



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**

*La Universidad Católica de Loja*

## **ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA**

**TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS**

Evaluación y mejoramiento de los procesos de limpieza y desinfección de  
la empresa LA TISANITA

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

AUTORA: Soto Granda, María Antonia

DIRECTORA: Hualpa Salinas, Diana Inés, Mgtr

**LOJA - ECUADOR**

**2017**



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

2017

## **APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Mgr.

Diana Inés Hualpa Salinas

**DOCENTE DE LA TITULACIÓN**

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: Evaluación y mejoramiento de los procesos de limpieza y desinfección de la empresa LA TISANITA realizado por María Antonia Soto Granda, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, noviembre del 2017

f).....

## DECLARACIÓN DE AUDITORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo María Antonia Soto Granda declaro ser la autora del presente trabajo de titulación: Evaluación y mejoramiento de los procesos de limpieza y desinfección de la empresa LA TISANITA de la Titulación de Ingeniería en Alimentos, siendo la Mgtr. Diana Inés Hualpa Salinas directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de Investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad".

f.....

Autor María Antonia Soto Granda

Cédula 1900553015

## DEDICATORIA

**A Dios**, por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y no desmayar ante los problemas que se me presentaron durante el desarrollo de este trabajo, enseñándome a enfrentar todas las pruebas sin desfallecer en el intento por cumplirlas

A **mi Madre** Julia Dayse Edith Granda Gutiérrez y **Abuelito** Rafael Alejandro Soto Villacis, por iluminarme y protegerme desde el cielo todos los días de mi vida, por estar acompañándome de manera espiritual en los momentos de desesperación y angustia que he tenido durante toda mi vida académica

A mi **Padre** Charvel Antonio Soto Torres y a mis hermanos, Enrique, Andrea, Inés y Juan, por confiar en mí, por haberme dado todo lo que soy como persona, mis valores, principios y mi coraje para conseguir mis objetivos, por sus consejos en los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para poder realizar mis estudios académicos

## AGRADECIMIENTO

Primeramente quiero agradecer a **Dios** por haberme guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de muchas oportunidades, experiencias y aprendizajes

A la **UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**, por permitirme realizar mis estudios universitarios y poder hoy cumplir con mi sueño tan anhelado de ser una profesional

A mi **Directora de tesis** la Mgrt. Diana Inés Hualpa Salinas, por su esfuerzo y dedicación en este trabajo, quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y motivación ha logrado en mí que pueda culminar mi carrera con esta investigación.

A la **Empresa** Ricosa S.A. y a su propietario Sr. Luis Galván, por permitirme realizar mi trabajo de fin de carrera en su entidad y ayudar en el mejoramiento de uno de sus productos con mis conocimientos adquiridos a lo largo de mi formación profesional

También me gustaría agradecer a todos y cada uno de mis profesores quienes compartieron sus conocimientos durante toda mi carrera, de manera especial al Mgrt. Jorge Felipe Reyes Bueno por depositar su confianza en mí para desarrollar este proyecto, al Ing. Holger Jaramillo por su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, por todos y cada uno de sus consejos que me sirvieron para formarme como persona y como estudiante

A mi **Familia**, por el apoyo incondicional que me supieron brindar para culminar mis estudios y ser hoy una profesional, gracias por los consejos la paciencia y la confianza depositada en mí siempre

A todos mis **amigos** por la paciencia, confianza y amistad que me supieron brindar durante estos 5 años de carrera

## INDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	ii
DECLARACIÓN DE AUDITORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
INDICE DE CONTENIDOS .....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	x
INDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xii
INDICE DE ANEXOS.....	xiii
ABREVIATURAS .....	xv
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
CAPITULO I.....	5
MARCO TEÓRICO .....	5
1.  ETA.....	6
1.1.  Microorganismos causantes de ETA .....	6
1.1.1.  Mohos.....	6
1.1.2.    Levaduras.....	7
1.1.3.    Coliformes totales.....	7
1.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
1.1.5. <i>Salmonella</i> .....	8
1.2.  Tipos de ETA.....	8
1.3.  Reservorios de microorganismos.....	8
1.3.1.    Plantas (frutas y vegetales). .....	8

1.3.2.	Aire.....	9
1.3.3.	Suelo.....	9
1.3.4.	Agua.....	9
1.3.5.	Equipos.....	9
1.4.	Importancia de la calidad microbiológica.....	9
1.5.	Horchata.....	10
1.6.	Hierbas aromáticas.....	11
1.6.1.	Manzanilla.....	11
1.6.2.	Albahaca.....	11
1.6.3.	Cedrón.....	11
1.6.4.	Menta.....	11
1.6.5.	Hierba luisa.....	12
1.6.6.	Toronjil.....	12
1.6.7.	Escancel.....	12
1.6.8.	Malva Olorosa.....	12
1.6.9.	Ataco.....	13
1.7.	Limpieza y desinfección.....	13
1.7.1.	Radiación.....	13
1.7.2.	Productos químicos.....	14
CAPITULO II.....		15
OBJETIVOS.....		15
2.1.	Propósito o fin del proyecto.....	16
2.2.	Componente u objetivo específico del proyecto.....	16
CAPITULO III.....		17
MATERIALES Y MÉTODOS.....		17
3.	Recolección y preparación de muestras.....	18

3.1.	Superficies vivas e inertes. ....	18
3.1.1.	Materias primas frescas y procesadas. ....	19
3.1.2.	Producto terminado. ....	20
3.1.3.	Producto terminado sometido a UV. ....	20
3.1.4.	Materias primas sumergidas en agua + hipoclorito de calcio. ....	20
3.1.5.	Materias primas sumergidas en agua + ácido paracético. ....	21
3.2.	Preparación de material. ....	21
3.3.	Metodología. ....	22
3.3.1.	Procedimiento de Siembra ....	22
3.4.	Aislamiento y detección de Salmonella. ....	23
3.4.1.	Día 1 Pre- enriquecimiento. ....	23
3.4.2.	Día 2 Enriquecimiento selectivo. ....	23
3.4.3.	Día 3 Selección en medios sólidos. ....	24
3.4.4.	Día 4 Identificación bioquímica. ....	24
CAPITULO IV. ....		26
RESULTADOS Y DISCUSIONES. ....		26
4.1.	Inspección previa ....	27
4.1.1.	Infraestructura y equipos ....	27
4.1.2.	Personal. ....	27
4.1.3.	Materias primas y producto terminado. ....	27
4.2.	Evaluación de estudios microbiológicos ....	27
4.3.	Implementación de mejoras ....	32
4.3.1.	Infraestructura y equipos ....	32
4.3.2.	Personal. ....	32
4.3.3.	Materias primas y producto terminado. ....	32
CONCLUSIONES. ....		38

RECOMENDACIONES.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXOS.....	43
ANEXO A. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	44
ANEXO B. DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE PLACAS PETRIFILM (AOAC).....	45
ANEXO C. TABLAS DE DILUCIONES.....	46
ANEXO D. TABLAS DE RESULTADOS DE LOS GRÁFICOS 1-5.....	67

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Toma de muestra (superficie inerte) .....	19
Figura 2 Toma de muestra (materias primas frescas) .....	19
Figura 3 Toma de muestra (producto terminado) .....	20
Figura 4 Toma de muestra (producto terminado + UV) .....	20
Figura 5 Materia prima + hipoclorito de calcio.....	21
Figura 6 Materia prima + ácido acético .....	21
Figura 7 Proceso de siembra .....	23

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Análisis microbiológicos de superficies vivas de la empresa la TISANITA .....	28
Tabla 2 Análisis microbiológicos de superficies inertes de la empresa la TISANITA .....	28
Tabla 3 Análisis microbiológicos de agua de lavado de materia prima de la empresa la TISANITA .....	29
Tabla 4 Análisis microbiológicos de materias primas de la empresa la TISANITA .....	30
Tabla 5 Análisis microbiológicos de producto terminado de la empresa la TISANITA .....	31
Tabla 6 Análisis microbiológicos de ataque por proveedores de la empresa la TISANITA .....	31
Tabla 7 Análisis microbiológicos de producto terminado con y sin UV de la empresa la TISANITA (equipo laboratorio).....	33
Tabla 8 Análisis microbiológicos de producto terminado con UV (instalado en la empresa) y sin UV de la empresa la TISANITA .....	33
Tabla 9 Análisis microbiológicos de muestras con desinfectante ácido paracético .....	37

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análisis microbiológicos de esencia fresca y con desinfectante hipoclorito de calcio	34
Gráfico 2. Análisis microbiológicos de toronjil fresco y con desinfectante hipoclorito de calcio	34
Gráfico 3 Análisis microbiológicos de manzanilla con desinfectante hipoclorito de calcio .....	35
Gráfico 4 Análisis microbiológicos de escancel fresco y con desinfectante hipoclorito de calcio .....	35
Gráfico 5 Análisis microbiológicos de malva olorosa con desinfectante hipoclorito de calcio ..	36

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO A. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	44
ANEXO B. DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE PLACAS PETRIFILM (AOAC).....	45
ANEXO C. TABLAS DE DILUCIONES.....	46
ANEXO D. TABLAS DE RESULTADOS DE LOS GRÁFICOS 1-5.....	67

## ABREVIATURAS

ETA	Enfermedades transmitidas por alimentos
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas
BPH	Buenas Prácticas de Higiene
CASAFE	Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
UV	Ultravioleta
UFC	Unidades formadoras de colonias
ESPC	Estimado
TNTC	Incontable
g	Gramo
cm <sup>2</sup>	Centímetro cuadrado
ml	Mililitros

## RESUMEN

La contaminación de los alimentos es una consecuencia directa de las deficiencias sanitarias en las diferentes etapas de su proceso de elaboración, manipulación, transporte, almacenamiento y las condiciones en que son suministrados al consumidor. La presente investigación tuvo como finalidad evaluar y mejorar los procesos de limpieza y desinfección de la empresa LA TISANITA, a través del estudio de la calidad microbiológica de materias primas, superficies, equipos y producto terminado, mediante el análisis de microorganismos indicadores como son aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia.coli*, mohos levaduras y microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*, se realizó la aplicación de luz ultravioleta al producto terminado, evidenciándose de esta manera la reducción de *Escherichia coli* hasta los límites permisibles por la norma, se comprobaron concentraciones de hipoclorito de calcio como alternativa de mejoramiento para la desinfección de materias primas

**PALABRAS CLAVE:** Calidad microbiológica, Aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*

## ABSTRACT

Food contamination is a direct consequence of sanitary deficiencies in the different stages of their processing, handling, transport, storage and the conditions in which they are supplied to the consumer. The objective of the present investigation was to evaluate and improve the cleaning and disinfection processes of the company LA TISANITA, through the study of the microbiological quality of raw materials, surfaces, equipment and finished products, through the analysis of microorganisms indicators, such as Aerobic mesophiles, total coliforms, *Escherichia coli*, molds yeasts, and pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* and *Salmonella*, the exposition of ultraviolet light was made to the finished product, evidencing in this way the reduction of *Escherichia coli* to the limits permissible by the norm, was verified the concentration of calcium hypochlorite as an improvement alternative for disinfection of raw materials

**KEYWORDS:** Microbiological quality, Mesophilic aerobes, total coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son una causa importante de morbilidad y mortalidad, produciendo un gran impacto económico tanto por los gastos en salud como las pérdidas que se ven relacionadas con la elaboración de productos de consumo humano; la mayoría de ETA se deben a la ingestión de agua y alimentos contaminados, los mismos que pueden ser de naturaleza microbiológica patógena (Urzúa, 2016). Hasta la fecha se han descrito más de 250 tipos de estas enfermedades, la mayoría son infecciones transmitidas por alimentos contaminados con microorganismos o parásitos, o por las toxinas que estos producen en el momento que un alimento se encuentra en estado de descomposición, estas enfermedades suelen ser ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos, entre las especies de bacterias más conocidas se encuentran los géneros *Campylobacter* y *Salmonella*, así como también la cepa O157:H7 de la enterobacteria, *Escherichia coli* (Flores, et al., 2003).

