



Reporte Final de Estadía

María Abigail Gómez Simón

Evaluación de la sanitización de tanques de
producción en el área evaporación en la
empresa Café Tostado de Exportación S.A.
de C.V.

Av. Universidad No. 350, Carretera Federal Cuitláhuac - La Tinaja
Congregación Dos Caminos, C.P. 94910. Cuitláhuac, Veracruz
Tel. 01 (278) 73 2 20 50
www.utcv.edu.mx

Programa Educativo Ingeniería en Procesos Bioalimentarios

**Proyecto de estadía realizado en la empresa Café Tostado de
Exportación S.A. de C.V.**

Nombre del proyecto:

**Evaluación de la sanitización de tanques de producción en el
área evaporación en la empresa Café Tostado de Exportación
S.A. de C.V.**

Nombre del Asesor Industrial:

Ing. Juan Carlos Corona Villa

Nombre del Asesor Académico:

MCIQ. Licet Bello Luna

Presenta:

María Abigail Gómez Simón

Índice

Agradecimientos	1
Resumen	2
Abstract	3
1. Introducción	4
1.2 Antecedentes de la empresa	5
1.2.1 Misión	5
1.2.2 Visión	5
1.2.3 Valores	5
1.3 Planteamiento del problema	7
1.4 Objetivos	8
1.4.1 Objetivo general	8
1.4.2 Objetivos específicos.....	8
2. Marco teórico	9
2.1 Sanitización.....	9
2.2 Toma de muestra	9
2.3 Pruebas de luminiscencia	10
2.4 Análisis microbiológicos en petrifilm	10
3. Metodología	11
3.1 Diagnóstico	11
3.2 Evaluación de la sanitización	13
3.2.1 Prueba de bioluminiscencia:.....	13
3.2.2 Pruebas microbiológicas:	14
4. Resultados y Discusión	18
4.1 Resultados de la prueba de luminiscencia.....	19
4.2 Resultados de los análisis microbiológicos	21
5. Conclusiones	22
5.1 Recomendaciones.....	23

6. Referencias	24
7. Anexos.....	25
Anexo 1. Limpieza y sanitización de Tanques.....	25

INDICE DE FIGURAS

Contenido

Figura 1. Diagrama de Ishikawa de las causas que originan una sanitización no efectiva.....	11
Figura 2. Proceso para la sanitización.....	12
Figura 3. Gráfico de control de los resultados de las pruebas de luminiscencia.....	20

INDICE DE TABLAS

Contenido

Tabla 1. Estado de inspección.	14
Tabla 2. Registro de lavado de tanques.....	18
Tabla 3. Resultados de la prueba de luminiscencia.....	20
Tabla 4. Resultados de los análisis microbiológicos.....	21

Agradecimientos

Primeramente doy gracias a Dios quien estuvo conmigo en todo momento dandome el conocimiento y la fuerza para poder concluir con esta etapa de mis estudios, agradezco también al ser maravilloso que me dio la vida, mi Madre, por su apoyo incondicional y sus consejos tan sabios que me han ayudado a seguir adelante. A mis hermanos, por el apoyo que me brindan. Quiero agradecer también a mi asesora academica MCIQ. Licet Bello Luna por sus conocimientos y experiencia, los cuales me ayudaron a la elaboración de este proyecto, gracias por su paciencia y la confianza brindada. A mi asesor industrial, el Ing. Juan Carlos Corona Villa , por compartir sus conocimientos y su experiencia en la empresa, gracias por su apoyo brindado y por haber creído en mi capacidad. Agradezco a la empresa Café Tostado de Exportación S.A de C.V. por la oportunidad y el apoyo que me brindó para desarrollar aquí mi estadía, a los empleados que colaborarán gracias por compartir sus conocimientos y experiencia.

Resumen

El presente trabajo parte de una inquietud de la empresa Café Tostado de Exportación S.A. de C.V. por conocer las causas que originaban una sanitización no efectiva, para resolver la incógnita se desarrolló un diagrama de Ishikawa para identificar las posibles causas del problema.

