



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS



SÉPTIMO SEMINARIO DE GRADUACIÓN

**“GESTION INTEGRADA DE LA CALIDAD,
EL MEDIO AMBIENTE, AMBITO EMPRESARIAL Y DE
PROYECTOS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS”**

**Perfil de Proyecto de Investigación Previo a la Obtención del Título de
Ingeniera en Alimentos**

**“Estudio de la contaminación de bebidas gaseosas envasadas
en PET causadas por mohos y levaduras en la empresa
Ajecuator”.**

Autor:

Priscilla Ivette Bermudez Cuzo

Tutor:

Ing Gladys Navas

AMBATO – ECUADOR

2007



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS



CERTIFICADO DE RESPALDO

En mi calidad de Docente de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

CERTIFICO:

Que he colaborado como Tutor del Perfil de Proyecto de Investigación del tema:
“Estudio de la contaminación de bebidas gaseosas envasadas en PET causadas por mohos y levaduras en la empresa Ajecuator”

De la egresada: Señorita Priscilla Bermudez Cuzo

Ambato diciembre 11, 2007

ING. Gladys Navas Miño
DOCENTE TUTOR FCIAL

Autoría del perfil

El perfil de proyecto “Estudio de la contaminación de bebidas gaseosas envasadas en PET causadas por mohos y levaduras en la empresa Ajecuador” fue realizado por investigación bibliográfica exclusiva del parte del investigador, declarando la responsabilidad de lo expuesto.

Ambato, 11 de Diciembre 2007

Priscilla Bermudez Cuzo
CI: 091830298-5



DEDICATORIA

A mis padres Ángel y Rosa por todo su amor, apoyo espiritual y moral.

A mis hermanos Tito, Rubén y Paúl, por su compañía y preocupación permanente.

A mis sobrinos Timothy, Sarahi, y Paula, por brindar alegría con su inocencia.

AGRADECIMIENTO

A Dios, Ser Supremo que nunca me abandona

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por la oportunidad de reforzar mis conocimientos académicos y permitir conocer a profesores y alumnos que llevo en mi corazón.

A la Ing Gladys Navas, por su apoyo constante y guía en el presente trabajo.

ÍNDICE

Introducción.....	1
-------------------	---

CAPITULO 1. EL PROBLEMA

1.1 Tema.....	2
1.2. Planteamiento del problema	
1.2.1 Contextualización.....	2
1.2.1.1 Macro.....	2
1.2.1.2 Meso.....	3
1.2.1.3 Micro.....	3
1.3 Análisis Crítico del problema.....	4
1.4. Prognosis.....	6
1.5. Formulación del problema.....	6
1.6. Delimitación del objeto de investigación.....	6
1.7. Justificación de la investigación.....	7
1.8 Objetivos de la investigación.....	8

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos.....	9
2.2. Fundamentación	10
2.2.1. Fundamentación teórica.....	10
2.2.2. Fundamentación Legal.....	15
2.2.3. Fundamentación Ambiental.....	15
2.3. Categorías fundamentales	
2.3.1 Términos básicos.....	17
2.3.2. Súper ordenación conceptual.....	20
2.3.2. Sub ordenación conceptual.....	21

2.4. Hipótesis (variables independientes y dependiente).....	22
--	----

CAPITULO III. METODOLOGIA

3.1. Enfoque.....	23
3.2 Modalidades y tipos de investigación.....	23
3.3 Métodos y técnicas de Investigación.....	23
3.4. Población y muestra.....	24
3.5. Operacionalización de variables.....	25
3.6 Recolección de la información.....	27
3.7 Procesamiento y análisis de la información.....	27

CAPITULO IV. MARCO ADMINISTRATIVO

4.1 Cronograma de actividades.....	28
4.2 Recursos.....	28

CAPITULO V. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

5.1 Análisis de los resultados.....	30
5.2 Interpretación de datos.....	32
5.3. Verificación de la hipótesis.....	36

CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones.....	41
6.2. Recomendaciones.....	42

Bibliografía.....	49
-------------------	----

ANEXOS

Anexo A1 INEN Requisitos de las bebidas gaseosas.....	53
Anexo A2 INEN Determinación de Coliformes en bebidas gaseosas.....	58
Anexo A3 INEN Contaje de levadura y Hongo en bebidas gaseosas.....	62
Anexo A4 INEN Muestreo de las bebidas gaseosas.....	67

RESUMEN

El principal objetivo de la investigación es establecer los causantes de la contaminación por mohos y levaduras en las bebidas gaseosas, para esto se debe tener un historial (mediante auditorias internas) para determinar cuales son las áreas

en donde los parámetros microbiológicos en relación a mohos y levaduras son mayores.

Cuando se conoce que etapas están mas sensibles a las contaminaciones se especifica en que etapas de producción, en este caso se presentaron en dos áreas la de envasado (capsulado) y en la preparación de jarabe (tanque de almacenamiento), esto se verificó con los resultados microbiológicos realizados (mohos y levaduras).

Después de analizar esta circunstancia se propone un plan de Sistema HACCP como medida de prevención de la contaminación en la planta procesadora de bebidas gaseosas envasadas en PET para evitar futuras contaminaciones, que perjudican principalmente a los consumidores y también la imagen de la empresa. Para lo cual se especifica la línea de producto en donde se lo va a implementar, se establece luego un diagrama de flujo del proceso de elaboración, para realizar cada uno de los siete principios establecidos por el sistema HACCP.

INTRODUCCIÓN

La demanda de bebidas gaseosas en nuestro país cada vez es mas grande y los precios varían dependiendo la marca de cada producto es por esto que el consumidor tiene mas variedad de productos a elegir siendo él al final el que decide el éxito de una empresa que produce dichos bienes.

Las bebidas carbónicas o gaseosas son una consecuencia de los ensayos para producir aguas efervescentes semejantes a las de las fuentes naturales. Al cabo de algún tiempo se les agregaron saborizantes, y de ahí nacieron las diversas aguas y bebidas gaseosas, que son esencialmente agua con dióxido de carbono a la que se ha añadido azúcar y algún ácido , una materia colorante y un agente de sabor. Para que se conserve el gas, se envasa la bebida gaseosa en recipiente herméticamente cerrado. Años atrás la bebida era envasada en material de vidrio actualmente son mucho más prácticos los envases de plástico, ya que son más livianos.

Los nombres de bebidas gaseosas varían según el país donde se consuman; así por ejemplo las bebidas gaseosas en Colombia son nombradas simplemente como gaseosas, en México refrescos, en Ecuador cola y en Panamá soda

En el presente estudio, se analizara principalmente el motivo de contaminación por mohos y levaduras del producto terminado que conllevó a devoluciones en el presente año a una empresa embotelladora en particular, por lo que se procedió a una inspección exhaustiva en el proceso, con el inicio de auditorias internas para identificar los puntos de contaminación, hasta obtener las principales causas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 Tema:

Estudio de la Contaminación de Bebidas Gaseosas Envasadas en PET Causadas por Mohos y Levaduras en la empresa Ajecuator

1.2 Planteamiento del problema

1.2.1 Contextualización

1.2.1.1 Macro

En 1832 comenzó la producción de bebidas gaseosas en Nueva York, con la creación de una máquina que mezclaba agua con gas extraído de dióxido de carbón; poco tiempo después al agregarle sabores de limón, uva y naranja surgieron las primeras bebidas gaseosas como las conocemos actualmente.

El desarrollo de estas bebidas estuvo dado por diferentes farmacéutas que agregaban nuevos sabores a la mezcla, de hecho la Dr Pepper, creada en 1885 es una gaseosa que aún se comercializa con éxito en los Estados Unidos.

A finales del siglo XIX también surge la que hasta la actualidad es la bebida más famosa del mundo, la Coca Cola como es sabido, una serie de ingredientes que hasta el momento permanecen como uno de los secretos mejor guardados del mundo. Se estima que, en la actualidad, Coca-Cola controla un 50% del mercado mundial de gaseosas, realizando un 70% de sus ventas fuera de los EEUU (territorio en el que continúa siendo la marca más vendida, pese a que en el 2002 sus ventas registraron una baja del 2%).

La competencia de bebidas gaseosas creció con el nuevo siglo y se diversificó en el momento en que se creó una fábrica de botellas de bebidas gaseosas, basada en el invento que revolucionaría el comercio en el mundo en materia de líquidos, una

fórmula para tapar herméticamente las botellas de vidrio; actualmente son mucho más prácticos los envases de plástico, ya que son más livianos.

1.2.1.2 Meso

El mercado de las gaseosas, que mueve \$10,6 millones mensuales en el Ecuador, es disputado palmo a palmo por cuatro embotelladoras, aunque el consumidor mantiene su preferencia por las colas negras (tradicionales).

Las cuatro embotelladoras dominan el mercado ecuatoriano de gaseosas. Son: Ecuador Bottling Company, que distribuye la marca Coca Cola; International and Ecuatoriana de Refrescos (Pepsi); Embotelladores Nacionales (Embona), que comercializa las marcas Tropical, Manzana y Crush, y Ajecuador con las marcas de bajo presupuesto como la Big Cola y la KR.

Son más de 15 marcas que se disputan el mercado. Las de Ecuador Bottling son Coca Cola, Coca Cola Light, Fioravanti, Fanta, Sprite e Inca Kola, que tiene tres colores: amarilla, rosada y anaranjada.

1.2.1.3 Micro

En pocos años, la empresa Ajecuador logró captar el 14% del mercado y ha obligado a Bottling Company (EBC, la embotelladora de Coca Cola) y a International and Ecuatoriana de Refrescos (que produce Pepsi en el país) a sacar productos que puedan competir con las "B-Brands" (marcas de bajo presupuesto).

Ajecuador, productora de marcas como Big Cola renovó el mercado al diversificar e incursionar con otros productos. La gaseosa de esta empresa, cuyas ventas representan un alto índice de su facturación, ahora viene en sabores. Ajecuador introdujo cuatro sabores en su marca Big Cola: manzana, naranja, lima-limón y fresa.

1.3 Análisis crítico del problema:

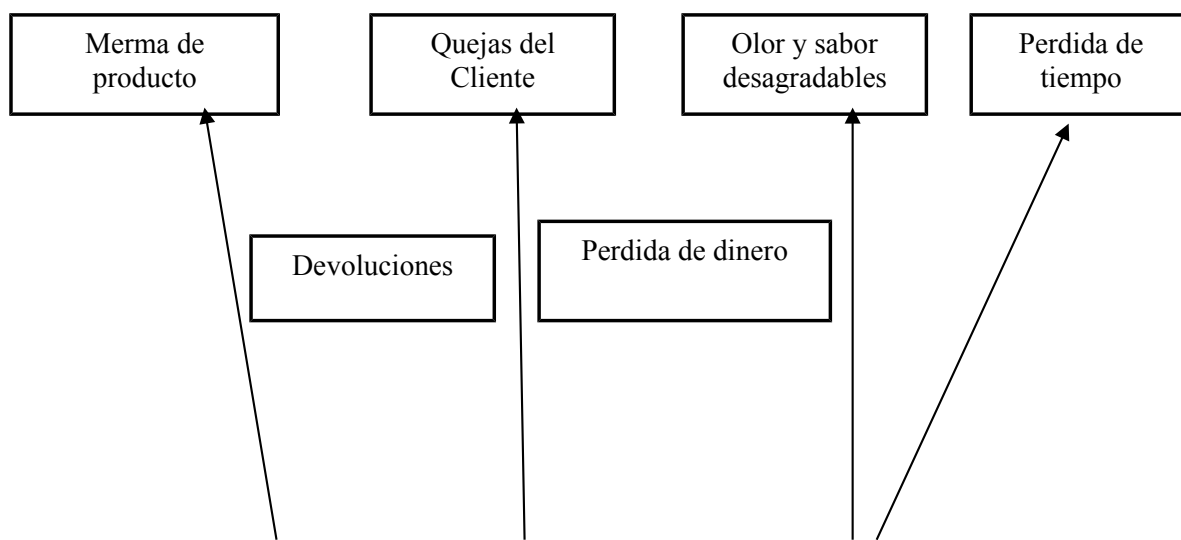
Debido al creciente mercado de las bebidas gaseosas en el país, es indispensable tomar en consideración que la producción de las mismas debe ser sometida a un estricto control de calidad, sin embargo cuando se lanzan nuevos productos y se emplean maquinarias nuevas se corre el riesgo de no tener un control apropiado en las primeras instancias, no llevando a cabo las pruebas necesarias para determinar que el proceso esta optimo para empezar.

