó el cálculo con el fluido con mayor viscosidad. En este caso AC101 (componente activo NaOH), quedando de la siguiente manera cumpliendo con el número de Reynolds.

$$Re = \frac{0,065m(1,5 \frac{m}{s})(\frac{1,532kg}{m^3})}{0,0042 \frac{kg}{m * s}} = 35 564,20$$

La forma de medición fue por flujo, usando la siguiente fórmula:

$$F = AV * 1 000 \frac{L}{m^3}$$

Ecuación 2

Donde:

F = flujo (L/h)

A = área (m²).

V = velocidad (m/h).

$$F = 0,00332m^2 * 5\,400\frac{m}{h} * 1\,000\frac{L}{m^3} = 18\,000\frac{L}{h}$$

Tabla II. **Parámetros de flujo de limpieza y sanitización 5 pasos**

Paso	Químico	Flujo mínimo
Paso 2	AC101 (Ecolab)	18 000L/h
Paso 4	Vortexx (Ecolab)	18 000L/h

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

3.5.1.2. Cálculo de detergente alcalino

El detergente alcalino que se utilizó fue AC101 de Ecolab, recomendado para limpieza en sitio (CIP) al 1 %. Para determinar el volumen del químico se utilizó la fórmula de concentración.

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

Ecuación 3

Donde:

V₁ = volumen de químico (L)

C₁ = concentración del químico (%)

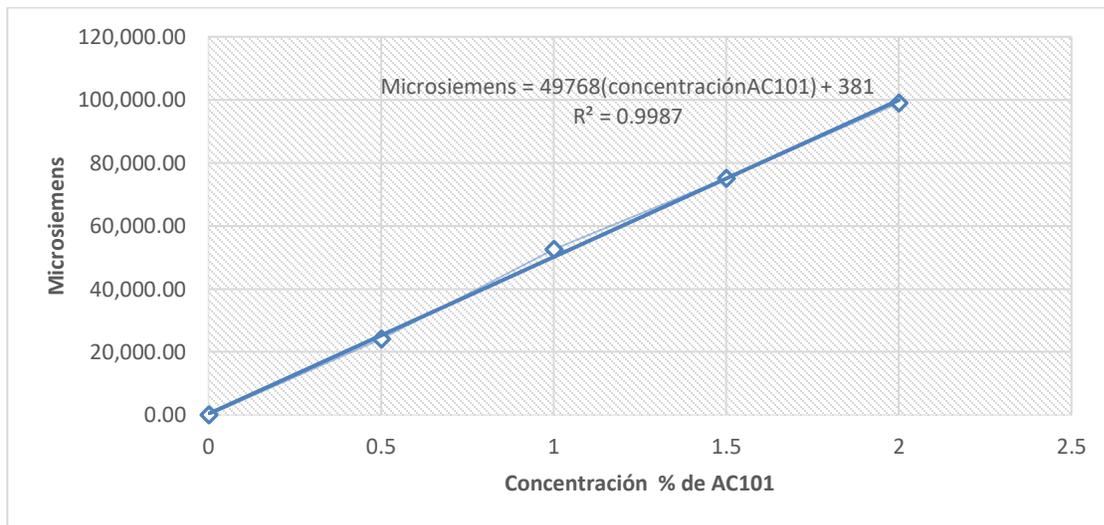
V₂ = volumen de la solución (L)

C₂ = concentración de la solución (%)

$$V_1 = \frac{4\,000L(1\%)}{100\%} = 40L \text{ de químico}$$

La medición de la concentración durante el protocolo de saneamiento y sanitización fue a través de un conductímetro. Para esto se realizó una curva a distintas concentraciones de AC101 midiendo la conductividad para definir los microsiemens con los que se trabajó.

Figura 4. **Microsiemens vs. % de AC101**



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel

Tabla III. **Parámetro de concentración de AC101**

Paso	Químico	Concentración	
		Mínimo	Máximo
Paso 2	AC101 (Ecolab)	49 500 μ S	54 320 μ S

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

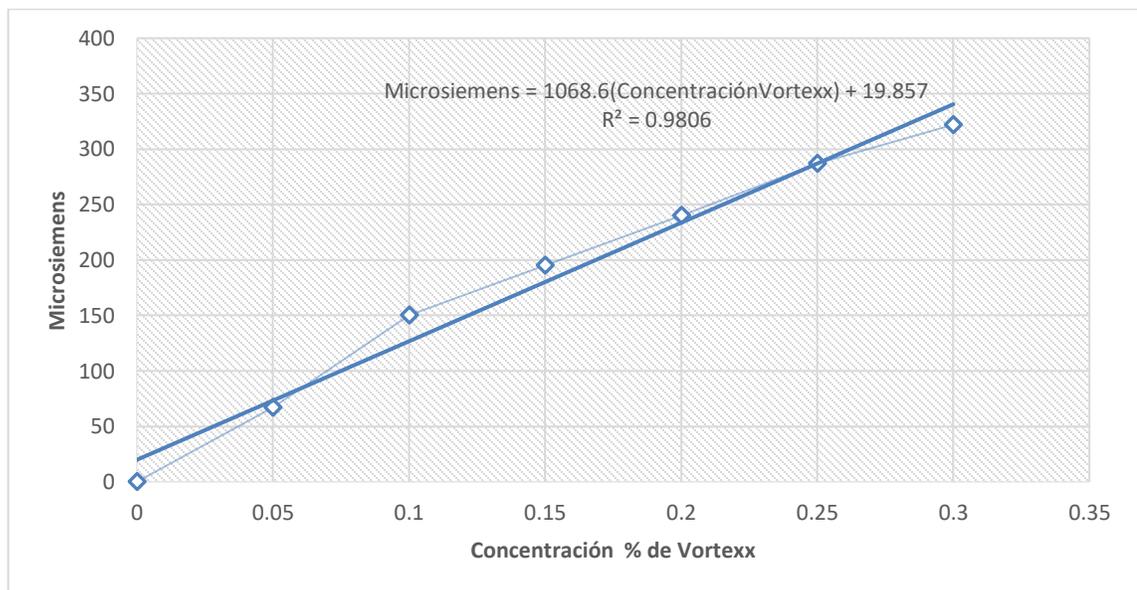
3.5.1.3. Cálculo del químico de sanitización

El químico para el paso de sanitización fue Vortexx de 0,13 a 0,26 %. Para determinar el volumen del químico se utilizó la fórmula de concentración

$$V_1 = \frac{4\,000L(0,13\%)}{100\%} = 5,2L \text{ de químico mínimo}$$

La medición de la concentración durante el protocolo de saneamiento y sanitización fue a través de un conductímetro. Para esto se realizó una curva a distintas concentraciones de Vortexx midiendo la conductividad para definir los microsiemens con los que se trabajó.

Figura 5. Microsiemens vs. % de Vortexx



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel

Tabla IV. **Parámetro de concentración de Vortexx**

Paso	Químico	Concentración	
		Mínimo	Máximo
Paso 4	Vortexx (Ecolab)	159 μ S	297 μ S

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

3.5.1.4. Análisis de ATP

Para realizar una liberación inmediata del protocolo de limpieza y sanitización, se estableció que se realizaría un hisopado de superficie de válvulas, aplicando bioluminiscencia para detectar residuos de Trifosfato de Adenosina (ATP). Tomando como parámetro máximo de liberación 25 URL.

3.5.1.5. Método filtración por membrana

El sistema de filtración por membrana utilizando monitores en un sistema pre-esterilizado que contiene un filtro de membrana y una almohadilla absorbente. Los medios de cultivo microbiológicos para uso con monitores son empacados en ampollas plásticas estériles de 2 mL.

- Se utilizó guantes limpios y mascarilla al momento del análisis. Se utilizó monitor desechable con una membrana de 0,45 μ m.
- Antes de iniciar se roció abundante alcohol isopropílico al 70 % en la parte externa de la botella para el caso de bebida terminada.

- Se agregaron 100 mL de la muestra en el monitor y se filtró al vacío toda la muestra. Se agregó el medio según el microorganismo que se estaba analizando. MI para *Coliformes* y *E.Coli*, M-Green para Bacterias, levadura y mohos y Caldo *Pseudomonas*.
- Se incubó el tiempo necesario y a la temperatura adecuada según el medio añadido. Para MI 24 horas a 35°C; para caldo *Pseudomonas aeruginosa* por 48 horas a 35 °C; para m-green por 5 días a 25°C.
- Pasado el período de incubación, se realizó un recuento de todas las colonias en la superficie de la membrana.

3.5.2. Técnica cualitativa

La técnica cualitativa es el método de observar para recopilar dato, datos que no se obtienen a través de un experimento.

3.5.2.1. Validación de tiempo de enjuague

Para realizar la liberación del enjuague después del paso del detergente se dejó pasar agua por 5 minutos y se tomó una muestra de 20mL a la que se le agregó fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), al no virar a color fucsia se concluyó que no existía presencia de detergente alcalino y se estableció el tiempo de 5 minutos para el protocolo

3.5.2.2. Liberación de sensorial

Después de terminado el protocolo de limpieza y sanitización, se tomó una muestra de agua para validar que la pungencia del producto anterior fue

eliminada, haciendo prueba de olor, color y sabor del agua con un panel calibrado.

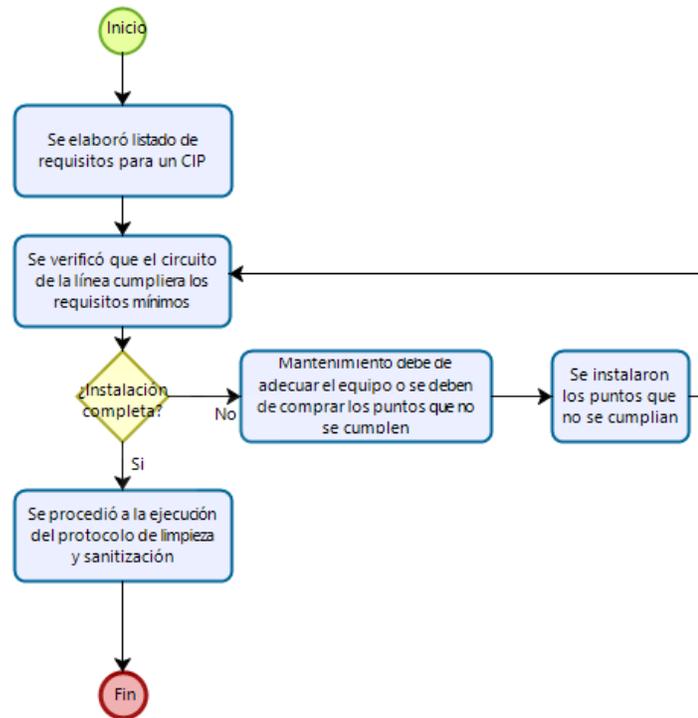
3.6. Recolección y ordenamiento de la información

A continuación, se describe la forma en la que se llevó a cabo la recopilación, verificación y validación del protocolo de limpieza y sanitización.

3.6.1. Verificación del circuito para una limpieza en el lugar CIP

Antes de iniciar el protocolo de limpieza y sanitización se levantó un listado de requisitos mínimos que debía de cumplir el circuito de la línea para garantizar que se tuviera una recirculación.