En términos globales, la incidencia de las ETA está aumentando y el comercio internacional de alimentos se ve afectado debido a los frecuentes requisitos de inocuidad y calidad que esta industria debe cumplir, para que la cadena alimentaria consiga mejoras y no se vea afectada se requiere capacitar a las industrias de manera constante reforzando a través de esto, los sistemas de control como BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) que se deben tomar en cuenta dentro de las etapas de todo el proceso.

El presente trabajo tiene como finalidad contribuir al mejoramiento de técnicas y aplicación de nuevos conocimientos en el proceso y fabricación de horchata en la provincia de Loja fortaleciendo la inocuidad alimentaria

En el primer capítulo del presente trabajo, se abarcan temas sobre el control microbiológico y su importancia dentro de la industria alimentaria, microorganismos indicadores de higiene, reservorio de los mismos, generalidades de la Horchata y de las materias primas que se usan para su elaboración, el segundo capítulo abarca lo referente a materiales y métodos en donde se describe brevemente la toma de muestras, metodología que se usó para realizar los análisis, así como también el proceso de siembra, en el tercer capítulo se presentan las tablas de resultados de la investigación los cuales son comparados con la NORMA INEN 2392:2007 (Hierbas aromáticas) y la discusión de los mismos

Para la ejecución del proyecto, primeramente se realizó una visita preliminar donde se hizo un muestreo de superficies vivas e inertes, equipos, materias primas y producto terminado con la finalidad de evaluar la calidad microbiológica de la empresa, así mismo dentro de las alternativas

de mejoramiento se implementó el sistema de UV en el producto terminado y se evaluaron concentraciones de hipoclorito de calcio como desinfectante con la finalidad de reducir la carga microbiana presente en el producto

## **CAPITULO I.**

### **MARCO TEÓRICO**

## **1. ETA**

Las enfermedades transmitidas por alimentos abarcan un amplio campo en los que respecta a dolencias y problemas dentro de la salud pública creciente en todo el mundo, en su mayoría se deben a la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, a las que son expuestos, esta contaminación puede producirse en cualquier etapa del proceso que va desde la producción hasta el consumo de los alimentos, es decir desde la cosecha hasta la mesa y puede deberse a una contaminación de tipo ambiental, ya sea del agua, la tierra o el aire (OMS, 2015).

### **1.1. Microorganismos causantes de ETA**

Una de las principales causas de la disminución de la calidad y seguridad biológica de los alimentos es el desarrollo de microorganismos como bacterias, hongos, virus y parásitos los cuales son los responsables de las alteraciones organolépticas y nutricionales en un alimento, para evitar las ETA se debe realizar un análisis microbiológico mediante el estudio de microorganismos indicadores de higiene, los cuales nos ayudan a revelar las condiciones de manejo, higiene y desinfección de los alimentos durante las diferentes etapas del proceso de elaboración (González et al., 2010).

A continuación, se describen algunos de estos microorganismos

#### **1.1.1. Mohos.**

Los mohos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o a su vez como agentes contaminantes y en los equipos que son usados para su preparación, provocando de esta manera el deterioro fisicoquímico de éstos, debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos originando un olor desagradable (Borbolla et al., 2004). Los mohos están formados por estructuras tubulares llamadas hifas, las cuales crecen por ramificación y extensión longitudinal, no son móviles, presentan su pared celular de forma filamentosa la cual está compuesta por celulosa, quitina o ambas, se presentan en colonias grandes de color variable (puede llegar a producir un pigmento amarillo, negro o verde) y pueden ser Toxigénicos y de descomposición (Bibek et al., 2010).

### **1.1.2. Levaduras.**

Las levaduras alteradoras de alimentos, son especies particulares capaces de causar deterioro en alimentos y bebidas, considerados como organismos eucariontes unicelulares redondos u ovals, se reproducen por gemación, no son móviles, su pared celular está compuesta por polisacáridos (glucanos) proteínas y lípidos, se presentan en colonias pequeñas con bordes definidos de color rosado o verde- azul no poseen centro (Bibek et al., 2010). La actividad contaminante de las levaduras sobre alimentos puede inhibirse por dos vías; mediante la aplicación de métodos físicos con actividad bactericida, entre los que se destacan la esterilización por calor a presión y por filtración y por la aplicación de condiciones ambientales desfavorables con efecto bacteriostático, tales como disminución de la aw, bajos valores de pH y temperatura (Orberá, 2004).

### **1.1.3. Coliformes totales.**

Son bacterias gram negativas aerobias o anaerobios facultativos, oxidasa negativa, no formadores de esporas, que fermentan la lactosa con producción de gas y ácido a 37°C en un tiempo máximo de 48 horas, este grupo está formado por cuatro géneros principalmente: *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiela* (Bibek et al., 2010). Los coliformes gracias a las características bioquímicas que presentan son de gran importancia como indicadores de contaminación del agua y los alimentos en general, así mismo la presencia de este grupo en los alimentos indica deficientes prácticas de sanitización de superficies inertes y un mal proceso de desinfección de frutas, verduras y legumbres (Granados, 2003).

#### **1.1.3.1. *Escherichia coli*.**

Son microorganismos patógenos que crecen a condiciones de 37°C, pH de 7.0 a 7.5, no esporulados miden aproximadamente de 0.5 a 2,0 µm, poseen flagelos peritricos, aparecen de color azul y asociados a burbujas de gas, son mayormente termos sensibles y puede ser destruidos a temperaturas de pasteurización y la apropiada cocción de los alimentos, en la actualidad se considera que existen enfermedades de transmisión alimentaria perteneciendo cuatro tipos principales de *Escherichia coli* los cuales son: *E. coli* enteropatógeno (EPEC), *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* enteroinvasor (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) (Rodríguez, 2002).

### **1.1.4. *Staphylococcus aureus*.**

Son esferas anaerobias Grampositivas, de 0.8 a 1.0 µm de diámetro, se presentan de color rojo violeta con halo de color rosa (Urzúa, 2016). Este tipo de microorganismo, se encuentra presente

en las mucosas y piel de la mayoría de los animales de sangre caliente, en el humano el principal reservorio es la cavidad nasal, de donde pasan a la lesiones de ésta, localizándose principalmente en los brazos, manos y la cara, también se puede encontrar en la garganta y en el tracto intestinal, pasando de estas localizaciones al aire, polvo, ropa, utensilios equipos, llegando de esta manera contaminar los alimentos, dándose así una contaminación cruzada (Linares et al., 2013).

#### **1.1.5. *Salmonella*.**

La salmonelosis es la causa más común de ETA en diversos países, los integrantes de este género son bacilos Gram negativos no esporulados oxidasa negativa, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, en su mayoría no fermentan la lactosa y son móviles, aerobios o anaerobios facultativos, contiene endotoxinas, generalmente son termolábiles, resisten la congelación y algunos agentes químicos (BAM, 2007).

### **1.2. Tipos de ETA**

Las ETA pueden clasificarse en infecciones, intoxicaciones o infecciones mediadas por toxinas.

La infección transmitida por alimentos que resulta de la ingestión de alimentos conteniendo microorganismos patógenos vivos, como *Salmonella*, *Shigella*, el virus de la hepatitis A, *Trichinella spirallis* y otros; la intoxicación causada por alimento ocurre cuando las toxinas producidas por bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido o elementos químicos en cantidades que afecten la salud y las toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar la enfermedad incluso después de la eliminación de los microorganismos. (OPM y OMS, 2016).

### **1.3. Reservorios de microorganismos**

Los microorganismos se introducen en los alimentos por medios naturales y por fuentes externas con las que tiene contacto el alimento desde el momento de la producción hasta su consumo, algunas fuentes de estos son:

#### **1.3.1. Plantas (frutas y vegetales).**

Las frutas y vegetales albergan microorganismos en su superficie, el tipo y nivel de este depende o varía de acuerdo con las condiciones de suelo, tipos de fertilizantes, agua y la calidad de aire que las rodea, de este tipo de fuente se esperan que exista presencia de mohos, levaduras y algunas bacterias de ácido láctico (Bibek et al., 2010).

### **1.3.2. Aire.**

Existen microorganismos presentes en el polvo y las gotas de humedad que produce el aire, los cuales son transitorios y variables, el nivel de microorganismos dependerá del grado de humedad, tamaño y nivel de partículas, temperatura y velocidad de aire, así como también de la resistencia que presenten estos ante la sequía, dentro de esta fuente se pueden presentar microorganismos como mohos, bacterias y algunas levaduras (Bibek et al., 2010).

### **1.3.3. Suelo.**

Los suelos principalmente los que son empleados para la agricultura y crianza de animales, presentan algunas variedades de microorganismos, esto debido a que se pueden llegar a multiplicar hasta 1000 millones/g, suelos contaminados con materiales fecales pueden llegar a ser la fuente de algunas bacterias, parásitos y virus patógenos en los alimentos, para ello el retiro de la tierra de los alimentos cosechados de este tipo de suelos mediante lavados adecuados reduce los microorganismos ocasionados por este tipo de fuente (Bibek et al., 2010).

### **1.3.4. Agua.**

El agua es usada para producir, procesar y bajo ciertas condiciones para almacenar los alimentos, es por ello que la calidad del agua influye en gran medida en la calidad microbiológica de los alimentos, el agua que no es tratada de manera apropiada puede llegar a contener microorganismos patógenos y de descomposición como mohos, levaduras, coliformes, etc (Bibek et al., 2010).

### **1.3.5. Equipos.**

Dentro de la industria alimentaria se usa una gran variedad de maquinaria y utensilios desde la cosecha, transporte, producción y comercialización de los alimentos, muchos tipos de microorganismos pueden ser introducidos en estos a través del agua, materias primas, personal que tiene contacto directo con estos, algunos microorganismos que se podrían llegar a presentar son: *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, etc. la limpieza y desinfección periódica de los equipos y utensilios resulta importante para reducir en un cantidad considerable la presencia del producto terminado (Bibek et al., 2010).

## **1.4. Importancia de la calidad microbiológica**

Los microorganismos se introducen en los alimentos por medios naturales (incluyendo internos) y por fuentes externas a las que los alimentos están expuestos desde el momento de la producción hasta su consumo, la información acerca de la carga microbiana permite determinar

la calidad microbiológica de un alimento, ya que su crecimiento se asocia con la descomposición del mismo, así mismo las enfermedades que estos podrían llegar a originar si la carga microbiana se presenta de una manera excesiva, también establece los estándares y especificaciones microbiológicas y el bioprocesamiento de los mismos (Bibek et al., 2010).

Para determinar la calidad microbiológica de una empresa se requiere realizar un control bacteriológico dentro de esta de manera que incluya la investigación de especies, familias o grupos bacterianos cuya presencia indique las condiciones higiénico-sanitarias que posee la empresa, es igualmente muy importante este análisis de calidad ya que la empresa mediante estos análisis podría detectar si existe presencia de flora patógena desde sus materias primas que son usadas para el proceso de elaboración del producto, así como también de las etapas intermedias hasta la obtención del producto terminado, que suponga un riesgo para el consumidor (Anderson et al., 1999).