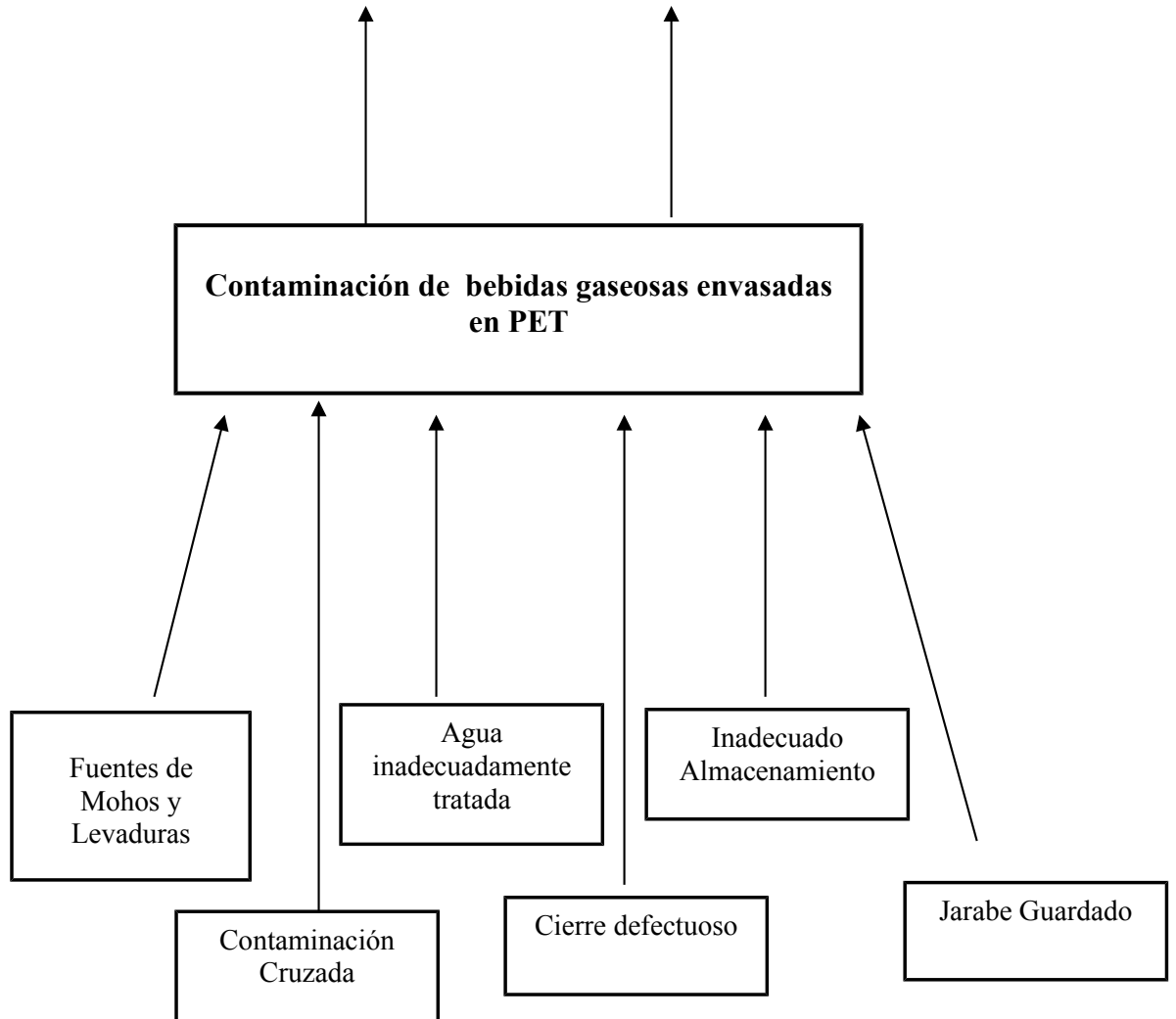
Esto puede generar alteraciones en la obtención del producto final lo que conlleva a devoluciones del mismo por contaminación, por esto es necesario establecer las causas principales que motivan dicha contaminación.

Aplicados correctamente, los criterios microbiológicos son una útil herramienta para garantizar la seguridad y calidad de los productos, que a su vez aumentan la confianza del consumidor. Los criterios ofrecen a la industria y organismos reguladores unas directrices para controlar los sistemas de procesado y si éstos son aceptados internacionalmente, pueden aceptar el libre comercio, mediante el establecimiento de normas para los requerimientos en calidad y seguridad. Pueden usarse para formular requisitos de diseño de equipos de fábricas y para indicar el estado de las materias primas y los productos terminados en cualquier fase de la cadena de producción.

En el caso de la empresa Ajecuator en el momento que se evidencio la contaminación de su producto específicamente cola first lima limón en presentación de 1500cm³, se realizo una inspección para determinar las causas principales que pueden originar este problema que conlleva a una serie de efectos negativos.

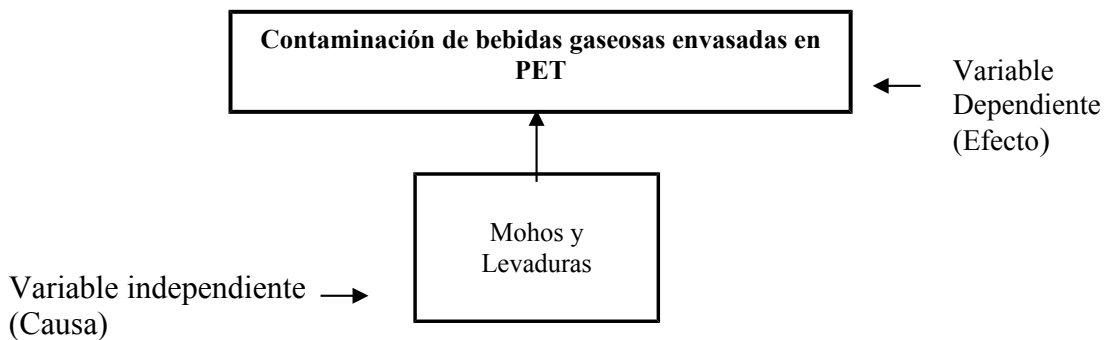
1.3.1 Árbol de Problemas





1.3.2 Relación Causa-Efecto

La relación causa-efecto esta dada por las variables independiente y dependiente, en ocasiones el problema pasa a ser la variable dependiente porque es el efecto inmediato de la causa.



1.4 Prognosis:

En el caso de no realizar una investigación a fondo del problema planteado, no se permitirá conocer cuales son los factores que inciden para que se presente la contaminación por mohos y levaduras en el producto final., y por ende se corre el riesgo de que la empresa tenga devoluciones de su producto, causando graves pérdidas económicas a la empresa, afectando la imagen, y sobretodo produciendo un efecto negativo en la salud de los consumidores.

1.5 Formulación del problema

¿Es la contaminación de bebidas gaseosas envasadas en PET causadas por mohos y levaduras en la empresa Ajecuator en la ciudad de Guayaquil en el periodo abril- noviembre 2007?

1.5.1 Variables Independientes: Mohos y levaduras

1.5.2 Variables Dependientes: Contaminación de bebidas gaseosas

1.6 Delimitación del objeto de investigación

1.6.1 Delimitación Espacial: Esta investigación se va a realizar en la empresa Ajecuator en la ciudad de Guayaquil provincia del Guayas.

1.6.2 Delimitación Temporal: Esta investigación va a ser estudiada en el periodo abril-noviembre del 2007

1.7 Justificación de la investigación:

Durante todo el proceso de embotellado de las bebidas gaseosas, debe llevarse diversos controles de calidad; que permitan conocer, desde la calidad del lavado del envase hasta la apariencia y conservación del producto final. . Existen diversos controles de calidad, rendimientos y capacidad del proceso; de esta manera, se identifican las causas de los efectos negativos ocurridos en un periodo determinado; durante el proceso productivo.

Así mismo el control de mermas de producción en forma específica y minuciosa se hace indispensable; puesto que, permite tomar las acciones correctivas en el momento indicado si fuere necesario, para lograr resultados que no excedan los establecidos para cada producto o proceso.

El caso del presente estudio es sobre la devolución inmediata de algunos lotes de la bebida gaseosa first sabor limón en presentación de 1.5 litros, por presunta contaminación por lo que fue necesaria una auditoria para determinar las principales causales de dichas contaminaciones. Para esto la empresa realizó un trabajo en conjunto con el departamento de Calidad y Producción para detectar la falla principal de determinadas contaminaciones, con el fin de optimizar el proceso.

La multiplicación de microorganismos puede ser causa de que en la bebida gaseosa se forme nata, nebulosidad, sedimento, etc. Las bebidas gaseosas debidamente preparadas no fomentan la multiplicación de bacterias, pues al desarrollo de éstas se oponen el gas carbónico y el ácido del líquido.

El acedamiento o fermentación de bebidas gaseosas es debido a la multiplicación de levaduras, que se alimentan del azúcar y se calcula son la causa del 90% de la inutilización de las bebidas gaseosas. Las poco ácidas o que no contiene poco gas o no lo contienen son más susceptibles, pues los ácidos inhiben su desarrollo. Las que se preparan con agua muy alcalina fermentan fácilmente a la causa de la neutralización del ácido.

1.8 Objetivos de la investigación:

1.8.1 Objetivo General

1.8.1 Estudiar la causa de contaminación con mohos y levaduras de bebidas gaseosas envasadas en PET

1.8.2 Objetivos Específicos

1.8.2.1 Realizar análisis microbiológicos que permitan el contaje de mohos y levaduras en forma periódica para evitar contaminación de bebidas gaseosas

1.8.2.2 Identificar las causas que provocan la presencia de los mohos y levaduras en las bebidas gaseosas envasadas en PET para eliminar su presencia durante el proceso de elaboración.

1.8.2.3 Proponer un plan de Sistema HACCP como medida de prevención de la contaminación en la planta procesadora de bebidas gaseosas envasadas en PET (Ajecuator).

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes investigativos

En la actualidad debido al incremento de consumo masivo de bebidas gaseosas en diferentes sabores, no se conoce con exactitud el desarrollo interno de las empresas embotelladoras con respecto a contaminaciones.

A nivel mundial se conocen casos de contaminaciones de los productos finales, entre los cuales tenemos:

Quiñonero Fernández Antonio (2007) escribió sobre la contaminación de la coca cola en www.lacomunidad.elpais.com/responsabilidadsocial/2007/10/28/coca-cola-india. El hecho desencadenante de la campaña contra Coca-Cola India se produjo el 5 de agosto de 2003 cuando la ONG local CSE publicó un informe en el que exponía que 12 marcas de bebidas gaseosas de las compañías Coca-Cola India y Pepsico, vendidas en la ciudad de Delhi, capital administrativa de la India, y sus alrededores contenían unos altísimos niveles de pesticidas. En concreto, estos niveles eran entre 30 y 36 veces superiores a lo permitido en la Unión Europea. El consumo de los pesticidas encontrados podría provocar la aparición de enfermedades tales como cáncer, defectos en recién nacidos, afectar al sistema nervioso y reproductor y otros males. El anuncio de CSE tuvo una gran repercusión a nivel internacional ya que el canal de noticias BBC hizo eco de esta noticia en su edición digital

Al día siguiente, el Parlamento de la India decidió prohibir la venta de productos de las compañías Coca-Cola y Pepsico y el Gobierno abrió una investigación sobre el informe de CSE pidiendo al Ministerio de Alimentos un detallado estudio sobre el mismo y sus conclusiones.

E. G. Ancasi, y L. Carrillo (2006) en la *Revista Argentina de Microbiología*. Vol.38 No.2 Jan./Apr., Realizaron un estudio sobre la aparición esporádica de alteraciones en algunos envases dentro de lotes de aguas carbonatadas y de bebidas con zumos frutales (carbonatadas y no carbonatadas), en la que se determinaron los microorganismos causantes del deterioro observado. También estudiaron los contaminantes del azúcar utilizado en la elaboración de una de las bebidas analizadas.

2.2 Fundamentación

2.2.1 Fundamentación Teórica

El proceso productivo para la bebida gaseosa, va desde la obtención del agua tratada, a la elaboración de jarabes (simple y terminado); para finalmente llegar al

embotellado en PET. Este trabajo se va a referir a la bebida de sabor de lima limón en presentación de 1.5 litros A continuación se detallan cada una de estas etapas

2.2.1.1 Tratamiento de agua

Según formoso (1975), el agua es la materia prima fundamental esencial de todas las formulas de bebidas sin alcohol-para la preparación de los correspondientes jarabes y soluciones- es el agua, se ha de tener en cuenta de asegurarse, antes de iniciar la fabricación, de que aquella que posee las condiciones y características indispensables para la finalidad a la que se destina:

Las características en cuestión son las siguientes:

Alcalinidad total...menos de 50 ppm (partes por millón)

Total de sólidos.....menos de 500 ppm

Hierro y manganeso.....menos de 0.1 ppm

Del mismo modo, se recomienda que el agua no contenga materias en suspensión, porque en caso contrario, esta no se carbonata con facilidad; es decir no admite el gas carbónico que se incorpora y la bebida una vez abierto el envase, se desgasifica rápidamente.

El proceso de producción de tratamiento de agua consiste en:

Bombeo de agua cruda (Agua Potable) de la cisterna al tanque cisterna de almacenamiento, de este al tanque reactor, donde se le adiciona hipoclorito de sodio al 3 % , lechada de cal al 5%., luego pasa por un filtro de arena, para remover partículas, y por un filtro de carbón activado granular (GAC), para remover el cloro, olores y sabores desagradables.

Fig 1. Esquema de Tratamiento de Agua

El agua destinada a las calderas y al enjuague final del proceso de lavado de botellas es, además, ablandada con una resina de intercambio iónico, la que se regenera periódicamente con salmuera (solución de agua y sal).

2.2.1.2 Preparación de jarabe Simple

La mezcla completa de todos los ingredientes que se requieren para hacer la bebida gaseosa, con excepción del agua carbónica que se conoce con el nombre de jarabe. La solución de azúcar en agua es el jarabe simple que llega hasta aproximadamente 50 °Brix en volumen cercano a los 2000 litros , si a éste se añade algún ácido se denomina jarabe simple acidificado.