Figura 6. **Verificación del circuito de limpieza en el CIP**

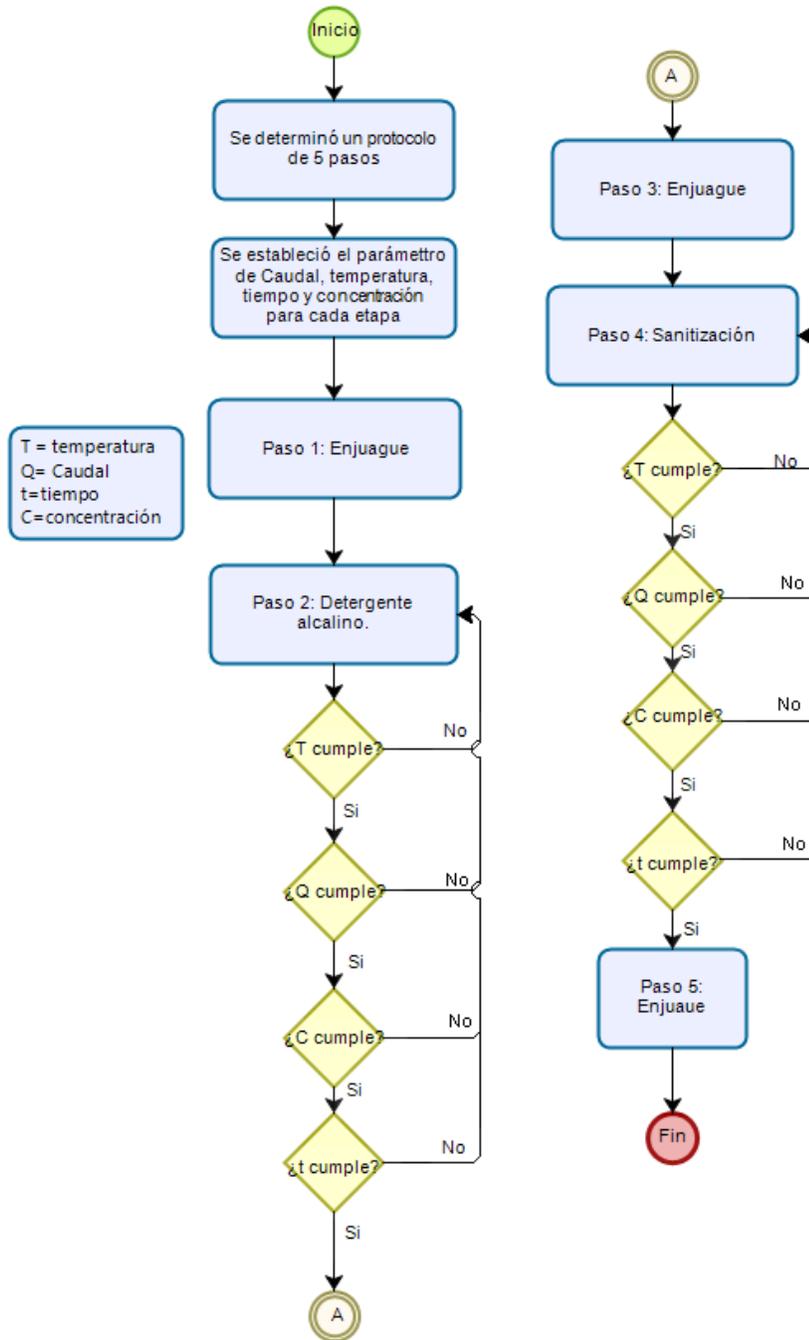


Fuente: elaboración propia, empleando Bizagi.

3.6.2. **Elaboración del protocolo de limpieza y sanitización**

Se elaboró un protocolo de limpieza y sanitización que consta de 5 pasos, enjuague, detergente, enjuague, sanitizante y enjuague.

Figura 7. **Elaboración del protocolo de limpieza y sanitización**

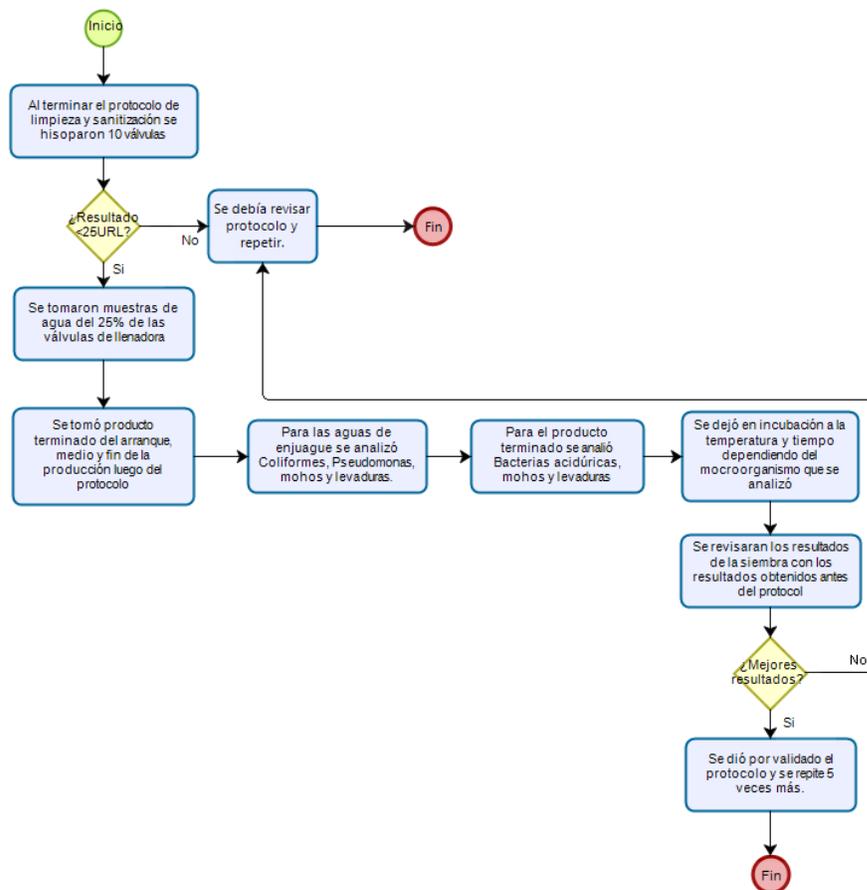


Fuente: elaboración propia, empleando Bizagi.

3.6.3. Verificación de la efectividad del protocolo de limpieza y sanitización

Para verificar la efectividad del protocolo propuesto se realizó en dos etapas. La primera fue una liberación inmediata con hisopos para detectar Adenosin Trifosfato (ATP) y la segunda con muestreo microbiológico de agua del último enjuague y al producto terminado.

Figura 8. Verificación de la efectividad del protocolo de limpieza y sanitización

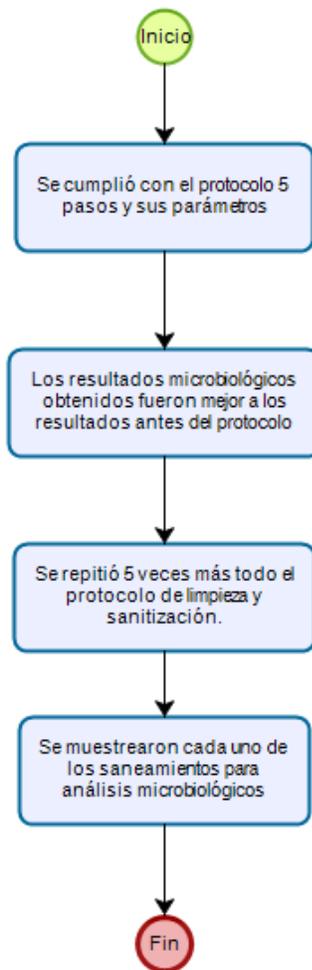


Fuente: elaboración propia, empleando Bizagi.

3.6.4. Ejecución y estandarización del protocolo de limpieza y sanitización

Con los resultados mejores a los históricos de la embotelladora se procedió a estandarizar el protocolo de limpieza y sanitización.

Figura 9. Ejecución y estandarización del protocolo de limpieza y sanitización



Fuente: elaboración propia, empleando Bizagi.

3.6.5. Eficiencias a partir del protocolo de limpieza y sanitización

Al término de la ejecución de cada protocolo de limpieza y sanitización se comparó tiempo, consumo de agua y consumo de químico contra lo utilizado en el proceso anterior.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos durante la fase experimental.

Tabla V. **Listado de requisitos mínimos para tener una limpieza en el lugar con recirculación CIP**

Requisito	Si	No
¿Hay un sensor de conductividad en la línea de regreso CIP para medir la conductividad de la solución CIP de regreso?	X	
¿Están funcionando todos los sensores de conductividad?	X	
¿Las válvulas de la línea se abren y cierran automáticamente?	X	
¿La apertura y cierre de las válvulas en las líneas CIP de suministro y de retorno están controladas por PLC?	X	
¿Tienen todas las válvulas y puertos de muestre un diseño higiénico?	X	
¿Existen extremos muertos?		X
Si no puede eliminarse el extremo muerto, ¿este se abre y se cierra durante la CIP?	X	
¿Hay tubos de diferente diámetro?	X	
¿Se tapan las válvulas de la llenadora durante la CIP?	X	

Continuación de la tabla V.

Requisito	Si	No
Medidor magnético. Medidor higiénico de flujo situado en las líneas de suministro y de CIP. (el medidor necesita ser adecuado para agua con conductividad muy baja y no ser intrusivo).	X	
¿El medidor no intrusivo y de muy baja conductividad y el monitoreo de temperatura está ubicado en el tubo de regreso CIP de recolección de la llenadora?	X	
¿El indicador de flujo o transmisor está situado en la descarga de la bomba CIP?	X	
¿El medidor de conductividad, que emite alarmas por conductividad alta y baja, está situado en la línea de regreso CIP?	X	
¿El detergente CIP se calienta en un intercambiador de calor externo?	X	
¿Hay un sensor de temperatura para medir la temperatura del detergente en el tanque CIP?	X	
¿Hay un sensor de temperatura después del intercambiador de calor para medir la temperatura del detergente?	X	
¿Hay un sensor de temperatura en la línea de regreso CIP para medir la temperatura de la solución CIP de regreso?	X	
¿Los puntos fijos de temperatura están programados en el PLC?	X	
¿La concentración de detergente en el tanque CIP está controlada por conductividad y no por titulación?	X	
¿Hay un sensor de conductividad en el circuito externo del intercambiador de calor del tanque de álcalis y ácidos?	X	
¿Hay un sistema de sensor de nivel en los tanques CIP?	X	

Continuación de la tabla V.

Requisito	Si	No
¿El fondo de los tanques CIP son de forma cónica?	X	
¿Hay una válvula de desagüe en el fondo de cada tanque CIP?	X	
¿Hay un rompedor de torbellinos en cada tanque CIP?	X	
¿Hay una bola de rocío para limpiar cada tanque CIP?	X	
¿Cada corrida CIP se registra electrónicamente en forma automática para que todos los parámetros estén disponibles para revisión después de la CIP?	X	

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Word.