La pérdida de la calidad y vida útil de los alimentos, se puede ver afectada por la presencia de microorganismos patógenos o aquellos que alteran las características organolépticas de los mismos, dando como resultado la inseguridad de la salud del consumidor, es por ello que surge la necesidad de que las Industrias, se capaciten y conozcan la importancia de la calidad microbiológica de sus productos, desde las materias primas que usan para su elaboración hasta el producto terminado, estos microorganismos dependiendo de su naturaleza y necesidades pueden llegar a ser controlados o eliminados por completo, los métodos que generalmente se aplican para su control o eliminación puede ser el uso de calor, frío, radiación y productos químicos, la importancia de realizar un control microbiológico a los alimentos por medio de microorganismos indicadores como Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, mohos y levaduras así como también de las superficies vivas e inertes que tienen contacto directos con estos, es muy relevante ya que permite determinar la higiene y desinfección desde la recepción de la materia prima, transformación, producción y comercialización de un alimento y de esta manera determinar si es apto o no para el consumo humano (Torres, 2006).

### **1.5. Horchata**

La horchata es una infusión de 27 plantas aromáticas que se han empleado a lo largo de los siglos por sus propiedades medicinales, es considerada como una bebida que se consigue al hervir determinadas combinaciones de hierbas o especias en agua, la misma que queda impregnada de sustancias solubles que pueden aportar efectos beneficiosos a la salud (Condoy, 2015).

## **1.6. Hierbas aromáticas**

Son ciertas plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas (aceites esenciales) y que, por sus aromas y sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones, entre la más conocida encontramos la horchata (NORMA INEN 2392:2007). Algunas de las plantas o hierbas aromáticas que se usan para la elaboración de horchata son el cedrón, hierba luisa, albahaca, toronjil, menta, borraja, llantén, cola de caballo, cadillo, malva olorosa, amaranto, etc (Marcillo y Naranjo, 2012).

### **1.6.1. Manzanilla.**

**Nombre científico:** *Chamonilla recutita*

Planta herbácea anual de tallo erguido y ramificado con pocas hojas y divididas, en la parte superior del tallo presenta cazuelas aisladas con el receptáculo abombado y hueco, con flores tubulosas amarillas, es muy usada por sus efectos antiinflamatorios, desinfectante, etc (Atlas ilustrado de plantas medicinales y curativas, 2012).

### **1.6.2. Albahaca.**

**Nombre científico:** *Ocimum basilicum*

Planta herbácea anual de tallo anguloso, ramificado, con hojas pecioladas, opuestas y ovales, en la parte superior del tallo brotan, en las axilas de las hojas, verticilos impares de flores blancas, rosáceas o amarillentas, dentro de la industria alimentaria se la usa como añadido aromático (Atlas ilustrado de plantas medicinales y curativas, 2012).

### **1.6.3. Cedrón.**

**Nombre científico:** *Aloysia citrodora*

Es una especie de la familia Verbenaceae que se caracteriza por exhalar un aroma similar al del limón, es ampliamente utilizada principalmente sus hojas, en forma de infusión, tónicos y en el tratamiento de enfermedades respiratorias (Wernert, et al., 2009).

### **1.6.4. Menta.**

**Nombre científico:** *Mentha*

Es una hierba herbácea de crecimiento rápido considerada como una planta de tallo fino, sus hojas son muy aromáticas, pilosas el envés y de color verde brillante, contiene un aceite esencial cuyo compuesto principal es el mentol es considerada como antiséptica y antiespasmódica (Mendoza, et al., 2010).

#### **1.6.5. Hierba luisa.**

**Nombre científico:** *Aloysia citrodora*

Es una hierba perenne de 0,5 a 2m de altura, muy aromática que presenta un ligero olor a limón, posee hojas arrosetadas en su base, las cuales son lineales, estrechas de color rojizo si se llegan a secar (Fonnegra y Jiménez, 2007).

#### **1.6.6. Toronjil.**

**Nombre científico:** *Melissa officinalis*

Es una planta medicinal que a partir de su follaje posee propiedades farmacológicas reconocidas como: dermatológica, digestiva, antiviral, sedativa, bacteriostática, así mismo atribuye efectos estimulante, cardiotónico, antiemético, dentro de la industria se la utiliza para la fabricación de licores y perfumería, ya que esta planta es rica en aceites esenciales (Sánchez, et al., 2010).

#### **1.6.7. Escancel.**

**Nombre científico:** *Aerva sanguinolenta*

Es una planta perteneciente a la familia de las Amaranthaceae, se encuentra en suelos húmedos, posee ramas, tallo y hojas rojizas, sus hojas son elípticas de borde ondulado y base atenuada. Dentro de la industria farmacológica, se la usa como purgante en infusión, planta ornamental, expectorante, etc (Llamuca, 2015).

#### **1.6.8. Malva Olorosa.**

**Nombre científico:** *Malva sylvestris*

Es una planta herbácea, perteneciente a la familia de las Malváceas, que puede llegar a tener un tamaño de hasta un metro de alto, presenta hojas alternas y vellosas, largamente pecioladas, con bordes dentados y nervaduras palmeadas, los usos más comunes están para la gripe, resfrío y dolor estomacal como remedio tópico se utiliza para el dolor de dientes, etc. (Chiclana, et al., 2009)

### **1.6.9. Ataco.**

**Nombre científico:** *Amaranthus quitensis*

Es una especie anual de origen sudamericano que se reproduce por semillas. Pertenece a la familia de las Amarantáceas, las cuales están comprendidas por 60 especies (Romagnoli, et al., 2013).

### **1.7. Limpieza y desinfección**

Los establecimientos y equipos deben mantenerse en adecuado estado de conservación para facilitar todos los procedimientos de limpieza y desinfección, para que el equipo cumpla la función propuesta, especialmente las etapas esenciales de seguridad y prevención de contaminación de alimentos por agentes físicos, químicos o biológicos, la limpieza debe remover los residuos de alimentos y suciedades que puedan ser fuente de contaminación; los métodos de limpieza y los materiales adecuados dependen de la naturaleza del alimento, puede necesitarse una desinfección después de la limpieza (OPM y OMS, 2016).

- Limpiar. - Es un proceso en el que la suciedad se disuelve o suspende, generalmente en agua ayudada de detergentes.
- Desinfectar. - Consiste en destruir la mayor parte de los microorganismos de las superficies mediante agentes químicos

A continuación, se describen dos técnicas de limpieza y desinfección que se usaron en el presente trabajo con la finalidad de reducir considerablemente la carga microbiana de las materias primas y producto terminado

#### **1.7.1. Radiación.**

La irradiación ultravioleta (UV) es una tecnología alternativa para la esterilización química, es utilizada para reducir el crecimiento de microorganismos en alimentos; se trata de una radiación ionizante que presenta una longitud de onda de 100 a 400 nm, se conoce que el mecanismo directo de acción de la irradiación UV-C en la inactivación microbiana que reside en el daño que causa al ADN de los microorganismos generando así mutaciones que bloquean la replicación celular, la cual si no es reparada conduce a la muerte celular, la aplicación de la irradiación UV en frutas y hortalizas ha resultado un sistema efectivo para prolongar la vida útil de estos productos por ser letal para la mayoría de microorganismos y sin dejar residuos en comparación de los compuestos químicos (Albán et al., 2010).

El uso de radiación UV a una longitud de onda de 190 a 280 nm tiene un reconocido poder germicida y puede ser eficaz para la descontaminación de la superficie de hortalizas recién cortadas, la importancia es que la eficacia de la luz UV-C depende de la irradiación incidente, sin embargo, su eficacia antimicrobiana puede estar influenciada por la composición del producto, de las materias primas usadas en la elaboración del mismo y el contenido de sólidos solubles del agua de proceso empleada en el lavado (Gutiérrez, et al., 2016).

### **1.7.2. Productos químicos.**

El uso de agentes químicos en el control de hongos y pudriciones de algunas frutas y hortalizas mediante la aplicación postcosecha de fungicidas y pesticidas ha sido una práctica común (Bautista, 2006). El ácido peracético, es una solución de equilibrio cuaternaria (ácido acético, ácido peracético, peróxido de hidrógeno y agua) usada en la industria alimentaria para la limpieza y desinfección de materias primas debido a su actividad desinfectante la cual radica en su capacidad oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endosporas y levaduras (Flores, et al 2003). El hipoclorito de calcio dentro de la industria alimentaria, es utilizado para el tratamiento de agua para la limpieza y desinfección de materias primas, eliminando de esta manera algunas bacterias, hongos, mohos, etc. que se encuentran presentes en el agua (Biol, 2015).

## **CAPITULO II.**

### **OBJETIVOS**

### **2.1. Propósito o fin del proyecto**

Contribuir al mejoramiento de técnicas y aplicación de nuevos conocimientos en el proceso y fabricación de horchata en la provincia de Loja fortaleciendo la inocuidad alimentaria

### **2.2. Componente u objetivo específico del proyecto**

Evaluar y mejorar las condiciones de limpieza y desinfección de la empresa Tisanita

**CAPITULO III.**

**MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3. Recolección y preparación de muestras**

Para la toma de muestras en el mes de Noviembre del 2016, se realizó una visita preliminar de la empresa donde se realizó una inspección desde la infraestructura, equipos, operarios, materias primas y producto terminado, con la finalidad de saber cómo estaban las condiciones higiene y sanitarias de cada una de las etapas de producción. En el mes de Marzo del 2017 se volvió a realizar un nuevo muestreo esto para determinar si se mejoraron las condiciones de manipulación e higiene que se encontraron contaminadas en la primera visita, finalmente en el mes de Abril del 2017 se hizo la implementación de mejoras dentro de infraestructura, se contó con la presencia de un técnico de calidad, controles periódicos de lavados de equipos y material de los mismos, mejoramiento de la vestimenta por parte de los operarios, mejoramiento de las instalaciones en el área de producto terminado y empacado, así como también se realizaron ensayos con desinfectantes de grado alimentario para disminuir la carga microbiana de algunas materias primas

Las muestras de materia prima, producto terminado, agua, superficies vivas e inertes fueron tomadas como indica la norma *NTE INEN 1529-2:1999* "Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico"

Se recolectaron las siguientes muestras

- Materias primas frescas y procesadas
- Superficies vivas e inertes
- Producto terminado
- Producto terminado sometido a UV
- Materias primas sumergidas en agua + hipoclorito de calcio
- Materias primas sumergidas en agua + ácido paracético

La toma y manipulación de cada una de las muestras recolectadas se realizó de la siguiente manera:

#### **3.1. Superficies vivas e inertes.**

Para las superficies vivas e inertes se usó la técnica de hisopado la misma que consiste en humedecer el hisopo en la solución estéril, se pasa por la superficie viva o inerte, finalmente se coloca el hisopo dentro de la solución estéril para posteriormente realizar el respectivo análisis microbiológico. Para el análisis se seleccionaron aquellos espacios que se encontraban en

contacto directo con las materias primas y con el producto terminado (picadora de hierbas, banda de picadora, mesa de hierbas desinfectadas, mesa de empacado, bandejas deshidratadoras, etc.). Así como también se tomaron muestras de las manos de los operarios los cuales tienen contacto directo con las materias primas y el producto terminado.



**Figura 1** Toma de muestra (superficie inerte)  
Fuente Elaboración autor

### 3.1.1. Materias primas frescas y procesadas.

Se tomaron aproximadamente 15 g de cada una de las hierbas empleadas en la elaboración de la horchata (ataco, hierba luisa, escancel, menta, hierba luisa, rosas, linaza, etc.)