El agente edulcorante usual es el azúcar de caña. Para preparar el jarabe se pone la cantidad necesaria de agua, previamente tratada, en un tanque mezclador provisto de agitador mecánico; agitando sin cesar, se añade poco a poco la cantidad necesaria de azúcar.

2.2.1. 3 Preparación de jarabe terminado

Luego de que el jarabe simple alcanzó los grados brix deseado pasa al medidor de flujo que va a cuantificar la distribución del envasado. Aquí se procede a agregar la esencia de Cola (sabor lima-limón), aditivos, colorantes permitidos, y agua hasta completar un volumen aproximado de 4100 litros con una concentración de 45°Brix

A partir de ese momento, y sin que cese el movimiento giratorio de las palas del turboagitador, se van incorporando poco a poco, sobre el jarabe simple, todos los componentes de la fórmula, por el orden indicado por producción.

Cuando estos se hayan añadido, deberá mezclarse, como mínimo por espacio de 30 minutos, ha fin de asegurarse que todos los elementos de la formula estén íntimamente unidos y disueltos.

2.2.1.4 Carbonatación

Una vez enfriado para aumentar la solubilidad, se satura el jarabe con CO₂ gaseoso, es decir, se carbonata. El CO₂ es muy soluble en agua, no es tóxico, es inerte, barato y no confiere olor o sabor al producto. Los factores que determinarán el grado de carbonatación son:

- Temperatura del líquido (9°C)
- Presión del sistema 72 psi (a mayor presión más CO₂)
- Tiempo de contacto entre el CO₂ y el líquido
- Afinidad del líquido por el CO₂ (a mayor cantidad de azúcar menos afinidad)
- La presencia de otros gases como el O₂ que hace que la carbonatación sea menor.

Según Potter (1978) la efervescencia y sabor especial de esta bebida es el resultado de su contenido de gas dióxido de carbono. Este se obtiene de carbonatos, cal, quema de combustibles oreganitos, y los procesos de fermentación industriales.

2.2.1.5 Envasado

Las botellas llegan por la línea de soplado, porque dentro de la misma empresa se realiza el soplado de las preformas PET (44 gr), las cuales son lavadas con agua tratada por el RINSER. Tanto el producto como las botellas deben llegar continuamente alimentando a la llenadora que por sistemas de válvulas a presión van llenando la líneas de 1.5 litros.

2.2.1.6 Capsulado

Simultáneamente después de llenado las botellas se le colocan las tapas con ayuda del capsulador que le da el cierre hermético.

2.2.1.7 Codificado

Las botellas una vez llenadas pasan por un codificador, el cual imprime en la tapa de la bebida la información detallada de la producción como es: fecha de elaboración, fecha de expiración, hora de producción, ciudad donde se fabricó, turno, línea de producción.

2.2.1.8 Etiquetado:

Luego por la misma línea de codificado es transportada a la etiquetadora que le pone la etiqueta respectiva según el producto, volumen, sabor, con su respectivo código de barras, y factor nutricional, lugar de elaboración. Las botellas unidades que aprueban la inspección ingresan a una máquina que las coloca en sus respectivas cajas para finalmente volverlas a ordenar sobre las plataformas.

2.2.1.9 Almacenaje y transporte:

Las mencionadas plataformas son apiladas ordenadamente para luego ser cargadas por los camiones. Finalmente, los camiones distribuyen las plataformas con las bebidas gaseosas a los distintos puntos de comercialización.

2.2.1. 10 Pruebas del producto

Según Desrosier (1996) el control de sistemas es un parte integral de las operaciones en la planta de bebidas carbonatadas. El agua debe analizarse en forma rutinaria para observar cualquier posible desviación de las normas de calidad. El jarabe requiere de un registro continuo de lecturas para facilitar la uniformidad, entre otros controles.

2.2.1.10.1 Concentración o densidad del jarabe (brix)

En esta prueba se mide la densidad del azúcar en el jarabe. Su determinación debe ser precisa, para cumplir con las especificaciones. Para esto, las mediciones se realizan tomando, al azar, botellas envasadas cada cierto tiempo, en este caso son cada 30 minutos: se hace uso de un densímetro y un termómetro. Primero se elimina el gas de la muestra, agitando constantemente, y luego; el liquido, es vertido en una probeta, en la que se introduce un densímetro y un termómetro; con estas mediciones, y haciendo uso de una tabla preestablecida se determina la densidad o brix.

2.2.1.10.2 Carbonatación.

Consiste en determinar el contenido y concentración de gas carbónico en la bebida, que debe estar con la correcta altura de llenado. Para esta prueba se utiliza un manómetro y un termómetro, la botella se agita por 25 segundos aproximadamente, se perfora la tapa con un equipo especial y se mide hasta que la presión llegue a 0 psi., se vuelve a agitar y se toma la medición. Después se introduce el termómetro por el orificio en la tapa y se toma la temperatura. Finalmente con los valores de presión y temperatura se determina el volumen de carbonatación de la bebida.

Los controles de brix y carbonatación, son muy importantes, por esto se debe calibrar y comprobar el buen funcionamiento de los equipos utilizados en su medición.

Otros controles realizados al producto son: Coronado o encapsulado hermético, apariencia, sabor y olor.

2.2.1.10.3 Pruebas del agua

Estas pruebas se realizan cada 45 minutos

2.2.1.10.3.1 Sabor y Olor

No debe tener ningún olor ni sabor; porque, origina en la bebida un sabor censurable.

2.2.1.10.3.2 Turbidez

Debe tener como máximo 5.0 P.P.M.; ya que, origina sabor censurable y decoloración en la bebida.

2.2.1.10.3.3 Levadura y mohos

No debe tener ninguno; ya que, origina además de sabor censurable en la bebida, sedimento y deterioro.

2.2.1.10.3.4 Alcalinidad

Máximo 50 P.P.M.; porque, neutraliza el ácido de la bebida.

2.2.1.10.3.5 Dureza total

Verifica el control del buen trabajo de los ablandadores

2.2.1.10.3.6 Pruebas bacteriológicas

Se realizan periódicamente para evitar la formación de mohos y hongos en la sala de embotellado.

2.2.2 Fundamentación Legal

Las bebidas gaseosas preparadas en la empresa cumplen con los requisitos de la NORMA INEN 1101 (Anexo A1)

2.2.3 Fundamentación Ambiental

La industria tiene repercusiones sobre el medio ambiente a lo largo de todo el ciclo de producción, que se extiende desde las materias primas, su transformación en productos, el consumo de energía y recursos y la generación de residuos, hasta la utilización y eliminación de productos por parte de los consumidores.

La industria de bebidas consume gran cantidad de agua en sus procesos. El uso de esta agua se da principalmente en: preparación de químicos, refrigeración de bombas, torres de enfriamiento, caldera, lavados, retrolavados, preparación de las bebidas, etc.

Las características de las Aguas de bebidas pueden resumirse de la siguiente forma:

- DBO y DQO: en algunos casos puede ser considerables.
- Aceites y grasas.
- Sólidos suspendidos totales y Sólidos disueltos totales.
- Contenido de nitrógeno y fósforo.
- PH.

La cantidad de material contaminante se genera en las siguientes fases del proceso:

Lavados, limpieza de equipos y escapes.

Aguas de enfriamiento y calentamiento, estas aguas se reciclan por medio de torres de enfriamiento, las cuales generalmente son corrosivas y poseen contaminación microbiológica por bacterias.

Las instalaciones de la Compañía son abastecidas con agua potable de la red pública, con un posterior tratamiento de potabilización u otro necesario para ajustar el recurso a las condiciones de cada proceso. Por esta razón la empresa tiene una planta de tratamientos de agua, cumpliendo con las ordenanzas del municipio local y de esta manera evitando la contaminación ambiental. Se suma la optimización de los procesos productivos, elaboración de protocolos o procedimientos de operación y capacitación, orientados a mitigar la carga contaminante, promoviendo tecnologías limpias de producción.

2.3 Categorías Fundamentales

2.3.1 Términos básicos

Acido cítrico: Se emplea como aditivo en bebidas y alimentos para darles un agradable sabor ácido. Se emplea como aditivo en bebidas y alimentos para darles un agradable sabor ácido

Aditivo.- Sustancia que sirve para emplear las cualidades del producto o proporcionarle otras que no tenía

Azúcar: El azúcar empleado es principalmente sacarosa, y tiene que ser refinada. El producto final contiene el 10 al 14% de azúcar. Este no solo contribuye dulzura y calorías a la bebida sino también que le da cuerpo y una textura que se aprecia en la boca.

Bebidas gaseosas o Bebidas Carbonatadas: La norma de identidad de la FDA para el agua de soda es “la clase de bebidas preparadas por absorción de dióxido de carbono en agua potable”. La cantidad de dióxido de carbono utilizada no es menor a

la que absorbería a una atmósfera de presión y a una temperatura de 15.6°C. La norma de identidad también describe otros ingredientes que pueden agregarse al agua de soda. Estos incluyen edulcorantes, ácidos, sabores, colores, preservativos y muchos otros ingredientes opcionales que siempre tienen que estar reglamentados.

Carbonatación: se define como la disolución de dióxido de carbono gaseoso en agua utilizando temperaturas y presión.

DBO: Demanda bioquímica de oxígeno, indicador de la capacidad de polución de un efluente expresada por el consumo de oxígeno disuelto por parte de los microorganismos que descomponen la materia orgánica presente en el propio efluente.

DQO: Demanda química de Oxígeno

Dióxido de carbono: gas incoloro, inodoro y con un ligero sabor ácido, cuya molécula consiste en un átomo de carbono unido a dos átomos de oxígeno (CO₂).

Grados Brix: Porcentaje de sacarosa

HACCP: Hazard Análisis Critical Control Point por sus siglas en inglés o Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control en español.

El sistema de análisis de riesgo supone la identificación de aquellos ingredientes y sustancias alimenticias que pudiesen tener una marca influenciada en la salubridad por los alimentos; que pudiesen ser consumidos por poblaciones específicas. Una vez se conoce la sensibilidad de los ingredientes, se pueden identificar varios puntos críticos de control. Esto supone la identificación y control sobre aquellos parámetros del proceso de fabricación que si no se controlasen, darían lugar a un riesgo inaceptable para los consumidores.

Levadura: cualquiera de los diversos hongos microscópicos unicelulares que son importantes por su capacidad para realizar la fermentación de hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

Moho: Moho, crecimiento veloso con forma de telaraña producido por diversos tipos de hongos sobre materia orgánica. Aunque los términos moho y mildiu se usan indistintamente, sin embargo, el término moho se suele utilizar para designar el desarrollo de hongos de color negro, azul, verde y rojo, mientras que mildiu se refiere al de los blanquecinos

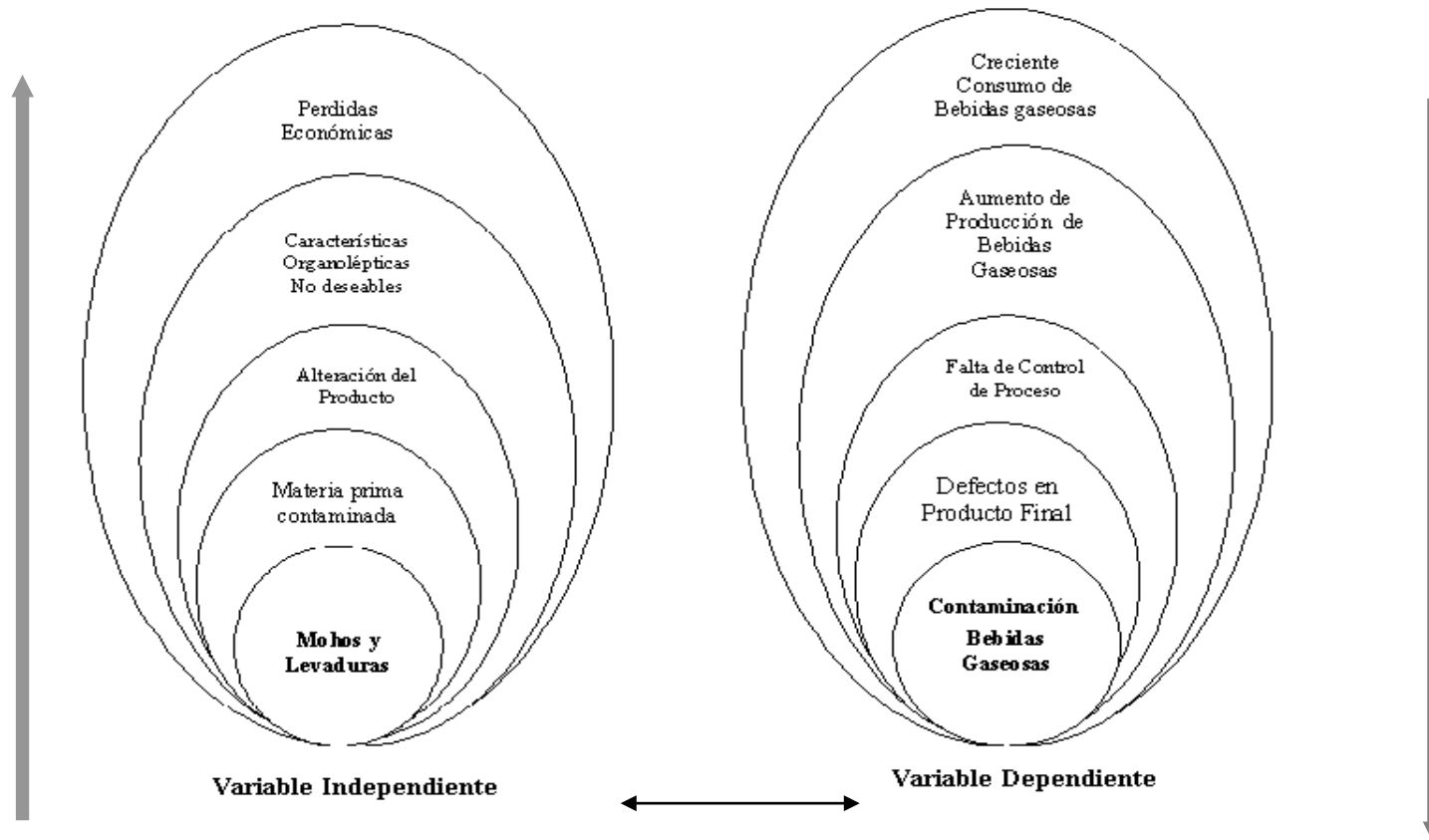
PET: Polietilentereftalato, Material del cual esta formado las botellas de bebidas carbónicas no retornables.

pH: Término que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución. Se trata de una medida de la acidez de la disolución

Saborizante: Los saborizantes son extractos alcohólicos, emulsiones soluciones alcohólicas o jugos de frutas. Los saborizante para las bebidas gaseosas se preparan por empresas especializadas. Con cada sustancia se suministran instrucciones claras y la forma exacta para la preparación del jarabe.

