



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y  
BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

---

**Caracterización de bacterias y testeo de métodos de desinfección de botellones de agua de la planta Fuente San Felipe S.A. ubicada en el cantón Latacunga provincia de Cotopaxi.**

---

Trabajo de Titulación, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**AUTOR:** Jeniffer Stefania Bonilla Vizúete

**TUTOR:** MSc. Ruth Narcisa Pérez Salinas.

**Ambato – Ecuador**

**Septiembre - 2022**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

MSc. Ruth Narcisa Pérez Salinas

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 29 de julio del 2022

.....

MSc. Ruth Narcisa Pérez Salinas

C.I. 180272662-8

**TUTORA**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Jeniffer Stefania Bonilla Vizuite, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación modalidad de Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



.....

Jeniffer Stefania Bonilla Vizuite

C.I: 0503976912

**AUTORA**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente trabajo de Titulación modalidad de Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

.....

PhD. Orestes Darío López Fernández  
**Presidente del tribunal**

.....

MSc. Danae Fernández Rivero

.....

PhD. Liliana Alexandra Cerda Mejía

Ambato, 12 de septiembre del 2022

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....

Jeniffer Stefania Bonilla Vizuite

C.I: 0503976912

**AUTORA**

## **DEDICATORIA**

*Dedico este proyecto a Dios, mi abuelito en el cielo, mi madre, hermanos, familia y amigos quienes a lo largo de mi vida han sido un soporte y una motivación para el desarrollo de mis estudios, a mis jefes quienes me han demostrado que para llegar a ser un buen profesional se debe iniciar por ser un buen ser humano.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Mi eterna gratitud con la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por haberme permitido adquirir mis conocimientos de los mejores profesionales.*

*A la Empresa Fuente San Felipe S.A. por haber confiado en mis conocimientos, brindándome el espacio, recursos y herramientas utilizadas en el desarrollo de este proyecto.*

*A mi tutor institucional el Ingeniero José Vélez quien desde el inicio del proyecto me ha brindado su apoyo y de la mano de sus conocimientos se logró alcanzar los resultados deseados en cada una de las etapas de la presente investigación.*

*A mi tutora académica la Ingeniera Ruth Pérez por su tiempo, interés y experiencia la cual ha sabido guiarme durante el desarrollo del presente proyecto.*

*Muchas gracias a todos...*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

|  |             |
|--|-------------|
| <b>APROBACIÓN DEL TUTOR</b> .....  | <b>ii</b>   |
| <b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD</b> .....   | <b>iii</b>  |
| <b>APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO</b> .....                                 | <b>iv</b>   |
| <b>DERECHOS DE AUTOR</b> .....   | <b>v</b>    |
| <b>DEDICATORIA</b> .....   | <b>vi</b>   |
| <b>AGRADECIMIENTO</b> .....  | <b>vii</b>  |
| <b>RESUMEN</b> .....   | <b>xiii</b> |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <b>xiv</b>  |
| <b>CAPITULO IMARCO TEÓRICO</b> .....   | <b>15</b>   |
| <b>1.1. Antecedentes investigativos</b> .....  | <b>15</b>   |
| 1.1.1. Generalidades del agua embotellada.....   | 15          |
| 1.1.2. Consumo de agua embotellada .....   | 17          |
| 1.1.3. Importancia de la inocuidad del agua.....   | 18          |
| 1.1.4. Principales bacterias que afectan la calidad del agua.....                            | 20          |
| 1.1.5. Envases retornables .....   | 21          |
| 1.1.6. Técnicas de determinación de contaminación bacteriana de envases<br>retornables ..... | 23          |
| 1.1.7. Tratamientos de saneamiento .....   | 24          |
| <b>1.2. Objetivos</b> .....  | <b>26</b>   |
| 1.2.1. Objetivo general .....  | 26          |
| 1.2.2. Objetivos específicos .....   | 26          |



**CAPITULO II .....METODOLOGÍA**

**27**

**2.1. Materiales..... 27**

2.1.1. Reactivos ..... 27

2.1.2. Materiales de laboratorio..... 27

2.1.3. Equipos..... 28

**2.2. Métodos ..... 28**

2.2.1. Identificación de puntos críticos de contaminación ..... 28

2.2.2. Evaluación de riesgo sanitario ..... 31

2.2.3. Análisis microbiológico ..... 31

2.2.4. Eliminación de carga bacteriana en los botellones ..... 33

2.2.5. Esterilización de áreas de llenado y sellado ..... 33

2.2.6. Proceso de lavado de botellones ..... 34

2.2.7. Diseño experimental..... 35

**CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION ..... 37**

**3.1. Determinación de microorganismos en el envasado de agua purificada**

**37**

3.1.1. Análisis de superficies en puntos críticos del proceso ..... 37

3.1.2. Identificación de microorganismos en los botellones reutilizables..... 39

3.1.3. Carga microbiana en el muestreo de botellones reutilizados ..... 41

**3.2. Eliminación de carga microbiana ..... 43**

**3.3. Propuesta de control de desinfección de botellones para las condiciones**

**de la Planta Fuentes San Felipe ..... 45**

|  |                     |
|--|---------------------|
| 3.3.1. Justificación de la propuesta .....                             | 45                  |
| 3.3.2. Sistema de Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria .....     | 46                  |
| 3.3.3. Medición, Análisis y Mejora.....                                | 51                  |
| 3.3.4. Información del Producto y Concientización del Consumidor ..... | 52                  |
| 3.3.5. Operaciones de Agua Envasada .....                              | 53                  |
| <b>CAPITULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>                 | <b>56</b>           |
| <b>4.1. Conclusiones .....</b>   | <b>56</b>           |
| <b>4.2. Recomendaciones .....</b>                                      | <b>57</b>           |
| <b>CAPITULO V.....</b>   | <b>BIBLIOGRAFIA</b> |
|  | <b>58</b>           |
| <b>CAPITULO VI ANEXOS .....</b>  | <b>62</b>           |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1 Tratamientos para Desinfección de Botellones.....          | 36 |
| Tabla 2 Respuesta crecimiento microbiano en agua embotellada ..... | 44 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 Diagrama de Flujo para Identificación de Puntos Críticos.....         | 30 |
| Figura 2 Diagrama de Flujo para análisis Microbiológico.....                   | 32 |
| Figura 3 Diagrama de Flujo para Lavado y Desinfección de Botellones .....      | 35 |
| Figura 4 Determinación de Puntos Potenciales de Contaminación Microbiológica.. | 38 |
| Figura 5 Carga bacteriana en las muestras de botellones reutilizados .....     | 42 |
| Figura 6 Presencia microbiológica en agua embotellada almacenada .....         | 44 |

## RESUMEN

El problema de calidad del agua embotellada es agudo en todo el mundo, y se lo ha enfrentado con un análisis del agua que garanticen resultados precisos y oportunos. Los fabricantes de agua embotellada tienen la tarea de analizar mayores volúmenes de muestras, incluso afrontar emergencias inesperadas, mientras se adhieren a regulaciones locales más estrictas. El uso de botellones retornables ha determinado que se existan contaminantes producto del manejo inadecuado de los envases, exposición al ambiente y desgaste de los materiales del botellón. El presente estudio se enfocó en establecer la carga microbiana, identificar los microorganismos involucrados y proponer protocolos de mejora continua para asegurar la inocuidad alimentaria del agua embotellada de la planta Fuente San Felipe S.A. En los botellones retornables se encontraron evidencias de contaminación bacteriana. Se determinó la presencia de mesófilos aeróbicos, que son indicadores de contaminación por exposición al ambiente, coliformes totales, sin hallar evidencia de contaminación fecal y el microorganismo crítico encontrado para establecer la calidad de agua fue *Pseudomonas stutzeri*. Se ajustó el protocolo de desinfección para eliminar este microorganismo con el uso de peróxido de hidrógeno en concentraciones hasta de 3 por ciento y aplicaciones de hasta 15 minutos de contacto en los botellones, siendo este último considerado el mejor tratamiento. Con el fin de asegurar la calidad del producto final se plantea un sistema de gestión de calidad y seguridad alimentaria, basado en medición, análisis y mejora de los procesos de desinfección y envasado.

Palabras clave: Fuente San Felipe, agua embotellada, seguridad alimentaria, gestión de calidad, inocuidad del agua, calidad del agua, ATP, *Pseudomonas stutzeri*, Mesófilos aerobios, Sistemas de mejora continua, Coliformes totales.

## ABSTRACT

The problem of bottled water quality is acute throughout the world, and it has been addressed with water testing that ensures accurate and timely results. Bottled water manufacturers are tasked with testing larger volumes of samples, even dealing with unexpected emergencies, while adhering to more stringent local regulations. The use of returnable bottles has determined that there are contaminants due to improper handling of the containers, exposure to the environment and wear of the bottle materials. This study focused on establishing the microbial load, identifying the microorganisms involved and proposing continuous improvement protocols to ensure the food safety of bottled water from the Fuente San Felipe S.A. plant. Evidence of bacterial contamination was found in the returnable bottles. The presence of aerobic mesophiles was determined, which are indicators of contamination due to exposure to the environment, total coliforms, without finding evidence of fecal contamination and the critical microorganism found to establish the quality of water was *Pseudomonas stutzeri*. The disinfection protocol was adjusted to eliminate this microorganism with the use of hydrogen peroxide in concentrations of up to 3 percent and applications of up to 15 minutes of contact in the bottles, the latter being considered the best treatment. In order to ensure the quality of the final product, a food quality and safety management system is proposed, based on measurement, analysis and improvement of the disinfection and packaging processes.

Keywords: Fuente San Felipe, bottled water, food safety, quality management, water safety, water quality, ATP, *Pseudomonas stutzeri*, aerobic mesophiles, continuous improvement systems, total coliforms.

# CAPITULO I

## MARCO TEÓRICO

### *1.1. Antecedentes investigativos*

#### **1.1.1. Generalidades del agua embotellada**

El agua potable es un recurso natural estratégicamente importante, ya que es considerada esencial para la vida, y es un derecho humano fundamental. El uso racional de los ecosistemas de agua dulce y el acceso al agua potable es vital para la salud humana, la sostenibilidad ambiental y la prosperidad económica (Shapsugova, 2021). El uso racional de los ecosistemas de agua dulce y el acceso al agua potable es vital para la salud humana, la sostenibilidad ambiental y la prosperidad económica. El problema de la calidad del agua embotellada es agudo en todo el mundo, y se lo ha enfrentado con el análisis del agua potable en un flujo de trabajo que garanticen resultados precisos y oportunos, día tras día, con entregas más rápidas, y rotación de técnicos de laboratorio, que garanticen que los suministros de agua de sus comunidades sean seguros y sin adulterar. Los fabricantes de agua embotellada tienen cada vez más la tarea de analizar mayores volúmenes de muestras, ensayos sensibles al tiempo, incluso emergencias inesperadas, todo mientras se adhieren a regulaciones locales más estrictas (Perkin Elmer, 2019).

El Codex Alimentarius CAC/RCP 48, 2001 define el agua potable embotellada y envasada como “Agua envasada en recipientes herméticamente cerrados de diversas composiciones, formas y capacidades que es segura y apta para el consumo directo sin necesidad de un tratamiento adicional. El agua potable embotellada se considera un alimento. Los términos 'bebible' y 'potable' se usan indistintamente en relación con el agua” (INEN, 2013). El agua

no tratada puede estar contaminada con patógenos como virus y protozoos parásitos , que pueden ser difíciles de detectar, y los indicadores bacterianos de su presencia potencial no siempre son confiables, por lo tanto, el envasado de agua para consumo humano está estrictamente legislado (Featherstone, 2016).