**Figura 2** Toma de muestra  
(materias primas frescas)  
Fuente Elaboración autor

### 3.1.2. Producto terminado.

Se escogió producto terminado envasado y sellado al azar de diferentes lotes de producción



**Figura 3** Toma de muestra (producto terminado)  
Fuente Elaboración autor

### 3.1.3. Producto terminado sometido a UV.

Se sometió producto terminado envasado y sellado al azar de diferentes lotes de producción, a radiación UV



**Figura 4** Toma de muestra (producto terminado + UV)  
Fuente Elaboración autor

### 3.1.4. Materias primas sumergidas en agua + hipoclorito de calcio.

Se realizaron ensayos con el desinfectante empleado por la empresa, para el muestreo se tomaron aproximadamente 15 g de materias primas frescas (hierbas) y se las sumergieron en una solución de hipoclorito de calcio



**Figura 5** Materia prima + hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor

### 3.1.5. Materias primas sumergidas en agua + ácido paracético.

De acuerdo a los resultados de los análisis microbiológicos de las materias primas, algunas de estas presentaron carga microbiana fuera de norma de mohos y levaduras, es por ello que se realizaron ensayos con ácido paracético, para el muestreo se tomaron aproximadamente 15 g de materias primas frescas (hierbas) y se las sumergieron en una solución de ácido acético y peróxido de hidrógeno



**Figura 6** Materia prima + ácido acético  
Fuente Elaboración autor

## 3.2. Preparación de material

Previo a realizar los análisis microbiológicos se realizó lo siguiente:

- Se preparó agua buferada (Ver anexo A1)
- Codificación de materiales para cada muestra

- Por cada muestra se colocó en un boeco, 90 ml de agua buferada previamente preparada y 9 ml de la misma en tubos de ensayo de 10 ml de acuerdo al número de diluciones que se vaya a realizar
- Posteriormente se llevó a autoclavar todo el material (boecos + agua buferada, tubos de ensayo + agua buferada, pinzas, puntas, etc.) durante 15 minutos a 121 °C
- Se realizó la siembra de acuerdo a las muestras tomadas y números de diluciones a realizar

### 3.3. Metodología

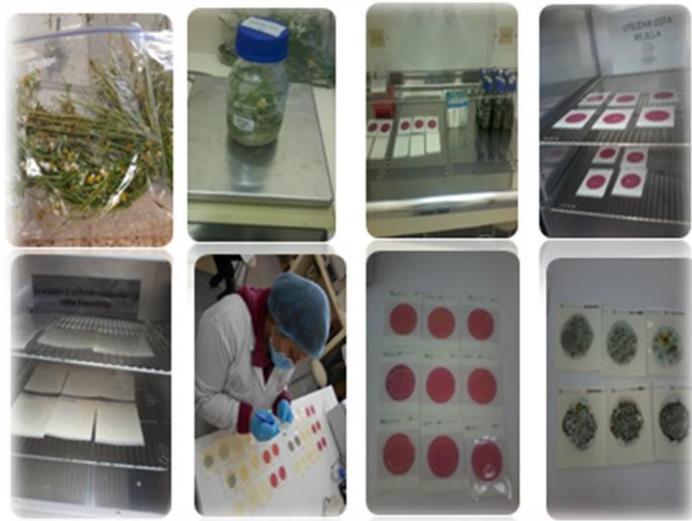
Para la realización de los análisis microbiológicos se analizaron los siguientes microorganismos y mediante el Método Oficial Petrifilm de la AOAC:

- **Aerobios mesófilos:** Método oficial de la AOAC 990.12
- **Coliformes totales y *Escherichia coli*:** Método oficial de la AOAC 6414
- **Mohos y levaduras:** Método oficial de la AOAC 6407
- ***Staphylococcus aureus*:** Método oficial de la AOAC 2003 07
- **Salmonella:** Método FDA BAM C5

#### 3.3.1. Procedimiento de Siembra

- Se pesó asepticamente 10 g de muestra en 90 ml de agua buferada estéril (dilución  $10^{-1}$ ), agitamos adecuadamente para homogenizar la muestra
- Para la dilución  $10^{-2}$  se tomó 1ml de la dilución  $10^{-1}$  y se la colocó en 9 ml de agua buferada, se realizó el mismo procedimiento para las diluciones posteriores
- Agitar las diluciones con la finalidad de homogenizar la muestra
- Con la ayuda de una micropipeta se tomó 1ml de cada dilución (para cada dilución se debe usar una punta estéril distinta) y se lo colocó en el centro de la placa petrifilm
- Inmediatamente dejar caer el film superior de la placa con cuidado evitando formar burbujas de aire

- Colocar el aplicador (aerobios mesófilos, coliformes.- E.coli, mohos y levaduras cara lisa hacia arriba, *Staphylococcus aureus* cara lisa hacia abajo)
- Ejercer ligera presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área de la placa
- Levantar el aplicador. Esperar 1 min a que se solidifique el gel
- Colocamos las placas en las respectivas incubadoras (Aerobios mesófilos a 35°C durante 48 hrs), (Coliformes.- E.coli, a 35°C durante 24 hrs) (*Staphylococcus aureus* a 35°C durante 24 hrs) (Mohos y levaduras, a 25°C durante 5 días)



**Figura 7** Proceso de siembra  
Fuente Elaboración autor

### 3.4. Aislamiento y detección de Salmonella

#### 3.4.1. Día 1 Pre- enriquecimiento.

- Se pesó asépticamente 25 g de la muestra analítica en caldo de pre-enriquecimiento (caldo lactosa), homogenizar por dos minutos.
- Dejar reposar una hora a temperatura ambiente
- Se incubó a 35 +/- 1°C por 24h, dejando la tapa rosca ¼ de vuelta abierta.

#### 3.4.2. Día 2 Enriquecimiento selectivo.

- Ajustar la tapa y agitar suavemente la muestra incubada
- Se transfirió 0,1 ml de la mezcla a 10 ml de medio Rappaport-Vasiliadis y 1 ml de la mezcla a 10 ml de caldo tetrionato.

- Incubar el caldo rapaport vasiliadis por 24 h a 42°C, en un baño con circulación y control termostático, el caldo tetrionato incubar por 24 h a 43°C.

### **3.4.3. Día 3 Selección en medios sólidos.**

- Mezclar en un vortex los tubos
- Con la ayuda de una aza se procedió a sembrar la muestra de cada tubo en los agares (Agar bismuto sulfito, Agar XLD y Agar Hektoen)
- Incubar las placas por 24 h a 35°C.
- Examinar las placas para la presencia de colonias que pueden ser salmonellas.
- En agar bismuto sulfito, las colonias son cafés o negras o sin centro negro generalmente el medio circundante halo es café pueden tornarse negras cuando se incrementa la incubación.
- En agar XLD las colonias son rosas o rojas con o sin centros negros o pueden aparecer completamente negras.
- En agar Hektoen las colonias son azul verdosas con centros negros muchas colonias pueden producir colonias grandes con centros lisos o brillantes o pueden aparecer completamente negras.

### **3.4.4. Día 4 Identificación bioquímica.**

- Seleccionar al menos dos colonias típicas de cada medio selectivo que se encuentren bien aisladas, tocarlas brevemente en su centro.
- Inocular por estriado y por picadura (estría en la superficie inclinada y punción en el fondo), dos tubos preparados con agar TSI y otros dos tubos preparados con agar LIA.
- Incubar a 35 °C por 24 h.
- Almacenar en refrigeración de 5 a 8 °C las placas con medios selectivos por si es necesario tomar más colonias.
- Observar el crecimiento en los tubos y considerar presuntivamente positivas para salmonella las colonias que den las siguientes reacciones: en agar TSI en el fondo del tubo se observa cambio del indicador debido a la fermentación de la glucosa, en la superficie del medio se observa un color rojo más intenso que el medio original debido a la no fermentación de la lactosa ni de la sacarosa. En la mayoría de los casos se observa coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de ácido sulfhídrico. En

agar LIA, se observa intensificación del color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina, considerar negativos aquellos cultivos que produzcan claramente color amarillo en el fondo del agar. La mayoría de las cepas de salmonella producen ácido sulfhídrico en este medio con ennegrecimiento a lo largo de la punción.

- Retener todos los cultivos que muestren las reacciones características de salmonella en los medio TSI y LIA para las pruebas adicionales.

## **CAPITULO IV.**

### **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

#### **4.1. Inspección previa**

Se realizó una inspección de la infraestructura, equipos, personal, materias primas y producto terminado:

##### **4.1.1. Infraestructura y equipos**

- Dentro de la infraestructura y equipos se realizaron las debidas inspecciones, esto con la finalidad de mejorar las diferentes etapas del proceso de elaboración del producto
- Se tomaron muestras de los equipos que tenían contacto directo con las materias primas y producto terminado
- Se tomaron muestras del personal los cuales tienen contacto directo dentro de las etapas del proceso de elaboración del producto

##### **4.1.2. Personal**

- La empresa no cuenta con un técnico de calidad que permita controlar y optimizar los procesos de elaboración del producto
- Dentro del área de instalaciones sanitarias de igual manera se realizaron las debidas inspecciones de señalización, vestimenta que permitan garantizar la seguridad del personal

##### **4.1.3. Materias primas y producto terminado**

- Se tomaron al azar muestras de materias primas y producto terminado para posteriormente realizar los análisis microbiológicos respectivos.

#### **4.2. Evaluación de estudios microbiológicos**

Los análisis microbiológicos permiten obtener información sobre la carga microbiana de cada una de las etapas del proceso de elaboración de un alimento y a su vez permite asegurar al consumidor la calidad del mismo, con esta finalidad se procedió a realizar los análisis microbiológicos de superficies vivas, inertes, materias primas y producto terminado, los resultados se presentan a continuación desde la Tabla 1 a la 5 respectivamente

Tabla 1 Análisis microbiológicos de superficies vivas de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/mano	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/mano	<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/mano	MOHOS Y LEVADURAS UFC/mano	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> UFC/mano	LÍMITE PERMISIBLES POR LA GUÍA TÉCNICA SOBRE CRITERIOS Y PROCEDIMIENTOS PARA	
Mano de operario	< 1.0x10 <sup>0</sup>	1.5x10 <sup>3</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	4.5x10 <sup>1</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	Coliformes totales	< 100 UFC/mano
						Aerobios mesófilos	< 1.0x10 <sup>3</sup> UFC/mano
						<i>Escherichia Coli</i>	-
						Mohos y levaduras	-
						<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 UFC/mano

< **1.0x10<sup>0</sup> UFC** : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

Según la guía técnica sobre criterios y procedimientos para el examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas, los resultados que se obtuvieron de la muestra analizada, se encuentran dentro de los límites permisibles, sin embargo se recomienda que se mejore la higiene personal de los operarios, los cuales tienen contacto directo con las materias primas y producto terminado ya que como se puede observar en la Tabla 1 en los que respecta a aerobios mesófilos se encuentra en el límite permisible

Tabla 2 Análisis microbiológicos de superficies inertes de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/cm <sup>2</sup>	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/cm <sup>2</sup>	<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/cm <sup>2</sup>	MOHOS Y LEVADURAS UFC/cm <sup>2</sup>	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> UFC/cm <sup>2</sup>	LÍMITE PERMISIBLES POR LA GUÍA TÉCNICA SOBRE CRITERIOS Y PROCEDIMIENTOS PARA	
Picadora de hierbas	TNTC	TNTC	2.0x10 <sup>1</sup>	4.6x10 <sup>2</sup>	1.45x10 <sup>2</sup> ESPC	Coliformes totales	< 1 UFC/cm <sup>2</sup>
Banda de picadora	TNTC	TNTC	< 1.0x10 <sup>0</sup>	3.75x10 <sup>2</sup>	1.05x10 <sup>2</sup> ESPC	Aerobios mesófilos	< 4x10 <sup>2</sup> UFC/cm <sup>2</sup>
Bandeja de deshidratación	< 1.0x10 <sup>0</sup>	4.5x10 <sup>1</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	<i>Escherichia Coli</i>	-
Mesa con hierbas desinfectadas	< 1.0x10 <sup>0</sup>	2.7.0x10 <sup>2</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	Mohos y levaduras	-
Mesa de empacado	5.1x10 <sup>3</sup> ESPC	TNTC	1.0x10 <sup>1</sup>	7.0x10 <sup>1</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Sacos de yute reciclados	9.3x10 <sup>2</sup>	-	5.0x10 <sup>1</sup>	-	-	-	-
Sacos de yute nuevos	4.0x10 <sup>1</sup>	-	< 1.0x10 <sup>0</sup>	-	-	-	-