Turbidez: calidad de turbio. Oposición que ofrece una sustancia al paso de la luz y que es mayor que la que presenta naturalmente en estado puro. . Aunque no es un parámetro del agua con un valor indicador absoluto, es uno de los que habitualmente se emplean para caracterizar la calidad del agua, ya que una alta turbidez suele estar asociada a una baja calidad para ciertos usos.

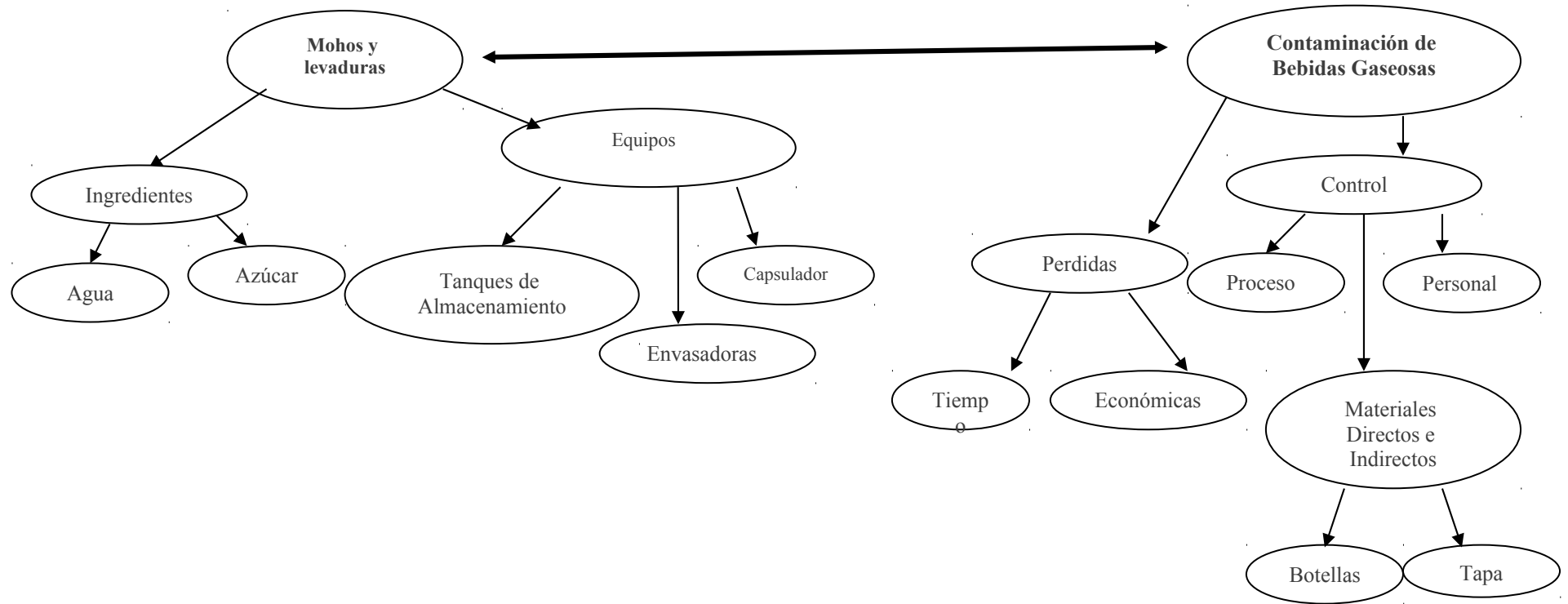
2.3.2 Súper Ordenación Conceptual



2.3.3 Sub Ordenación Conceptual:

Variable Independiente

Variable Dependiente:



2.4 HIPÓTESIS

Es la presencia de mohos y levaduras la principal causa de Contaminación de bebidas gaseosas envasadas en PET de la empresa Ajecuator en la ciudad de Guayaquil en el periodo abril- noviembre 2007

Variable Independiente: Mohos y levaduras

Variables Dependiente: Contaminación de bebidas gaseosas envasadas en PET

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Enfoque

El presente estudio seguirá el método deductivo y analítico. La deducción va de los principios generales ya conocidos a lo particular; recurriendo para ello a la aplicación, comprobación y demostración. Es decir se va a realizar un enfoque cualitativo, porque se va a determinar que factor es el que está influenciando a la presencia de mohos y levaduras en el producto final.

3.2 Modalidades y tipos de la investigación

La modalidad de la presente Investigación es de Campo y Documental-Bibliográfica.

El tipo de investigación es exploratorio

3.3 Métodos y Técnicas de Investigación

Es importante aplicar las adecuadas técnicas en la investigación de la optimización del proceso de bebidas gaseosas envasadas en PET, ya que de su buena realización y la aplicación correcta depende la calidad del producto final.

Son importantes fuentes a través de documentos y hechos a los que se acudirá para obtener información con lo referente al proceso de bebidas gaseosas envasadas en PET

Los análisis y resultados de laboratorio se registrarán a las normas técnicas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) (Anexo A2 y Anexo A3)

3.4 Población y Muestra

Para el estudio de investigación de la contaminación de bebidas gaseosas se realizará específicamente en la línea N° 3 de 1.5 litros, con la finalidad de evaluar en que parte los límites son excedidos.

Las muestras del lote serán tomadas según la toma de muestras para bebidas gaseosas del INEN 1077 (Anexo A4) para producto terminado. Así mismo se toman muestras durante todo el proceso de producción

3.5 Operacionalización de Variables

Operacionalización de la variable Independiente: Mohos y Levaduras

conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas
<p>Mohos y levaduras:</p> <p>Los mohos y levaduras se multiplican en alimentos cuando encuentran condiciones favorables, tales como Humedad, Temperatura, pH, Sustratos, etc. provocando contaminación perjudicial para el consumo humano.</p>	Por Ingredientes	<ul style="list-style-type: none"> - Agua - Azúcar 	¿Que requisitos debe cumplir el agua y azúcar empleada para elaboración de bebidas gaseosas?	Norma INEN NTE 1205:85 NTE 0974:84 NTE 0259
	En el Proceso	<ul style="list-style-type: none"> - Envase - Cierre defectuoso 	<p>¿Cómo se controla el aspecto del envase?</p> <p>¿Cómo controlo el correcto cierre de botellas envasadas?</p>	Observación visual por parte del inspector de calidad

Operacionalización de la Variable Dependiente: Contaminación de bebidas gaseosas

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems Básicos	Instrumentos
<p>Contaminación de bebidas gaseosas:</p> <p>Cuando el producto final y el proceso No cumplen con los parámetros de control establecidos, puede dar origen a la contaminación del producto, la misma que puede ser física, química o biológica.</p>	<p>Física</p> <p>Química</p> <p>Biológica</p> <p>Perdida</p>	<p>Temperaturas de Almacenamiento</p> <p>Cloro residual en agua de enjuague de envases.</p> <p>Microorganismos en ingredientes, envases, equipos.</p> <p>- Económica - Tiempo</p>	<p>¿Se controla la temperatura de Almacenamiento?</p> <p>¿Que cantidad de cloro debe tener el agua de enjuague de envases?</p> <p>¿Cual es el nivel permitido de microorganismos en proceso?</p> <p>¿Cuánto significa la perdida de tiempo y dinero para la empresa?</p>	<p>Registros de Temperatura de bodegas de Almacenamiento.</p> <p>Norma INEN 977 Determinación de cloro residual.</p> <p>Norma INEN 1095 Determinación de bacterias coliformes Norma INEN 1094 Contaje de bacterias aerobias Norma INEN1093 Contaje de levaduras y hongos</p> <p>Registros del departamento de producción y logística</p>

3.6 Recolección de Información

Se procederá a tomar muestras de cada área de proceso, tales como área de preparación de jarabe, área de mezclado, área de carbonatado, área de envasado, agua de enjuague de las botellas y del producto final. Para de esta manera determinar en que área los parámetros se encuentran excedidos en sus límites.

3.7 Procesamiento y análisis de la Información

Para el procesamiento y análisis de datos se usaran los programas estadísticos de STATGRAPHICS y EXCEL

4.2.3 Presupuesto de Operación:

$$\mathbf{P:O} = \Sigma \text{ Recursos Materiales} + \Sigma \text{ Recursos Humanos}$$

$$\mathbf{P:O,\$} = 64.62 + 1210$$

$$\mathbf{P:O,\$} = 1274.62$$

CAPÍTULO V

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS

5.1 Análisis de Los Resultados

5.1.1 Datos Obtenidos:

Los datos fueron tomados de laboratorio de la empresa, en donde se analizaron las muestras tomadas de los lotes de devolución.

Se procedió a realizar un análisis microbiológico y se detectó que los contajes de mohos y levaduras excedían a los parámetros señalados por la empresa, por lo cual se procedió a realizar el análisis respectivo de los principales ingredientes que intervienen en la elaboración de la bebida, se revisaron las fases del proceso para determinar la fuente de contaminación.

Para partir del conocimiento de las principales contaminaciones mediante auditorias internas se establecieron las principales causas de devolución en un mes

Causas de Devolución:

Producto: Cola First sabor lima-limón

Presentación: 1500 cm³

Tabla 1. Posibles Causas de devolución

Causas de Devolución	Nº Botellas (unidades)	% Devoluciones	%Acumulado
Contaminación del Producto	10	40,00	40,00
Botellas Mal Sopladas	6	24,00	64,00
Etiquetado Incorrecto	5	20,00	84,00
Falta de Codificación	4	16,00	100,00
Total	25	100,0	

Fuente: Empresa ajecuator

Causas de Contaminación:

Producto: Cola First sabor lima-limón

Presentación: 1500 cm³

Se detallaron las principales causas de contaminación en un mes obteniendo, los datos que se presentan en la siguiente tabla

Tabla 2. Posibles Causas de Contaminación

Contaminación del Producto	Nº Botellas	% Botellas	%Acumulado
-----------------------------------	--------------------	-------------------	-------------------

	(unidades)	contaminadas	
Botellas mal capsuladas	5,0	50,0	50,0
Inadecuado Almacenamiento Jarabe	3,0	30,0	80,0
Finish Roto	1,0	10,0	90,0
Contaminación Cruzada	1,0	10,0	100,0
Σ	10,0	100,0	

Fuente: Empresa ajecuator

Análisis Microbiológicos:

En los análisis de agua tratada para la elaboración se realizaron recuentos de E coli cuyo resultado fue negativo, así mismo el agua de enjuague de las botellas no presentaba contaminación de coliformes.

Dentro del proceso se obtuvieron resultados que estaban dentro de los límites permitidos, sin embargo dos áreas presentaban parámetros muy cercanos al máximo incluso superior a ella

Estas dos áreas fueron el área de jarabe terminado y el área de envasado

Tabla 3. Datos de recuento de mohos y levaduras en el área de envasado:

Envasado	
Dia	ufc/ml
1	3
2	3
3	4
4	5
5	6
6	10
7	11

Fuente: Laboratorio de Microbiología Empresa Ajecuator

Tabla 4. Datos de recuento de mohos y levaduras en el área de jarabe terminado:

Jarabe Terminado	
Dia	ufc/ml
1	10
2	10
3	8
4	10
5	11
6	20
7	15

Fuente: Laboratorio de Microbiología Empresa Ajecuator

5.2 Interpretación de Los Datos

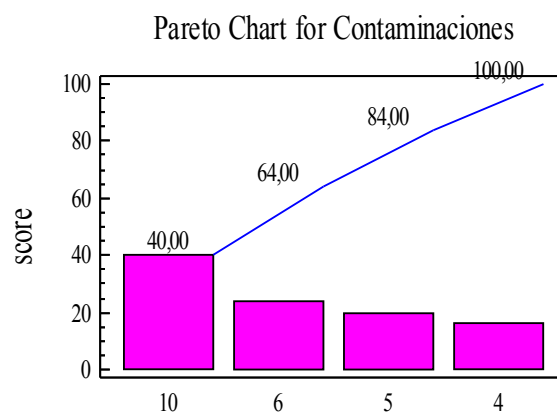
Grafico de Pareto

El diagrama de pareto es una forma especial de grafico de barras verticales el cual ayuda a determinar que problemas resolver y en que orden. Se lo utiliza cuando se necesita demostrar la importancia relativa de todos los problemas o condiciones a fin de seleccionar el punto de inicio para la solución de problemas o para la identificación de la causa fundamental de un problema.