El agua dulce puede ser tratada por diferentes métodos con el fin de esterilizarla para convertirla en agua potable adecuada para el consumo humano, en estos procesos se busca retirar todo tipo de contaminantes, ya sean estos físicos, químicos o biológicos. Uno de los métodos más utilizados en el proceso de osmosis inversa en el cual el agua es filtrada por membranas semipermeables con la finalidad de retirar partículas en suspensión. Otro método frecuente es la ozonificación del agua donde mediante el uso de equipos se diluye cierta cantidad de ozono el cual es un gas capaz de eliminar bacterias, parásitos y virus, su concentración en el agua debe mantenerse un límite de 0,3 al 0,6 ppm al momento del envasado, puesto que con el paso de los días este se va a degradar, sin embargo, ha cumplido su rol de esterilizar el agua (Escobar, 2021).

Una vez tratada el agua, es envasada y llega a permanecer varios meses almacenada antes de su consumo, por parámetros de calidad el agua debe constar de características físicas, químicas y microbiológicas que la habiliten para ser consumida. Las principales características físicas engloban al color, según el Instituto Ecuatoriano de Normalización en su norma para agua potable, expresa que el agua como máximo puede presentar unidades de color aparente de 15 y una turbiedad de 5 NTU (unidad de color verdadero), por lo que no deben existir cantidades considerables de sólidos disueltos ni partículas en suspensión (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2011). En cuanto al sabor y aroma, esta debe



encontrase exenta de cualquier sustancia que le confiera estas características puesto que según la norma estos son parámetros no objetables y el agua debe mantenerse sin olor y sin sabor, con una densidad de  $1.000 \text{ kg/m}^3$ . Para las características químicas el agua purificada no carbonatada medida a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  bordea los pHs de 6,5 como mínimo a 8,5 como máximo. Con un nivel de cloro residual que se encuentra en valores óptimos de 0,3 a 0,5 mg/L según la OMS y de 0,3 a  $1,5^1$  mg/L según la Norma INEN NTE 1 108 (INEN, 2011).

### **1.1.2. Consumo de agua embotellada**

El agua envasada es la bebida no alcohólica más consumida a nivel nacional, y esta tendencia se ha mantenido creciente desde hace una década. En el 2018 el consumo per cápita fue de 41,2 litros superando incluso a las bebidas gaseosas (Arellano & Lindao, 2019). Una de las presentaciones más consumidas por los hogares en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, es el botellón de 20 litros el cual es utilizado en la cocina principalmente para la elaboración de jugos, bebidas y consumo directo. De igual forma en las instituciones como locales comerciales que elaboran alimentos, oficinas y empresas donde la afluencia de personas es considerable, este producto resulta ser eficaz para la hidratación del personal.

En una encuesta realizada por (Herrera, 2017), se determinó que el 93% de la población consume agua envasada en botellones de 20 litros, para complementar los requerimientos diarios por persona los cuales alcanzan los 5 litros de agua. Es decir que una familia conformada por 5 integrantes consumirá alrededor de 25 litros al día para mantenerse hidratada incluyendo la preparación de alimentos, lo cual en promedio hace referencia que en el mejor de los casos un hogar consume al menos 1 botellón de agua al día. El

incremento en el consumo de agua envasada también se debe a la desconfianza que genera la baja calidad que presenta el agua de la red pública. El consumidor considera que el proceso de purificación que posee el agua envasada le permite beber un producto más seguro, libre de sustancias como el cloro y flúor y otros agentes que el agua de grifo contiene. Todo esto sumado al precio accesible que esta presentación ofrece lo convierte en un producto con gran acogida por el consumidor local (Euromonitor Internacional, 2013)

La tendencia a nivel mundial que promueve en los ciudadanos mejorar y cuidar su salud incrementa el consumo de agua en reemplazo de bebidas con sustancias añadidas con azúcar, colorantes, saborizantes. De igual forma, las prácticas de ejercicio diario derivan en una mayor demanda de agua destinada para consumo. Esta inclinación ha ido tomando fuerza en los últimos años lo que mantiene al mercado de agua purificada y embotellada en constante crecimiento (Herrera, 2017).

### **1.1.3. Importancia de la inocuidad del agua**

La comprensión evolutiva de la transmisión de enfermedades infecciosas y las funciones interrelacionadas de la infraestructura y la salud humana han dado forma a la ciencia y la práctica modernas del agua, el saneamiento y la higiene. Aunque los beneficios del agua, el saneamiento y la higiene son mucho más amplios que sus impactos en la salud por sí solos, todavía se promueve como un conjunto de intervenciones sanitarias destinadas a interrumpir la transmisión de enfermedades infecciosas o la ingesta de excretas. En los últimos 15 años, los avances científicos han perfeccionado los enfoques de los ensayos de impacto en la salud y se han llevado a cabo varios ensayos de intervenciones básicas de agua, saneamiento e higiene (Budge et al., 2022). El agua destinada para consumo humano

que ha sido purificada por diferentes tratamientos de esterilización debe cumplir estándares de calidad que le confieran la denominación de agua purificada, inocua y apta para ser ingerida. Dicha agua debe poseer características que garanticen su seguridad, como es una elevada calidad microbiológica. Cuando el agua no cuenta con los tratamientos recomendados de saneamiento, purificación, almacenamiento y distribución puede llegar a representar un riesgo para la salud (MSP, 2019)

Los consumidores prefieren hidratarse principalmente a partir de agua purificada y envasada debido a la confianza que esta genera. A pesar de ello, a lo largo de su producción el agua puede llegar a contaminarse con microorganismos que afectan la calidad y seguridad de la misma. Así lo demuestra un análisis desarrollado por el Instituto Leopoldo Izquieta Pérez, en el cual se analizaron 27 diferentes marcas de agua que son comercializadas en Ecuador, dando como resultado que 12 de estas no deberían ser expandidas ni consumidas debido a que incumplen con los parámetros establecidos por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) (Saltos & Sosa, 2015). De igual manera, se ha demostrado que el 20.7% de agua consumida a nivel nacional es de mala calidad o no es segura, de este porcentaje el 17.8% corresponde al agua envasada o embotellada. Esto puede deberse a que en ciertas ocasiones pueden existir fallas en el proceso de producción, repercutiendo así en la calidad del producto terminado (González et al., 2014).

Por esta razón las empresas dedicadas a la producción de agua purificada y embotellada aplican las normativas establecidas para eliminar microorganismos patógenos y prevenir las enfermedades infecciosas, protegiendo la salud del consumidor (MSP, 2021). De igual manera se encuentran en constante innovación a fin de mejorar los procesos y garantizar el

producto. En la planta Fuente San Felipe se realizan constantemente actividades de capacitación y de análisis de las posibles fuentes de contaminación del agua a través de varios puntos del proceso de producción del agua embotellada. Se realizan inspecciones, análisis visuales y tomas periódicas de muestras en los puntos que representan mayor susceptibilidad de contaminación. Para prevenir esto, se efectúan desinfecciones y tratamientos que aseguran los perímetros de tal forma que se garantice la producción libre de contaminación.

#### **1.1.4. Principales bacterias que afectan la calidad del agua**

Según un estudio temático publicado por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el agua embotellada es considerada como una fuente básica para el suministro de este líquido en los hogares ecuatorianos puesto que se trata de un producto de tipo “A” el cual consta de excelente calidad, principalmente libre de bacterias patógenas como; *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Vibrio spp.*, *Escherichia coli diarrogénica*, entre otras (Hernández et al., 2017). Estos microorganismos son responsables de algunas enfermedades y de varios tipos de infecciones estomacales (Organización Mundial de la Salud, 2007).

La inocuidad del agua es un parámetro establecido principalmente en base a su calidad microbiológica. Al igual que cualquier otro producto destinado para el consumo humano, el proceso de producción debe garantizar que esta se encuentre libre de contaminantes física, química y microbiológica. De forma especial se promueve evitar la presencia de bacterias que de forma natural pueden llegar a las tomas de agua, equipos e implementos que intervienen en el proceso. Se estima que una vez embotellada el agua este es un producto

estéril, sin embargo, existe una mínima probabilidad de que bacterias patógenas en un rango entre  $10^5$  y  $10^7$  UFC/mL puedan estar presentes. Los riesgos de que estas bacterias se multipliquen durante el almacenamiento y transporte de las unidades envasadas son una posible amenaza para la salud de quien beba este producto (Sánchez, 2019).

Uno de los tipos de bacterias de mayor preocupación por su facilidad de contaminación y dificultad para ser eliminadas son las del género *Pseudomonas*. Estas bacterias gramnegativas, aerobias y móviles, se distinguen por ser realmente persistentes en ambientes húmedos. Los tipos: *Aeruginosa*, *Stutzeri*, *Klebsiella*, *Aeromonas*, *Serratina*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, entre otras que se encuentran presentes en menor cantidad. Una característica de dichas bacterias es que en ciertos casos su presencia en el agua genera una gama de coloraciones amarillentas hasta azul-verdosas, producto de la pigmentación soluble en agua que se desarrolla. Se realiza un énfasis en este tipo de microorganismos ya que el problema global de la presente investigación se basa justamente en la presencia de pigmentación verdosa en ciertos productos terminados y envases retornables destinados para contener el agua (Paz, y otros, 2019).

#### **1.1.5. Envases retornables**

Los productos contenidos en envases retornables representan un considerable aporte para la reducción del impacto ambiental, un envase destinado para ser retornable es utilizado en un promedio superior a 10 veces, lo cual permite reducir la huella de carbono al disminuir el consumo de polietileno de carácter virgen o inicial hasta en un 80%. Sin embargo, existen ciertas desventajas principalmente en el aspecto de sanidad, puesto que en ciertas ocasiones

el consumidor no le brinda el uso ni cuidados necesarios al envase, esto repercute en la integridad y seguridad del mismo (Paz M. , 2016).

Al tratarse de un producto que va a ser envasado en un recipiente reutilizado, el envase debe cumplir con un estricto proceso de limpieza y desinfección que lo habilite para ser usado nuevamente. En base al principio número 1 de la norma HACCP, la cual dicta que se debe ejecutar un análisis de riesgos de los factores que repercutan en el retorno del envase a la planta, se lleva a cabo una inspección de los envases antes de que estos sean ingresados a la línea con la finalidad de minimizar los riesgos de contaminación por alguna bacteria externa. Cuando el envase no es inocuo ya sea por contaminantes físicos, químicos o biológicos presentes en el interior o exterior de los mismos, esto va a repercutir en el proceso ya que se generan pérdidas de tiempo, materia prima y recursos en general (García, 2017).

La limpieza de los bidones retornables es básica, sin embargo, no es una tarea fácil debido a la forma que estos presentan. Existen ciertas zonas como la agarradera, cuello y base del botellón en las cuales el acceso de instrumentos de limpieza es limitado, esto tiene un efecto negativo puesto que, al no asegurar su esterilidad, al momento del envasado y almacenamiento se desarrollan bacterias que han resistido al proceso de saneo. Cuando el recipiente vacío no ha sido tratado adecuadamente o ha sufrido alguna contaminación durante su uso o transporte de regreso a la planta (García, 2017).

### **1.1.6. Técnicas de determinación de contaminación bacteriana de envases retornables**

Los métodos clásicos para el monitoreo bacteriano del agua, los productos alimenticios, el estado de higiene de las plantas de producción de alimentos, hospitales, tiendas u hoteles no proporcionan una evaluación en tiempo real de los riesgos. El conteo de placas requiere mucho tiempo e implica una larga incubación de muestras, generalmente 24-72 h. En consecuencia, los resultados obtenidos proporcionan información sobre la condición histórica de un sitio determinado. Desde el punto de vista de la gestión de la seguridad, significa que las acciones correctivas o preventivas tomadas se basan en datos que a menudo son inadecuados para el estado real de los riesgos de higiene. Además, no es posible evaluar la efectividad del tratamiento relacionado con la seguridad, como la desinfección, en tiempo real. Los métodos que permiten la identificación rápida de los riesgos microbiológicos y de higiene han evolucionado y mejorado dinámicamente en la última década (Ashurst et al., 2017).