Tabla VI. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 1**

Tiempo	Temperatura de etorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
15:46:39	25	18,876	55
15:51:17	34	19,485	55
15:56:23	46	19,539	58
16:01:29	62	18,783	49,389
16:06:27	61	15,834	49,538
16:11:28	62	18,632	53,891
16:16:20	59	17,688	53,891
16:21:19	58	19,392	53,981
16:26:24	61	19,633	52,984
16:31:19	60	15,743	30,921
16:36:19	55	18,382	2,819
16:36:11	47	19,382	55

Continuación de la tabla VI.

Tiempo	Temperatura de retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
16:41:18	40	18,728	178
16:46:24	38	19,551	190
16:51:20	36	18,382	195
16:56:27	35	19,566	196
17:01:31	35	16,984	182
17:06:18	27	19,732	100
17:11:25	24	20,392	69
17:16:30	24	19,734	53

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla VII. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 2**

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
22:10:34	20	18,876	44
22:15:31	21	19,485	45
22:20:29	22	19,539	48
22:25:17	62	18,783	49,590
22:30:19	62	19,524	49,934
22:35:22	65	18,632	53,932
22:40:27	69	17,688	53,905
22:45:23	65	19,352	59

Continuación de la tabla VII.

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
22:50:12	57	19,633	53
22:55:28	48	15,743	50
23:00:11	48	19,624	48
23:05:18	41	19,382	45
23:10:21	40	13,000	168
23:15:19	35	19,551	189
23:20:31	31	13,842	192
23:25:29	31	19,566	193
23:30:29	27	19,363	190
23:35:25	23	19,732	60
23:40:18	22	21,264	59
23:45:11	20	19,734	47

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla VIII. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 3**

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
05:59:17	35	18,876	45
06:04:13	46	19,485	46
06:09:16	59	19,466	51
06:14:10	62	19,524	49,622
06:19:11	62	18,632	49,665

Continuación de la tabla VIII.

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
06:24:13	55	18,688	53,893
06:29:16	56	20,352	53,967
06:34:15	55	19,633	58
06:39:15	57	19,149	50
06:44:19	58	19,624	49
06:49:17	58	19,488	48
06:54:12	59	19,565	46
06:59:08	45	19,551	167
07:04:11	35	19,842	187
07:09:15	40	19,566	189
07:14:09	36	19,363	192
07:19:12	32	19,706	189
07:24:10	23	20,432	61
07:29:06	25	18,678	61
07:34:09	23	19,517	40

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla IX. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 4**

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
12:00:10	23	19,485	46
12:05:08	25	19,437	47

Continuación de la tabla IX.

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
12:10:07	39	19,536	52
12:15:05	50	19,524	49,630
12:20:04	52	17,688	49,832
12:25:03	55	19,352	53,894
12:30:01	66	19,633	53,983
12:35:00	67	19,452	62
12:39:58	57	19,624	48
12:44:57	58	19,480	46
12:49:56	39	19,565	43
12:54:55	39	19,551	41
12:59:53	35	19,566	171
13:00:08	30	19,363	191
13:05:07	29	19,706	195
13:10:05	29	19,517	194
13:15:04	26	19,561	191
13:20:03	26	19,149	56
13:25:02	27	19,488	58
13:30:00	27	19,466	45

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla X. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 5**

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
16:21:36	37	18,432	45
16:26:15	45	19,485	46
16:31:16	67	19,437	53
16:36:14	61	19,536	49,667
16:41:13	60	19,524	50,080
16:46:12	58	19,488	53,903
16:51:10	54	19,466	53,961
16:56:09	32	19,352	61
17:01:13	28	19,633	49
17:06:17	34	20,384	47
17:11:19	35	18,742	44
17:16:17	33	19,480	42
17:21:14	32	19,565	172
17:26:12	32	19,551	192
17:31:15	31	18,374	196
17:36:14	25	19,566	195
17:41:15	25	19,387	192
17:46:14	23	19,706	55
17:51:13	20	19,517	57
17:56:15	20	19,561	44

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XI. **Medición de parámetros protocolo de limpieza y sanitización 6**

Tiempo	Temperatura de Retorno (°C)	Flujo (L/h)	Conductividad (µs)
16:05:10	33	19,493	45
16:10:09	45	18,829	48
16:15:08	51	18,903	51
16:20:06	58	20,045	49,522
16:25:05	61	19,044	49,981
16:30:04	62	19,389	53,901
16:35:02	60	17,896	53,922
16:40:01	59	19,027	60
16:45:00	55	19,785	48
16:49:58	52	19,132	46
16:54:57	51	19,280	43
16:59:56	43	19,510	45
17:00:12	38	18,878	173
17:05:09	38	19,748	193
17:10:08	36	18,092	198
17:15:07	33	19,784	198
17:20:05	32	19,095	195
17:25:04	32	18,021	54
17:30:03	32	20,747	52
17:35:01	29	19,627	42

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XII. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 1**

Válvula	Resultado <25URL
1	8
2	18
3	9
4	11
5	7
6	7
7	8
8	12
9	8
10	11

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XIII. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 2**

Válvula	Resultado <25URL
11	13
12	7
13	7
14	10
15	12
16	9
17	7
18	10
19	12
20	10

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XIV. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 3**

Válvula	Resultado <25URL
21	8
22	15
23	13
24	7
25	5
26	10
27	7
28	13
29	22
30	6

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XV. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 4**

Válvula	Resultado <25URL
31	6
32	14
33	13
34	7
35	13
36	5
37	7
38	13
39	12
40	9

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XVI. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 5**

Válvula	Resultado <25URL
41	5
42	7
43	8
44	5
45	6
46	8
47	9
48	7
49	14
50	13

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XVII. **Recolección de resultados de ATP limpieza y sanitización 6**

Válvula	Resultado <25URL
41	6
42	14
43	9
44	6
45	14
46	7
47	9
48	5
49	8
50	14

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XVIII. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 1**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales \leq 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras \leq 100 ufc/100 mL	Mohos \leq 100 ufc/100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
7/12/2020	Proporcionador Agua	0	0	0	8	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Proporcionador Jarabe	0	0	0	4	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Carbonatador	3	0	0	9	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Mezclador	0	0	0	3	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 1	0	0	0	32	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 2	2	0	0	36	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 3	0	0	0	0	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 4	0	0	0	3	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 5	0	0	0	0	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 6	0	0	0	0	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 7	0	0	0	8	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 8	0	0	0	0	4	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 9	0	0	0	9	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR
7/12/2020	Válvula 10	0	0	0	0	0	BLBRKH	BHBR	AZBR	BUBR

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XIX. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 2**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales \leq 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras \leq 100 ufc/ 100 mL	Mohos \leq 100 ufc/ 100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
14/12/2020	Proporcionador agua	0	0	0	0	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Proporcionador jarabe	0	0	0	4	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Carbonatador	0	0	0	1	1	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Mezclador	0	0	0	12	1	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 11	0	0	0	9	1	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 12	0	0	0	10	3	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 13	0	0	0	12	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 14	0	0	0	9	4	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 15	0	0	0	10	2	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 16	0	0	0	18	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 17	0	0	0	3	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 18	0	0	0	9	3	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 19	0	0	0	10	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR
14/12/2020	Válvula 20	0	0	0	49	0	BLBRKI	BIBS	BABS	BVBR

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XX. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 3**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales ≤ 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras ≤ 100 ufc/ 100 mL	Mohos ≤ 100 ufc/ 100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
21/12/2020	Proporcionador agua	0	0	0	4	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Proporcionador jarabe	0	0	0	3	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Carbonatador	0	0	0	2	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Mezclador	0	0	0	1	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 21	0	0	0	16	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 22	0	0	0	23	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 23	0	0	0	8	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 24	0	0	0	18	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 25	0	0	0	4	0	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 26	0	0	0	2	12	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 27	0	0	0	0	11	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 28	0	0	0	0	35	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 29	0	0	0	1	15	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS
21/12/2020	Válvula 30	0	0	0	0	14	BLBRKK	BIBT	BABT	BVBS

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado.

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXI. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 4**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales ≤ 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras ≤ 100 ufc/ 100 mL	Mohos ≤ 100 ufc/ 100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
4/01/2021	Proporcionador agua	0	0	0	0	1	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Proporcionador jarabe	0	0	0	0	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Carbonatador	0	0	0	0	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Mezclador	0	0	0	2	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 31	0	0	0	0	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 32	0	0	0	0	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 33	0	0	0	19	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 34	0	0	0	13	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 35	0	0	0	16	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 36	0	0	0	22	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 37	0	0	0	5	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 38	0	0	0	5	1	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 39	0	0	0	13	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS
4/01/2021	Válvula 40	0	0	0	6	0	BLBSKM	BIBU	BABU	BWBS

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado.

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXII. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 5**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales ≤ 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras ≤ 100 ufc/ 100 mL	Mohos ≤ 100 ufc/ 100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
11/01/2021	Proporcionador agua	0	0	0	20	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Proporcionador jarabe	0	0	0	26	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Carbonatador	0	0	0	6	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Mezclador	0	0	0	3	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 41	0	0	0	8	4	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 42	0	0	0	0	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 43	0	0	0	0	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 44	0	0	0	0	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 45	0	0	0	2	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 46	0	0	0	0	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 47	0	0	0	7	4	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 48	0	0	0	0	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 49	0	0	0	2	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT
11/01/2021	Válvula 50	0	0	0	1	0	BLBSKN	BKBV	BBBV	BWBT

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado.

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXIII. **Recolección de datos microbiológicos de aguas de enjuague 6**

Fecha muestra	Punto de muestreo	Bacterias totales ≤ 500 ufc/1 mL	Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> < 1 ufc/100 mL	Levaduras ≤ 100 ufc/ 100 mL	Mohos ≤ 100 ufc/ 100 mL	Lote bacterias totales	Lote bacterias coliformes	Lote <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lote M-Green
18/01/2021	Proporcionador agua	0	0	0	7	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Proporcionador jarabe	0	0	0	0		BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Carbonatador	0	0	0	6	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Mezclador	0	0	0	0		BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 51	0	0	0	6	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 52	0	0	0	1	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 53	0	0	0	4	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 54	0	0	0	0		BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 55	0	0	0	4	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 56	0	0	0	0	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 57	0	0	0	15	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 58	0	0	0	0		BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 59	0	0	0	0	7	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU
18/01/2021	Válvula 60	0	0	0	0	0	BMBSKO	BKBW	BBBW	BXBU

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado.