Grafico 2. Representación de Pareto para las Causas-Devoluciones



Grafico 3. Representación de Pareto para las Causas-Devoluciones, por STATGRAPHICS



Se determina que de las 25 devoluciones sufridas en el periodo de estudio el 40% corresponde a la contaminación del producto, seguido por botellas que no tienen la forma específica (mal soplado). Con porcentajes muy similares entre el etiquetado de las botellas y la incorrecta codificación de lotes

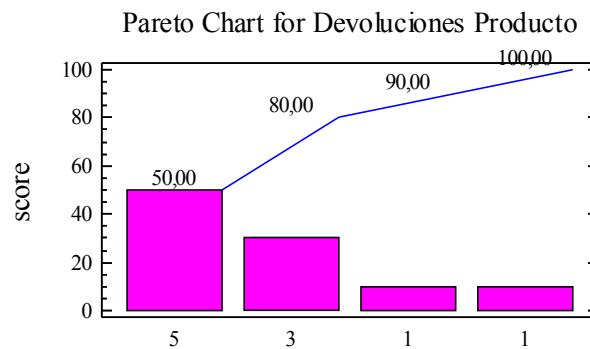
Diagrama de Pareto para las Causas-Contaminaciones

Luego de tener el referente que las contaminaciones son la principal causa de devolución se procedió a hacer un seguimiento mediante resultados de análisis las partes más influyentes en la contaminación, pues se obtuvo resultados microbiológicos de que los parámetros de mohos y levaduras estaba fuera del límite aceptable.

Grafico 4. Representación de Pareto para las Causas-Contaminaciones



**Grafico 5 . Representación de Pareto para las Causas-Contaminaciones por
STATGRAPHICS**



Pareto Chart with Cumulative Frequencies

Class Label	Rank	Count	Weight	Weighted Score	Cum. Score	Percent	Cum. Percent
5	1	1	50	50	50	50,00	50,00
3	2	1	30	30	80	30,00	80,00
1	3	1	10	10	90	10,00	90,00
1	4	1	10	10	100	10,00	100,00
Total		4		100			

Con la toma de muestra de cada una de las áreas que intervienen en el procesamiento, se redujo a 4 de las que tenían mas incidencia, y se notifico que la contaminación se presentaba en el cierre de las botellas, pues, determina que de las 5 contaminaciones sufridas en el periodo de estudio el 50% corresponde a las Botellas mal capsuladas, es decir sin la fuerza necesaria para garantizar un producto seguro.

Análisis Microbiológicos

Las contaminaciones microbiológicas se dieron por presencia de mohos y levaduras que excedían los límites establecidos en las normas.

Se debe considerar en primer caso que debido a la presencia de grandes cantidades de azúcar en le producto final, esto favorezca el desarrollo de los mohos y levaduras, tal es el jarabe terminado están cercanos al máximo (20 ufc/ml), lo que evidencia que el tanque de almacenamiento esta sirviendo como fuente de contaminación, por lo que es necesario realizar una limpieza exhaustiva del mismo, y de las tuberías que sirven para su transporte.

Así mismo en el área de envasado los parámetros excedían el límite máximo (10 ufc/ml) por lo que se establece que también existe una fuente de contaminación, se debe realizar una limpieza de la llenadora y de las válvulas llenadoras y así mismo el correcto funcionamiento del equipo.

5.3 Verificación de La Hipótesis

Al tener los datos de contaje mohos y levaduras que están al borde de sus máximos permitidos, es evidente que existe una contaminación la cual debe ser reducida al mínimo o incluso eliminar dicha causa para evitar más alteraciones al producto.

Es necesario tener la verificación matemática de la Hipótesis planteada, que en nuestro caso es: La Contaminación de las Bebidas gaseosas es causada por Mohos y Levaduras

Se aplica el diseño experimental aplicado a un solo factor, tomando en cuenta los datos de ufc/ml del área de Jarabe secundario y del área de Envasado

TABLA 5. Valores de contaje de mohos y levaduras_

Observaciones	Área Envasado	Área Jarabe	
días	1	2	Yi.
1	3	10	13
2	3	10	13
3	4	8	12
4	5	10	15
5	6	21	27
6	10	20	30
7	11	15	26
Total	42	94	136

Valores de n y k

$$n=2$$

$$k=7$$

Planteamiento del modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \Sigma_{ij}$$

Planteamiento de hipótesis

$$H_0 = A_1 = A_2 \dots + \Sigma_{ij}$$

A1= contaje de mohos y levaduras área Envasado

A2= área Jarabe

H₀: Las áreas de proceso de elaboración están contaminadas por mohos y levaduras

TABLA 6. Cálculo de Y_i^2

Observaciones	1	2
1	9	100
2	9	100
3	16	64
4	25	100
5	36	441
6	100	400
7	121	225
Suma Total	316	1430

Cálculo de las sumas de cuadrados

a) Suma de Cuadrados Totales

$$SCT = \Sigma\Sigma(Y_{ij})^2 - [(Y_{..})^2 / n \cdot k]$$

$$SCT = (3^2 + \dots + 15^2) - [136^2 / (2 \cdot 7)]$$

$$SCT = 424.86$$

b) Suma de Cuadrados de Observaciones

$$SCTr = \Sigma(Y.j)^2 / n - [(Y..)^2 / n*k]$$

$$SCT = (13^2 + \dots + 26^2) / - [136^2 / (2*7)]$$

$$SCTr = 184.86$$

c) Suma de Cuadrados de Error

$$SCE = SCT - SCTr$$

$$SCE = 424.86 - 184.86$$

$$SCE = 211.50$$

d) Grados de Libertad

$$\text{Observaciones} = k - 1$$

$$\text{Observaciones} = 7 - 1 = 6$$

$$\text{Total} = k(n - 1)$$

$$\text{Total} = 7(2 - 1) = 7$$

$$\text{Error} = \text{Total} - \text{Tratamientos}$$

$$\text{Error} = (n*k) - 1 = (2*7) - 1 = 13$$

e) Cuadrados Medios Observaciones

$$CM = \text{Suma de Cuadrados Observaciones} / \text{Grados de Libertad Observaciones}$$

$$CM = 184.86 / 6$$

$$CM = 30.809$$

f) Cuadrados Medios Error

$$CME = \text{Suma de Cuadrados Error} / \text{Grados de Libertad Error}$$

$$CME = 240 / 7$$

$$CME = 34.285$$

g) F. teórico

F. teórico = Cuadrados Medios de tratamientos/ Cuadrados Medios Error

F. teórico = 30.809/34.285

F. teórico = 0.899

TABLA 7. Cálculos de ANOVA respecto al contaje de ufc/ml en las etapas de envasado y jarabe

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Razón de Varianza	F crítico o de Tabla
Observaciones	184,86	6	30,8095238	0.899	3.87
Error	240,00	7	34,2857143		
Total	424,86	13			

Interpretación

Para un nivel de confianza del 95% y por consiguiente para una significancia del 0,05 se acepta la hipótesis nula en relación que si existe contaminación microbiana en las áreas de procesos de elaboración de bebidas gaseosas donde se realizaron los contajes, esto se evidencia comparando la razón de varianza (0.899) que es menor al valor crítico F (3.86)

5.3.1 Aplicación de Statgraphics

Analysis Summary

Dependent variable: Contaje ufc/ml

Factors:

Proceso

Observaciones

Number of complete cases: 14

Tabla 10. Análisis de Varianza obtenidos acerca de análisis de varianza de un factor mediante Statgraphics

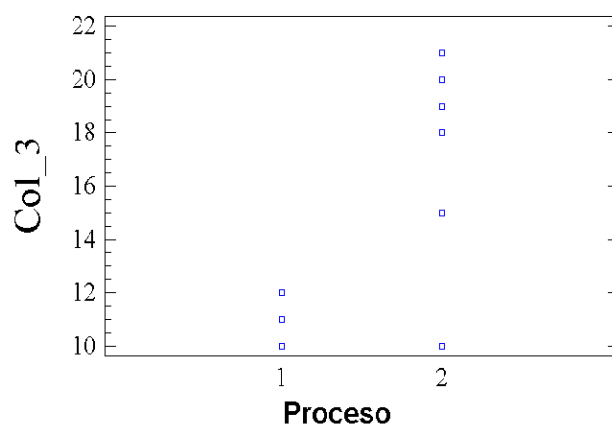
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:Tratamientos	171,5	1	171,5	25,72	0,0023
B:Observaciones	58,8571	6	9,80952	1,47	0,3255
RESIDUAL	40,0	6	6,66667		

TOTAL (CORRECTED)	270,357	13			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Scatterplot by Level Code



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- 6.1.2** Las bebidas gaseosas preparadas correctamente por lo general no fomentan la multiplicación de microorganismos, como bacterias, mohos y levaduras, pues el conservante ácido que posee (ácido cítrico) y la presencia de gas carbónico (CO^2) sirven como barrera de protección, sin embargo se pueden presentar contaminaciones debido a la presencia de otros factores durante el proceso como contaminación del jarabe o de los envases, etc que van a afectar el producto final, Por lo que se debe determinar en que parte del proceso debió ocurrir la contaminación para corregir tal falla y optimizar el proceso con ajustes en los Sistemas de Calidad. Tal es el caso de la empresa Ajecuator, que presentó devoluciones por contaminación de sus productos, específicamente de cola lima-limón de 1.5 litros, después de realizar los análisis microbiológicos pertinentes se concluyó de que existía una contaminación por mohos y levaduras.
- 6.1.3** Cuando se especifica en que línea se produce la contaminación resulta una ventaja para realizar una inspección exhaustiva de cada área de proceso y encontrar el origen de la contaminación. En este caso particular una vez realizado el estudio de investigación se concluye que las causas por contaminación se deben por: Botellas mal capsuladas, Inadecuado Almacenamiento, Finish Roto, Contaminación Cruzada (personal) de las cuales el mayor porcentaje corresponde al capsulador (equipo encargado del cierre de envases), el cual estaba fallando en su mecánica de trabajo, pues las botellas no tenían un cierre con la presión necesaria lo cual estaba permitiendo el escape del CO^2 , que sirve como medida de protección contra la presencia de microorganismos.
- 6.1.4** La pérdida de calidad del producto, puede ser debida a la presencia de microorganismos patógenos o de microorganismos que alteran el

producto de tal manera que lo hagan inadecuado para el consumo. En este caso se estableció por parte del departamento de Control de Calidad y Producción realizar pruebas microbiológicas, en cada una de las etapas que se consideran críticas, entre las que se destacan:

- Tanque de Jarabe terminado
- Envasadora
- Agua de enjuague de botellas

Así mismo los ingredientes básicos (azúcar+agua) tienen que cumplir con las características de calidad pre-establecidas. De las diferentes áreas en las que se inspeccionaron se pudo evidenciar que el contaje de mohos y levaduras en el área de envasado, estaba fuera de límites aceptables, esto se puede explicar como resultado de que el equipo de cierre no estaba funcionando correctamente lo que permitía que exista una contaminación de mohos y levaduras que dan origen a una fermentación de bebidas gaseosas, debido a que las levaduras se alimentan del azúcar

6.2 Recomendaciones:

Cuando se identifica que existe una contaminación en una planta embotelladora de bebidas gaseosas es imprescindible realizar una limpieza completa de la línea de proceso, especialmente aquellas donde existe contacto directo con el producto entre las que destacamos:

- Limpieza rigurosa de toda la línea de producción, desmontando para saneamiento los sistemas de tubería de agua, de jarabe simple y terminado
- Limpieza del carbocooler (carbonatación), como a todo lo que concierne al envasado como las válvulas, Rinser (lavado de botellas)
- Limpieza de la Envasadora
- Limpieza de todos los tanques de Almacenamiento de agua, jarabe y de mezcladora.

- Se cambiaron todos los empaques de los equipos en donde se visualizaba daños físicos.

Las tendencias de las industrias alimenticias tienen que estar enfocados a conseguir la inocuidad de sus productos, así mismo por los inconvenientes citados anteriormente surge la necesidad de adoptar metodologías de análisis rápidas y sensibles que permitan asegurar el producto de buena calidad y por ende satisfacer al cliente.

Por lo que se recomienda planear un sistema de implementación de HACCP, que es un sistema de control de peligros críticos, con el fin de garantizar al producto final, así mismo que se aprovechen los recursos y se identifiquen los posibles problemas.

El sistema HACCP está diseñado para identificar los peligros, establecer controles y el monitoreo. Los peligros pueden ser físicos, químicos o biológicos.

6.2.1 Principios de Sistema HACCP

1. Realizar un análisis de riesgo
2. Determinar los puntos Críticos de Control
3. Determinar los Límites Críticos
4. Establecer Procedimiento de Seguimiento
5. Establecer Acciones Correctivas
6. Establecer Procedimientos de Verificación
7. Establecer Procedimientos de Documentación y Retención de riesgos.

6.2.2 Perfil del Producto Terminado

Es necesario definir las especificaciones del producto al cual se va a implementar el sistema HACCP.