El ensayo basado en la bioluminiscencia de adenosina-5'-trifosfato (ATP) se usa cada vez más comúnmente en la práctica. El ATP es una molécula orgánica que desempeña un papel de portador de energía: todas las células vivas (tanto procariotas como eucariotas) contienen esta coenzima multifuncional. La técnica de determinación de ATP fue presentada por Chappelle y Levin en 1968. Es altamente preciso y ofrece resultados rápidos que constituyen la base para la toma de decisiones y la gestión de riesgos. Las pruebas de ATP se pueden utilizar para medir la limpieza de las líneas tecnológicas y los dispositivos empleados en la producción de alimentos. También se pueden aplicar para evaluar la

higiene de las instalaciones de servicios públicos (hospitales), pisos y hoteles. Además, son útiles para determinar la contaminación bacteriana de medicamentos, cosméticos, pinturas, agua potable, agua de proceso o aire acondicionado. La técnica es aplicable en la tecnología de tratamiento de aguas residuales para determinar la calidad y los efectos tóxicos de sus contaminantes y la evaluación rápida de la condición de los microorganismos en las plantas de tratamiento biológico de aguas residuales. El uso de pruebas de ATP para determinar la contaminación bacteriológica del agua tiene una serie de aplicaciones descritas en la literatura. Sin embargo, las pruebas de ATP pueden ser útiles para la medición de la biomasa en el agua y las aguas residuales. La razón por la que las evaluaciones de las pruebas de ATP para la investigación del agua son equívocas puede originarse en el hecho de que las pruebas de primera generación tenían carácter cualitativo, solamente. También se enfrentaron a una incertidumbre considerable ya que no había control de la actividad de las enzimas productoras de bioluminiscencia. Las pruebas de 2<sup>a</sup> generación utilizadas actualmente ayudan a determinar el ATP relacionado con microorganismos activos con la aplicación del estándar ATP para la calibración. Son cualitativos y dan resultados repetibles (Pistelok et al., 2016).

#### **1.1.7. Tratamientos de saneamiento**

Un adecuado tratamiento previo al envasado es primordial, puesto que el agua utilizada para este proceso proviene de fuentes, manantiales, vertientes, etc. Dichas tomas de agua son de origen natural y, a pesar de estar protegidas o cubiertas como lo dictan las ordenanzas sanitarias puede llegar a existir una contaminación, ya sea en el punto de origen o durante el recorrido del agua a lo largo del proceso previo al envasado. Existen diferentes



métodos de saneamiento utilizados por las empresas con la finalidad de eliminar un sin número de bacterias patógenas como las mencionadas anteriormente. Estos métodos no son aplicados únicamente en el agua sino también sobre los equipos involucrados en el proceso y en los envases a utilizarse como es el caso los botellones retornables de 20 litros (De la Cruz, 2019).

Dependiendo de la zona, el tratamiento de saneamiento es diferente. En el caso del agua de consumo, es indispensable evitar el contacto del agua con ambientes abiertos, es por eso que usualmente el agua es transportada por tuberías de acero inoxidable (grado alimentario), las cuales se encuentran conectadas a varios filtros los cuales cumplen diferentes funciones principalmente para la eliminación de impurezas físicas y químicas del agua. En el aspecto biológico, el agua es sometida a un proceso de ozonificación el cual permite eliminar cualquier clase de microorganismo, garantizando así la inocuidad del producto. En las maquinas, equipos y envases utilizados para el proceso de llenado y envasado se aplican otro tipo de tratamientos como son los químicos, con el uso de detergentes y una combinación de tratamientos químicos, mecánicos y manuales de limpieza a diferentes temperaturas. Todo esto con la intención de asegurar la desinfección de dichos instrumentos. A pesar de todos los tratamientos anteriormente mencionados existen ciertos elementos que son susceptibles a contaminarse de bacterias que muestran resistencia a ser eliminados, ya sea por instrumentos de limpieza inadecuados o procesos deficientes (Sousa et al., 2008).

## **1.2. *Objetivos***

### **1.2.1. Objetivo general**

Caracterizar a las bacterias y testear métodos de desinfección de botellones de agua de la planta Fuente San Felipe S.A. ubicada en el cantón Latacunga provincia de Cotopaxi

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Determinar cuáles son los tipos de bacterias presentes en el agua y en los botellones utilizados para el envasado del agua purificada.
- Evaluar métodos Físico – químicos que permitan eliminar la carga microbiana de los botellones usados.
- Proponer un método de desinfección de botellones adecuado para las condiciones de la Planta Fuentes San Felipe.

## **CAPITULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1. *Material*es**

##### **2.1.1. Reactivos**

- Agar Dextrosa y Triptona
- Caldo m-Endo
- MacConkey
- Hisopos ATP 3M™ Clean-Trace™
- Peróxido de Hidrogeno 3%
- Cloro 3-6 %
- Detergente ECOFOAM

##### **2.1.2. Materiales de laboratorio**

- Vasos de precipitación
- Probetas
- Pipetas graduadas (5-10-25 mL)
- Tubos de ensayo
- Cajas Petri
- Asa para dispersión
- Toallas de papel
- Papel aluminio
- Papel adherente

- Rotuladores
- Portador de botellón

### **2.1.3. Equipos**

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Autoclave
- Equipo de filtración por membrana
- Refrigerador
- Mechero bunsen
- Balanza
- Lámpara UV-C
- Computador

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Identificación de puntos críticos de contaminación**

Con la finalidad de dar solución al problema de contaminación bacteriana que presentaron los botellones de agua de 20 litros, se llevó a cabo una serie de procesos que fueron aplicados para identificar el origen de la contaminación y su posterior acción correctiva. Para el desarrollo de estos se realizó un análisis integral de todo el proceso, desde la toma de agua hasta el producto terminado. En la Figura 1 se describen las metodologías utilizadas en el orden que fueron ejecutadas.

En base a un análisis técnico y visual se identificaron las principales zonas expuestas o de mayor preocupación para el proceso, ya que por su naturaleza presentan mayor delicadeza y tendencia a sufrir de algún tipo de contaminación, se identificaron 4 principales áreas ya que el resto del proceso se mantiene cubierto y se garantiza la esterilidad en dichas áreas.

- Toma de agua

Se trata de un tanque-cisterna de Polietileno con una capacidad de 20 m<sup>3</sup> donde el agua es recolectada para posteriormente ser tratada e ingresar al proceso de embotellado.

- Área de llenado (cámara de llenado)

Es un espacio donde el agua ya ozonizada viaja por una tubería de acero inoxidable y es depositada en el botellón mediante el uso de una bomba.

- Superficies de contacto (tubos, llaves, filtros, tapas, sello de seguridad)

Es el sistema de transporte del agua el cual está compuesto de tuberías, codos y llaves de acero inoxidable donde las uniones presentan filtros que permiten purificar el agua, así mismo al momento del sellado una banda transportadora coloca la tapa y con un martillo mecánico se ejerce presión para colocar la tapa y finalmente el sello de seguridad.

- Botellón reutilizado para envasado

Recipiente utilizado para envasar el agua el cual previamente ha sido esterilizado mediante un sistema de lavado automático que aplica determinada concentración de detergentes a la par de altas temperaturas.

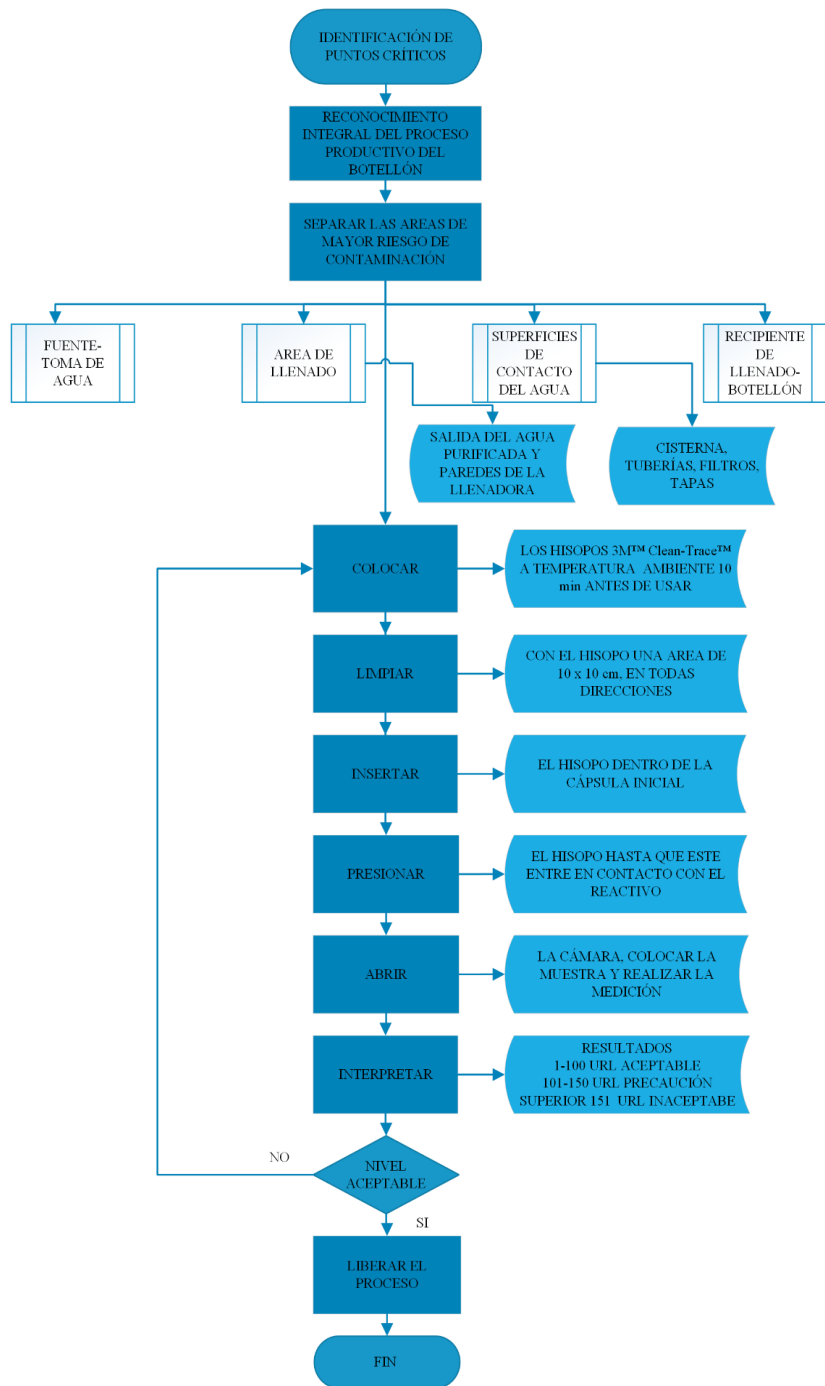


Figura 1 Diagrama de Flujo para Identificación de Puntos Críticos

### **2.2.2. Evaluación de riesgo sanitario**

Se realizaron ensayos rápidos por triplicado en cada una de las áreas mediante el uso de Hisopos para detección de ATP en superficies de la marca 3M™ Clean-Trace™. Se identificaron las etapas de producción de mayor cuidado como lo fueron la toma de agua, lugar de llenado, envasado y lavado de botellones, donde se aplicó el uso del hisopo. El criterio de valoración aplicado fue dado por valores a 100 URLs aceptable, de 100 hasta 150 precauciones y superiores a 150 inadecuado. Estos últimos valores indican que la carga bacteriana es alta para la operación.