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXIV. **Recolección de datos microbiológicos de producto terminado**

No. Protocolo de limpieza	Fecha análisis	Código	Producto	Bacterias acidúricas \leq 30 ufc/ 100 mL	Levaduras \leq 15 ufc/ 100 mL	Mohos \leq 15 ufc/ 100 mL	Comentario	Lote medio utilizado
Protocolo 1	10/12/2020	LG21L81735	Bebida carbonatada A	0	6	0	Arranque	BUBR
Protocolo 1	10/12/2020	LG21L81946	Bebida carbonatada A	0	0	0	Medio	BUBR
Protocolo 1	10/12/2020	LG21L81725	Bebida carbonatada A	0	1	0	Corte	BUBR
Protocolo 2	17/12/2020	LG21L81821	Bebida carbonatada B	0	0	0	Arranque	BVBR
Protocolo 2	17/12/2020	LG21L80115	Bebida carbonatada B	0	0	0	Medio	BVBR
Protocolo 2	17/12/2020	LG21L80717	Bebida carbonatada B	0	0	5	Corte	BVBR
Protocolo 3	7/01/2021	LG21L80805	Bebida carbonatada C	0	3	0	Arranque	BVBS
Protocolo 3	7/01/2021	LG21L81613	Bebida carbonatada C	0	0	0	Medio	BVBS
Protocolo 3	7/01/2021	LG21L82313	Bebida carbonatada C	0	0	6	Corte	BVBS
Protocolo 4	7/01/2021	LG21L81436	Bebida carbonatada D	0	0	0	Arranque	BWBS
Protocolo 4	7/01/2021	LG21L82059	Bebida carbonatada D	0	4	0	Medio	BWBS
Protocolo 4	7/01/2021	LG21L80407	Bebida carbonatada D	0	3	0	Corte	BWBS
Protocolo 5	14/01/2021	LG21L80444	Bebida carbonatada E	1	0	0	Arranque	BWBT
Protocolo 5	14/01/2021	LG21L81012	Bebida carbonatada E	0	1	0	Medio	BWBT
Protocolo 5	14/01/2021	LG21L81737	Bebida carbonatada E	0	1	0	Corte	BWBT
Protocolo 6	21/01/2021	LG21L80950	Bebida carbonatada F	0	5	0	Arranque	BXBU
Protocolo 6	21/01/2021	LG21L81504	Bebida carbonatada F	0	0	0	Medio	BXBU
Protocolo 6	21/01/2021	LG21L81831	Bebida carbonatada F	0	0	0	Corte	BXBU

*Lote: Se refiere al lote del medio de cultivo utilizado.

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXV. **Consumo de agua antes y después el protocolo de limpieza y sanitización**

No. Protocolo de limpieza	Consumo previo del protocolo (L)	Consumo posterior al protocolo (L)
Protocolo 1	8,664	7,000
Protocolo 2	8,938	7,000
Protocolo 3	8,890	7,000
Protocolo 4	8,739	7,000
Protocolo 5	8,893	7,000
Protocolo 6	8,889	7,000

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXVI. **Consumo de químicos antes y después el protocolo de limpieza y sanitización**

No. Protocolo de limpieza	Consumo de ACI previo al protocolo (L)	Consumo de ACI previo al protocolo (L)	Consumo de Vortexx antes del protocolo (L)	Consumo de Vortexx posterior al protocolo (L)
Protocolo 1	40	40	5,2	5,2
Protocolo 2	40	0	5,2	0
Protocolo 3	40	40	5,2	5,2
Protocolo 4	40	0	5,2	0
Protocolo 5	40	40	5,2	5,2
Protocolo 6	40	0	5,2	0

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

3.8. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se conocerá la dispersión de los resultados y cuantificará la variación de los resultados microbiológicos de aguas de enjuague y producto terminado.

- Cálculo de la media aritmética

$$\overline{UFC} = \frac{\sum UFC_1}{n}$$

Ecuación No. 4

Donde:

\overline{UFC} = promedio de unidades formadoras de colonia (UFC/mL)

$\sum UFC_1$ = es la sumatoria de los resultados microbiológicos.

n = número de corridas de la medición.

Ejemplo: Cálculo de la media aritmética de los resultados microbiológicos de levaduras.

$$\overline{UFC} = \frac{\sum 8 \frac{UFC}{mL} + \frac{4UFC}{mL} + \frac{9UFC}{mL} + \dots \dots}{84} = 6,77UFC/mL$$

Nota: se realizó el mismo cálculo de la UFC promedio para los demás microorganismos.

La desviación estándar (S), permite observar la dispersión entre valores para una misma medición respecto al promedio.

- Cálculo de la desviación estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum(UFC - \overline{UFC})^2}{n - 1}}$$

Ecuación No. 5

Donde:

s=desviación estándar.

\overline{UFC} = UFC promedio (UFC/mL)

UFC = UFC medida (UFC/mL)

n = número de corridas de la medición.

Ejemplo: Cálculo de la desviación estándar de los resultados microbiológicos de levaduras.

$$s = \sqrt{\frac{6746,70}{84 - 1}} = 9,02 \text{ UFC/mL}$$

Nota: se realizó el mismo cálculo de la desviación estándar de los resultados microbiológicos de levaduras.

- Cálculo del coeficiente de variación.

$$\sigma = \frac{s}{\overline{UFC}} * 100$$

Ecuación No. 6

Donde:

\overline{UFC} = *media aritmética de la medición*

σ = *coeficiente de variación*

s = *desviación estándar de las mediciones de densidad*

Ejemplo: Cálculo del coeficiente de variación de los resultados microbiológicos de levaduras.

$$\sigma = \frac{9,02}{6,77} * 100 = 1,33$$

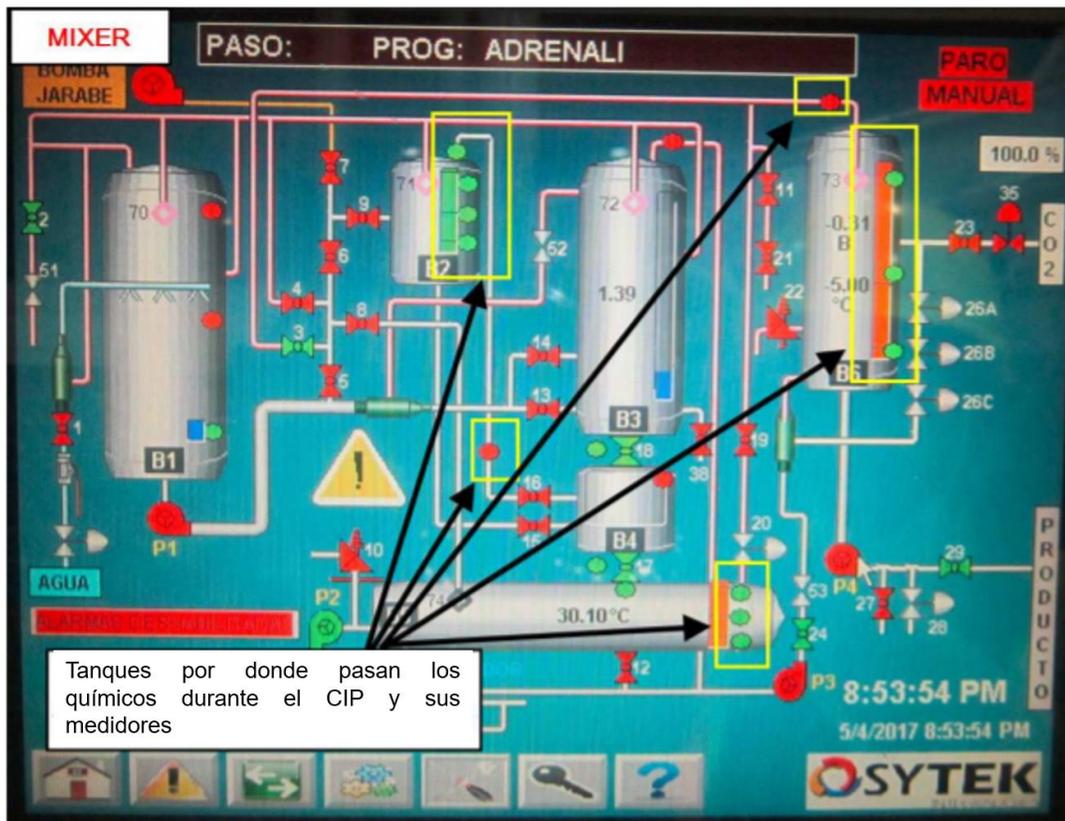
Nota: se realizó el mismo cálculo del coeficiente de variación de los resultados microbiológicos de levaduras.

4. RESULTADOS

4.1. Sistema de limpieza en el lugar (CIP)

Se verificaron las conexiones y que los medidores se encontraran en el lugar adecuado según tabla V.

Figura 10. Tanques y medidores del circuito de una llenadora de bebidas carbonatadas



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Figura 11. Tanques del equipo de limpieza y sanitización



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

4.2. Protocolo de limpieza y sanitización

Se establecieron 5 pasos para el protocolo de limpieza y sanitización cada uno de ellos debe de cumplir con 4 parámetros; Concentración, tiempo, temperatura y flujo.

Tabla XXVII. **Protocolo de limpieza y sanitización**

No.	Paso	Compuesto	Concentración (µS)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Flujo (L/h)
1	Preenjuague	Agua tratada	No aplica	Ambiente	5 – 10	18,000
2	Limpieza	Ac101	49,500 – 54,320	50 – 70	10 – 20	18,000
3	Enjuague	Agua tratada	No aplica	Ambiente	5 – 10	18,000
4	Sanitización	Vortexx	159 – 297	25 – 45	15 - 20	18,000
5	Enjuague final	Agua tratada	No aplica	Ambiente	5 – 10	18,000

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

4.3. **Comparativo de resultados microbiológicos de agua de enjuague**

Al tener los microbiológicos de las aguas de enjuague, después de la implementación del protocolo de limpieza y sanitización, se compararon contra los resultados históricos de la línea embotelladora de bebidas carbonatadas, obteniendo las siguientes mejoras:

Tabla XXVIII. **Comparativo de resultados microbiológicos de agua de enjuague**

Microorganismo	Promedio historial de Línea previo a la implementación	Promedio resultados obtenidos 2021	% de reducción
Bacterias Totales ≤ 500 ufc/1 mL	01,97	0,06	65 %
Bacterias Coliformes < 1 ufc/100 mL	0,00	0,00	0
Pseudomonas aeruginosas < 1 ufc/100 mL	0,00	0,00	0
Levaduras ≤ 100 ufc/ 100 mL	12,94	6,77	48 %
Mohos ≤ 100 ufc/ 100 mL	10,23	1,67	84 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

4.4. **Comparativo de resultados microbiológicos de producto terminado (bebida carbonatada)**

Al tener los microbiológicos de producto terminado, después de la implementación del protocolo de limpieza y sanitización, se compararon contra los resultados históricos de la línea embotelladora de bebidas carbonatadas, obteniendo las siguientes mejoras:

Tabla XXIX. **Comparativo de resultados microbiológicos de producto terminado**

Microorganismo	Promedio historial de Línea previo a la implementación	Promedio resultados obtenidos 2021	% de reducción
Bacterias Acidúricas ≤ 39 ufc/100 mL	0,26	0,05	78 %
Levaduras ≤ 15 ufc/ 100 mL	2,44	1,33	45 %
Mohos ≤ 15 ufc/ 100 mL	1,39	0,61	56 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

4.5. **Eficiencias obtenidas a partir de la implementación del protocolo de limpieza y sanitización**

Al tener los consumos de agua, químicos y tiempos, después de la implementación del protocolo de limpieza y sanitización, se compararon contra los resultados históricos de la línea embotelladora de bebidas carbonatadas, obteniendo las siguientes mejoras:

Tabla XXX. **Comparativo de tiempo de ejecución**

Promedio historial de Línea previo a la implementación	Promedio tiempo del protocolo propuesto 2021	% de reducción
03:10:20	01:32:17	52 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXXI. **Comparativo de consumo de agua**

Promedio historial de Línea previo a la implementación	Promedio de consumo de agua del protocolo propuesto 2021	% de reducción
8 835	7,000	21 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

Tabla XXXII. **Comparativo de consumo de químicos**

Químico	Promedio historial de Línea previo a la implementación	Promedio de consumo de químicos del protocolo propuesto 2021	% de reducción
AC101	40	20	50 %
Vortexx	5,2	2,6	50 %

Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se realizó un levantamiento teórico de los requisitos mínimos según tabla V. que debe tener un circuito con el objetivo de tener una limpieza en el lugar CIP con recirculación, al comparar cada punto físicamente se encontró, que la línea embotelladora de bebidas carbonatadas cumplía con todos los requisitos para lograr tener un circuito cerrado con recirculación y contaba con los equipos de medición de temperatura, conductividad y flujo.