Bebida Gaseosa sabor lima-limón

Información General del Producto	
Descripción del Producto	Producto obtenido por disolución de edulcorantes nutritivos y dióxido de carbono en agua potable tratada, adicionado de saborizante de lima-limon, acidulantes, conservadores y colorantes autorizados
Uso intencionado y Consumidor/Cliente	Listo para consumir; Todo público
Método de Almacenaje y Distribución	Ambiente, alejado de fuentes de calor
Información sobre la vida de anaquel	70 días dd/mm/aa hora

Información Técnica del Producto	
Conservantes	Acido Cítrico
Actividad de Agua	0,92
pH/acidez valorable	9,2 +/- 0,1
Requerimientos de Empaquetado	Botella PET, color verde, con tapa rosca

Información sobre Inocuidad Alimentaria	
Potencial de mal uso del consumidor/cliente	Ninguno
Peligros inherentes al Producto/Proceso	
Programas de Control Correspondientes	Programa de Rotación de Productos, Programa de Recepción de Ingredientes, Programa de Control de Proveedores, Programa de Limpieza, BPM

6.2.3 Diagrama de Flujo

La puesta en práctica del sistema HACCP en una industria de alimentos empieza con el Diagrama de flujo de toda la operación, desde la recepción de materia prima hasta su distribución.

Grafico 6. Diagrama de Flujo de Elaboración de Bebida Gaseosa

6.2.4 Análisis de Peligro de las Materias Primas

Nombre del Producto: Bebida Gaseosa sabor lima-limón

6.2.5 Plan HACCP

Materia Prima	Peligros	Probabilidad	Gravedad	¿Es materia prima crítica?	Identifique pasos de apoyo o pasos del proceso para controlar o eliminar peligros conocidos
Agua	B Coliformes	A	M	Si	Control Microbiológico
	Q Cloro residual	A	M	Si	Control Químico
Azúcar	B Mohos y Levaduras	M	B	No	Control Microbiológico
	Q ---- F varios	M	M	Si	Cernido
Acido Cítrico	B --- Q ---- F ---				
Saborizantes	B --- Q ---- F ---				
Envases PET	B --- Q ---- F plástico	B	B	No	

Etapas Proceso	Peligros	Indicar los Programas de Apoyo. Si no hay escribir Ninguno	Indicar si un paso del proceso controlara o reducirá el peligro a un nivel aceptable. Si escribe Si, escribir el nombre del ultimo paso de Control	Es el control del paso esencial para la inocuidad? Si, este ser Si es un PCC, asignarle un numero
Recepción de materia Prima Azúcar	B Q	Control Microbiológico Cernido	Recepción de materia Prima Azúcar Filtrado	PCC N° 1 (B) NO
Recepción de Agua potable tratada	B Q	Control Microbiológico Control fisico-químicos	Preparación Jarabe Primario	NO
Preparación Jarabe Primario	B F	Control Microbiológico Filtración	Filtrado	NO
Filtrado	F	Control visual	Ninguno	
Preparación Jarabe Secundario	B	Control Microbiológico	Preparación Jarabe Secundario	PCC N° 2 (B)
Mezclado	F	Ninguno	Filtrado	
Carbonatación				
Envasado	B Q	Control Microbiológico Control fisico-químico	Envasado	PCC N° 3 (B) NO

Etapas Proceso	Peligros	Indicar los Programas de Apoyo. Si no hay escribir Ninguno	Indicar si un paso del proceso controlara o reducirá el peligro a un nivel aceptable. Si escribe Si, escribir el nombre del ultimo paso de Control	Es e e inoc PC
Codificado	F	Control visual	Codificado	
Etiquetado	F	Control visual	Empaquetado	
Empaquetado	F	Control visual		
Palletizado	F	Control visual	Palletizado	
Almacenado	F	Control Plagas Control Químicos	Almacenado	
Distribución	F	Control Rotación del Producto	Ninguno	
Formación de Envases PET	F	Control visual	Formación de Envases PET	

BIBLIOGRAFÍA

ANDRADE, Ángel. 2005. "Diseño del sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control (HACCP) para la Línea de Producción de Harina de Trigo en Molinos Iguenza S.A." .Perfil de Proyecto Previo a la Obtención de Título Título de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador

CHÁVEZ Pacherres, Luís. 2006. "Posicionamiento y segmentación de las bebidas gaseosas según las características de los consumidores en la Universidad Nacional de Trujillo". Disponible: <http://monografias.com/trabajos39/mercadogaseosas/mercadogaseosas3.shtml> (2007-05-11)

DESROSIER N.W.1996. “Elementos de Tecnología de Alimentos”.Décimo primera reimpresión. Editorial Continental S.A. México DF-México.

DUNCAN Achenson. 1990. “Control de Calidad y Producción Industrial”. Tomo Ediciones Alfaomega S:A. México DF-México.

FORMOSO Antonio.1975. “Procedimientos Industriales al Alcance de Todos”. Décima Tercera Edición. Editorial Selecciones Graficas. La Coruña-España

FRAZIER W:C..1993. “Microbiología de los Alimentos”. Cuarta Edición. Editorial Acribia. Zaragoza-España

JAY James.2002. “Microbiología Moderna de los Alimentos”. Cuarta Edición. Editorial Acribia. Zaragoza-España

MOSSELI, David; MORENO, Benito. 2003. “Microbiología de los Alimentos”. Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza-España

PIO Rojas. 2002. “Planeamiento de Producción de Bebidas Gaseosas mediante la simulación”.Disponible:http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Ingenie/Rojas_L_P/CAP_2.htm. (2007-05-11)

POTTER Norman.1978 “La Ciencia de los Alimentos”. Segunda Edición. Editorial Edutex S.A México DF-México

TENE, Victor.2002. “Implementación del Sistema APCC en la Finca Monterrey.” Perfil de Proyecto Previo a la Obtención de Título Titulo de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador

VACA Alexandra .2000. “El sistema HACCP su aplicación en el aseguramiento de la Calidad para una Planta de Bebidas Gaseosas No Alcohólicas”. Tesis previa a la obtención de Título de Ingeniería en Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Ambato-Ecuador

<http://www.mexicotop.com/article/Bebidas+gaseosas>

http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/bebidas/Ficha_gaseosas_04/Gaseosas.htm

<http://whhttp://lacomunidad.elpais.com/responsabilidadsocial/2007/10/28/coca-colain>
[diahttp://www.mrg.gov.ar/rg/masnoticias/bebidas_gaseosas_malestado.pp](http://www.mrg.gov.ar/rg/masnoticias/bebidas_gaseosas_malestado.pp)

<https://siaa.ucbcba.edu.bo/siaa/RepTesisAluPublico.asp?nsper=267121>

<http://www.monografias.com/trabajos45/gaseosas-peru/gaseosas-peru.shtml>

[http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?
subid=034&fdname=BEVERAGE&pagename=Planta+de+produccion+de+bebidas+
carbonatadas](http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?subid=034&fdname=BEVERAGE&pagename=Planta+de+produccion+de+bebidas+carbonatadas)

Anexos

ANEXO 1

NORMA ECUATORIANA INEN 1101 BEBIDAS GASEOSAS REQUISITOS

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las bebidas gaseosas.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a todos los tipos de bebidas gaseosas destinadas a consumo directo, se incluye a las bebidas gaseosas dispensadas en sistemas Pre-mix y Post-mix.

3. DEFINICIONES

3.1 Para propósitos de esta norma se aplican las siguientes definiciones:

3.1.1 Bebidas Gaseosas. Son las bebidas no alcohólicas no fermentadas, elaborada por disolución de gas carbónico (CO₂) en agua purificada (NTE INEN 2200), lista para el consumo directo, adicionada o no de edulcorantes, jugos de frutas, concentrados de frutas, sustancia aromatizantes, saborizantes y aditivos permitidos.

3.1.2 Bebidas Gaseosas bajas en calorías. Son los productos definidos en 3.1.1, cuyo contenido calórico no excede de 40 calorías por 100 g de producto terminado.

3.1.3 Bebidas Gaseosas de calorías reducidas. Son los productos definidos en 3.1.1 cuyo contenido calórico se ha reducido al menos un tercio de las calorías que normalmente están contenidos en 100 g de producto terminado.

3.1.4 Bebidas Gaseosas libres de calorías. Son los productos definidos en 3.1.1 cuyo contenido calórico es menor de 5 calorías por porción.

3.1.5 Sistema Pre-mix. Es la bebida gaseosa, envasada en planta, en tanques de acero inoxidable y comercializada a través de maquinas dispensadoras.

3.1.6 Sistema Post-mix. Es la mezcla, en el sitio de expendio, del jarabe terminado elaborado en planta, con agua potable filtrada carbonatada, en porciones establecidas por el embotellador y comercializada a través de maquinas dispensadoras.

4. CLASIFICACION

4.1 Por su composición

4.1.1 Bebidas gaseosas saborizadas

4.1.2 Bebidas gaseosas con contenido de fruta.

4.1 Por su contenido calórico

4.2.1 Bebidas gaseosas baja en calorías

4.2.2 Bebidas gaseosas de calorías reducidas

4.2.3 Bebidas gaseosas libres de calorías

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 Los ingredientes utilizados en la elaboración del producto deben cumplir los requisitos establecidos en los códigos normativos y vigentes.

5.2 Debe utilizarse el equipo adecuado y operarse en condiciones sanitarias óptimas, a fin de evitar contaminaciones durante todo el proceso de fabricación.

5.3 El producto debe estar exento de materias extrañas y no presentar alteraciones causadas por agentes biológicos, físicos o químicos.

5.4 El agua utilizada en la elaboración de las bebidas gaseosas en sistemas Post-mix debe cumplir con la NTE INEN 1108.

5.5 Podrá declararse la presencia de jugos natural de fruta en el producto, siempre que su contenido sea igual o mayor al 12% (v/v).

5.6 El contenido de alcohol proveniente de los saborizantes no debe ser mayor a 0.5 % (v/v) en el producto final.

5.7 El aceite vegetal bromado, utilizado como estabilizante no debe superar a los 15 mg/Kg.

5.8 Se podrá adicionar los aditivos permitidos para bebidas gaseosas establecidos en la NTE INEN 2074.

5.9 Se permite la adición de las sustancias edulcorantes especificados en la NTE INEN 2074 y en otras disposiciones legales vigentes.

5.10 Se permite la adición de las sustancias colorantes orgánicas naturales indicadas en la NTE 2074 y las siguientes sustancia colorantes orgánicas artificiales: Amarillos

N°5 (tratrazina), Amarillo N°6 (sunset yellow), Rojo N°40 (Allura), Azul N°1 (Azul brillante), Azul N°2 (Indigo) y Verde N°3 (Fast green).

5.11 Se permite la adición de ácido benzoico, sorbico y sus sales de Na y K en una cantidad máxima de 600mg/litro solos o en combinación.

5.12 Se permite la adición de ácido ascórbico, como antioxidante ben una cantidad máxima de 300 mg/litro.

5.13 Se permite la adición de las sustancias aromáticas naturales e idénticas a las naturales indicadas en la NTE INEN 2074; no se permite la adición de cumarina, ácido ascórbico, como antioxidante en una cantidad máxima de 300 mg/litro.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos específicos

6.1.1 Las bebidas gaseosas deben presentar un aspecto límpido y. si es el caso opalescente.

6.1.2 El color, el olor y el sabor deben ser los propios y característicos del producto.

6.1.3 El contenido de cafeína en el producto final no debe exceder de 0.02% ensayado, de acuerdo a la NTE INEN 1081.

6.1.4 El contenido de quinina en el producto final no debe ser mayor a 0.09%, ensayado de acuerdo a la NTE INEN 1100.

6.1.5 El contenido de ácido fosfórico en el producto final no debe ser mayor a 0.06%, ensayado de acuerdo a la NTE INEN 1092.

6.1.6 El contenido de dióxido de azufre en el producto final no debe ser mayor a 0.05%, ensayado de acuerdo a la NTE INEN 1090.

6.1.7 Requisitos físico- químicos

Las bebidas gaseosas ensayadas de acuerdo a las normas técnicas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con lo establecido en la tabla 1.

6.1.7.1 Las bebidas gaseosas, ensayadas de acuerdo a las normas técnicas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con lo establecido en la tabla 1.

TABLA 1. Especificaciones de las bebidas gaseosas

	Bebidas Gaseosas		Bebidas gaseosas baja en calorías		Bebidas gaseosas baja en calorías		
	Mínimo	Maximo	Mínimo	Maximo	Mínimo	Maximo	
Sólido Solubles (°Brix)	> 7	-	0.3	7	-	< 0,3	NTE INEN 1 083
Carbonatación Volumen de CO2	1	5	1	0.5	1	5	NTE INEN 1 082
Acidez titulable como ácido cítrico %	0.5	-	-	0.5	-	0,5	NTE INEN 1 091
pH	2.4	5.0	2.4	5.0	2,4	5	NTE INEN 1 087

6.1.8 Requisitos microbiológicos

6.1.8.1 El producto debe estar exento de bacterias patógenas y /o toxinas y de cualquier otro microorganismo que represente riesgo para la salud.