### **2.2.3. Análisis microbiológico**

Para la determinación de las bacterias presentes en agua y botellones utilizados para el envasado del agua purificada se realizaron ensayos microbiológicos en base a los requisitos de la norma INEN 2200, para agua purificada envasada la cual exige recuento de *Aerobios Mesófilos*, *Bacterias Coliformes* y *Pseudomona Aeuroginosa*, para dichos ensayos se utilizó Agar Dextrosa y Triptona, Caldo m-Endo y MacConkey respectivamente. Se tomaron muestras de agua y superficies mediante diluciones de los principales puntos de mayor interés en base a los resultados del ensayo con Hisopos para determinar el ATP. Para la realización de estos ensayos se utilizó un equipo de filtración por membrana como se detalla en el diagrama de flujo detallado en la Figura 2.

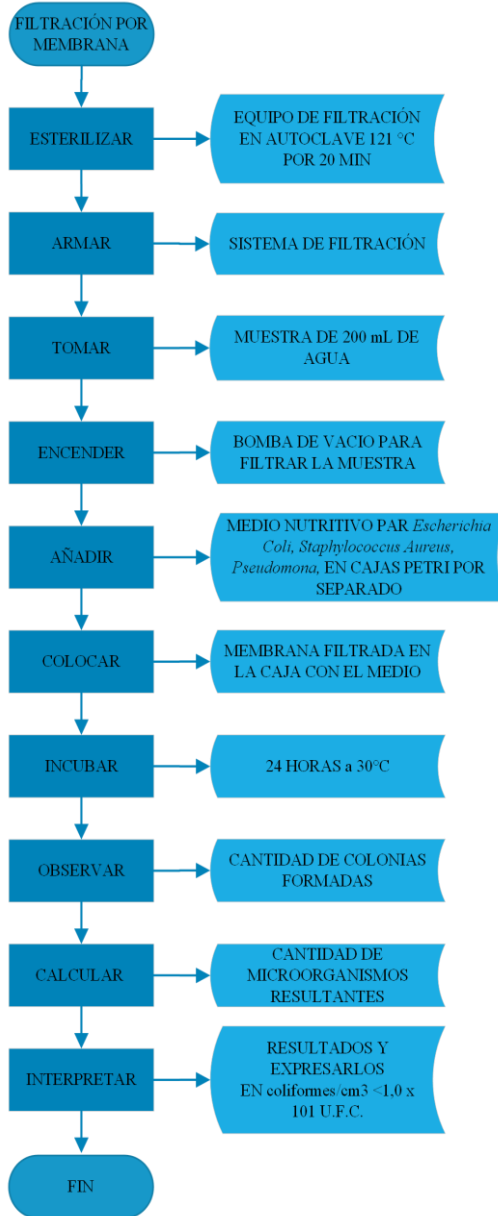


Figura 2 Diagrama de Flujo para análisis Microbiológico

Los puntos interés fueron los siguientes:

Área de llenado



- Toma inicial de agua

Botellones esterilizados

- Superficie interna

Producto terminado

- Agua envasada

#### **2.2.4. Eliminación de carga bacteriana en los botellones**

Con el fin de eliminar la presencia de bacterias patógenas y garantizar la inocuidad del envase se realizaron limpiezas manuales profundas a un total de 12 botellones empleando un detergente adecuado como lo fue ECOFOAM este es un tipo de jabón de grado alimentario utilizado para eliminar restos de sustancias como grasas, azúcares y cualquier tipo de sustancia que pudo haber llegado a contaminar el botellón ya que estos son retornables y muchas de las veces el cliente no le da el mejor trato, el detergente fue diluido en una cantidad de 500 ml para 50 litros de agua, posteriormente se aplicó métodos químicos mediante el uso de peróxido de hidrógeno en concentraciones de 1, 2 y 3% durante un tiempo de 5, 10 y 15 minutos respectivamente. Una vez realizada la desinfección se colocaron los botellones para ser llenados como habitualmente lo hace el equipo de llenado para observar su comportamiento y los resultados del método.

#### **2.2.5. Esterilización de áreas de llenado y sellado**

Una vez identificada una potencial contaminación en dichas áreas se aplicó un tratamiento usando lámparas de luz UV en la zona de llenado y el posicionador de tapas. Las lámparas

se mantuvieron encendidas durante el proceso de producción. Una vez realizados los ensayos se tomaron muestras de producto terminado para posterior evaluar los resultados mediante la ejecución de análisis microbiológicos y estimar la efectividad de los tratamientos.

#### **2.2.6. Proceso de lavado de botellones**

Para cumplir con los requerimientos de calidad de envasado de agua de una empresa, surge la necesidad de implementar un sistema para el proceso de lavado de botellones, tomando en cuenta a las condiciones y necesidades locales. El proceso de lavado de los botellones consta de 4 etapas. En la primera etapa se limpia la parte externa del botellón. Se lo realiza manualmente en el área de duchas para botellones.

Posteriormente, en la segunda etapa se realiza el lavado de la parte interna del botellón en el cual se procura remover toda impureza, bacterias y elementos que no pertenezcan al botellón en sí. Para esto se utiliza agua caliente mezclada con un producto biodegradable que fluye de un aspersor colocado en la parte interna del botellón a una presión de 1000 psi por un periodo de 2 minutos aproximadamente.

La tercera etapa es exponer a la botella con Peróxido de Hidrogeno ( $H_2O_2$ ) por el tiempo estipulado para que pueda eliminar bacterias y gérmenes totalmente. En la cuarta etapa, se realiza un enjuague manual de cada botellón con agua y queda listo para su envasado (Figura 3).

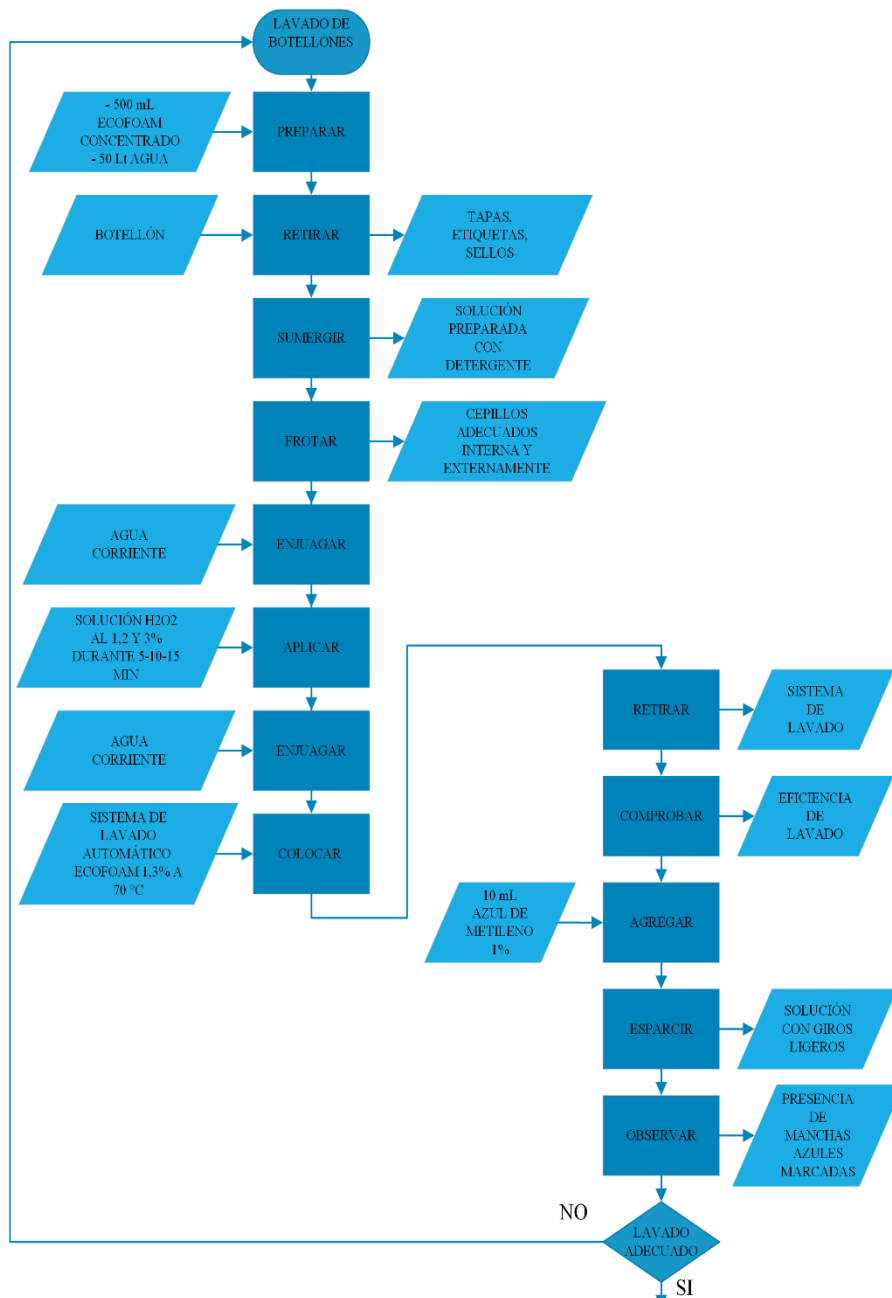


Figura 3 Diagrama de Flujo para Lavado y Desinfección de Botellones

### 2.2.7. Diseño experimental

Para las observaciones de indicios de contaminación bacteriana en el proceso de reutilización de botellones, y la identificación de los microorganismos presentes, se aplicó

un diseño no experimental, basado en la observación de hechos secuenciales en una línea de producción.

Para la aplicación de las diferentes condiciones de esterilización se usó un diseño factorial con dos factores y 3 niveles, con la finalidad de evaluar la efectividad del proceso de esterilización. Se aplicaron tres diferentes concentraciones de peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 1, 2 y 3% en tres tiempos de exposición 5, 10 y 15 minutos como se muestra en la Tabla 1.

*Tabla 1* Tratamientos para Desinfección de Botellones

|                      | <b>TRATAMIENTO</b> | <b>CONCENTRACIÓN<br/>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (%)</b> | <b>TIEMPO DE<br/>EXPOSICIÓN (MIN)</b> |
|----------------------|--------------------|---|---------------------------------------|
| <b>Tratamiento 1</b> | A1                 | 1%  | 5                                     |
|                      | A2                 | 1%  | 10                                    |
|                      | A3                 | 1%  | 15                                    |
| <b>Tratamiento 2</b> | B1                 | 2%  | 5                                     |
|                      | B2                 | 2%  | 10                                    |
|                      | B3                 | 2%  | 15                                    |
| <b>Tratamiento 3</b> | C1                 | 3%  | 5                                     |
|                      | C2                 | 3%  | 10                                    |
|                      | C3                 | 3%  | 15                                    |

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### *3.1. Determinación de microorganismos en el envasado de agua purificada*

##### **3.1.1. Análisis de superficies en puntos críticos del proceso**

Muchos factores contribuyen a la ecología microbiana de la planta de acondicionamiento y envasado de agua en botellones en la empresa Fuentes San Felipe S.A, incluido el producto, los pasos de procesamiento y la escala de la operación. Sin embargo, todas las instalaciones de procesamiento de alimentos, independientemente del producto o tamaño, deben mantener un entorno de procesamiento sanitario. La empresa ejecuta procedimientos operativos estándar sanitarios (POES) para reducir y controlar la infiltración, el movimiento y el crecimiento de microorganismos en la planta (uso de equipo de protección personal, tratamiento de agua, filtración de aire, exclusión de plagas), pero estos programas pueden y no puede evitar por completo que los microorganismos entren en el entorno de procesamiento (Sousa et al., 2008). Un componente importante de los POES consiste en limpiar y desinfectar la línea de procesamiento y las áreas circundantes. Las normas INEN para agua embotellada exigen que las superficies en contacto con los alimentos y las que no están en contacto con los alimentos se limpien y desinfecten con la frecuencia necesaria para evitar la contaminación de los productos. Estas reglas existen para prevenir la contaminación del producto con peligros, es decir, “cualquier agente biológico, químico (incluido el radiológico) o físico que tenga el potencial de causar una enfermedad o lesión”). Sin embargo, la limpieza y el saneamiento (así como otros POES) también controlan los microorganismos causantes del deterioro. (INEN, 2013).