Confirmando que era posible realizar una limpieza con recirculación, se propuso una limpieza y sanitización de 5 pasos, como se describe en la tabla XXVII, en la cual se establecieron parámetros de tiempo, temperatura, concentración y flujo en cada etapa de la limpieza.

Para comprobar que el protocolo propuesto fue efectivo se realizó una liberación inmediata con hisopado de ATP, teniendo un resultado promedio de 10URL, siendo en máximo permisible por la Embotelladora de 25URL. Al tener el resultado aceptable del hisopado, se tomaron muestras de agua del último paso y del producto terminado (bebida carbonatada). Para realizar análisis microbiológicos y tener resultados después de 24 horas, 72 horas y 168 horas dependiendo del microorganismo analizado.

Se utilizó el método de filtración por membrana para analizar las muestras del último paso del protocolo, para determinar la cantidad de colonias de Bacterias Totales, Bacterias *Coliformes*, *Pseudomonas aeruginosa*, Levaduras y Mohos en 100mL de agua. Teniendo resultado promedio de 0,36 UFC/mL de

Bacterias Totales, 0 UFC/mL de Bacterias *Coliformes*, 0 UFC/mL de *Pseudomonas aeruginosa*, 8 UFC/mL de Levaduras y 0,29 UFC/mL de Mohos.

Para las muestras de producto terminado (bebida carbonatada) se esperó mínimo 48 horas para asegurar que los preservantes se estabilizaron, se tomó 100mL de la bebida para analizar por el método de filtración de membrana para Bacterias acidúricas, Levaduras y Mohos. Obteniendo resultados promedio de 0 UFC/mL de Bacterias acidúricas, 2,33 UFC/mL de Levaduras y 0 UFC/mL de mohos.

Al tener los resultados, tanto de agua del último enjuague, como de producto terminado, contra los resultados históricos se observa una disminución en la carga microbiana después de ejecutar el protocolo de limpieza y sanitización del presente trabajo. Se replicó el protocolo por 5 semanas más, para asegurar que los resultados seguían presentando mejoría contra el histórico de planta.

6. LOGROS OBTENIDOS

- Se establecieron los requisitos mínimos, según Tabla V, con los que debe de contar una línea que envase bebidas carbonatadas para poder hacer una limpieza en el lugar CIP con recirculación.
- Con el protocolo de limpieza y saneamiento propuesto se logró tener una disminución en los costos de químicos en un 50 %.
- Se determinó que el agua utilizada en el paso 3 del protocolo de limpieza y saneamiento se puede recuperar y utilizar en la siguiente limpieza como el agua del paso 1. Teniendo un ahorro en agua.
- El personal de Embotelladora La Mariposa, proporcionó valiosa colaboración e información para el desarrollo del presente trabajo de graduación.

CONCLUSIONES

1. Se comprobó que la línea que envasa bebidas carbonatadas cumple con los requisitos mínimos según Tabla V, para tener una limpieza en el lugar (CIP) con recirculación.
2. Se redujo en un 66 % la carga microbiana en las aguas del último enjuague (paso 5 del protocolo); 65 % en Bacterias totales, 48 % en Levaduras y 84 % en Mohos. En comparación con los resultados históricos de la Embotelladora con la limpieza por inundación.
3. Se redujo en un 60 % la carga microbiana en el producto terminado, 78 % en Bacterias acidúricas, 45 % en Levaduras y 56 % en Mohos. En comparación con los resultados históricos de la Embotelladora con la limpieza por inundación.
4. Con el protocolo de limpieza y sanitización propuesto se redujo el tiempo en una 52 %, pasando de un promedio de 3 horas a un promedio de 1 hora con 32 minutos.
5. Con el protocolo de limpieza y sanitización propuesto se redujo el consumo de químicos (AC101 y Vortexx) en un 50 %.
6. Con el protocolo de limpieza y sanitización propuesto se redujo el consumo de agua en un 21 %, pasando de un promedio de 8,835L a 7,000L.

RECOMENDACIONES

1. A partir de los resultados de este trabajo de graduación se recomienda ejecutar el protocolo de limpieza y sanitización propuesto cumpliendo con cada etapa y con los parámetros de temperatura, tiempo, concentración y flujo de cada una de ellas.
2. Asegurar que todo el personal reciba una capacitación anual del nuevo protocolo de limpieza y sanitización y sus parámetros.
3. Evaluar la factibilidad de usar por una tercera o cuarta vez los químicos AC101 y Vortexx con resultados microbiológicos de las aguas de enjuague después de cada limpieza.

BIBLIOGRAFÍA

1. HUI, Yan; BRUINSMA, Bernard; GORHAN, Richard; NIP, Wait-Kit; TONG, Phillip. VENTRESCA, Phil. *Food Plant Sanitation*. Estados Unidos: Marcel Dekker, Inc. 2002. 752 p.
2. JAY, James; LOESSNER, Martin; GOLDEN, David. *Modern Food Microbiology*. 7ª ed. Estados Unidos: Springer US, 2005. 810 p.
3. MARRIOTT, Norman; SCHILLING, Wes; GRAVANI, Robert. *Principles of Food Sanitation*. 6ª ed. Estados Unidos: Springer International Publishing, 2018. 467 p.
4. PELCZAR, Michael; REID, Roger; CHAN E.C.S. *Microbiología*. 4ª ed. México: McGraw-Hill, 1982. 803 p.
5. PERRY Robert; GREEN Don. *Manual del Ingeniero Químico*. 7ª ed. España: McGraw-Hill, 2001. 3166 p.

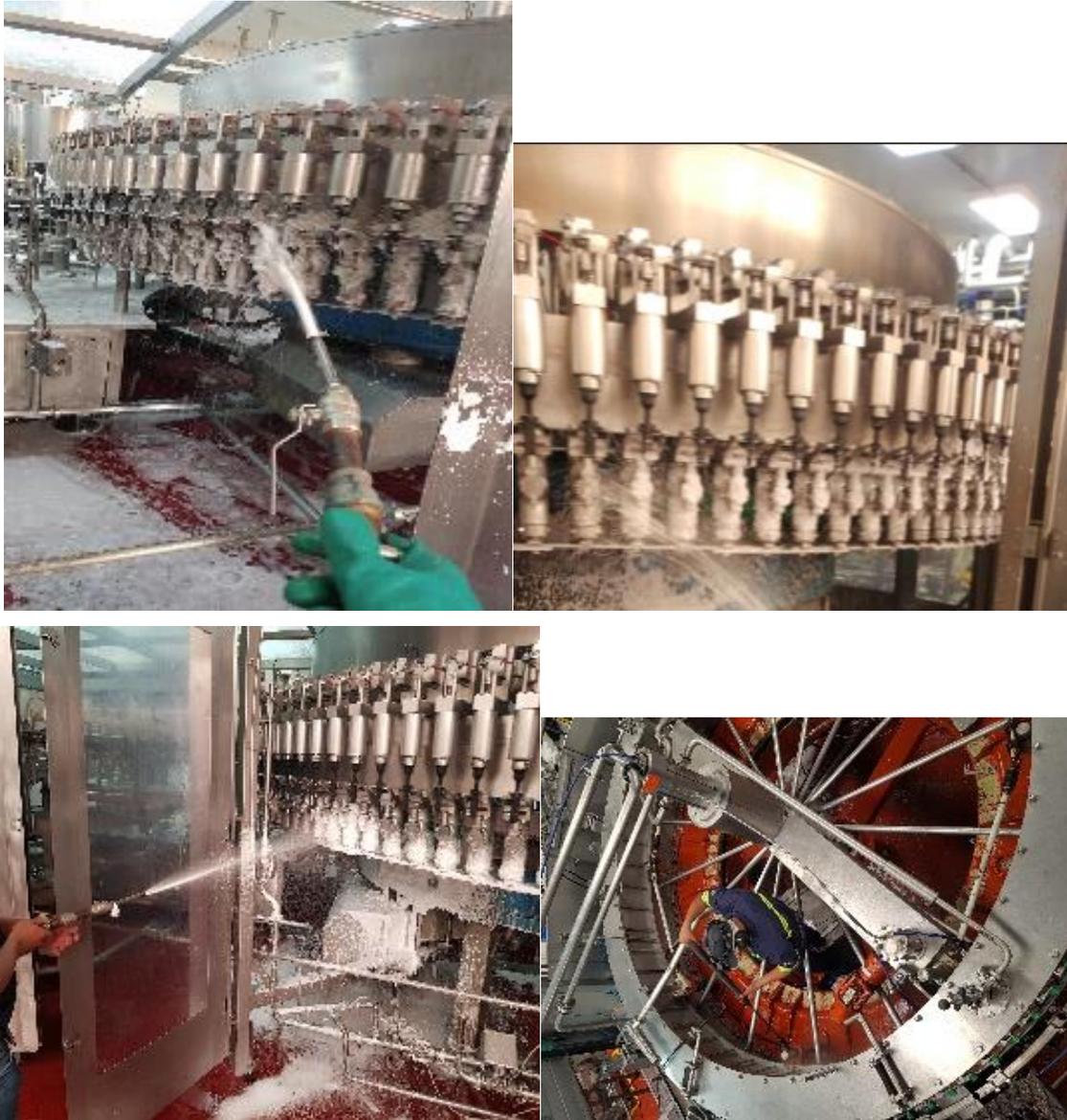
APÉNDICES

Apéndice 1. Fotografía del laboratorio de Microbiología



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 2. **Fotografía de la llenadora**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 3. **Manifold para filtración por membrana**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 4. **Campana de flujo laminar para hacer los análisis**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 5. **Autoclave**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 6. **Muestras de Producto Terminado**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 7. **Incubadora de 25°C**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 8. **Incubadora de 35°C**