Se realizó una supervisión *in situ* de cómo llevaban a cabo el proceso de sanitización y al término de este se procedió con la toma de muestras para realizar las pruebas de luminiscencia y los análisis microbiológicos correspondientes, esto se estuvo realizando durante ocho semanas posteriormente se procedió con el análisis de los resultados obtenidos mediante un gráfico de control, se obtuvo como criterio de aceptación un valor de <150 Unidades Relativas de Luz (RLU), como criterio de alerta el límite de >150 RLU <300 RLU y como un criterio de rechazo un valor >300. Por el método de luminiscencia los resultados encontrados en el 100% de las muestras fue de <10 UFC/100cm² lo cual es <150 RLU aceptable con los valores manejados en la empresa. De igual manera para los análisis microbiológicos las muestras analizadas presentaron AUSENCIA de *E. Coli* y *Salmonella*.

El presente estudio logro demostrar que el proceso de limpieza y sanitización establecido por la empresa es el adecuado siempre y cuando el operador la realice de manera correcta y bajo supervisión.

Abstract

The present work is based on a concern of the company Café Tostado de Exportación S.A. Of C.V. For knowing the causes that caused a non-effective sanitization, to solve the unknown was developed an Ishikawa diagram to identify the possible causes of the problem.

An on-site supervision was carried out on how the sanitization process was carried out and at the end of the process the samples were taken to perform the luminescence tests and the corresponding microbiological analyzes. This was carried out for eight weeks, after which it was proceeded with The analysis of the results obtained by means of a control graph, a value of <150 Relative Light Units (RLU) was obtained as criterion of acceptance, as an alert criterion the limit of >150 RLU <300 RLU and as a criterion of rejection A value> 300. By the luminescence method the results found in 100% of the samples were <10 CFU / 100cm² which is <150 RLU acceptable with the values handled in the company. Likewise for the microbiological analyzes the analyzed samples presented ABSENCE of E. Coli and Salmonella.

The present study demonstrated that the cleaning and sanitization process established by the company is adequate provided that the operator performs it correctly and under supervision.

1. Introducción

Los establecimientos y los equipos de producción deben mantenerse en adecuado estado de conservación para facilitar todos los procedimientos de limpieza y desinfección y 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. Puede necesitarse una desinfección después de la limpieza y deberá seguirse una rutina de limpieza sistemática para su remoción.

Hay muchos tipos de desinfectantes químicos disponibles en el mercado. Pueden o no necesitar enjuague antes de iniciar el proceso, dependiendo del tipo utilizado y de su concentración. Todos deben estar aprobados para uso en establecimientos de alimentos y deben prepararse y aplicarse según las indicaciones del fabricante. Debe supervisarse periódicamente el sistema de limpieza y desinfección para verificar su eficiencia, por medio de inspecciones previas o de análisis microbiológicos del medio ambiente y de las superficies de contacto con los alimentos.

Puede evaluarse periódicamente la eficiencia de la limpieza y desinfección de las superficies utilizando placas de contacto que contengan medios de cultivo para crecimiento bacteriano. Esos procedimientos son muy simples, no exigen ningún equipo o entrenamiento especial.

Las pruebas microbiológicas son relativamente lentas y no revelan problemas a tiempo de prevenirlos. Algunas alternativas recientes, como la bioluminiscencia, se están usando en la industria procesadora de alimentos. La bioluminiscencia está basada en la reacción enzimática causante de la luz de la luciérnaga. En este proceso, la intensidad luminosa es proporcional a la cantidad de materia orgánica y de bacterias encontradas en la superficie de prueba (OPS/OMS, 2016).

1.2 Antecedentes de la empresa

Café Tostado de Exportación/Los Portales de Córdoba no es una compañía líder únicamente por las múltiples tecnologías que ha desarrollado, como la innovación en el proceso de descafeinización, o la gran cantidad de premios y reconocimientos que ha recibido, sino por su firme compromiso con la calidad y la satisfacción del cliente.

Fue una de las primeras compañías de su ramo en estar certificada por la norma ISO 9001:2000, lo que refleja nuestro cumplimiento de los estándares internacionales de calidad, hoy en día contamos con múltiples certificaciones a nivel mundial que nos distinguen por arriba de nuestros competidores.