Según las especificaciones del fabricante de ATP, las superficies se consideran limpias si las lecturas están en o por debajo de diez RLU. Las lecturas que oscilan entre 11 y 29 RLU se consideran inadecuadamente limpias, mientras que las que superan los 30 RLU se consideran sucias. Las lecturas de ATP indicaron que las superficies exteriores de todas las botellas de agua recogidas para su reutilización mostraron una alta ocurrencia de ATP de origen microbiano, llegando a 350 RLU, muy por encima de los valores seguros para la operación de envasado (Figura 4). Las tomas de agua también presentaron problemas de contaminación microbiana, situación que es remediada por los protocolos de desinfección y purificación de la planta. El manejo adecuado de los POES y el control de calidad adecuado de la empresa, establecieron un área de llenado y las superficies de contacto del proceso con valores seguros para la operación.

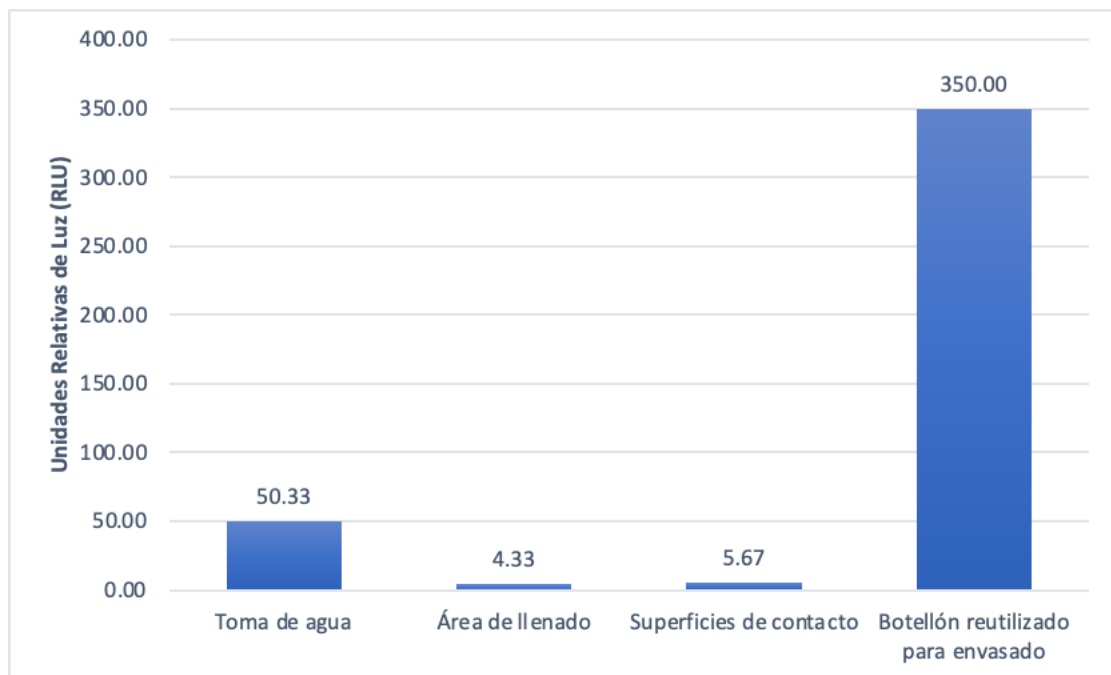


Figura 4 Determinación de Puntos Potenciales de Contaminación Microbiológica

Las razones para el alto nivel de contaminación bacteriana se explican por factores inherentes al material, diseño del botellón y tiempo de uso. Al añadir superficies de agarre al diseñar los botellones, se crean áreas de retención de líquidos, que se transformarán en núcleos de crecimiento microbiano. También el plástico rígido de los botellones es poroso y presenta una alta superficie específica para desarrollo bacteriano. El estado de limpieza de los botellones de agua reutilizables es también afectado por la frecuencia de uso de los mismos, y la frecuencia de recarga. En términos generales, el llenado más frecuente de botellas se asocia con niveles más altos de contaminación. Las posibles razones incluyen que cada vez que las personas rellenan el dispensador, ingresa al botellón aire del entorno, mismo que acarrea aerosoles contaminados con microorganismos que además proporcionarían una buena fuente de nutrientes para el crecimiento bacteria de microorganismos (Miller et al., 2017).

### **3.1.2. Identificación de microorganismos en los botellones reutilizables**

Tres grupos de microorganismos fueron identificados en las muestras tomadas de las áreas con presencia de ATP en los botellones. En primera instancia se determinó la presencia de mesó filis aerobios, los cuales fueron identificados con los medios de cultivo correspondientes. En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 22°C. Su presencia en ellos botellones reflejar la calidad sanitaria de los envases de agua y las condiciones de manipulación, siendo indicador de contaminación, sin relacionarla con posibles patógenos. Sin embargo, hay que considerar que gérmenes que habitualmente no son patógenos si se encuentran en cantidades elevadas pueden dar lugar a enfermedad, especialmente en individuos inmunocomprometidos. Su determinación

proporciona gran información sobre la eficacia de los tratamientos de potabilidad y limpieza de envases (Iliyasu et al., 2018).

El screening secundario demostró la presencia de coliformes totales en los hisopados realizados a la muestra de botellones reutilizable. Las bacterias coliformes son organismos que están presentes en el medio ambiente y en las heces de todos los animales de sangre caliente y humanos. Es poco probable que las bacterias coliformes causen enfermedades. Sin embargo, su presencia en el agua potable indica que los organismos causantes de enfermedades (patógenos) podrían estar en el sistema de agua. La mayoría de los patógenos que pueden contaminar los suministros de agua provienen de las heces de humanos o animales. Analizar el agua potable para detectar todos los posibles patógenos son complejo, requiere mucho tiempo y es costoso. Es relativamente fácil y económico analizar bacterias coliformes. Si se encuentran bacterias coliformes en una muestra de agua, los operadores del sistema de agua deben encontrar la fuente de contaminación y restaurar el agua potable segura (Health Canada, 2020).

Finalmente, se identificó la presencia de *Pseudomonas* mediante un análisis en el laboratorio de la empresa, muestras las cuales fueron sometidas a un análisis externo por un laboratorio certificado el cual identificó que se trataba de una *Pseudomonas stutzeri*, en el muestro de los botellones reutilizados. *P. stutzeri* es una bacteria gramnegativa, no esporulante, en forma de bastoncillo, que puede producir el pigmento azul-verde piocianina o el pigmento fluorescente fluoresceína o ambos. También es un patógeno humano oportunista capaz de causar infección del tracto urinario, infección del sistema respiratorio, dermatitis, infección de tejidos blandos, bacteriemia y una variedad de infecciones



sistémicas, particularmente en pacientes con quemaduras e individuos inmunocomprometidos. Además, *P. stutzeri* es una de las principales causas de infecciones adquiridas en el hospital con una alta tasa de mortalidad, y una de las características especiales de *P. stutzeri* es la capacidad de multiplicarse en agua baja en nutrientes. Al ser una causa primaria de enfermedad, *P. stutzeri* a menudo se monitorea como un indicador de otros contaminantes bacterianos de origen fecal. Por lo general, es un indicador de contaminación durante el proceso de embotellado (Mohammadi Kouchesfahani et al., 2015).

### **3.1.3. Carga microbiana en el muestreo de botellones reutilizados**

Se encontró una alta carga bacteriana en el muestro de los botellones reutilizados, especialmente de *P. stutzeri*. La Figura 5 indica diferencia en UFC's entre los grupos de microorganismos recuperados de los puntos contaminados. *P. stutzeri* llega hasta los 2.27E+07. La alta densidad de bacterias de esta especie es indicadora de un elevado riesgo, especialmente si se considera que *Pseudomonas stutzeri* es el mayor patógeno humano de este grupo, es invasiva, toxigénica y produce infecciones en humanos (especialmente pacientes inmunodeprimidos), por lo que se considera de importancia en infecciones nosocomiales. Los microorganismos de esta especie son ubicuos en el ambiente. Su presencia es común en suelos y en agua naturales como lagos y ríos en concentraciones desde 10/100 UFC/mL hasta > 1 000/100 mL, sin embargo, no es frecuente en agua potable y se detecta en ella en bajas concentraciones. Su presencia en agua potable está más relacionada con la capacidad de colonizar biofilms o biopelículas en las tuberías de los sistemas de distribución y de hemodiálisis. Esta especie sobrevive en agua destilada y agua

des ionizada, además, puede encontrarse tanto en ambientes oligotróficos como en ambientes con alto número de nutrientes, como en aguas residuales (Bressler et al., 2009).

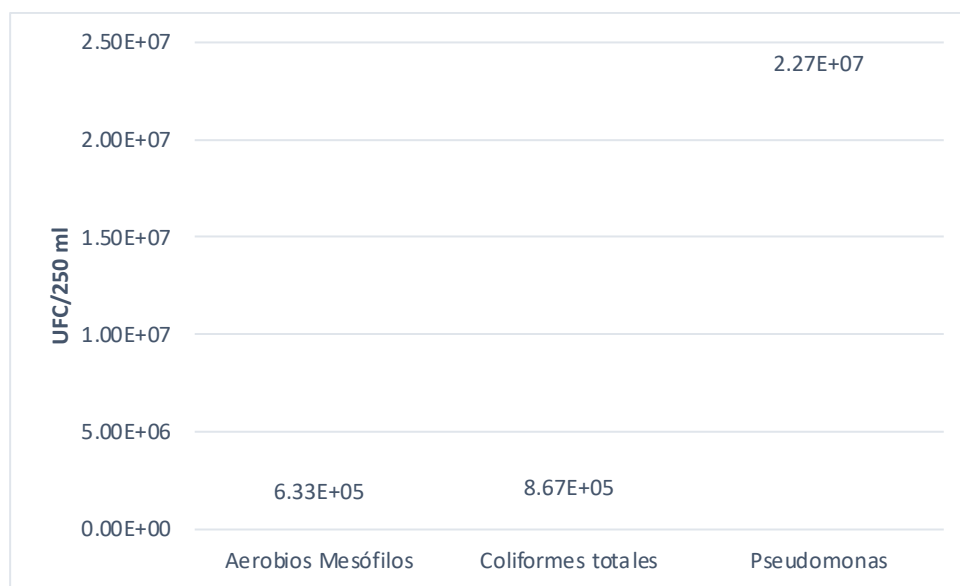


Figura 5 Carga bacteriana en las muestras de botellones reutilizados

En la naturaleza, la mayoría de las bacterias pueden adherirse a diferentes superficies y formar biopelículas. La biopelícula es un agregado complejo de bacterias encerradas en una matriz autogenerada de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y es una de las estrategias clave para la supervivencia de las especies durante cambios inesperados en las condiciones de vida, como la fluctuación de la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Las bacterias dentro de una biopelícula pueden resistir los tratamientos de lavado y desinfección hasta 1000 veces más que sus contrapartes planctónicas. *P. stutzeri* es un conocido formador de biopelículas, lo que lo convierte en un excelente modelo para

estudiar su formación. Una biopelícula resistente es un arma fundamental para que *P. stutzeri* compita, sobreviva y domine el entorno polimicrobiano de las áreas contaminadas de los botellones de agua. Por lo tanto, una mayor comprensión de la composición y estructura de la biopelícula, y los mecanismos moleculares que subyacen a la tolerancia antimicrobiana de las bacterias que crecen dentro de una biopelícula, son vitales para establecer las técnicas y protocolos de lavado de los botellones para su reutilización (Ozer et al., 2021).