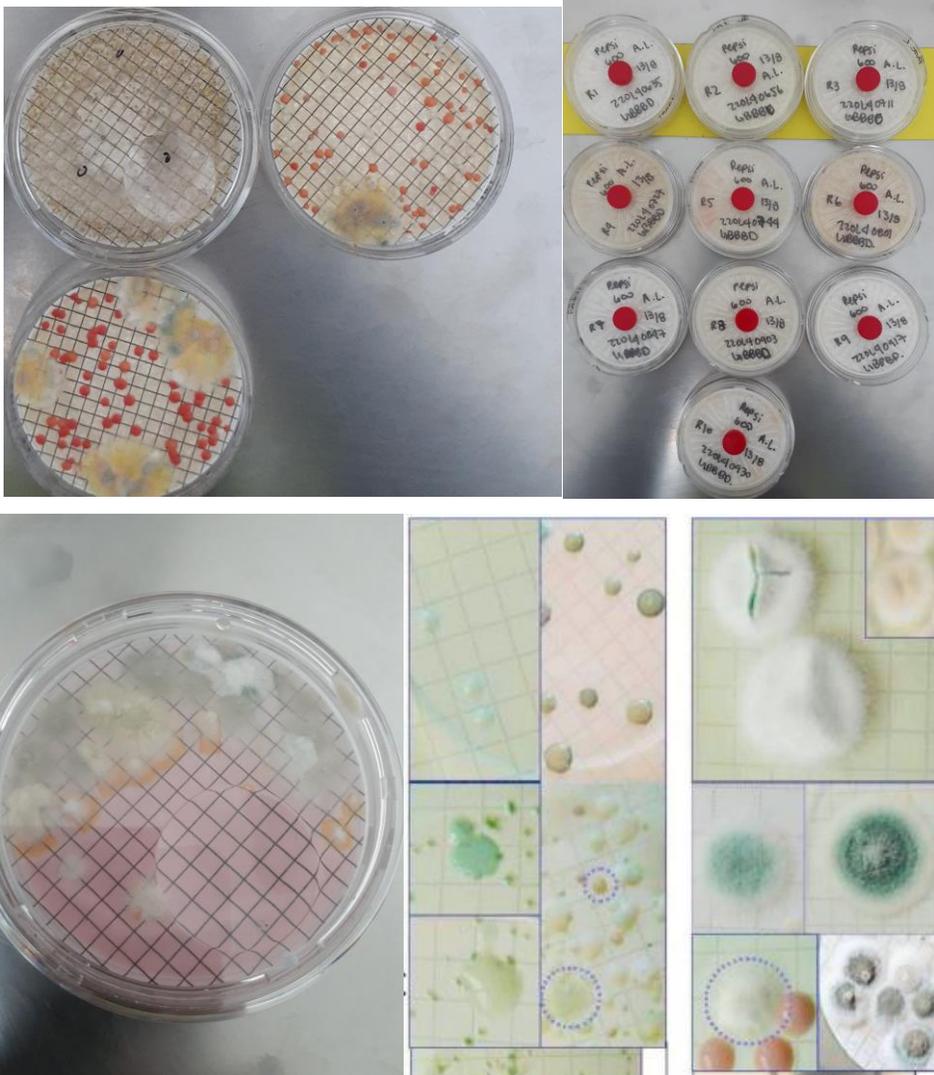
Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 9. **Medios para siembra**



Fuente: Embotelladora La Mariposa.

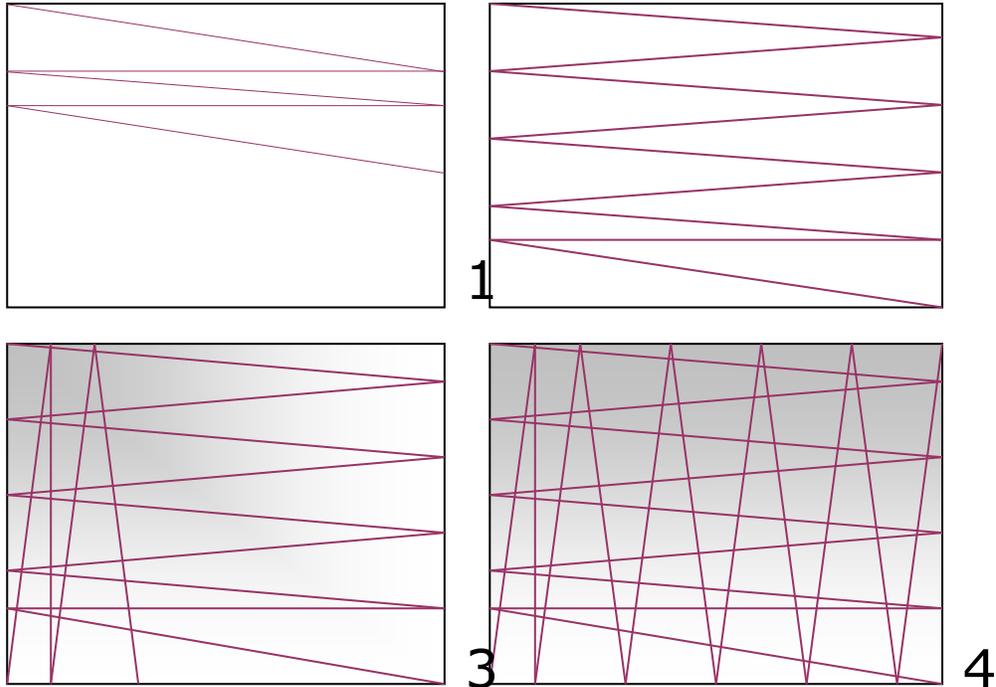
Apéndice 10. **Conteos microbiológicos**



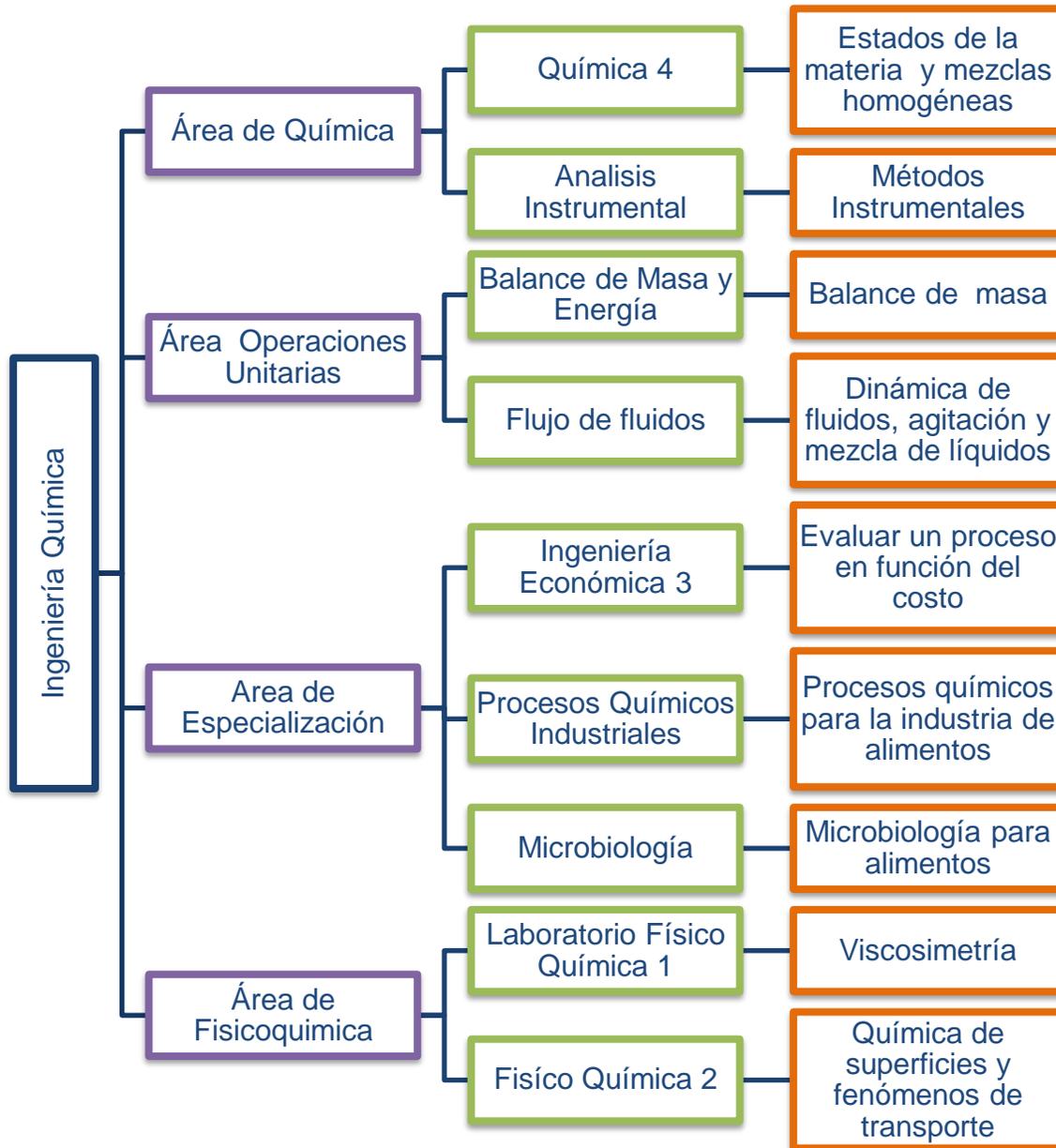
Fuente: Embotelladora La Mariposa.

Apéndice 11.

Hisopado de ATP



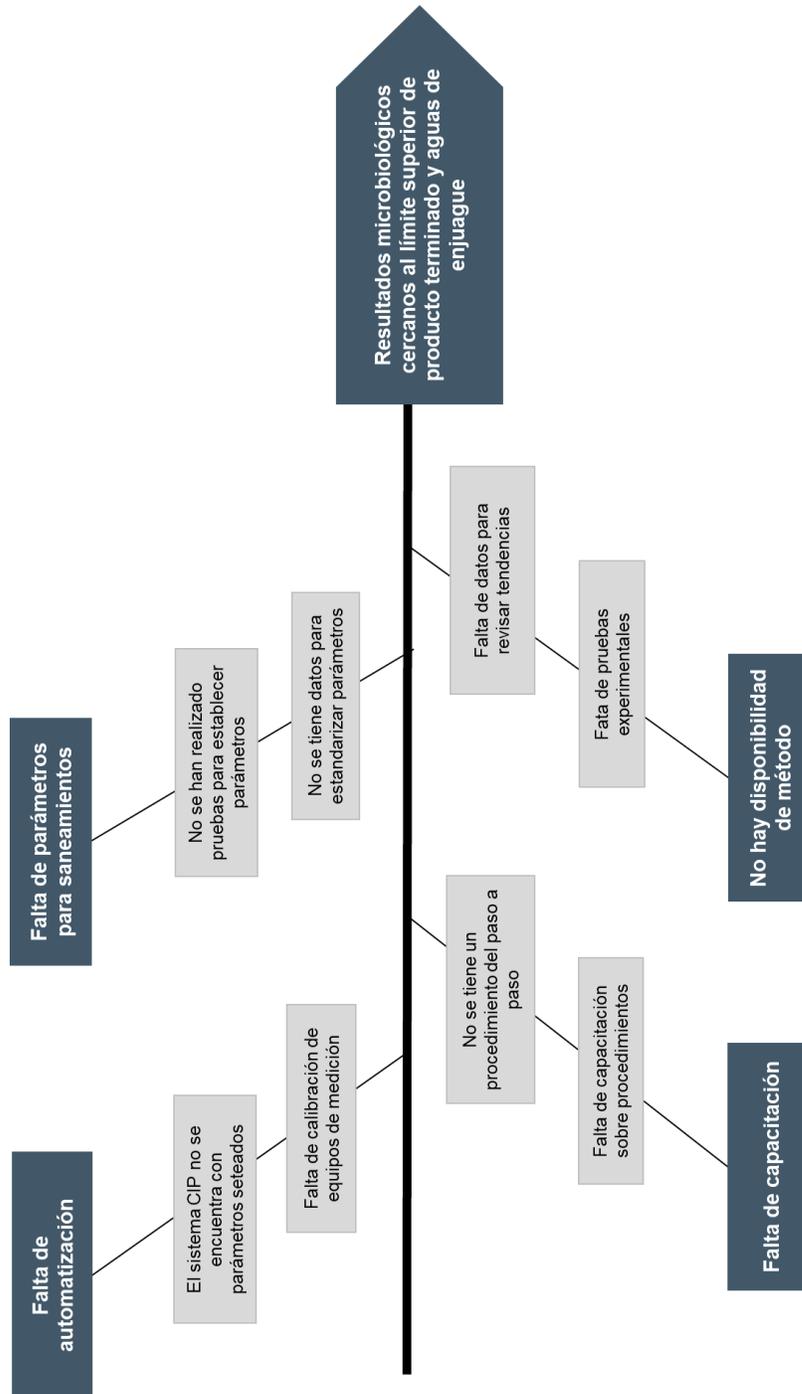
Fuente: Embotelladora La Mariposa.