La clave para lograr este compromiso radica en el recurso más valioso, el equipo de trabajo, el cual está conformado por personas dedicadas a su empleo con pasión y honestidad. Además, equilibrada por la experiencia y el conocimiento de los que llevan más años trabajando, con la energía y la apertura de las nuevas generaciones. De esta manera se mantienen a la vanguardia y listos para enfrentar los desafíos de un mundo globalizado.

1.2.1 Misión

Elaborar productos de café de la más alta calidad, a través de la selección de materia prima superior y los más altos estándares de manufactura, satisfaciendo el gusto de los consumidores y generando beneficios para los accionistas, colaboradores, clientes, proveedores y comunidad a la que pertenece.

1.2.2 Visión

Convertirnos en líderes en el mercado nacional y ampliar nuestra presencia en el mercado extranjero, con productos de calidad insuperable y con el mejor sabor, que proporcionen deleite y satisfacción a quien los consuma.

1.2.3 Valores

Liderazgo: En CTE, los líderes establecen unidad de propósito, dirección y un ambiente interno en el cual el personal puede comprometerse de forma plena en lograr los objetivos y metas organizacionales.

- Lealtad: Es una llave esencial que nos permite tener un auténtico éxito, cuando nos conducimos con responsabilidad para proporcionar confianza a nuestros clientes, proveedores y colaboradores, siendo perseverante y útil.
- Honestidad: Somos reales y con el más alto sentido de responsabilidad estamos comprometidos en nuestra actuación verdadera.
- Integridad: El personal en todos los niveles, son la esencia de la Organización y su compromiso pleno posibilita incrementar sus habilidades para el beneficio de todos y el desarrollo de la Organización.
- Amabilidad: Actitud de servicio, somos auténticos y nos exigimos una actitud generosa, buscando el bienestar y el éxito.
- Espíritu de Lucha: Es la fuerza que nos une, es una convicción y un deber para mantenemos en una constante renovación de lograr nuestros propósitos.

1.3 Planteamiento del problema

El presente trabajo pretende la evaluación de la sanitización de tanques de producción en el área de evaporación en la Empresa Café Tostado de Exportación S.A. de C.V. en relación a las siguientes preguntas: ¿Qué tan eficaz es la sanitización de los tanques? ¿Cuáles son las causas de que en ocasiones los resultados de las pruebas de luminiscencia no sean los esperados? ¿Qué impacto puede ocasionar en el producto terminado, sanitización no adecuada? Las preguntas de investigación planteadas busca la relación entre las siguientes variables:

- 1) El procedimiento utilizado para realizar sanitización.
- 2) Causas que originan una sanitización no efectiva.
- 3) El impacto causado en la calidad e inocuidad del producto terminado.

Los antecedentes descritos en los siguientes párrafos y los requerimientos del cumplimiento de los estándares de calidad e inocuidad en el producto final dan sustento al planteamiento del problema de la presente investigación. La OPS/OMS ha establecido que las instalaciones y el equipo utilizado en las industrias que procesan alimentos deben mantenerse en adecuado estado de conservación para facilitar todos los procedimientos de limpieza y desinfección y 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. Puede necesitarse una desinfección después de la limpieza. Debe supervisarse periódicamente el sistema de limpieza y desinfección para verificar su eficiencia, por medio de inspecciones previas o de análisis microbiológicos del medio ambiente y de las superficies de contacto con los alimentos. Puede evaluarse periódicamente la eficiencia de la limpieza y desinfección de las superficies, utilizando placas de contacto que contengan medios de cultivo para crecimiento bacteriano. Algunas alternativas recientes, como la bioluminiscencia, se están usando en la industria procesadora de alimentos (OPS/OMS, 2016).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluación del proceso de sanitización de los tanques de producción en el área de evaporación en la Empresa Café Tostado de Exportación S.A. DE C.V. a partir de pruebas microbiológicas y de luminiscencia para cumplir con los requerimientos de inocuidad y calidad.