< **1.0x10<sup>0</sup> UFC** : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

El recuento de aerobios mesófilos es considerado muy relevante dentro de la calidad microbiológica ya que este tipo de microorganismo es considerado como un indicador que nos proporciona información acerca de las condiciones de manejo o de eficiencia del proceso de elaboración de un alimento, así como también de los utensilios y maquinaria que son usados en las diferentes etapas de estos procesos y que pueden llegar a tener un deficiente limpieza, según la Organización Mundial de la Salud, un recuento de aerobios que sea mayor a 90 UFC (unidades formadoras de colonia) nos indica que el nivel de limpieza de la superficie analizada es “Mala”, dentro de las superficies inertes que fueron analizadas en la empresa en su mayoría se encuentran fuera de los límites permisibles. Así mismo como se puede observar en la Tabla 2, las superficies inertes analizadas presentan contaminación por coliformes, *S. aureus*, mohos y levaduras por lo que se recomienda mejorar la limpieza y desinfección tanto de los equipos como de los utensilios empleados en el proceso de elaboración de esta empresa, según la (OMS y OPS, 2016), en todo servicio de alimentos debe establecerse un sistema de limpieza y desinfección programado y periódico, que incluya todas las instalaciones, maquinaria y demás equipos, determinando aquellos equipos y materiales considerados como más críticos, con el objeto de prestarles una mayor atención.

Tabla 3 Análisis microbiológicos de agua de lavado de materia prima de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/ml	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/ml	<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/ml	MOHOS Y LEVADURAS UFC/ml	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> UFC/ml
Agua de lavado (agua + cloro) #1	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>
Agua de lavado (agua + cloro) #2	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>	< 1.0x10 <sup>0</sup>

< **1.0x10<sup>0</sup> UFC** : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

Según la (FAO, 2003) dentro de las operaciones de lavado e hidrogenfriado de productos vegetales se utilizan concentraciones de cloro de 100 ppm a 200 ppm, como se puede ver en la Tabla 3, en las aguas empleadas por la empresa para la limpieza y desinfección de las materias primas no se encontró ningún tipo de crecimiento microbiano, esto puede deberse a que las sustancias

bactericidas, como el cloro destruyen en forma permanente las células de las bacterias, o parte de ellas, de modo que estas no pueden volver a reproducirse aun después de que se ha eliminado el bactericida, estas sustancias actúan oxidando las enzimas y otros materiales del citoplasma de las células.

Se realizó el análisis microbiológico de las diferentes materias primas las mismas que se encuentra a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4 Análisis microbiológicos de materias primas de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/g	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g	ESCHERICHIA COLI UFC/g	MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	STAPHYLOCOCCUS AUREUS UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
						-	m	M
Menta	< 1x10 <sup>0</sup>	3x10 <sup>2</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	Coliformes totales	-	-
Hierba luisa	TNTC	TNTC	2x10 <sup>2</sup>	4.8x10 <sup>2</sup> ESPC	< 1x10 <sup>0</sup>	Aerobios mesófilos	1x10 <sup>5</sup> UFC/g	1x10 <sup>7</sup> UFC/g
Esencia	2.5x10 <sup>2</sup>	8.3x10 <sup>3</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	Escherichia Coli	1x10 UFC/g	1x10 <sup>2</sup> UFC/g
Cedrón lavado	1.5x10 <sup>4</sup>	2.5x10 <sup>4</sup>	3.0x10 <sup>1</sup>	-	-	Mohos y levaduras	1x10 <sup>3</sup> UFC/g	1x10 <sup>5</sup> UFC/g
Linaza	3.15x10 <sup>2</sup>	-	< 1x10 <sup>0</sup>	-	-	Staphylococcus aureus	-	-
Escancel (T)	TNTC	-	-	-	-	-	-	-
Ataco lavado y seco	TNTC	-	-	-	-			
Menta lavada	< 1x10 <sup>0</sup>	-	< 1x10 <sup>0</sup>	-	-			
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (solución A)	1.015x10 <sup>3</sup>	-	< 1x10 <sup>0</sup>	-	-			
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (solución B)	1.5x10 <sup>2</sup>	-	< 1x10 <sup>0</sup>	-	-			
Menta lavada y seca	< 1x10 <sup>0</sup>	-	< 1x10 <sup>0</sup>	-	-			
Ataco seco antes del ensacado	TNTC	-	3.4x10 <sup>3</sup> ESPC	-	-			
Ataco seco después del ensacado	TNTC	-	3.6x10 <sup>3</sup> ESPC	-	-			

< 1.0x10<sup>0</sup> UFC : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

Comparando los resultados con la norma INEN 2392, las materias primas que no cumplen con los requisitos establecidos son hierba luisa, escancel y el ataco, esto puede llegar a mejorar adquiriendo conocimientos por parte de los proveedores acerca de las BPA (Buenas Prácticas Agrícolas) ya que según (CASAFE, 2015), las BPA ayudan de una manera especial a producir y procesar los productos agrícolas, de modo que los procesos de siembra, cosecha y poscosecha de los cultivos cumplan con los requerimientos necesarios para una producción sana y segura de materias primas que son dirigidas para la elaboración de productos para el consumo humano.

Se realizó además el análisis del producto terminado, el mismo que se encuentra especificado en la tabla 5.

Tabla 5 Análisis microbiológicos de producto terminado de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/g	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g	ESCHERICHIA COLI UFC/g	MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	STAPHYLOCOCCUS AUREUS UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
						-	m	M
Producto terminado	2.0x10 <sup>5</sup>	1.5x10 <sup>5</sup>	1.8x10 <sup>2</sup>	1.1x10 <sup>2</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	Coliformes totales	-	-
						Aerobios mesófilos	1x10 <sup>5</sup> UFC/g	1x10 <sup>7</sup> UFC/g
						Escherichia Coli	1x10 UFC/g	1x10 <sup>2</sup> UFC/g
						Mohos y levaduras	1x10 <sup>3</sup> UFC/g	1x10 <sup>5</sup> UFC/g
						Staphylococcus aureus	-	-

< 1.0X10<sup>0</sup> UFC : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

En el producto terminado se determinó la presencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, el mismo que se encuentra fuera de los rangos establecidos por la norma INEN 2392, esto tiene relación con la contaminación que presentaron algunas de las materias primas que son usadas para la elaboración del producto (resultados Tabla 4), con ello se puede determinar que se requiere un mejoramiento de cada una de las etapas de elaboración del producto.

Se realizó el análisis microbiológico de ataque de diferentes proveedores esto debido a que esta materia prima presentó como mayor contaminación, los resultados se encuentran especificados en la Tabla 6.

Tabla 6 Análisis microbiológicos de ataque por proveedores de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/g	ESCHERICHIA COLI UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
			-	m	M
P1	TNTC	TNTC	Coliformes totales	-	-
P2	5.5.x10 <sup>2</sup>	1.1x10 <sup>2</sup>	<i>Escherichia Coli</i>	1x10 UFC/g	1.0x10 <sup>2</sup> UFC/g
P3	2.8.x10 <sup>5</sup>	1.3.x10 <sup>5</sup>	-	-	-
P4	1.5.x10 <sup>2</sup>	<1.0.x10 <sup>0</sup>			
P5	TNTC	TNTC			

< 1.0X10<sup>0</sup> UFC : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

En la Tabla 6 se observa que en su mayoría las materias primas por proveedores no cumplen con los parámetros establecidos por la norma INEN 2392, como análisis general se puede decir que la falta de conocimiento sobre BPA (Buenas Prácticas Agrícolas) por parte de los proveedores perjudica directamente la calidad de las materias primas ya que según la (FAO y OMS, 2015), la implementación de las BPA (Buenas Prácticas Agrícolas), permiten la producción de alimentos sanos, inocuos y de calidad, a través del control de los procesos y las condiciones de producción.

#### **4.3. Implementación de mejoras**

Para el mejoramiento de cada una de las áreas, equipos materias primas y producto terminado se recomendó lo siguiente.

##### **4.3.1. Infraestructura y equipos**

- Se recomendó la clausura de algunos espacios que no se encontraban en el lugar adecuado
- Se recomendó la construcción de algunos pediluvios en ciertas áreas de acceso a la empresa
- Se mejoró el área de producto terminado y sellado

##### **4.3.2. Personal**

- Se contó con la ayuda de un técnico de calidad que ayude a controlar cada una de las etapas del proceso
- Se dictaron capacitaciones por parte del técnico de calidad de la empresa a los operarios sobre las Buenas Prácticas de Manufactura, la cual fue acatada por los mismos.
- Se mejoró la vestimenta de los operarios

##### **4.3.3. Materias primas y producto terminado**

- Para el mejoramiento de la limpieza y desinfección de las materias primas se realizaron ensayos con desinfectante hipoclorito de calcio  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$
- Para mejorar la calidad del producto terminado, se propuso la aplicación de UV de manera que no afecte a la salud del consumidor y a las características sensoriales del producto, ya que esta no produce residuos químicos ni subproductos.

Los resultados se presentan a continuación en las tablas 7, 8, 9 y 10 respectivamente

Tabla 7 Análisis microbiológicos de producto terminado con y sin UV de la empresa la TISANITA (equipo laboratorio)

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/g	ESCHERICHIA COLI UFC/g	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g	MOHOS Y LEVAURAS UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
					-	m	M
Producto sin UV	TNTC	TNTC	< 1x10 <sup>0</sup>	1.5x10 <sup>2</sup>	Coliformes totales	-	-
					Aerobios mesófilos	1x10 <sup>5</sup> UFC/g	1x10 <sup>7</sup> UFC/g
Producto con UV	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	2.1x10 <sup>2</sup>	<i>Escherichia Coli</i>	1x10 UFC/g	1x10 <sup>2</sup> UFC/g
					Mohos y levaduras	1x10 <sup>3</sup> UFC/g	1x10 <sup>5</sup> UFC/g
					<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-

< 1.0X10<sup>0</sup> UFC : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

Como podemos observar en la Tabla 7 el UV reduce en un 100% la carga microbiana de *Escherichia coli*, según (Artés y Allende, 2005), Citado por (Sinchiguano et al., 2017), la radiación UV-C es una radiación no ionizante que cuando se usa con una longitud de onda 254 nm se presenta su mayor acción germicida, es por ello que se ha considerado como un tratamiento alternativo para preservar la calidad de frutas y hortalizas.