Fuente: elaboración propia, empleando SmartArt.

Apéndice 13.

Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia, empleando Microsoft Excel.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de seguridad del detergente alcalino (AC 101)

DETERGENTE ALCALINO PESADO PARA LIMPIEZA EN SISTEMAS CIP



AC-101

DESCRIPCION DEL PRODUCTO AC-101 es un detergente alcalino pesado para limpieza en sitio (CIP), aplicaciones de lavado de botellas y limpieza por esprayado.

BENEFICIOS

Efectivo

- ▲ Promueve el Aseguramiento de la Calidad
- ▲ Mejora la calidad del producto terminado y la vida de anaquel cuando se usa en un programa profesional de productos y servicios de Ecolab
- ▲ Mantiene su efectividad aún a altas temperaturas en aplicaciones de limpieza por recirculación o por esprayado
- ▲ Ideal para aplicaciones de lavado de botellas y limpieza en sitio (CIP) de equipos de proceso de cualquier tipo de acero inoxidable
- ▲ Responsable con el Medio Ambiente
- ▲ Su fórmula no contiene Fósforo

Conveniente de Usar

- ▲ Ahorra Tiempo y Dinero
- ▲ Ayuda a eliminar la necesidad de agentes humectantes adicionales – no requiere de mezclas o disoluciones
- ▲ Sus surfactantes especiales de baja espuma proveen una rápida penetración y emulsificación de la suciedad para acelerar las aplicaciones de limpieza
- ▲ Ayuda a Reducir los Costos Totales de Limpieza
- ▲ Producto altamente concentrado que proveen un costo de uso y desempeño óptimos
- ▲ De alto nivel de alcalinidad para un costo de uso económico a las concentraciones de uso recomendadas
- ▲ No corrosivo con el acero inoxidable a las concentraciones de uso recomendadas para ayudar a proteger su inversión en equipo

Continuación del anexo 1.

DETERGENTE ALCALINO PESADO PARA LIMPIEZA EN SISTEMAS CIP

AC-101

PROPIEDADES	Estado Líquido	pH (solución al 1.0%) 12.3-12.7
	Color Claro a amarillo ligero	Alcalinidad:
	Espuma Baja	Activa como Na2O 37.0%
	Densidad Relativa 1.500-1.532	Total como Na2O 37.4%

Las propiedades pueden variar dentro de un rango establecido por ECOLAB; sin que esto afecte el desempeño del producto.
Su fórmula no contiene Fósforo.

DIRECCIONES DE USO	Para preparar una solución de con 1.0% de cáustico activo, mezcle 14 ml de AC-101 por cada litro de agua.
	Para limpieza en Sitio (CIP) de líneas de proceso, utilice 2.8 ml de AC-101 por cada litro de agua. Recircule durante 30–90 min. a una temperatura entre 66–74°C.
	Para limpieza en Sitio (CIP) de tanques de almacenamiento de producto en frío, utilice 2.8 ml de AC-101 por cada litro de agua. Recircule durante 30–90 min. a una temperatura entre 57–60°C.
	Tanques grandes: 8–10 minutos a la misma temperatura
	Tanques pequeños: 8–10 minutos a la misma temperatura
	Tanques horizontales: 8–10 minutos a la misma temperatura
	Silos: 15–20 minutos a la misma temperatura
	Para limpieza en Sitio (CIP) de tinas, utilice 7.0–10.9 ml de AC-101 por cada litro de agua. Recircule durante 30–40 min. a una temperatura de 74°C.
	Para limpieza en Sitio (CIP) de equipos HTST, utilice una solución con 1.0–1.5% de cáustico activo. Adicione de 13.7–20.5 ml de AC-101 por cada litro de agua. Recircule durante 45–60 min. a una temperatura entre 81–82°C.
	Consulte a su representante de Ecolab para instrucciones específicas de uso y equipo dosificador recomendado.
	Para información preventiva y de primeros auxilios, consulte la Hoja de Datos de Seguridad (MSDS) o la etiqueta del producto.

DECLARATORIA DE GARANTÍA	Este producto es efectivo bajo las condiciones de uso especificadas en esta hoja o en los Procedimientos de Operación Estándar de Saneamiento (SSOP). Este producto no adulterará los productos alimenticios siempre y cuando, antes de su uso, los productos alimenticios y materiales de empaque sean retirados del área o sean cuidadosamente protegidos y después del uso de estos componentes, las superficies sean abundantemente enjuagadas con agua potable.
---------------------------------	--

Puede solicitar a su representante de Ecolab una carta de garantía tal y como se indica en la Guía de Desempeño de Saneamiento de la USDA.

POLÍTICA DE SUSTENTABILIDAD DE ECOLAB	Nos hemos comprometido con nuestros clientes a proveerles programas efectivos que les ayude a proteger la salud y seguridad de sus clientes y empleados. Venderemos productos o servicios que maximicen el desempeño, reduzcan el impacto al medio ambiente y que sean seguros de usar. Informaremos a nuestros clientes del impacto ambiental de nuestros productos y servicios, así como el uso correcto de los mismos.
--	---

Sede Mundial
370 Wabasha St. N. St. Paul, MN 55102
www.ecolab.com 1.800.35.CLEAN

© 1997 Ecolab Inc. Derechos Reservados.
Prohibida su distribución en los EE.UU., o Canadá.

Oficinas México
Avenida Industriales No. 28
54730 Parque Industrial. Cuamatla,
Cuautitlán Izcalli, Estado de México
01.800.ECO.2000



Fuente: ECOLAB. *Resultados de AC-101.*

Anexo 2. Ficha de seguridad del sanitizante (Vortexx)

DESINFECTANTE BASE PERÁCIDOS Y PEROXIÁCIDOS LIBRE DE ENJUAGUE



Vortexx

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Vortexx es un desinfectante dual que contiene Ácido Peroxiacético y Ácido Peroxiocetanoico. Esta mezcla de Perácidos permite que pueda ser usado a concentraciones mucho más bajas que los productos de Ácido Peracético con desempeño mejorado contra hongos, levaduras y esporas.

BENEFICIOS

Efectivo

- ▲ Desinfecta a Bajas Temperaturas
- ▲ Efectivo contra muchos microorganismos a temperaturas de 4–40°C lo que reduce los costos de energía cuando se usa a bajas temperaturas. Otros desinfectantes se usan generalmente a una temperatura de 25°C o más. Efectivo contra
- ▲ Bacterias Levaduras Hongos
- ▲ Escherichia Coli Candida Aspergillus
- ▲ Listeria Cryptococcus Aureobasidium
- ▲ Salmonella Hansenula
- ▲ Staphylococcus Saccharomyces
- ▲ Pseudomonas Rhodotorula

Conveniente de Usar

- ▲ Versátil
- ▲ Útil para aplicaciones de esparcido, inmersión, recirculación y limpieza en sitio (CIP)
- ▲ Elimina la necesidad de múltiples desinfectantes
- ▲ No Requiere Enjuague Posterior
- ▲ Elimina el riesgo potencial de contaminación por el agua
- ▲ El equipo se mantiene desinfectado hasta su uso
- ▲ Sus ingredientes activos están aprobados por la FDA como “aditivo indirecto de alimentos” y como desinfectante de superficies de contacto con alimentos
- ▲ Compatible con la Mayoría de los Materiales Usados en Equipos de Proceso
- ▲ No corrosivo con el acero inoxidable de cualquier tipo, Aluminio, Hule y la mayoría de los plásticos a las concentraciones de uso recomendadas
- ▲ Responsable con el Medio Ambiente
- ▲ No contiene Halógenos ni Fosfatos
- ▲ Aprobado por la EPA
- ▲ Biodegradable

Continuación del anexo 2.

DESINFECTANTE BASE PERÁCIDOS Y PEROXIÁCIDOS LIBRE DE ENJUAGUE

Vortexx

PROPIEDADES	Estado Líquido	Espuma Baja
	Color Incoloro	Densidad Relativa 1.082
	Olor Pungente	pH (solución al 1.0%) 2.5

Su fórmula no contiene Fósforo.

DIRECCIONES DE USO Vortexx se recomienda como desinfectante para superficies previamente limpias tales como equipos de proceso, tuberías, tanques, llenadoras, evaporadores, pasteurizadores, equipos de llenado aséptico en las industrias láctea, cerveceras, bebidas, procesadoras de vino y de alimentos. Este producto es efectivo como desinfectante cuando la solución se prepara en aguas de hasta 500 ppm de dureza de agua como CaCO₃.

Antes de desinfectar, enjuague abundantemente las superficies con agua y posteriormente limpie con una solución detergente seguido de un enjuague con agua potable. Desinfecte con Vortexx con una solución a una concentración de 0.13–0.26% V/V. Utilice el método más adecuado al equipo a desinfectar como esparcido, inmersión, espuma o recirculación.

Consulte a su representante de Ecolab para instrucciones específicas de uso y equipo dosificador recomendado.

Para información preventiva y de primeros auxilios, consulte la Hoja de Datos de Seguridad (MSDS) o la etiqueta del producto.

DECLARATORIA DE GARANTÍA Este producto es efectivo bajo las condiciones de uso especificadas en esta hoja o en los Procedimientos de Operación Estándar de Saneamiento (SSOP). Este producto no adulterará los productos alimenticios siempre y cuando, antes de su uso, los productos alimenticios y materiales de empaque sean retirados del área o sean cuidadosamente protegidos y después del uso de estos componentes, las superficies sean abundantemente enjuagadas con agua potable.

Puede solicitar a su representante de Ecolab una carta de garantía tal y como se indica en la Guía de Desempeño de Saneamiento de la USDA.

POLÍTICA DE SUSTENTABILIDAD DE ECOLAB Nos hemos comprometido con nuestros clientes a proveerles programas efectivos que les ayude a proteger la salud y seguridad de sus clientes y empleados. Venderemos productos o servicios que maximicen el desempeño, reduzcan el impacto al medio ambiente y que sean seguros de usar. Informaremos a nuestros clientes del impacto ambiental de nuestros productos y servicios, así como el uso correcto de los mismos.

Sede Mundial
370 Wabasha St. N St. Paul, MN 55102
www.ecolab.com 1.800.35.CLEAN

© 1997 Ecolab Inc. Derechos Reservados.
Prohibida su distribución en los EE.UU., o Canadá.