6.1.8.2 Las bebidas gaseosas deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 2

TABLA 2. Especificaciones microbiológicas de las bebidas gaseosas

	n	m	M	c	Método de Ensayo
Coniformes NMP/100 cc	5	<2	-	0	NTE INEN 1 095
REP UFC/cc	5	3.0*10-1	-	0	NTE INEN 1 529-5
Mohos UP/cc	5	1	1*10 EXP 1	2	NTE INEN 1 529-10
Levaduras UP/cc	5	1	1*10 EXP 1	2	NTE INEN 1 529-10

En Donde:

NMP =numero mas probable

UFC = unidades formadoras de colonia

UP = unidades propagadoras

n = numero de unidades

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

c = numero de unidades permitidas entre m y M

6.1.8.3 Para muestra unitaria los requisitos microbiologicos, máximos permitidos son los establecidos en la columna m de la tabla 2

6.1.9 Las bebidas gaseosas no deberán contener de las sustancias que se indican a continuación, cantidades superiores a las siguientes:

	Limite Máximo, mg/l
Arsenico, como As	0,2
Plomo, como Pb	0,2
Mercurio, como Hg	0,005
Cobre, como Cu	2

Hierro, como Fe	0,3 3(1)
Estaño, como Sn	20 150(1)
Aluminio, como Al	0,3 5,0(1)
(1) para bebidas envasadas en envases metálicos	

6.2 Requisitos Complementarios

6.2.1 Cuando se utilicen envases metálicos, estos no deben presentar deformaciones.

6.2.2 Los envases retornables deben someterse a un proceso adecuado de limpieza y desinfección antes de ser utilizados nuevamente.

6.2.3 El espacio libre en los envases no deben exceder al 9 % del volumen del envase (ver NTE INEN 1 085).

7. INSPECCIÓN

7.1 **Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 1 077.

7.2 Aceptación o rechazo

7.2.1 Se aceptan los productos si cumplen con los parámetros establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

8. ENVASADO Y EMBALADO

8.1 En envases metálicos, y en cualquier otro aprobado por la FDA.

8.2 Los envases deben ser resistentes a la acción del producto y no alterar las características del mismo.

8.3 Los envases y las tapas deben cumplir con las normas técnicas correspondientes.

8.4 Los envases y las tapas deben asegurar el producto, su higiene e inviolabilidad durante el transporte, almacenamiento y expendio.

8.5 En el caso de envases para sistemas Pre-mix y Post-mix. Las tapas y válvulas deben asegurar al producto su higiene e inviolabilidad durante el transporte, almacenamiento y expendio.

8.6 La inviolabilidad del cierre de los envases con tapa corona debe comprobarse con la NTE INEN 1 088.

9. ROTULADO

9.1 El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el Reglamento de Alimentos, en la NTE INEN 1 334:1 y 1334:2 y en las otras disponibles legales vigentes en tanto no se contrapongan con dicho reglamento.

9.2 En el caso de los envases retornables. La tapa podrá ser considerada como panel de información.

9.3 No debe haber declaraciones de características que no se puede comprobar.

ANEXO 2

NORMA ECUATORIANA INEN 1095 BEBIDAS GASEOSAS DETERMINACION DE BACTERIAS COLIFORMES

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los métodos para detectar la presencia de coliformes en tubos múltiples de fermentación y/o filtración por membrana en bebidas gaseosas.

2. METODO DE TUBOS MULTIPLES DE FERMENTACION

2.1 Resumen

2.1.1 Preparación del medio de cultivo, inoculación de la muestra, incubación y detección presuntiva, confirmativa y complementaria.

2.2 Equipo y área de trabajo.

2.2.1 Área de trabajo: área limpia bien iluminada, libre de corrientes de aire. Mesa nivelada de superficie amplia y no porosa, desinfectada antes de cada análisis.

2.2.2 Equipo

2.2.2.1 Incubadora, con regulador de temperatura, sensible + o - 0.5.

2.2.2.2 Equipo de esterilización.

2.2.2.3 Contador de colonias que provea visibilidad satisfactoria.

2.2.2.4 Balanza analítica con una sensibilidad de 0.1 mg.

2.2.2.5 Utensilios para la preparación de medios .Se debe utilizar utensilios a base de borosilicato o material anticorrosivo, como acero inoxidable.

2.2.2.6 Pipetas de 1 y 10 cc con graduaciones de 0.1 cc.

2.2.2.7 Portapipetas. Cajas de aluminio o acero inoxidable.

2.2.2.8 Frascos o tubos de dilucion.Deben usarse frascos o tubos de borosilicato con tapones de cristal o con tapas roscas de empaques que no produzcan compuestos tóxicos o bactericidas durante la esterilización.

2.2.2.9 Cajas de petri, de vidrio o de plástico de 100 mm de diámetro y 15 mm de altura mínima.

2.2.2.10 Frascos de muestreo .De borosilicato con capacidad para contener el volumen de agua necesario para el análisis.

2.2.2.11 Refrigerador para almacenar medios de cultivo y guardar las muestras que lo requieran.

2.2.2.12 Baño de agua con regulador de temperatura para mantener el medio de cultivo a 44-46 C.

2.2.2.13 Tubos de Cultivo, de 12 mm de diámetro y 120 mm de altura.

2.2.2.14 Tubos de Durhan, de 5 mm de diámetro y 50 mm de altura.

2.3 Reactivos

2.3.1 Medio de cultivo.

2.3.1.1 Caldo Laurel Triptosa.

2.3.1.2 Caldo lactosado Bilis Verde Brillante

2.3.1.3 Medio Agar Eosina Azul de metileno (EMB).

2.3.1.4 Agar para cuenta normal en placa

2.3.2 Agua destilada.

2.3.3 Diluyentes

2.3.1.3 Butterfield's Buffer de fosfatos para diluciones

2.3.1.4 Agua peptonada de dilución, al 0.1 %

2.4 Preparación de la muestra.

2.4.1 Limpiar y desinfectar el envase sellado (botellas, latas), abrir los envases utilizando un destapador estéril. Flamear la boca del envase y trasvasar en forma aséptica a un recipiente estéril y agitar convenientemente para eliminar parcialmente el gas.

2.5 Procedimiento.

2.5.1 La determinación debe efectuarse por triplicado sobre la misma muestra preparada.

2.5.2 Prueba Presuntiva

2.5.2.1 En cada uno de tres tubos de cultivo que contengan 10 cc de caldo laurel triptosa de doble concentración, sembrar con pipeta estéril 10 cc de la muestra. En cada uno de tres tubos de cultivo que contengan 5 cc de caldo laurel triptosa de concentración simple con pipeta estéril 1 cc de la muestra. En cada uno de los tres tubos de cultivo que contengan 5 cc de caldo laurel triptosa de concentración simple, sembrar 0.1 cc de la muestra. Incubar los tubos sembrados a 35 +/- 0.1 °C durante 48 +/- 2 horas.

2.5.2.2 a las 24 horas observar y registrar los tubos gas positivo. Incubar los tubos gas negativo por 24 horas más y proceder a la lectura final.

2.5.2.3 Se consideran gas positivo los tubos que demuestran presencia de gas dentro del tubo Durham, y gas negativo, aquellos que no se observa gas dentro del tubo Durham. En el primer caso, la prueba es presuntiva positiva para los organismos coliformes, y en el segundo la prueba es presuntiva negativa.

2.5.2.4 No debe confundirse la presencia de una burbuja en el tubo Durham con la verdadera producción de gas, producto de UNAM fermentación activa, pues en este caso se observara además de gas, turbidez y la presencia continua de burbujas al agitar el tubo.

2.5.3 Prueba Confirmativa

2.5.3.1 Agitar los tubos positivos de la prueba presuntiva y transferir el cultivo, con una aza de platino de 3 mm de diámetro, a tubos que contengan caldo lactosado bilis verde brillante (CLBV). Incubar a 35 +/- 1°C durante 48 horas, observar y registrar los tubos

2.5.3.2 Realizar un frotis de los tubos gas positivo y teñir por el método de Gram, verificar la presencia de Bacilos Gram negativos

2.5.4 Prueba Complementaria

2.5.4.1 Agitar los tubos positivos de la prueba confirmativa y transferir el cultivo a cajas de agar eosina azul de metileno (EMB).

2.5.4.2 Incubar a 35 +/- 1°C por 48 horas observar la presencia de colonias nucleadas oscuras con brillo verde metálico (*Escherichia Coli*) y las que presenten un centro gris marrón sin brillo metálico (*Enterobacter Aerógenos*).

2.6 Informe de Resultados

2.6.1 Como resultado final, debe indicarse si la prueba es positiva o negativa, de acuerdo a lo observado en las tres pruebas realizadas

2.6.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método INEN usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional así como cualquier circunstancia que puede haber influido en el resultado.

2.6.3 Debe incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

3. MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA

3.1 Resumen

3.1.1 Preparación del medio, filtración aséptica de la muestra, siembra, incubación y conteo de colonias.

3.2 Equipo de trabajo.

3.2.1 Área de trabajo. Área limpia bien iluminada, libre de corrientes de aire, mesa nivelada de superficie limpia y no porosa, desinfectada antes de cada análisis.

3.2.2 Equipo

3.2.2.1 Fuente de vacío (Trompa o bomba) con sus accesorios necesarios.

3.2.2.2 Incubadora, con regulación de temperatura + o - 0.5 C.

3.2.2.3 Fuente de calor.

3.2.2.4 Balanza analítica.

3.2.2.5 Equipo de esterilización conveniente.

3.2.2.6 Refrigeración.

3.2.2.7 Contador de colonias.

3.2.2.8 Destapador de botellas.

3.2.2.9 Pinzas, para crisol.

3.2.2.10 Mechero de alcohol o gas,

3.2.2.11 Cajas de Petri, de vidrio o plástico de 60 por 15 mm.

3.2.2.12 Pinzas, de acero inoxidable de puntas redondeadas.

3.2.2.13 Recipientes graduados.

3.2.2.14 Equipo de filtración por membrana, completo con sus embudos y bases.

3.2.2.15 Membranas con porosidad, de 0.45 micras y diámetro de 47 mm.

3.2.2.16 Toallas estériles

3.2.2.17 Algodón

3.2.2.18 Vasos de Precipitación, de 100.300 y 500 cc

3.2.2.19 Colchones absorbentes, de 47 mm de diámetro

3.2.2.20 Papel filtro de 55 mm de diámetro

3.2.2.21 Papel Kraft

3.2.2.22 Ligas de hule

3.2.2.23 Frascos de 250 cc con tapa de boca ancha.

3.3 Reactivos

3.3.1 Medio de cultivo

3.3.1.1 Caldo M-coliformes

3.3.2 Alcohol etílico al 70 %

3.3.3 Agua destilada estéril

3.4 Preparación de la muestra

3.4.1 Limpiar y desinfectar el envase sellado (botellas, latas), abrir asépticamente los envases. Flamear la boca del envase

3.5 Procedimiento.

3.5.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada

3.5.2 Esterilizar el equipo y material que debe utilizarse.

3.5.3 Utilizar una pinza flameada y colocar la membrana estéril sobre la base del embudo previamente esterilizado.

3.5.4 Colocar el embudo sobre la base.

3.5.5 Abrir el envase en forma aséptica

3.5.6 Flamear la porción exterior de la boca de la botella o envase sin corona o tapa.

3.5.7 Filtrar una alícuota de 20 cc aplicando vacío.

3.5.8 Quitar el embudo y tomar la membrana con la pinza previamente flameada y colocar en la caja de petri que contienen el colchoncillo absorbente y el medio de cultivo, todo previamente esterilizado.

3.5.9 Colocar la caja petri en posición invertida en la incubadora a 35 °C durante 22 +/- 2 horas.

3.5.10 Utilizando el contador de colonias, determinar el número de colonias coliformes presentes en la membrana, considerando únicamente aquellas que presenten un brillo verde metálico iridiscente.

3.6 Informe de Resultados.

3.6.1 Como resultado final, debe indicarse si la prueba es positiva o negativa de acuerdo a lo observado.

3.6.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método INEN usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional así como cualquier circunstancia que puede haber influido en el resultado.

3.6.3 Debe incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

ANEXO 3

NORMA ECUATORIANA INEN 1098

BEBIDAS GASEOSAS

CONTAJE DE LEVADURAS Y HONGOS

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los métodos para efectuar el conteo de levaduras y hongos en placa y/o filtración por membrana en bebidas gaseosas.

2. METODO DE CONTAJE EN PLACA

2.1 Resumen

2.1.1 Preparación del medio de cultivo, inoculación de la muestra, incubación y conteo de colonias.

2.2 Equipo y área de trabajo.

2.2.1 Área de trabajo: área limpia bien iluminada, libre de corrientes de aire. Mesa nivelada de superficie amplia y no porosa, desinfectada antes de cada análisis.

2.2.2 Equipo

2.2.2.1 Incubadora, con regulador de temperatura + o - 0.5.

2.2.2.2 Equipo de esterilización.

2.2.2.3 Contador de colonias que provea visibilidad satisfactoria.

2.2.2.4 Balanza analítica con una sensibilidad de 0.1 mg.

2.2.2.5 Utensilios para la preparación de medios .Se debe utilizar utensilios a base de borosilicato o material anticorrosivo, como acero inoxidable.

2.2.2.6 Pipetas de 1 y 10 cc con graduaciones de 0.1 cc.

2.2.2.7 Portapipetas. Cajas de aluminio o acero inoxidable.

2.2.2.8 Frascos o tubos de dilución. Deben usarse frascos o tubos de borosilicato con tapones de cristal o con tapas roscas de empaques que no produzcan compuestos tóxicos o bacterias durante la esterilización.