Se realizaron análisis microbiológicos de producto terminado con exposición a UV en el equipo instalado en la empresa, los resultados obtenido se presentan en la Tabla 8

Tabla 8 Análisis microbiológicos de producto terminado con UV (instalado en la empresa) y sin UV de la empresa la TISANITA

MUESTRA	COLIFORMES TOTALES UFC/g	ESCHERICHIA COLI UFC/g	AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g	MOHOS Y LEVAURAS UFC/g	STAPHYLOCOCCUS AUREUS UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
						-	m	M
Producto sin UV	< 1x10 <sup>0</sup>	1.7x10 <sup>3</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	2.6x10 <sup>3</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	Coliformes totales	-	-
						Aerobios mesófilos	1x10 <sup>5</sup> UFC/g	1x10 <sup>7</sup> UFC/g
Producto con UV	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	4.5x10 <sup>2</sup>	< 1x10 <sup>0</sup>	<i>Escherichia Coli</i>	1x10 UFC/g	1x10 <sup>2</sup> UFC/g
						Mohos y levaduras	1x10 <sup>3</sup> UFC/g	1x10 <sup>5</sup> UFC/g
						<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-

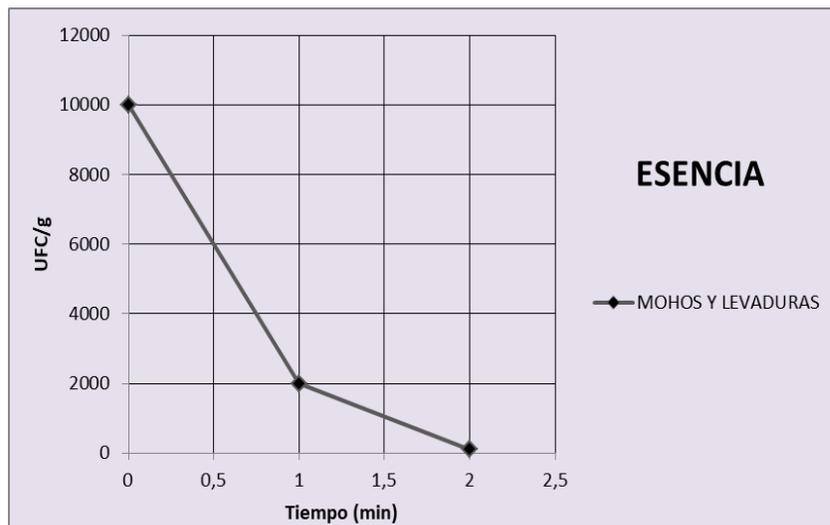
< 1.0X10<sup>0</sup> UFC : Ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

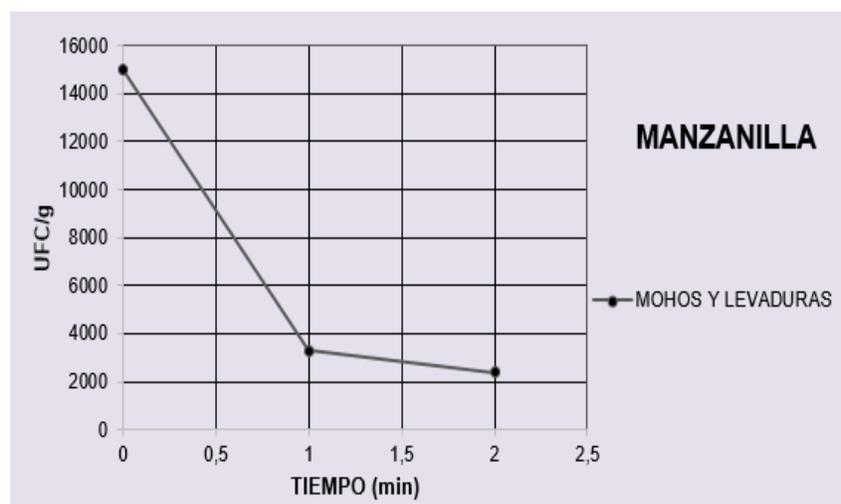
Como se puede observar en la Tabla 8 el equipo de UV instalado en la empresa trabaja eficientemente ya que el producto terminado no presento ningún crecimiento de microorganismo, es así como se pueden comparar las Tablas 7 y 8 pruebas con equipo de laboratorio y con el equipo ya instalado en la empresa, el UV disminuye la carga microbiana de *E.coli* en un 100%

Se realizaron análisis microbiológicos de ensayos de materias primas con desinfectante empleado por la empresa (hipoclorito de calcio), a continuación, se presentan los resultados de las materias primas: esencia, toronjil, manzanilla, escancel y malva olorosa en los Gráficos del 1 al 5 respectivamente.

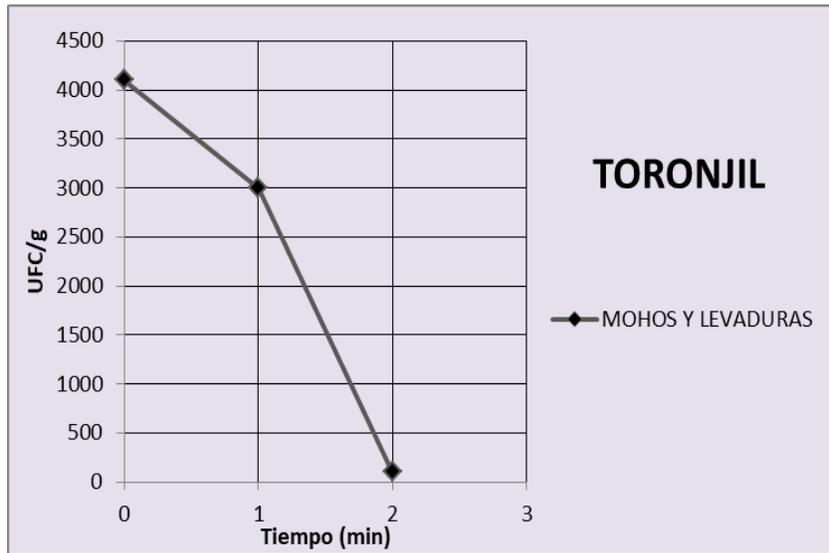
Del trabajo realizado se determina que la hierba luisa y cedrón son las materias primas que más contaminación microbiana presentaron, las tablas de resultados se encuentran en el anexo C



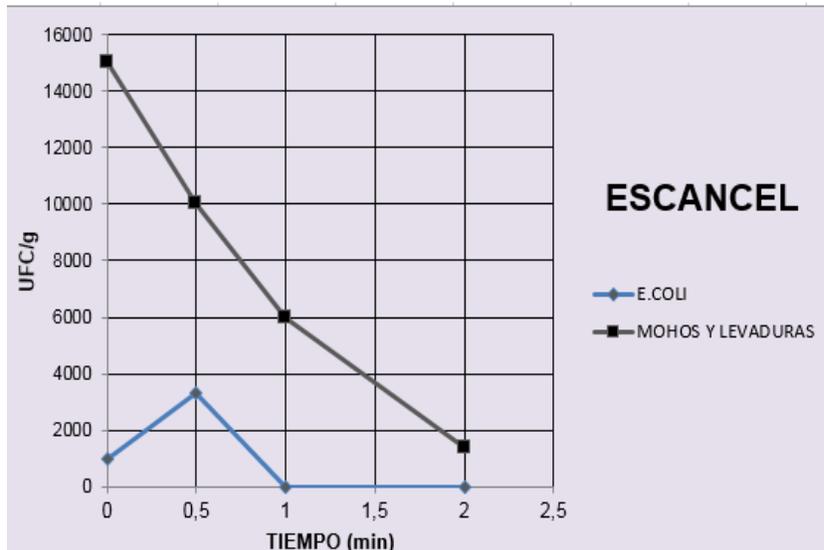
**Gráfico 1.** Análisis microbiológicos de esencia fresca y con desinfectante hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor



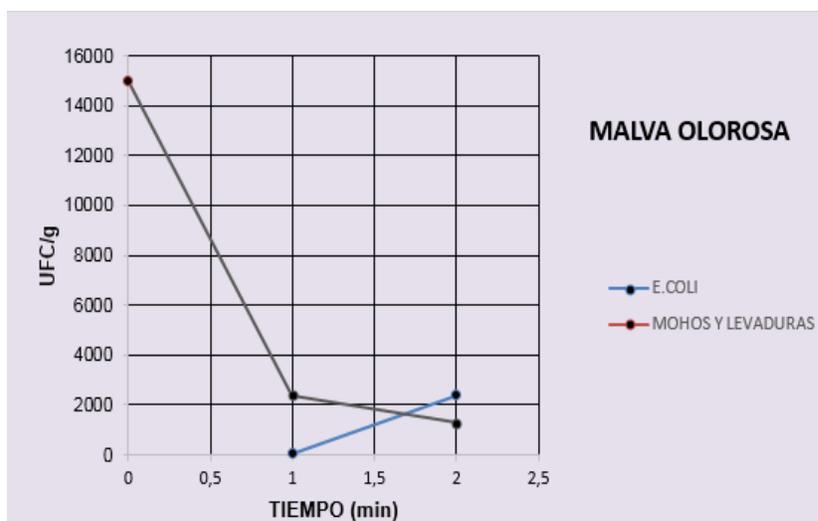
**Gráfico 2.** Análisis microbiológicos de toronjil fresco y con desinfectante hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor



**Gráfico 3** Análisis microbiológicos de manzanilla con desinfectante hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor



**Gráfico 4** Análisis microbiológicos de escancel fresco y con desinfectante hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor



**Gráfico 5** Análisis microbiológicos de malva olorosa con desinfectante hipoclorito de calcio  
Fuente Elaboración autor

Como se puede observar en los gráficos anteriormente expuestos, el desinfectante utilizado por la empresa (hipoclorito de calcio) a concentraciones controladas si reduce en su mayoría la carga microbiana de *Escherichia coli*, mohos y levaduras de algunas materias primas, se determinó que en ambos tiempos de exposición redujeron considerablemente la carga de *E. coli*

Como un análisis general el uso adecuado de los desinfectantes de grado alimentario reduce en su mayoría la carga microbiana de algunos microorganismos además, para la (OPS y OMS, 2016), los desinfectantes basados en cloro son eficaces contra muchos tipos de bacterias y hongos, actúan bien a temperatura ambiente, toleran agua calcárea, y son los más usados en la cadena alimentaria, sin embargo el escancel, hierba luisa, cedrón y albahaca son las materias primas que no cumplen con los requisitos establecidos por la norma INEN 2392, esto puede deberse a que la cosecha, manejo y transporte de estas materias por parte de los proveedores no está siendo la adecuada

Se realizaron análisis microbiológicos de ensayos de materias primas con desinfectante recomendado (ácido peracético), según (Kyanko et al., 2010), el ácido peracético puede resultar una alternativa interesante para el control poscosecha de las pudriciones causadas por mohos en frutas y hortalizas, contribuyendo a su vez a proteger la salud del consumidor, los resultados se especifican en la Tabla 9.

Tabla 9 Análisis microbiológicos de muestras con desinfectante ácido paracético

MUESTRA	MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	REQUISITOS NORMA INEN 2392		
		-	m	N
Hierba luisa fresca	$2.8 \times 10^3$	Mohos y levaduras	$1.0 \times 10^3$ UFC/g	$1.0 \times 10^5$ UFC/g
Hierba luisa + solución	$< 1.0 \times 10^0$	-	-	-
Cedrón fresco	$1.5 \times 10^4$ ESPC			
Cedrón + solución	$1.7 \times 10^3$			

$< 1.0 \times 10^0$  ufc : ausencia (no hubo desarrollo microbiológico)

Fuente Elaboración autor

Comparando los resultados de la Tabla 9 de las materias primas con la solución de ácido de paracético, con los requisitos de la norma INEN 2392 la carga microbiana de mohos y levaduras se reduce considerablemente, para la (OPS y OMS, 2016), los desinfectantes ácidos como los peroxiacéticos (peróxido de hidrógeno y ácido acético), tienen la ventaja de mantener su estabilidad a altas temperaturas o en presencia de materia orgánica, cuando se usan para higienizar remueven sólidos inorgánicos, como los que se encuentran en el agua mineral calcárea, además son muy eficaces contra la mayoría de los microorganismos, especialmente contra las películas biológicas que protegen a las bacterias.