### **3.2. Eliminación de carga microbiana**

Los botellones reutilizados fueron sometidos a un tratamiento de lavado y desinfección con tiempos de exposición distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno. En todos los tratamientos se encontró un alta eficiencia de desinfección, con excepción de la exposición del botellón una concentración de 1% de peróxido de hidrógeno por 10 minutos, en el que se observó desarrollo bacteriano positivo Tabla 2. Esta respuesta se debe a que el peróxido de hidrógeno actúa básicamente como un elemento oxidante, que provoca la lisis de la pared celular. Su mecanismo de acción consiste en la oxidación de los grupos sulfhidrilo y los dobles enlaces de los enzimas de las bacterias, provocando una modificación conformacional de las proteínas que forman dichos enzimas, con la pérdida de su función, y, por lo tanto, la muerte celular. El peróxido de hidrógeno tiene propiedades oxidantes relativamente fuertes, pero sin embargo es un producto químico que es relativamente fácil de manejar siempre que todos conozcan y respeten estrictos principios de seguridad. Los dos subproductos de la descomposición del peróxido de hidrógeno, el agua y el oxígeno, son inofensivos desde el punto de vista ambiental. Estas propiedades, combinadas con una

creciente conciencia ambiental en las últimas décadas, han contribuido a hacer del peróxido de hidrógeno un producto industrial muy importante y ampliamente utilizado (Berger et al., 2021).

Tabla 2 Respuesta crecimiento microbiano en agua embotellada

| CONCENTRACIÓN                     |  | TIEMPO DE EXPOSICIÓN (MIN) | Presencia de microorganismos |
|-----------------------------------|--|----------------------------|------------------------------|
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%) |  |                            |                              |
| 1%                                |  | 5                          | Negativo                     |
| 1%                                |  | 10                         | Positivo                     |
| 1%                                |  | 15                         | Negativo                     |
| 2%                                |  | 5                          | Negativo                     |
| 2%                                |  | 10                         | Negativo                     |
| 2%                                |  | 15                         | Negativo                     |
| 3%                                |  | 5                          | Negativo                     |
| 3%                                |  | 10                         | Negativo                     |
| 3%                                |  | 15                         | Negativo                     |

Para establecer la efectividad del proceso de desinfección de los botellones reutilizados, se los mantuvo en condiciones protegidas por un período de 1 mes en el cual se mantuvieron en condiciones óptimas, en el segundo mes las muestras fueron expuestas a condiciones extremas de sol, lluvia y temperaturas extremas para poner a prueba la efectividad de los

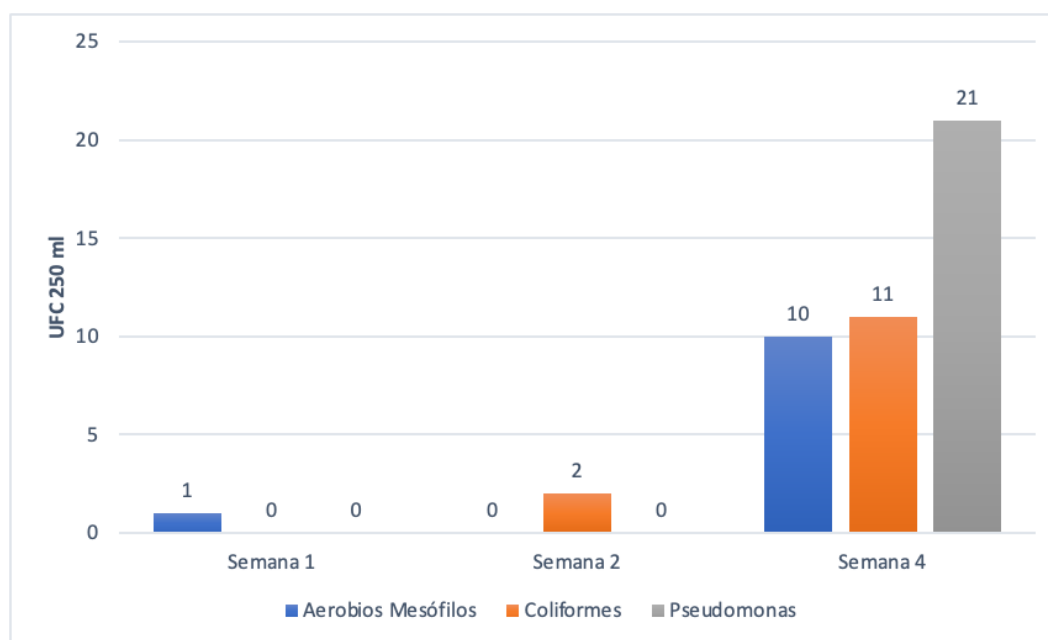


Figura 6 Presencia microbiológica en agua embotellada almacenada

tratamientos. Al efectuar el análisis microbiológico del contenido de los botellones se encontró que el crecimiento microbiano fue el mínimo aceptable para no alterar la calidad de agua durante la semana 2 del segundo mes, afirmando los estándares de calidad que la empresa observa. El agua embotellada mantenida en percha durante 4 semanas del segundo mes mostró crecimiento microbiano de mesófilos aeróbico, coliformes totales y pseudomonas, lo que comprobó que el mejor tratamiento fue aquel de concentraciones al 3%. Al contrastar con la norma INEN NTE 2200, los valores de mesófilos en botellones almacenados por 4 semanas, se considera apta para el consumo, ya que el límite para declarar el agua embotellada en estado de contaminación general, reducción de la vida útil y deterioro incipiente es de 500 UFC 250 ml<sup>-1</sup>. Así mismo, la referida norma indica que la presencia de 25 UFC por 250 ml<sup>-1</sup> de *Pseudomonas stutzeri* en agua embotellada puede causar peligro grave incapacitante, pero por lo general no amenaza la vida, las secuelas son raras y de duración moderada (INEN, 2017). Esto demuestra la eficiencia del proceso de desinfección usando peróxido de hidrógeno en el proceso de envasado de agua en la planta Fuentes San Felipe.

### ***3.3. Propuesta de control de desinfección de botellones para las condiciones de la Planta Fuentes San Felipe***

#### **3.3.1. Justificación de la propuesta**

La demanda de agua embotellada ha aumentado constantemente en los últimos años, lo que convierte al agua embotellada en el segmento de más rápido crecimiento del mercado de bebidas no alcohólicas en todo el mundo. Sin embargo, el consumo masivo de agua en botellas desechables se ha relacionado con el aumento de la contaminación y los residuos

de los vertederos. La EPA informó que cada año los estadounidenses tiran alrededor de 28 mil millones de botellas y frascos; en particular, solo el 26% de las botellas de plástico fueron recicladas. El costo ambiental asociado con el agua embotellada ha llevado a un impulso social para adoptar botellas de agua reutilizables. Las botellas reutilizables son más respetuosas con el medio ambiente y económicas porque los consumidores pueden rellenarlas repetidamente. Esta capacidad de rellenar y reutilizar botellas de agua viene con un mandato implícito para limpiar las botellas de forma regular. Sin embargo, la observación de los comportamientos de los consumidores relacionados con las botellas de agua reutilizables sugiere que los usuarios están rellenando regularmente las botellas sin hacer un esfuerzo correspondiente para limpiarlas. Además, el diseño de botellas de agua reutilizables puede suponer una barrera para su limpieza (Miller et al., 2017).

### **3.3.2. Sistema de Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria**

#### *3.3.2.1 Principios Básicos*

Los sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria deben basarse en principios de mejora continua y desarrollarse sobre la base de las normas ISO 9001 y 22000. Para ser eficaz, el sistema debe:

- Identificar los procesos requeridos.
- Determinar la secuencia e interacción de estos procesos.
- Establecer las mediciones apropiadas necesarias para demostrar la efectividad tanto de la operación como del control de estos procesos.

- Asegurar que se disponga de recursos e información adecuados para apoyar la operación.
- Monitorear, medir y analizar sus procesos.
- Asegurar el control sobre cualquier proceso subcontratado que afecte la conformidad con los requisitos.
- Tomar todas las acciones necesarias para entregar productos que cumplan con los requisitos del consumidor, así como con todas las leyes y regulaciones aplicables.
- Establecer acciones para lograr los resultados planificados que garanticen la calidad continua del producto y la mejora de la seguridad alimentaria.

#### *3.3.2.2 Documentación*

La documentación de los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos mantenida por la organización debe incluir:

- Declaraciones documentadas de la política y los objetivos de calidad y seguridad alimentaria.
- Un manual de calidad procedimientos y métodos escritos que incluyan los requeridos por los clientes y por las leyes y regulaciones aplicables.
- Documentos necesarios por la organización para garantizar la planificación efectiva, operación y control de sus procesos.
- Cualquier registro requerido por los clientes y por las leyes y regulaciones aplicables.

Los documentos que constituyen los sistemas de gestión de calidad y seguridad alimentaria deben ser controlados. Se deben establecer procedimientos para definir los controles adecuados necesarios: aprobación de documentos, identificación de documentos, reglas de distribución, actualización y revisión, mantenimiento de registros. Deben establecerse y mantenerse registros que aporten pruebas de la conformidad con los requisitos y del funcionamiento eficaz de los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos.

La dirección de la organización debe designar miembros de la dirección como representantes de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria, teniendo la responsabilidad y la autoridad para:

- Gestionar el equipo del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP) y organizar su trabajo..
- Garantizar la capacitación y educación pertinentes de los miembros del equipo de HACCP.
- Garantizar que los procesos necesarios para los sistemas de gestión de calidad y seguridad alimentaria se establezcan, implementen, mantengan y actualicen.
- Informar a la gerencia de la organización sobre la efectividad y la seguridad alimentaria idoneidad de los sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria, su funcionamiento del sistema de gestión de la calidad y cualquier necesidad de mejora.
- Garantizar la promoción de la sensibilización del cliente y los requisitos legales aplicables en toda la organización.



La dirección de la organización debe garantizar que se establezcan procesos de comunicación adecuados dentro de la organización y que se produzca una comunicación sobre la eficacia de los sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria. Para garantizar que se disponga de información suficiente sobre cuestiones relativas a la calidad y la seguridad alimentaria en toda la cadena alimentaria, la organización debe establecer, aplicar y mantener mecanismos eficaces para comunicarse con:

- Proveedores y contratistas.
- Clientes o consumidores, en particular en relación con la información sobre productos, las consultas, los contratos o la gestión de pedidos, incluidas las modificaciones, y los comentarios de los clientes, incluidas las reclamaciones de los clientes.
- Autoridades judiciales.
- Otras organizaciones de tener un impacto en la eficacia o actualización de los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos, o se verá afectado por ellos.

### *3.3.2.3 Revisión de la Gestión*

La dirección de la organización debe revisar los sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria a intervalos previstos para garantizar su aplicación continua, idoneidad, adecuación y eficacia. La revisión de la gestión debe incluir, como mínimo, una revisión y análisis de los siguientes insumos:

- Resultados de auditorías internas, auditorías externas o inspecciones.
- Comentarios de los clientes y consumidores.