2.2.2.9 Cajas de petri, de vidrio o de plástico de 100 mm de diámetro y 15 mm de altura mínima.

2.2.2.10 Frascos de muestreo .De borosilicato con capacidad para contener el volumen de agua necesario para el análisis.

2.2.2.11 Refrigerador para almacenar medios de cultivo y guardar las muestras que lo requieran.

2.2.2.12 Baño de agua con regulador de temperatura para mantener el medio de cultivo a 44-46 C.

2.3 Reactivos

2.3.1 Medio de cultivo.

2.3.1.1 Sabourand.dextrosa agar, al 4% (ver anexo A).

2.3.1.2 Sabourand maltosa agar, al 4% (ver anexo A)

2.3.1.3 Butterfield's Buffer de fosfatos para diluciones (ver anexo A).

2.3.1.4 Agua peptonada de dilución, al 0.1 % (ver anexo A)

2.3.2 Agua destilada.

2.4 Preparación de la muestra.

2.4.1 Limpiar y desinfectar el envase (botellas, latas), abrir los envases utilizando un destapador estéril. Flamear la boca del envase y trasvasar en forma aséptica a un recipiente estéril y agitar convenientemente para eliminar parcialmente el gas.

2.5 Procedimiento.

2.5.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada, utilizando 5 cc repartidos en dos cajas de Petri.

2.5.2 En condiciones asépticas y mediante pipeta, transferir 2.5 cc de la muestra a cajas de Petri, identificadas convenientemente.

2.5.3 Fundir el medio de cultivo, utilizando el baño de agua hirviendo. Evitar la exposición prolongada del medio de cultivo a altas temperaturas durante y después

de la fusión. No esterilizar nuevamente el medio. Descartar el agar fundido que contenga precipitado. Mantener el medio fundido en un baño de agua entre 44 C y 46 C. Uselo a esta temperatura.

2.5.4 Transferir aproximadamente 12 a 15 cc del medio de cultivo a cada caja de petri, evitando derramar por las paredes del recipiente.

2.5.5 Mezclar perfectamente el medio de cultivo con la porción de la muestra de análisis, mediante movimientos rotatorios en direcciones opuestas o por rotación o inclinación de caja. Evitar salpicaduras de la mezcla.

2.5.6 Dejar que las placas se solidifiquen sobre una superficie nivelada y colocar las placas en forma invertida dentro del incubador a temperatura 20 - 25 C de 3 a 5 días .

2.5.7 Usar placas de control para controlar la esterilidad del medio de cultivo.

2.5.8 Utilizando un contador de colonias, determinar el número de colonias de levaduras y/u hongos presentes en cada caja de petri. Considerar como levaduras las que presentan superficie opaca con coloración blanca amarillenta, rosadas, generalmente son ovaladas lenticulares y estrelladas. los mohos se identifican por su aspecto algodonoso característico.

2.6 Cálculos

2.6.1 El número de levaduras y/u hongos presentes en una muestra de bebida gaseosa se determina mediante la siguiente ecuación:

$$LH = n \cdot f.$$

Siendo:

LH = número de colonias de levadura y/u hongos presentes en 1 cc. de muestra.

n = número de colonias contadas en cada cultivo.

f = factor de dilución correspondiente, referido a 1 cc.

2.7 Errores de método.

2.7.1 La diferencia entre los resultados extremos de las diversas determinaciones no debe exceder del 10 % de la media aritmética de los resultados, en caso contrario, debe repetirse la determinación.

2.8 Informe de resultados.

2.8.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación de levaduras y/u hongos en colonias / cc. Cuando el resultado sea una fracción 0.5 o menos, se considerara cero de acuerdo a la norma INEN 052.

2.8.2 En el informe de resultados, debe indicarse la identificación de método usado INEN 1093 y el resultado obtenido. Debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

2.8.3 Debe incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra

3. METODO DE FILTRACION POR MEMBRANA

3.1 Resumen.

3.1.1 Preparación del medio, filtración aséptica de la misma, siembra, incubación y conteo de colonias.

3.2 Equipo de trabajo.

3.2.1 Área de trabajo. Área limpia bien iluminada, libre de corrientes de aire, mesa nivelada de superficie limpia y no porosa, desinfectada antes de cada análisis.

3.2.2 Equipo

- 3.2.2.1 Fuente de vacío (Trompa o bomba) con sus accesorios necesarios.
- 3.2.2.2 Incubadora, con regulación de temperatura ± 0.5 C.
- 3.2.2.3 Fuente de calor.
- 3.2.2.4 Balanza analítica.
- 3.2.2.5 Equipo de esterilización conveniente.
- 3.2.2.6 Refrigeración.
- 3.2.2.7 Contador de colonias.
- 3.2.2.8 Destapador de botellas.
- 3.2.2.9 Pinzas, para crisol.
- 3.2.2.10 Mechero de alcohol o gas,
- 3.2.2.11 Cajas de Petri, de vidrio o plástico de 60 por 15 mm.
- 3.2.2.12 Pinzas, de acero inoxidable de puntas redondeadas.
- 3.2.2.13 Recipientes graduados.
- 3.2.2.14 Equipo de filtración por membrana, completo con sus embudos y bases.
- 3.2.2.15 Membranas con porosidad, de 0.45 micras y diámetro de 47 mm.
- 3.2.2.16 Toallas estériles.
- 3.2.2.17 Algodón.
- 3.2.2.18 Vasos de precipitación, de 100, 300 y 500 cc.
- 3.2.2.19 Colchones absorbentes, de 47 mm de diámetro.
- 3.2.2.20 Papel filtro, de 55 mm de diámetro.
- 3.2.2.21 Papel kraft.
- 3.2.2.22 Ligas de hule.
- 3.2.2.23 Frascos de 250 cc con tapa de boca ancha.

3.3 Reactivos

- 3.3.1 Medio de cultivo.
 - 3.3.1.1 Caldo M verde para levadura y mohos (ver anexo B).
 - 3.3.1.2 Alcohol etílico al 70 %.
 - 3.3.1.3 Agua destilada estéril.

3.4 Preparación de la muestra.

- 3.4.1 Limpiar y desinfectar el envase (botellas, latas), abrir asépticamente los envases. Flamear la boca del envase.

3.5 Procedimiento

- 3.5.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- 3.5.2 Esterilizar el equipo y material que debe utilizarse.
- 3.5.3 Utilizando una pinza previamente flameada y colocar la membrana estéril sobre la base del embudo previamente esterilizado.
- 3.5.4 Colocar el embudo sobre la base.
- 3.5.5 Abrir el envase en forma aséptica.
- 3.5.6 Flamear la porción exterior de la boca de la botella o envase sin corona o tapa.
- 3.5.7 Filtrar una alícuota de 20 cc aplicando vacío.
- 3.5.8 Quitar el embudo y tomar la membrana con la pinza previamente flameada y colocar en la caja de petri que contiene el colchoncillo absorbente y el medio de cultivo, todo previamente esterilizado.
- 3.5.9 Colocar la caja de petri en posición invertida en la incubadora a 28 ± 2 C durante 48 horas.
- 3.5.10 Utilizando el contador de colonias, determinar el número de colonias presentes en la membrana. Considerar como levaduras las que presentan superficies opaca con coloración blanca amarillenta, rosada, generalmente son

ovaladas,,lenticulares y estrelladas.Los mohos se identifican por su aspecto algodonoso característico.

3.6Calculos

3.6.1El número de levaduras y/u hongos presentes en una muestra de bebidas gaseosas se determina mediante la siguiente ecuación:

$$LH = N / V$$

Siendo:

LH = numero de colonias de levaduras y/u hongos presentes en 1 cc de muestra.

N = numero de colonias contadas en cada cultivo.

V = volumen filtrado de la muestra, en cc.

3.7Errores de método

3.7.1 La diferencia entre los resultados extremos de las diversas determinaciones no debe de exceder del 10% de la media aritmética de los resultados, en caso contrario debe repetirse la determinación.

3.8 Informe de resultados

3.8.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación de levaduras y/u hongos en colonias / cc.Cuando el resultado es una fracción 0.5 o menos, se considerara cero de acuerdo a la norma INEN 052.

3.8.2 El informe de resultados, debe indicarse la identificación del método usado INEN 1093 y el resultado obtenido .Debe indicarse además cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

3.8.3 Debe incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

ANEXO A

A.1 Sabourad Dextrosa Agar al 4 %	
Dextrosa o maltosa	40.00g
Peptona	10.00g
Agar	15.00g
Agua destilada	1.0 litro

Disolver los ingredientes en agua destilada, calentar a ebullición, distribuir en frascos,esterilizar en autoclave a 121 C por 15 min , ph a 5.6 +- 0.2 .No exceder los 15 min en autoclave.

A.2 Butterfied's Buffer de fosfatos para diluciones

Solución stock	Fosfato ácido monopotasio	34.00g
	Agua destilada	500.00g

Ajustar a ph 7.2 aproximadamente con 175 cc de hidróxido de sodio normal diluir a un litro y almacenar.

Diluyente: diluir 1.25 cc de la solución stock a un litro.Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 C por 15 min .

A.3

Agua peptonada de dilucion al 0.1 %	
Peptona	1.00g

Agua destilada 1.00 litro

Disolver la peptona en agua destilada, ajustar el ph 6.8 +o - 0.2. Distribuir el agua peptonada en porciones que permita obtener volúmenes de 99 + o - 2.0 cc o 9.9 + o - 0.2 cc después de 15 min de esterilización a 121 C.

NOTA :Para hacer el medio selectivo, se recomienda la adición de antibióticos :20 unidades de penicilina, 40 microgramos de estreptomina o dehidroestreptomina por cada cc del medio, añadiéndose al medio estéril fundido a 40 C bajo condiciones asépticas,

ANEXO B

B.1 Caldo M verde para levadura y/u hongo. (Schaufus y Pottinger)

Formula en gramos por litro de agua destilada

Extracto de levadura	9.00 g
Dextrosa	50.00 g
Peptona polipeptona	10.00 g
Sulfato de magnesio	2.10 g
Fosfato de potasio	2.00g
Diastasa	0.05g
Tiamina	0.05g
Verde bromocresol	0.0026g

ANEXO 4

NORMA ECUATORIANA INEN 1077

BEBIDAS GASEOSAS

MUESTREO

1. OBJETO

1.1 esta norma establece el procedimiento para la toma de muestra de bebidas gaseosas.

2. TERMINOLOGÍA

- 2.1 **Lote:** es una cantidad definida de producto de características similares, producida en un ciclo de fabricación, debidamente individualizada, que se somete a inspección como un conjunto unitario.
- 2.2 **Unidad de muestreo. es aquella** obtenida al azar de un lote
- 2.3 **Muestra** es el conjunto de unidades de muestreo que se usa como referencia de la calidad de un lote.
- 2.4 **Muestra de ensayo.** Es la parte de la muestra destinada al análisis o ensayo.

3. DISPOSICIONES GENERALES

- 3.1 **tamaño de la muestra**
 - 3.1.1 El numero de unidades de muestreo que debe tomarse de un lote debe corresponder a lo indicado en la tabla 1 (Anexo A)
- 3.2 **Condiciones posteriores al muestreo**
 - 3.2.1 De la muestra obtenida, debe destinarse una tercera parte al fabricante o vendedor, otra al laboratorio de análisis, y una tercera debe reservarse para, en caso de discrepancia, enviar a al entidad competente.
 - 3.2.2 Debe fijarse a cada unidad de muestreo una tarjeta que incluya un numero de identificación, la fecha de muestreo y las firmas de las partes interesadas.
 - 3.2.3 Debe fijarse a cada unida de muestreo que incluya la información siguiente:
 - a) numero de la norma INEN de referencia : 1077
 - b) razón social del fabricante,
 - c) numero de identificación de la muestra,
 - d) numero del registro sanitario y fecha de emisión,
 - e) lugar y fecha de realización del muestreo
 - f) nombre del producto y marca comercial
 - g) dirección del fabricante, cuidad y país,
 - h) identificación del lote
 - i) volumen total del lote
 - j) numero de muestras o unidades del muestreo obtenidas,
 - k) nombres y direcciones de las partes interesadas, y
 - l) observaciones que se consideran
 - 3.2.4 Las unidades de muestreo destinadas al análisis deberán enviarse al laboratorio correspondiente en forma inmediata y en condiciones que garanticen la estabilidad del producto.
 - 3.2.5 Las unidades de muestreo restantes se almacenarán durante 60 días posteriores a la toma de muestra, en condiciones que no afecten al producto, para el caso de que hubiera discrepancia analítica entre los interesados.

4. PROCEDIMIENTO

- 4.1 Tomar del lote de unidades de muestreo, de acuerdo a lo indicado en la tabla 1, aplicando un método reconocido de muestreo al azar.
- 4.2 Las unidades de muestreo no deben abrirse hasta el momento del análisis.

- 4.3 El nivel de calidad aceptable, así como el número de aceptación y de rechazo, deben establecerse de mutuo acuerdo entre las partes interesadas.

5. ANEXO A

Tabla 1. Tamaño del lote y unidades de muestreo

Tamaño del lote	Unidades de Muestreo
2 a 15	2 botellas
16 a 50	3 botellas
51 a 150	5 botellas
150 a 500	8 botellas
501 a 3200	13 botellas
3201 a 35000	20 botellas
35001 a 500000	32 botellas
500000 y más	50 botellas