Actualmente la segunda versión de la Norma INEN 2392 para Hierbas Aromáticas, ya no cuenta con aerobios mesófilos, mohos y levaduras como requisitos microbiológicos por lo que se puede decir que los resultados de la Tabla 9 referente a mohos y levaduras ya no constarían bajo norma por lo que el producto terminado ya cumple con los nuevos parámetros establecidos en cuanto a *Escherichia coli*. Cabe recalcar que el recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras son indicadores de higiene por lo que es importante realizar un control interno en la empresa para de esta manera disminuir la carga microbiana

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos de este trabajo se concluye lo siguiente:

- Se mejoró la calidad microbiológica del producto analizado (horchata deshidratada) a través de la aplicación UV al producto terminado y con concentraciones bajo norma de hipoclorito de calcio para la limpieza y desinfección de materias primas, cumpliendo con esto con los parámetros permisibles puestos por la NORMA INEN 2392
- Las recomendaciones fueron acatadas por la empresa y de esta manera se pudo evidenciar que las condiciones de las diferentes áreas mejoraron notablemente
- Los procesos de elaboración del producto se mejoraron considerablemente con la presencia de un técnico de calidad

## RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos de este trabajo se recomienda lo siguiente:

- Realizar constantes capacitaciones al personal sobre BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) y buenas prácticas de higiene y desinfección ya que contribuyen a mejorar las prácticas higiénicas que se llevan a cabo dentro de la manipulación y preparación del producto
- Controlar el transporte de materias primas, para evitar la aceleración de su descomposición debido a las elevadas temperaturas y tipo de transporte
- Realizar una capacitación a los proveedores de las materias primas sobre BPA (Buenas Prácticas Agrícolas) para de esta manera evitar que las materias primas se presenten contaminadas
- Implementar el uso de gafas de protección de UV, para evitar que los operarios que se encuentran en la etapa de empacado sufran daños por la radiación ultravioleta
- Implementar pediluvios, para evitar contaminación desde el exterior hacia el interior de la empresa
- Dentro del área de mezclado y envasado se recomienda la instalación de un extractor que permita reducir la presencia de polvo debido a las hierbas secas
- Controlar la temperatura y la humedad relativa del área de materias primas secas, para evitar la presencia de humedad y el crecimiento de mohos
- Mantener la presencia de un técnico/a de calidad esto con la finalidad de optimizar los procesos de elaboración para mejorar la calidad del producto final

## BIBLIOGRAFÍA

- Albán, Á. B., Ramos, M., & Nuñez, M. A. (2010). Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). *Revista Tecnológica-ESPOL*, 23(2).
- Anderson, M. D. R. P., & Calderón, V. (1999). Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. Ediciones Díaz de Santos.
- Artés, F. & Allende, A. (2005). Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables. *European Journal of Horticultural Science*, 70:231-245.
- Atlas ilustrado de plantas medicinales y curativas., (2012), Plantas Medicinales y curativas, SUSAETA
- BAM (Bacteriological Analytical Manual Chapter 5 Salmonella). (2007). Salmonella
- Bautista-Baños, S. (2006). El control biológico en la reducción de enfermedades postcosecha en productos hortofrutícolas: uso de microorganismos antagónicos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 8(1), 1-6.
- Bibek, R., & Bhunia, A. (2010). Fundamentos de microbiología de los alimentos. *Editorial Mc Graw Hill*.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes).(2015). Buenas Prácticas Agrícolas: Lineamientos de base
- Chiclana, C. F., Enrique, A., & Consolini, A. E. (2009). Actividad antiinflamatoria local de *Malva sylvestris* L.(Malvaceae) en el edema inducido por carragenina en ratas. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(2), 275-278.
- Biol, U. (2015). Manual técnico de desinfección poscosecha
- Borbolla-Sala, M. E., del Rosario Vidal-Pérez, M., Piña-Gutiérrez, O. E., Ramírez-Messner, I., & Vidal-Vidal, J. J. (2004). Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco*, 10(2), 221-232.
- Condoy, R., & de los Ángeles, R. (2015). Proyecto de factibilidad para la implementación de una empresa dedicada a la elaboración y venta de bebida de horchata en forma artesanal en el parque Jipiro de la ciudad de Loja (Bachelor's thesis, Loja, 19 de Abril).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2003). Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y OMS (Organización Mundial de la Salud). (2015). Buenas Prácticas Agrícolas: Lineamientos de Base
- Flores, M., Dalla Fontana, A., Cassano, A., & Labas, M. (2003) DESINFECCIÓN DE AGUA CON ÁCIDO PERACÉTICO COMERCIAL. EFECTO SOBRE ESCHERICHIA COLI Y PSEUDOMONAS AERUGINOSA
- Fonnegra, F. G., & Jiménez, J. R. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Universidad de Antioquia.
- González, L. J., Martínez, F. N., Rossi, L., Tornese, M., & Troncoso, A. (2010). Enfermedades transmitidas por los alimentos: Análisis del riesgo microbiológico. *Revista chilena de infectología*, 27(6), 513-524.
- GRANADOS, R.; VILLAVERDE. (2003) M.C. Microbiología Tomo 1. Bacteriología. Características y clasificación bacteriana. Paraninfo Editorial, Madrid-España. Págs. 79-82, 107-109.
- Gutiérrez, D., Ruiz López, G., Sgroppo, S., & Rodríguez, S. (2016). Uso de la radiación UV-C en el proceso de elaboración de hortalizas de IV gama. *Agrociencia Uruguay*, 20(2), 7-13
- Kyanko, M. V., Russo, M. L., Fernández, M., & Pose, G. (2010). Efectividad del Acido Peracético sobre la reducción de la carga de Esporas de Mohos causantes de Pudrición Poscosecha de Frutas y Hortalizas. *Información tecnológica*, 21(4), 125-130..
- Llinares, P., Barberán, J., Montejo, M., Salavert, M., Alvarez-Rocha, L., Maseda, E., & Candel11, J. (2013). Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por Staphylococcus aureus. *Rev Esp Quimioter*, 26(1), 1-84.
- Llamuca, M, (2015). Determinación de la Actividad Antifúngica de los extractos del Escancel (Aerva Sanguinolenta), Teatina (Scoparia Dulcis L), Sangorache (Amaranthus Hybridus L.) frente a Trichoderma, Penicillium, Aspergillus (Bachelor's thesis).
- Marcillo Andrade, E. M., & Naranjo Mendoza, D. (2015). Diseño de la línea de producción de una bebida de hierbas denominada horchata
- Mendoza, A., Vega, G., & Soto, M. (2010). Recomendaciones técnicas para el cultivo de Mentha arvensis L. var. piperacens malinvaud (menta japonesa) en Cuba.
- Método placa petrifilm (AOAC 2003 07)
- Método placa petrifilm (AOAC método oficial 6407)
- Método placa petrifilm (AOAC método oficial 990.12)
- Método placa petrifilm (AOAC método oficial 990.12)
- NORMA INEN 2392:2007. Hierbas Aromáticas.
- Orberá Ratón, T. D. L. M. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de Salud Pública*, 30(3), 0-0.

- OMS. (2015). Enfermedades de transmisión alimentaria
- OMS, F. (2003). Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud) y OMS (Organización Mundial de la Salud). (2016). Enfermedades Transmitidas por Alimentos
- OPS (Organización Panamericana de la Salud) y OMS (Organización Mundial de la Salud). (2016). Establecimiento: mantenimiento, limpieza y desinfección
- Romagnoli, M. V., Tuesca, D., & Permingeat, H. R. (2013). Caracterización de la resistencia de *Amaranthus quitensis* a tres familias de herbicidas. *Ecología austral*, 23(2), 119-125.
- Rodríguez-Angeles, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *salud pública de méxico*, 44(5), 464-475.
- Sánchez Govín, E., León Fernández, M., Chávez Figueredo, D., Hechevarría Sosa, I., & Pino, J. (2010). Caracterización farmacognóstica de *Melissa officinalis* L.(toronjil). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(4), 198-208.
- Sinchiguano, E. R. B., Déleg, E. B. M., Cuvi, M. J. A., & Montero, D. R. (2017). Efecto de la Radiación UV-C en la Flora Nativa y Capacidad Antioxidante de la Mezcla para Té Compuesto por Toronjil, Ortiga, Perejil y Paico Provenientes de Cotacachi-Ecuador. *Revista Politécnica*, 39(1), 19-26.
- Torres, M. (2006). *Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana* (Doctoral dissertation, Tesis de grado). Politécnica Universidad Javeriana. Facultad de Microbiología Industrial. Bogotá-Colombia).
- Urzúa, S., (2016), Microbiología de los Alimentos. *Fundamentos y Aplicaciones en Ciencias de la Salud*, México DF, México: Editorial Médica Panamericana, S.A.
- Wernert, M. F., Wagner, M. L., Gurni, A. A., CARBALLO, M. A., & RICCO, R. A. (2009). Estudio de polifenoles de infusiones y cocimientos de hojas de “Cedrón” (*Aloysia citrodora* Palau) y “Poleo”(Lippia turbinata Griseb.)-Verbenaceae. *BLACPMA*, 84(4), 308-311.

## **ANEXOS**

## **ANEXO A. PREPARACIÓN DE REACTIVOS**

### **A.1 Elaboración de agua buferada**

Primeramente debemos de preparar previamente una solución de stock para posterior a esto preparar el agua buferada

- **Preparación de la solución stock:** disolver 34g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 500 ml de agua destilada, se ajusta el pH a 7,2 con aproximadamente 1,75 ml de NaOH 1M, y diluir a 1 L. Mantener en refrigeración.
- **Preparación de agua buferada:** Tomar 1,25 ml de la solución stock y llevarla a 1 L con agua destilada. Prepare 1 frasco con 90 ml de diluyente y varios tubos con 9 ml de diluyente, según la muestra que vaya a analizar. Autoclavar durante 15 minutos a 121 °C para esterilizar.