- Datos sobre el rendimiento del proceso y la conformidad del producto.
- Estado de las acciones preventivas y correctivas• Acciones de seguimiento de revisiones de gestión anteriores.
- Cambios que podrían afectar al rendimiento de los sistemas de gestión de calidad y seguridad alimentaria.
- Recomendaciones para mejorar.
- Análisis de los resultados de las actividades de verificación.
- Examen de los resultados de las actividades de actualización de los sistemas.
- Circunstancias cambiantes que pueden afectar a la calidad y la inocuidad de los alimentos
- Examen de las actividades de comunicación.

Los resultados de la revisión de la gestión deben incluir decisiones y medidas relacionadas con:

- Mejora de la eficacia de los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos y sus procesos.
- Adecuación o revisión, idoneidad y eficacia de los objetivos de calidad e inocuidad de los alimentos y de calidad y de los alimentos.
- Política de seguridad Mejora de productos o servicios relacionados con los requisitos de los clientes.

- Asignación de recursos.
- Establecimiento de prioridades para las oportunidades de mejor.
- Se deben mantener los registros de las revisiones de gestión.

### **3.3.3. Medición, Análisis y Mejora**

La organización debe planificar e implementar procesos de monitoreo, medición, análisis y mejora.

#### *3.3.3.1 Seguimiento y Medición*

Se debe tener en cuenta lo siguiente:

- Información de seguimiento relativa a la percepción del cliente.
- Realización de auditorías internas a intervalos previstos para determinar si los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos se ajustan a todas las disposiciones previstas y se aplican y mantienen de manera efectiva.
- Aplicación de métodos adecuados para el seguimiento y la medición de los sistemas de gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos para demostrar la capacidad de los procesos para lograr los resultados planificados.
- Monitorear y medir las características del producto para verificar que se han cumplido los requisitos del producto. Deben mantenerse pruebas de conformidad con los criterios de aceptación.

### *3.3.3.2 Análisis de Datos*

La organización debe determinar, recopilar y analizar los datos adecuados para demostrar la idoneidad y eficacia de los sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria y para evaluar dónde se pueden introducir mejoras.

### *3.3.3.3 Mejora Continua*

La organización debe mejorar continuamente la eficacia de sus sistemas de gestión de la calidad y la seguridad alimentaria mediante el uso de la política de calidad y seguridad alimentaria, los objetivos de calidad y seguridad alimentaria, los resultados de las auditorías, el análisis de datos, las acciones correctivas y preventivas y la revisión de la gestión.

### **3.3.4. Información del Producto y Concientización del Consumidor**

Los consumidores tienen derecho a saber qué hay en el agua embotellada que beben. Además de etiquetar sus productos de acuerdo con las leyes aplicables, la organización debe, previa solicitud, proporcionar a los consumidores información significativa sobre sus marcas de agua embotellada. Esto incluye, pero no se limita a, información que demuestre el cumplimiento de las leyes legales aplicables y los resultados de los datos de las pruebas analíticas. La organización debe determinar cómo se proporciona la información a los consumidores (por ejemplo, por correo, sitio web, teléfono...) pero debe proporcionar la información por escrito previa solicitud.

### **3.3.5. Operaciones de Agua Envasada**

#### *3.3.5.1 Requisitos Generales*

En todas las fases de la producción, transformación y distribución, los alimentos estarán protegidos contra cualquier contaminación que pueda hacer que el producto no sea apto para el consumo humano, perjudicial para la salud o contaminado de tal manera que no sea razonable esperar que se consuma en ese estado. Cualquier cosa que tenga un contacto directo con el agua puede tener un impacto en la seguridad alimentaria y la calidad del producto final. La limpieza, desinfección y enjuague no representarán una fuente de contaminación para el producto.

#### *3.3.5.2 Carga y Lavado de Contenedores Unidireccionales*

- La zona de carga del contenedor se colocará dentro de la instalación de transformación de manera que se reduzca al mínimo la contaminación antes del llenado y el sellado.
- Los recipientes se manipularán de forma higiénica.
- Los transportadores desde el punto de carga hasta el taponamiento y las tolvas deben cubrirse para proteger los contenedores de la contaminación.
- Los transportadores de contenedores deben cubrirse de manera efectiva desde la salida de la lavadora o la enjuagadora final hasta la tapadora.
- La inspección visual o automática de los envases antes del llenado y/o de los productos llenos puede ser una medida preventiva adecuada con respecto a la contaminación por cuerpos extraños.

### *3.3.5.3 Identificación de Botellas de Plástico Retornables*

Los recipientes desechados se separarán de los recipientes aptos mediante un dispositivo adecuado. Las botellas de plástico rechazadas (contaminadas o no limpiables) se separarán y luego se gestionarán de manera que se evite el riesgo de volver a poner la botella en la línea por error (sin riesgo de mezcla). La revisión de cada botella debe considerarse como una medida preventiva efectiva. Si se utiliza un rastreador electrónico, debe calibrarse y probarse periódicamente.

### *3.3.5.4 Lavado Confinado de Envases Retornables*

El diseño de la botella debe permitir una fácil limpieza y desinfección múltiple a través de la lavadora. Se colocarán lavadoras de botellas eficaces. Se establecerá un programa eficaz de seguimiento y control para garantizar que se cumplen los criterios de rendimiento y que el proceso en sí no presenta una fuente de contaminación (por ejemplo, arrastre cáustico). Las lavadoras/desinfectantes para botellas se instalarán en un área protegida. La lavadora se colocará de forma que se reduzca al mínimo cualquier posible contaminación post desinfectada de los recipientes antes de que entren en la sala de llenado (sin riesgo de mezclar recipientes limpios y sucios). El material y el diseño de la cubierta del transportador facilitarán la limpieza. Los productos utilizados para esta limpieza deberán ser aprobados. Se documentarán procedimientos sobre el funcionamiento, mantenimiento y saneamiento de las lavadoras de botellas (concentración de detergente, ciclos de enjuague, presión de la boquilla, temperaturas de funcionamiento, etc.). También se registrarán los datos de mantenimiento y verificación. La inspección visual o automática de los recipientes antes de llenar los productos se aplicará como medida preventiva adecuada con respecto a

la contaminación. Debe haber un sistema automático de descarga de botellas en la salida de la lavadora. Las botellas limpias no deben manipularse a mano a la salida de la lavadora y deben manipularse de manera higiénica. El enjuague de los recipientes antes del llenado debe considerarse como una medida preventiva y su efectividad debe evaluarse caso por caso. Debe haber un procedimiento adecuado para la limpieza de las botellas rechazadas debido a la contaminación o dichas botellas deben destruirse.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

- En los botellones a ser reutilizados se encontraron signos evidentes de contaminación bacteriana, los cuales fueron verificados por la prueba ATP. Mediante un análisis microbiológico se determinó la presencia de mesófilos aeróbicos, que son indicadores de contaminación por exposición al ambiente. En los botellones se encontró la presencia de coliformes totales, sin hallar evidencia de contaminación fecal.
- El microorganismo crítico encontrado para establecer la calidad de agua fue *Pseudomonas stutzeri*, el cual fue hallado en los botellones a ser reutilizados. Se ajustó el protocolo de desinfección para eliminar este microorganismo.
- El uso de peróxido de hidrógeno en concentraciones hasta de 3% y aplicaciones de hasta 15 minutos en los botellones aseguró la eliminación de elementos que obligue a declarar peligro grave incapacitante al consumidor del agua embotellada, protegiendo la inocuidad alimentaria del producto aún en condiciones de almacenamiento por largos períodos de tiempo. Después de 4 semanas de almacenamiento, no existieron evidencias para declarar contaminación general, reducción de la vida útil y deterioro incipiente del producto envasado, en base a la nula presencia de mesófilos aeróbicos.
- Con el fin de asegurar la calidad del producto final y proteger la salud y bienestar de los consumidores, se plantea un sistema de gestión de calidad y seguridad



alimentaria, basado en medición, análisis y mejora de los procesos de desinfección y envasado, proveyendo al consumidor información actual y objetiva del producto para incorporarlo como parte muy importante en el manejo de los envases retornables. La retroalimentación técnica de la observación y control de los procesos de la planta, así como de los consumidores serán incorporadas en las operaciones de agua envasada para lograr un producto cada vez más aceptado y seguro.

#### **4.2. Recomendaciones**

- Incorporar metodologías de análisis microbiológico más eficientes, rápidas y confiables, con el fin de tener información relevante a los procesos en tiempo casi real.
- Crear un sistema de registro de información similar a un observatorio de procesos para establecer la dinámica de contenido microbiano de los puntos críticos del proceso de envasado.
- Establecer mecanismos de retroalimentación técnica para ajustar los procesos en tiempo real, basado en el análisis de las evidencias.
- Incentivar y capacitar al consumidor para mejorar el manejo del botellón con el objetivo de reducir la carga contaminante inherente al manejo del envase e incrementar la vida útil del botellón.

## CAPITULO V

### BIBLIOGRAFIA

- Arellano, A., & Lindao, V. (2019). Efectos de la gestión y la calidad del agua potable en el consumo del agua embotellada. *Novasinerгия*, 2(1), 15–23.  
<https://doi.org/10.37135/unach.ns.001.03.02>
- Ashurst, P., Hargitt, R., & Palmer, F. (2017). *Bottled Waters* (pp. 145–160).  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100918-5.00009-6>
- Berger, D., Gundermann, G., Sinha, A., Moroi, M., Goyal, N., & Tsai, A. (2021). Review of Aerosolized Hydrogen Peroxide, Vaporized Hydrogen Peroxide, and Hydrogen Peroxide Gas Plasma in the Decontamination of Filtering Facepiece Respirators. *American Journal of Infection Control*, 50.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2021.06.012>
- Bressler, D., Balzer, M., Dannehl, A., Flemming, H.-C., & Wingender, J. (2009). Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in drinking-water biofilms on elastomeric material. *Water Science & Technology: Water Supply*, 9.  
<https://doi.org/10.2166/ws.2009.026>
- Budge, S., Ambelu, A., Bartram, J., Brown, J., & Hutchings, P. (2022). Environmental sanitation and the evolution of water, sanitation and hygiene. *Bulletin of the World Health Organization*, 100, 286–288. <https://doi.org/10.2471/BLT.21.287137>
- De la Cruz, L. (2019). *Identificación y control del sistema de lavado de botellones de agua para mejorar el suministro del desinfectante* [Grado, Universidad Estatal Península De Santa Elena].

<https://repositorio.upse.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/46000/4787/UPSE-TET-2019-0005.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Escobar, I. (2021). *Tratamiento de Agua*.

Euromonitor Internacional. (2013). *Las Cinco Principales Tendencias en Bebidas no Alcohólicas por País en Norte y Sudamérica*.