Oficinas México
Avenida Industriales No. 28
54730 Parque. Industrial. Cuamatla,
Cuautitlán Izcalli, Estado de México
01.800.ECO.2000



Fuente: ECOLAB. *Resultados de Vortexx.*

Anexo 3. Ficha de seguridad de medio de cultivo para Coliformes MI



MI Broth, 2 mL (6510)

Intended Use

Ampouled MI Broth, 2 mL is used for the detection of Total Coliforms and *E. coli* in water testing using the membrane filtration method.

Product Summary and Explanation

Ampouled MI Broth, 2 mL is a prepared, ready to use medium for membrane filtration testing for the detection of Total Coliforms and *E. coli*, following the EPA approved method for drinking water.¹ This test method describes a sensitive and differential membrane filter medium for the concurrent detection and enumeration of Total Coliforms and *E. coli* in water samples in 24 hours or less, dependent upon the enzyme activity. Total Coliforms include species that may inhabit the intestines of warm-blooded animals or occur naturally in soil, vegetation, and water. They are usually found in fecal-polluted water and are often associated with disease outbreaks. The Total Coliform test is the primary indicator of bacteriological quality for potable water, distribution system water, and public water supplies because it is a larger measure of pollution than the Fecal Coliform Test.^{2,3}

This EPA Method (1604)¹ is used mainly by certified drinking water laboratories for the microbial analysis of potable water. The bacterial colonies that grow on the plate are inspected for the presence of a blue color from the breakdown of IBDG by the *E. coli* enzyme β -glucuronidase and fluorescence under long wave ultraviolet light (366 nm) from the breakdown of MUGal by the Total Coliform enzyme β -galactosidase.¹

Principles of the Procedure

Enzymatic Digest of Animal Tissue is the nitrogen source in MI Broth. Yeast Extract supplies vitamins, and Lactose is the carbon energy source. Sodium Chloride maintains the osmotic balance of the medium, while Potassium Phosphates are used as buffers. Sodium Lauryl Sulfate and Sodium Deoxycholate are selective agents to inhibit non-coliform bacteria and Gram-positive organisms. The two enzyme substrates are 4-Methylumbelliferyl- β -D-galactopyranoside (MUGal, fluorogen) and Indoxyl- β -D-glucuronide, (chromogen) used for the detection of the enzymes β -galactosidase and β -glucuronidase for Total Coliforms and *E. coli* respectively. *E. coli* and the coliforms produce the enzyme galactosidase that hydrolyzes MUGal to yield a fluorogenic product that is detectable under long-wave (366 nm) UV light. *E. coli* produces glucuronidase that hydrolyses the IBDG and allows deposition of the chromogen in the colonies, forming blue colonies. A positive reaction for *E. coli* is a blue colony which fluoresces under long wavelength UV light.

Medium Composition:

	Per Liter
Enzymatic Digest of Animal Tissue.....	5.0 g
Yeast Extract.....	3.0 g
Lactose	1.0 g
Sodium Chloride	7.5 g
Potassium Phosphate, Monobasic	1.0 g
Potassium Phosphate, Dibasic	3.3 g
Sodium Lauryl Sulfate.....	0.2 g
Sodium Deoxycholate	0.1 g
Indoxyl-Beta-d-Glucuronide Cyclohexylammonium Salt (IBDG).....	0.32 g
4-Methylumbelliferyl-Beta-d-Galactopyranoside (MUGal).....	0.1 g
Cefsulodin	0.005 g

Physical Characteristics

Appearance of medium: Trace to slightly hazy, light amber
pH at 25°C: 7.05 \pm 0.2

Test Procedure

Preparation

1. Assemble the manifold or filtration flask that will supply the vacuum source, complete with rubber stopper.

PI-6510 Rev 5, April 2015

Continuación del anexo 3.



Ampouled Media

2. Using a gentle twisting motion, secure the funnel adapter into the rubber stopper.
3. Using the same gentle twisting motion, secure the Neogen Filter onto the funnel adapter.

Filtration Procedure

1. Remove filtration cover and carefully pour the sample onto the filter.
2. Apply vacuum just long enough to pull the sample through the filter (if using a manifold, open only one valve at a time.)
3. Rinse the inside walls of the filter funnel with approximately 20 mL of sterile buffered solution. Apply vacuum just long enough to pull the solution through the filter, and turn off vacuum. Note: This step is optional if only water is being tested.
4. Briefly remove the filter and its funnel adapter from the rubber stopper to release any remaining vacuum pressure, and then re-secure into the stopper.
5. Add the MI-Broth onto the top of the filter. When doing so, be careful not to touch the filter with the tip of the ampoule.
6. Very briefly apply vacuum so that the media does not pool on top of the filter, and is visible underneath the filter. (Note: The media has been soaked correctly into the filter if there is a small pocket of air around the bottom port. The filter should be moist, but not oversaturated or dry.)
7. Remove and appropriately discard the plastic funnel. Place the filtration system cover over the filter/base assembly converting the unit to a Petri dish for sample incubation.
8. Remove the filter from the funnel adapter, and place a plug on the open bottom port.
9. Place the filtration plate into the incubator inverted so that the cover is on the bottom, and incubate at $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Read and record results after 18 – 24 hours.
10. Dispose of test materials in accordance with all applicable local, state, and federal regulations.

Expected Cultural Response:

Sterile water was added to sterile filtration units and inoculated with the cultures listed below. The inoculum was filtered followed by the ampouled MI Broth and the filtration housing removed. Plates were incubated aerobically at $35 \pm 2^\circ\text{C}$ and examined for growth at 18 – 24 hours.

Microorganism	Approx. Inoculum (CFU)	Expected Results	
		Growth (Chromagen)	Fluorescence (MUG)
Uninoculated Media	NA	No Growth	NA
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966	10 - 300	Suppressed to Inhibited	Negative
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	10 - 300	≥ 85% recovery, white to clear colonies	Positive
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	10 - 300	≥ 85% recovery, yellow to clear colonies	Positive
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10 - 300	Suppressed to Inhibited	Negative
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 - 300	≥ 85% recovery, blue colonies	Positive
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	10 - 300	≥ 85% recovery, blue colonies	Positive
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 13883	10 - 300	≥ 85% recovery, yellow to clear colonies	Positive
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	10 - 300	Suppressed to Inhibited	Negative
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	10 - 300	Suppressed to Inhibited	Negative

Continuación del anexo 3.



Ampouled Media

Results¹
In this method, Total Coliforms are those bacteria that produce fluorescent colonies upon exposure to long wave ultraviolet light and primary culturing on MI Broth. The fluorescent colonies can be completely blue-white (Total Coliforms other than *E. coli*) or blue-green (*E. coli*) in color or fluorescent halos may be observed around the edges of the blue-green *E. coli* colonies. In addition, non-fluorescent blue colonies, which rarely occur, are added to the total count because the fluorescence is masked by the blue color from the breakdown of IBDG.

E. coli Count
Count all blue colonies on each MI plate under normal/ambient light; record results. This is the *E. coli* count. Note: Positive results that occur in less than 24 hours are valid, but the results cannot be recorded as negative until the 24 hour incubation period is complete.

Total Coliform Count
Expose each MI plate to long wave ultraviolet light (366 nm); count all fluorescent colonies.

E. coli = colonies fluoresce blue/green and/or fluoresce blue/green with fluorescent edges.
Total Coliforms (other than *E. coli*) = fluoresce blue/white, and/or any blue, non-fluorescent colonies are considered Total Coliforms. These colonies should be added to the Total Coliform count.

Storage
Store Ampouled MI Broth, 2 mL at 2 - 8 °C.

Expiration
Refer to expiration date printed on the front of the box container.

Limitations of the Procedure¹

1. Analyze sample as soon as possible after collection.
2. Samples containing colloidal or suspended particulate material can clog the membrane filter, thereby prevent filtration, or cause spreading of bacterial colonies which could interfere with colony identification.
3. Tiny, flat or peaked pinpoint blue colonies may be due to species other than *E. coli*. These colonies occur occasionally in low numbers and should be excluded from the count of the *E. coli* colonies, which are much larger in size (1 – 3 mm in diameter).
4. Bright green, fluorescent, non-blue colonies, observed along with the typical blue/white or blue-green fluorescent Total Coliform colonies may be species other than coliforms. These colonies, which generally occur in low numbers, can usually be distinguished from Total Coliform colonies.

Packaging

MI Broth, 2 mL	Code No.	6510	Box of 50
Neogen Filter "White"	Code No.	6550	Box of 50
Neogen Filter "Black"	Code No.	6555	Box of 50

References

1. U. S. Environmental Protection Agency. 2002. Method 1604: Total coliforms and *Escherichia coli* in water by membrane filtration using a simultaneous detection technique (MI Medium). EPA- 821-R-02-024. Office of Water. Washington DC, 20460.
2. U. S. Environmental Protection Agency. 2007. R9 Laboratory SOP1101. Membrane filtration coliform analysis.
3. U. S. Environmental Protection Agency. 1992. Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water. EPA-814B-92-002. Office of Ground Water and Technical Support Division, U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.

Technical Information
Contact Neogen Corporation for Technical Service or questions involving Ampouled Media at (517)372-9200 or (800)-234-5333 or fax us at (517)372-2006.



620 Leshler Place, Lansing MI 48912
517/372-9200 • 800/783-3212 • fax: 800/875-8563
neogen-info@neogen.com • www.neogen.com

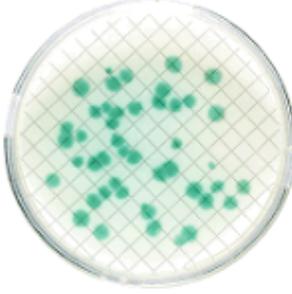
PI-8510 Rev 5, April 2015

Fuente: NEOGEN CORPORATION. *MI Broth, 2ml (6510)*. p. 1-3.

Anexo 4.

Ficha de seguridad medio de cultivo para *Pseudomonas*

Pseudomonas Selective Broth

Catalogue Number:	MHA0 00P 2P	
Status:	Active	
Comment:		
Target Organisms:	Pseudomonas Species	
Abbreviation:	Pseudomonas Selective	
50/Pk		<p>Alternative media: only for Milliflex users in milliflex prefilled agar cassette, also for Pseudomonas species MXSMPIA48 : Notes Link in Milliflex prefilled agar cassette, more specific for <i>P. aeruginosa</i> (some species of <i>Pseudomonas</i> may not grow on it) : MXSMCET24 Notes Link and MXSMCET48 Notes Link</p>
Applications:		
Market Application:	Pharmaceutical, cosmetic, diagnostic, biotechnology, environmental	
Use Application:	Selective media for Pseudomonas. Inhibits other bacteria The concentration of the cetrimide enables growth of pigmented and non pigmented psychrophile Pseudomonas. The presence of fucidine and cefaloridine gives better selectivity for Pseudomonas species.	
Protocols:		
Applicable Device:	MF-method, EZ FIT, Microfil, Milliflex, MicropreSure, MicropreSure Monitor, Microfil S, Microfil V, Monitor 55	
Incubation Time:	24 Hours	
Incubation Temperature:	35 °C	
Regulatory Conformance:		
Organism Appearance:	All growth on this medium indicate the presence of Pseudomonas species. Colonies that are blue green or brownish or show fluorescence are presumptive <i>P. aeruginosa</i> . Further tests should be done to confirm this ID	

Technical Specifications

Fuente: Resultados de laboratorio. Embotelladora La Mariposa.