## **ANEXO B. DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE PLACAS PETRIFILM (AOAC)**

### **- B.1 Aerobios mesófilos**

Esta placa petrifilm está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio para métodos estándar y un agente gelificante soluble en agua fría (AOAC método oficial 990.12)

### **- B.2 Coliformes totales y E.coli**

Esta placa petrifilm está compuesta de nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias (AOAC método oficial 6414)

### **- B.3 Mohos y levaduras**

Esta placa petrifilm contiene un agente gelificante soluble en agua fría, nutrientes y un tinte indicador que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias (AOAC método oficial 6407)

### **- B.4 *Staphylococcus aureus***

Esta placa petrifilm presenta un medio de cultivo listo para usarse, que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio modificado cromogénico Baird-Parker en la Placa es selectivo y diferencial para el *Staphylococcus aureus* (AOAC 2003 07)

## ANEXO C. TABLAS DE DILUCIONES

### C.1 Diluciones de superficies vivas

Tabla 10. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Mano operario	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/mano

Tabla 11. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Mano operario	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/mano

Tabla 12. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Mano operario	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/mano

Tabla 13. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Mano operario	150	30	1.5X10 <sup>3</sup> UFC/mano

Tabla 14. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Mano Operario	5	4	4.8X10 <sup>2</sup> UFC/mano

## C.2 Diluciones de superficies inertes

Tabla 15. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Picadora de hierbas	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 16. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Picadora de hierbas	2	0	2.0X10 <sup>1</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 17. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Picadora de hierbas	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 18. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Banda picadora de hierbas	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 19. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Banda picadora de hierbas	48	27	3.4X10 <sup>2</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 20. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Banda picadora de hierbas	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 21. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Banda picadora de hierbas	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 22. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Banda picadora de hierbas	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 23. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Mesa con hierbas desinfectadas	0	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 24. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa con hierbas desinfectadas	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 25. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa con hierbas desinfectadas	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 26. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa con hierbas desinfectadas	27	13	12	$2.7 \times 10^2$ UFC/cm <sup>2</sup> ESPC

Tabla 27. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa con hierbas desinfectadas	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 28. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Bandeja de deshidratación	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 29. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Bandeja de deshidratación	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 30. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Bandeja de deshidratación	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 31. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Bandeja de deshidratación	3	6	$5.0 \times 10^1$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 32. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Bandeja de deshidratación	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 33. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa de empacado	TNTC	51	5	$5.1 \times 10^3$ UFC/cm <sup>2</sup> <i>ESPC</i>

Tabla 34. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa de empacado	1	1	0	$1.0 \times 10^1$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 35. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa de empacado	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 36. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa de empacado	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 37. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Mesa de empacado	7	1	0	$7.0 \times 10^1$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 38. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	
Sacos de yute reciclados	93	43	$9.3 \times 10^2$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 39. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	
Sacos de yute reciclados	5	0	$5.0 \times 10^1$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 40. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	
Sacos yute nuevos	4	0	$4.0 \times 10^1$ UFC/cm <sup>2</sup>

Tabla 41. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	
Sacos yute nuevos	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/cm <sup>2</sup>

### C.3 Diluciones materias primas

Tabla 42. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Menta	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 43. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Menta	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 44. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Menta	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 45. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Menta	30	28	1	$3.0 \times 10^2$ UFC/g

Tabla 46. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Menta	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 47. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hierba luisa	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 48. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hierba luisa	20	14	2	$2.0 \times 10^2$ UFC/g

Tabla 49. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hierba luisa	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 50. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hierba luisa	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 51. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Hierba luisa	48	18	0	$4.8 \times 10^2$ UFC/g

Tabla 52. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Esencia	25	20	0	$2.50 \times 10^2$ UFC/g

Tabla 53. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Esencia	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 54. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	
Esencia	0	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 55. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Esencia	TNTC	83	37	8.3X10 <sup>3</sup> UFC/g ESPC

Tabla 56. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Esencia	0	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 57. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES				CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	
Cedrón lavado	TNTC	150	18	12	1.5X10 <sup>4</sup> UFC/g

Tabla 58. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES				CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	
Cedrón lavado	3	0	0	0	3.0X10 <sup>1</sup> UFC/g

Tabla 59. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES				CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	
Cedrón lavado	TNTC	TNTC	25	1	3.0X10 <sup>4</sup> UFC/g

Tabla 60. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Linaza	36	27	3.2X10 <sup>2</sup> UFC/g

Tabla 61. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Linaza	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 62. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Escancel T	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 63. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Ataco lavado y seco	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 64. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Ataco lavado y seco	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 65. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Menta lavada	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 66. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Menta lavada	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 67. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (solución A)	200	3	$2.0 \times 10^3$ UFC/g

Tabla 68. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	Duplicado	
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (solución B)	0	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 69. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (solución C)	250	51	2.5X10 <sup>3</sup> UFC/g

Tabla 70. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Flores lavadas con hipoclorito de calcio (3min a 100ppm)	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 71. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Menta lavada y seca	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 72. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Menta lavada y seca	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 73. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Ataco seco antes del ensacado	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 74. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Ataco seco antes del ensacado	TNTC	TNTC	34	3.4X10 <sup>4</sup> UFC/g

Tabla 75. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Ataco seco después del ensacado	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 76. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES			CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	
Ataco seco después del ensacado	TNTC	TNTC	36	3.6X10 <sup>4</sup> UFC/g

#### C.4 Diluciones producto terminado

Tabla 77. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES					CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
Producto terminado	TNTC	TNTC	195	5	0	2.0X10 <sup>5</sup> UFC/g

Tabla 78. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES					CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
Producto terminado	18	1	0	0	0	1.8X10 <sup>2</sup> UFC/g

Tabla 79. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES					CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
Producto terminado	0	0	0	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 80. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES					CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
Producto terminado	TNTC	TNTC	150	52	2	1.5X10 <sup>5</sup> UFC/g

Tabla 81. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES					CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
Producto terminado	11	5	0	0	0	1.1X10 <sup>2</sup> UFC/g

### C.5 Diluciones de ataco fresco por proveedor

Tabla 82. Diluciones para la determinación de coliformes totales

ATACO PROVEEDOR	DILUCIONES				CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	
P1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
P2	55	17	6	0	5.5X10 <sup>2</sup> UFC/g
P3	TNTC	TNTC	280	75	2.8X10 <sup>5</sup> UFC/g
P4	15	0	0	0	1.5X10 <sup>2</sup> UFC/g
P5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 83. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

ATACO PROVEEDOR	DILUCIONES				CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	
P1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
P2	11	4	0	0	1.1X10 <sup>2</sup> UFC/g
P3	TNTC	TNTC	130	25	1.3X10 <sup>5</sup> UFC/g
P4	0	0	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g
P5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

### C.6 Diluciones de producto con y sin UV (equipo laboratorio)

Tabla 84. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 85. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 86. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	TNTC	TNTC	TNTC

Tabla 87. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	Duplicado	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	19	10	1.5X10 <sup>2</sup> UFC/g
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	23	18	2.1X10 <sup>2</sup> UFC/g

### C.7 Diluciones de producto con y sin UV (equipo instalado)

Tabla 88. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 89. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 90. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

Tabla 91. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	45	4.5X10 <sup>2</sup> UFC/g

Tabla 92. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-1}$	
Producto terminado (funda Tisanita) + UV	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 93. Diluciones para la determinación de coliformes totales

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-3}$	
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 94. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-3}$	
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	17	$1.7 \times 10^4$ UFC/g

Tabla 95. Diluciones para la determinación de Aerobios mesófilos

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-3}$	
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 96. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-3}$	
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	8	$8.0 \times 10^3$ UFC/g

Tabla 97. Diluciones para la determinación de *Staphylococcus aureus*

MUESTRA	DILUCIONES	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-3}$	
Producto terminado (funda Tisanita) sin UV	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

## C.8 Diluciones de materia prima desinfectada con hipoclorito de calcio

Tabla 98. Diluciones para la determinación de *Escherichia coli*

MUESTRA	DILUCIÓN	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-2}$	
Escancel fresco	10	$1.0 \times 10^3$ UFC/g
Escancel E0	33	$3.3 \times 10^3$ UFC/g
Escancel E1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Escancel E2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Malva Olorosa fresca	TNTC	TNTC
Malva Olorosa MO1	6	$6.0 \times 10^2$ UFC/g
Malva Olorosa MO2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Albaca fresca	TNTC	TNTC
Albaca A1	45	$4.5 \times 10^3$ UFC/g
Hierba luisa fresca	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Hierba HL1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Hierba luisa HL2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Cedrón fresco	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Cedrón C1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Cedrón C2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Menta fresca	4	$4.0 \times 10^2$ UFC/g
Menta M1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Menta M2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Esencia fresca	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Esencia ES1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Esencia ES2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Toronjil fresco	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Toronjil T1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Toronjil T2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Manzanilla fresca	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Manzanilla MZ1	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Manzanilla MZ2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Agua de la cisterna	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g

Tabla 99. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIÓN	CONTAJE REPORTADO
	$10^{-2}$	
Escancel fresco	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Escancel E0	100	$1.0 \times 10^4$ UFC/g
Escancel E1	60	$6 \times 10^3$ UFC/g
Escancel E2	14	$1.4 \times 10^3$ UFC/g
Malva Olorosa fresca	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Malva Olorosa MO1	24	$2.4 \times 10^3$ UFC/g
Malva Olorosa MO2	13	$1.3 \times 10^3$ UFC/g
Albaca fresca	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Albaca A1	60	$6 \times 10^3$ UFC/g
Hierba luisa fresca	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Hierba HL1	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Hierba luisa HL2	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Cedrón fresco	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Cedrón C1	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Cedrón C2	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Menta fresca	150	$1.5 \times 10^4$ UFC/g ESCP
Menta M1	2	$2.0 \times 10^2$ UFC/g
Menta M2	0	$< 1.0 \times 10^0$ UFC/g
Esencia fresca	100	$1.0 \times 10^4$ UFC/g
Esencia ES1	20	$2 \times 10^3$ UFC/g
Esencia ES2	1	$1.0 \times 10^2$ UFC/g
Toronjil fresco	41	$4.1 \times 10^3$ UFC/g
Toronjil T1	30	$3 \times 10^3$ UFC/g
Toronjil T2	1	$1.0 \times 10^2$ UFC/g

Manzanilla fresca	150	1.5X10 <sup>4</sup> UFC/g ESCP
Manzanilla MZ1	33	3.3x10 <sup>3</sup> UFC/g
Manzanilla MZ2	24	2.4x10 <sup>3</sup> UFC/g
Agua de la cisterna	0	< 1.0X10 <sup>0</sup> UFC/g

### C.9 Diluciones de materias primas desinfectadas con ácido paracético

Tabla 100. Diluciones para la determinación de Mohos y levaduras

MUESTRA	DILUCIONES		CONTAJE REPORTADO
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	
Hierba luisa fresca	No se sembró	150	1.5X10 <sup>4</sup> UFC/g ESCP
Hierba luisa + solución de ácido paracético	No se sembró	11	1.1X10 <sup>3</sup> UFC/g
Cedrón fresco	No se sembró	150	1.5X10 <sup>4</sup> UFC/g ESCP
Cedrón + solución de ácido paracético	No se sembró	17	1.7x10 <sup>3</sup> UFC/g

## ANEXO D. TABLAS DE RESULTADOS DE LOS GRÁFICOS 1-5

Tabla 101. Análisis microbiológicos de Escancel + desinfectante hipoclorito de calcio

MUESTRA	Escancel fresco	Escancel + solución A	Escancel + solución B	Escancel + solución C
<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/g	$1.0 \times 10^3$	$3.3 \times 10^3$	0	0
MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	$1.5 \times 10^4$ ESPC	$1.0 \times 10^4$	$6.0 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$

Tabla 102. Análisis microbiológicos de Esencia + desinfectante hipoclorito de calcio

MUESTRA	Esencia fresca	Esencia + solución B	Esencia+ solución C
<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/g	0	0	0
MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	$1.0 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^2$

Tabla 103. Análisis microbiológicos de Toronjil + desinfectante hipoclorito de calcio

MUESTRA	Toronjil fresco	Toronjil + solución B	Toronjil+ solución C
<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/g	0	0	0
MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	$4.1 \times 10^3$	$3.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^2$

Tabla 104. Análisis microbiológicos de Manzanilla + desinfectante hipoclorito de calcio

MUESTRA	Manzanilla fresca	Manzanilla + solución B	Manzanilla + solución C
<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/g	0	0	0
MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	$1.5 \times 10^4$ ESPC	$3.3 \times 10^3$	$2.4 \times 10^3$

Tabla 105. Análisis microbiológicos de Malva olorosa + desinfectante hipoclorito de calcio

MUESTRA	Malva olorosa fresca	Malva olorosa + solución B	Malva olorosa + solución C
<i>ESCHERICHIA COLI</i> UFC/g	0	$6.0 \times 10^1$	$2.4 \times 10^3$
MOHOS Y LEVADURAS UFC/g	$1.5 \times 10^4$ ESPC	$2.4 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$