Featherstone, S. (Ed.). (2016). 3—Canning of juices, fruit drinks, and water. En *A Complete Course in Canning and Related Processes (Fourteenth Edition)* (pp. 135–168). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-679-1.00003-9>

González, M., García, M., & Marine, M. (2014). Importancia sanitaria de *Pseudomonas aeruginosa* en agua de hemodiálisis y su desinfección. *Revista Cubana de Salud Pública*, 40, 198–211. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662014000200005&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662014000200005&nrm=iso)

Health Canada. (2020). *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality*. Ministry of Health. <https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/documents/services/healthy-living/water-coliforms-coliformes-eau/water-coliforms-coliformes-eau-eng.pdf>

Herrera, P. (2017). *Estudio de factibilidad para la creación de una empresa de producción de agua mineral natural sin gas “Cristal” embotellada en bidones en la parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi año 2016* [Grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/4016>

Iliyasu, H., Abdullahi, B. A., & Kawo, A. H. (2018). An assessment of the microbiological quality of some bottle water sold in Kano metropolis, Nigeria. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10, 142. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v10i1.29S>

- INEN. (2011). *Agua Potable. Requisitos.*  
<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1108.pdf>
- INEN. (2013). *Código de Prácticas de Higiene Para las Aguas Potables Embotelladas/Envasadas.*  
[https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/cpe\\_inen\\_cac\\_rcp\\_48.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/cpe_inen_cac_rcp_48.pdf)
- INEN. (2017). *Agua Purificada Envasada. Requisitos.*  
[https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_2200-2.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2200-2.pdf)
- Miller, J., Sun, X., Kim, T., Behnke, C., Almanza, B., Greene, C., & Schindler, B. (2017). The Cleanliness of Reusable Water Bottles: How Contamination Levels are Affected by Bottle Usage and Cleaning Behaviors of Bottle Owners. *Food Protection Trends*, 37, 392–402.
- Mohammadi Kouchesfahani, M., Alimohammadi, M., Nabizadeh Nodehi, R., Aslani, H., Rezaie, S., & Asadian, S. (2015). Pseudomonas aeruginosa and Heterotrophic Bacteria Count in Bottled Waters in Iran. *Iranian Journal of Public Health*, 44(11), 1514–1519.
- MSP. (2019). *Guia de Agua Segura.* Ministerio de Salud Pública, Ecuador.  
<https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/12/Guia-Agua-Segura.pdf>
- MSP. (2021). *Subsistema de Vigilancia Sive-Alerta Enfermedades Transmitidas por Agua y Alimentos Ecuador.* Ministerio de Salud Pública, Ecuador.  
<https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/GACETA-ETAS-SEM-22.pdf>

- Ozer, E., Yaniv, K., Chetrit, E., Boyarski, A., Meijler, M., Berkovich, R., Kushmaro, A., & Alfonta, L. (2021). An inside look at a biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* flagella biotracking. *Science Advances*, 7, eabg8581. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg8581>
- Perkin Elmer. (2019). *Drinking Water Analysis Solutions*. [https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/BRO\\_Drinking\\_Water\\_Analysis\\_Solutions\\_Brochure.pdf?\\_ga=2.85169503.793716247.1658776516-152136160.1658776516&\\_gac=1.53474394.1658776516.Cj0KCQjw\\_viWBhD8ARIsAH1mCd42HHrALkBpWi0rqO0YuYK2bhyJ40cDxEuiPcdFynD8gPiKhN5HS8caAiO4EALw\\_wcB](https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/BRO_Drinking_Water_Analysis_Solutions_Brochure.pdf?_ga=2.85169503.793716247.1658776516-152136160.1658776516&_gac=1.53474394.1658776516.Cj0KCQjw_viWBhD8ARIsAH1mCd42HHrALkBpWi0rqO0YuYK2bhyJ40cDxEuiPcdFynD8gPiKhN5HS8caAiO4EALw_wcB)
- Pistelok, F., Pohl, A., Stuczynski, T., & Wiera, B. (2016). Using ATP tests for assessment of hygiene risks. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 23. <https://doi.org/10.1515/eces-2016-0018>
- Saltos, J., & Sosa, G. (2015). *Estudio del comportamiento del consumidor en el mercado de agua embotellada con conciencia ecológica en la ciudad de Guayaquil* [Grado]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/4390>
- Shapsugova, M. (2021). Food safety of bottled water. *E3S Web of Conferences*, 258, 08006. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125808006>
- Sousa, C., Colmenares, M., & Correia, A. (2008). Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 48, 17–26.

## CAPITULO VI

### ANEXOS

Análisis de superficies en puntos críticos (Relative Light Units RLU)

ATP.

| ÁREA DE MUESTREO                   | RÉPLICA 1 | RÉPLICA 2 | RÉPLICA 3 |
|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Toma de agua                       | 50        | 52        | 49        |
| Área de llenado                    | 4         | 4         | 5         |
| Superficies de contacto            | 6         | 4         | 7         |
| Botellón reutilizado para envasado | 300       | 480       | 270       |

Análisis de bacterias en botellón con coloración  
verdosa

| Microorganismo     | REPLICA 1                    | REPLICA 2                       | REPLICA 3                       |
|--------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Aerobios Mesófilos | 5x10 <sup>4</sup> UFC/250mL  | 8x10 <sup>4</sup><br>UFC/250mL  | 6x10 <sup>4</sup><br>UFC/250mL  |
| Coliformes totales | 12x10 <sup>4</sup> UFC/250mL | 6x10 <sup>4</sup><br>UFC/250mL  | 8x10 <sup>4</sup><br>UFC/250mL  |
| Pseudomonas        | 23x10 <sup>5</sup> UFC/250mL | 25x10 <sup>5</sup><br>UFC/250mL | 20x10 <sup>5</sup><br>UFC/250mL |

Prueba de eficiencia de lavado

| <b>CONCENTRACIÓN<br/>H2O2 (%)</b> | <b>TIEMPO DE<br/>EXPOSICIÓN (MIN)</b> | <b>Presencia de<br/>microorganismos</b> |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---|
| 1%                                | 5                                     | Negativo                                |
| 1%                                | 10                                    | Positivo                                |
| 1%                                | 15                                    | Negativo                                |
| 2%                                | 5                                     | Negativo                                |
| 2%                                | 10                                    | Negativo                                |
| 2%                                | 15                                    | Negativo                                |
| 3%                                | 5                                     | Negativo                                |
| 3%                                | 10                                    | Negativo                                |
| 3%                                | 15                                    | Negativo                                |

Análisis de bacterias en botellones  
esterilizados

| <b>Microorganismo</b> | <b>REPLICA 1</b>            | <b>REPLICA 2</b> | <b>REPLICA 3</b> |
|-----------------------|-----------------------------|------------------|------------------|
| <b>Aerobios</b>       |                             |                  |                  |
| <b>Mesófilos</b>      | 1x10 <sup>1</sup> UFC/250mL | Nulo             | Nulo             |
| <b>Coliformes</b>     | Nulo                        | Nulo             | Nulo             |
| <b>Pseudomonas</b>    | Nulo                        | Nulo             | Nulo             |

Análisis de bacterias en agua a dos semanas del envasado (condiciones ideales),  
muestra B3

| <b>Microorganismo</b> | <b>REPLICA 1</b> | <b>REPLICA 2</b> | <b>REPLICA 3</b>            |
|-----------------------|------------------|------------------|-----------------------------|
| <b>Aerobios</b>       |                  |                  |                             |
| <b>Mesófilos</b>      | Nulo             | Nulo             | Nulo                        |
| <b>Coliformes</b>     | Nulo             | Nulo             | 2x10 <sup>1</sup> UFC/250mL |
| <b>Pseudomonas</b>    | Nulo             | Nulo             | Nulo                        |

Análisis de bacterias a un mes del envasado (condiciones



extremas), muestra A1

| <b>Microorganismo</b> | <b>REPLICA 1</b> | <b>REPLICA 2</b> | <b>REPLICA 3</b> |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Aerobios</b>       |                  |                  |                  |
| <b>Mesófilos</b>      | 10x101 UFC/250mL | 7x101 UFC/250mL  | 6x101 UFC/250mL  |
| <b>Coliformes</b>     | 7x101UFC/250mL   | 5x101 UFC/250mL  | 11x101 UFC/250mL |
| <b>Pseudomonas</b>    | 12x101UFC/250mL  | 8x101 UFC/250mL  | 21x101 UFC/250mL |

Verificación visual de las condiciones sanitarias del botellón  
al segundo mes de vida útil

|                      | <b>Semana 1</b>   | <b>Semana 2</b>  | <b>Semana 3</b>   | <b>Semana 4</b>   | <b>Semana 5</b>   |
|----------------------|---|--|---|---|---|
|                      | <b>(1-3)</b>  | <b>(4-10)</b>  | <b>(11-17)</b>  | <b>(18-24)</b>  | <b>(25-31)</b>  |
| Aspecto del botellón | Adecuado, no se presenta ningún tipo de contaminante visual | Adecuado, la coloración del líquido es deseada, sin embargo, el botellón B3 en un análisis aleatorio presentó contaminación por coliformes | Adecuado, el aspecto de las superficies de los botellones es limpia | Adecuado, no se presenta ningún tipo de contaminante que se aprecie visualmente | El tratamiento C2 presenta una ligera coloración en la parte lateral del botellón |

# Informe de Laboratorio Externo



## INFORME DE RESULTADOS

INF LASA 24/09/2021 -6721  
ORDEN DE TRABAJO Nº 21-4627

### DATOS DEL CLIENTE

|  |  |
|--|--|
| <b>SOLICITANTE:</b> FUENTES SAN FELIPE S.A. SANLIC | <b>DIRECCIÓN:</b> CUBA S-N Y PASAJE ELOY ALBERTO SANCHEZ |
| <b>TELÉFONO:</b> 032253162/032253041               | <b>TIPO DE MUESTRA:</b> AGUA                             |

### INFORMACIÓN SUMINISTRADA POR EL CLIENTE

|  |                            |
|--|----------------------------|
| <b>IDENTIFICACIÓN:</b> AGUA CONTAMINADA 07-09-2021 | <b>PROCEDENCIA:</b> PLANTA |
|--|----------------------------|

### DATOS DEL LABORATORIO

|                                       |  |                                     |
|---------------------------------------|--|-------------------------------------|
| <b>MUESTREO POR:</b> SOLICITANTE      | <b>FECHA DE MUESTREO:</b> _                | <b>NÚMERO DE MUESTRAS:</b> UNA (1)  |
| <b>FECHA DE RECEPCIÓN:</b> 15/09/2021 | <b>FECHA DE ANÁLISIS:</b> 15 AL 24/09/2021 | <b>FECHA DE ENTREGA:</b> 24/09/2021 |
| <b>CÓD. MUESTRA:</b> 21-12580         | <b>REALIZACIÓN DEL ENSAYO:</b> LABORATORIO |                                     |

## IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

| CÓD. MUESTRA | PRODUCTO                    | RESULTADOS           | MÉTODO DE ENSAYO             | INCERTIDUMBRE %U (K=2) |
|--------------|-----------------------------|----------------------|------------------------------|------------------------|
| 12580        | AGUA CONTAMINADA 07-09-2021 | PSEUDOMONAS STUTZERI | PEE LASA, MB 53 MICROSCOPIA. | N.A                    |

N.A: No aplica

Identificación macroscópica: Bacilo Gram negativo, oxidasa positivo.

Identificación microscópica: Colonias amarillas verdosas, con aspecto mucoso, borde convexos, olor sui géneris.

**MSc. Alexandra Moya**  
JEFE DE DEPARTAMENTO

Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio  
LASA se responsabiliza exclusivamente del resultado correspondiente a los ensayos en la muestra recibida en el laboratorio  
, por el contrario no se responsabiliza de la información proporcionada por el cliente asociada a la muestra así como sus datos descriptivos.  
El laboratorio se compromete con la imparcialidad y confidencialidad de la información y los resultados  
(La aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema y declarada en [www.laboratoriolasa.com](http://www.laboratoriolasa.com)  
Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito. Página 1 de 1

Juan Ignacio Pareja Qe5-97 y Simón Cárdenas | [clientes@laboratoriolasa.com](mailto:clientes@laboratoriolasa.com)  
(02) 2269012 | (02) 2468659 | 0995707705

Muestra de botellón contaminado



Lavadora y llenadora de botellones



Tanque de almacenamiento



Sistema de sanitización de agua



### Ensayo de pruebas ATP



Botellones expuestos a condiciones extremas de luz, sol, lluvia.



### Análisis microbiológicos



Resultados de siembras