1.4.2 Objetivos específicos

- Identificar las posibles causas de que la sanitización no sea satisfactoria mediante un diagnóstico, utilizando un diagrama de Ishikawa.
- Supervisar “in situ” que se lleve a cabo la limpieza y la sanitización cumpliendo con todos los pasos del plan de limpieza y desinfección ya establecido por medio de registros.
- Evaluar la eficacia de la sanitización a través de pruebas de luminiscencia y microbiológicas.
- Analizar la eficiencia y resultados obtenidos de las pruebas por medio de gráficos de control para compararlos con los requerimientos que deben cumplir.
- Proponer acciones preventivas y correctivas para disminuir las probabilidades de contaminación en los tanques de evaporación.

2. Marco teórico

2.1 Sanitización

Desinfección o sanitización, es la reducción por medio de agentes químicos y/o físicos, del número de microorganismos en el ambiente, a un nivel que no comprometa la inocuidad o las propiedades del producto.

La suciedad acumulada en los equipos de preparación de los alimentos y en el ambiente alimenticio favorece el crecimiento de microorganismos patógenos que pueden contaminar los alimentos y potencialmente dañar a los consumidores. Se deben limpiar y desinfectar las superficies en contacto con los alimentos de forma rutinaria para minimizar la contaminación potencial (Michigan State University and DQS-UL MSS, 2010).

2.2 Toma de muestra

Método del Hisopo, se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipo, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, tanques, pisos, paredes y otros.

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la Organización Internacional para la Estandarización (ISO: International Organization for Standardization), Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Internacional de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International), Administración de Alimentos y Drogas/Manual Analítico Bacteriológico (FDA/BAM: Food and Drug Administration/Bacteriological (ISO/IEC, 2005).

2.3 Pruebas de luminiscencia

Sólo porque una superficie ambiental parece limpia, no significa que lo esté. Los microorganismos, las biopelículas y otros residuos orgánicos no son visibles a simple vista, lo que hace que el método de inspección visual para el control de la limpieza sea inadecuado para la tarea. Se descubrió que el adenosín trifosfato (ATP) es una molécula indicadora sensible a la presencia de residuos biológicos debido a su presencia universal en todas las células vivas (células microbianas, animales y vegetales). Un aumento en la “suciedad” (residuo biológico) sobre la superficie da como resultado un aumento en la cantidad de ATP presente en dicha superficie, lo que hace que el ATP sea un marcador efectivo para la evaluación del estado de la higiene de las superficies ambientales. El ATP se mide indirectamente con un ensayo de bioluminiscencia. Para determinar el estado de higiene de una superficie ambiental, se debe medir la cantidad de ATP presente en el hisopo. La medida directa de la concentración de ATP en el hisopo requiere una capacitación exhaustiva, un equipamiento sofisticado y tiempo. Por lo tanto, es más sencillo y rápido determinar la cantidad de ATP en el hisopo de manera indirecta. Hay muchos métodos diferentes que se utilizan para la determinación de ATP, pero la técnica más exitosa es el método de bioluminiscencia debido a su sensibilidad y amplio rango dinámico. Uno puede observar la naturaleza para obtener ejemplos de cómo numerosos organismos como los peces, las bacterias y los hongos generan luz mediante diversos procesos de bioluminiscencia. En la presencia de la enzima luciferasa, el ATP recolectado con la Prueba de Superficie de ATP Clean-Trace reacciona con el oxígeno y la luciferina, o el pigmento que emite luz, lo que causa la emisión de los fotones de luz amarillo-verdosa (Kyriakides *et al.*, 1991).

2.4 Análisis microbiológicos en petrifilm

Las Placas 3M Petrifilm son métodos reconocidos por la AOAC INTERNATIONAL como Métodos Oficiales de Análisis (OMA).

Placas 3M Petrifilm: ahorro de tiempo, listas para usar, diseñadas para aumentar la productividad, consistencia y costes más bajos en comparación con métodos convencionales de análisis microbiano.

3. Metodología

3.1 Diagnóstico

Después de analizar la problemática se realizó un diagnóstico aplicando una herramienta de calidad como se ve en la figura 1, diagrama de causa y efecto (Ishikawa), en la cabeza del pescado se encuentra el efecto que se pretende analizar en este caso: una sanitización no efectiva, en la espina central del pescado se agruparon las causas que según el diagnóstico producen dicho efecto; personal, método, ambiente y por último materiales.

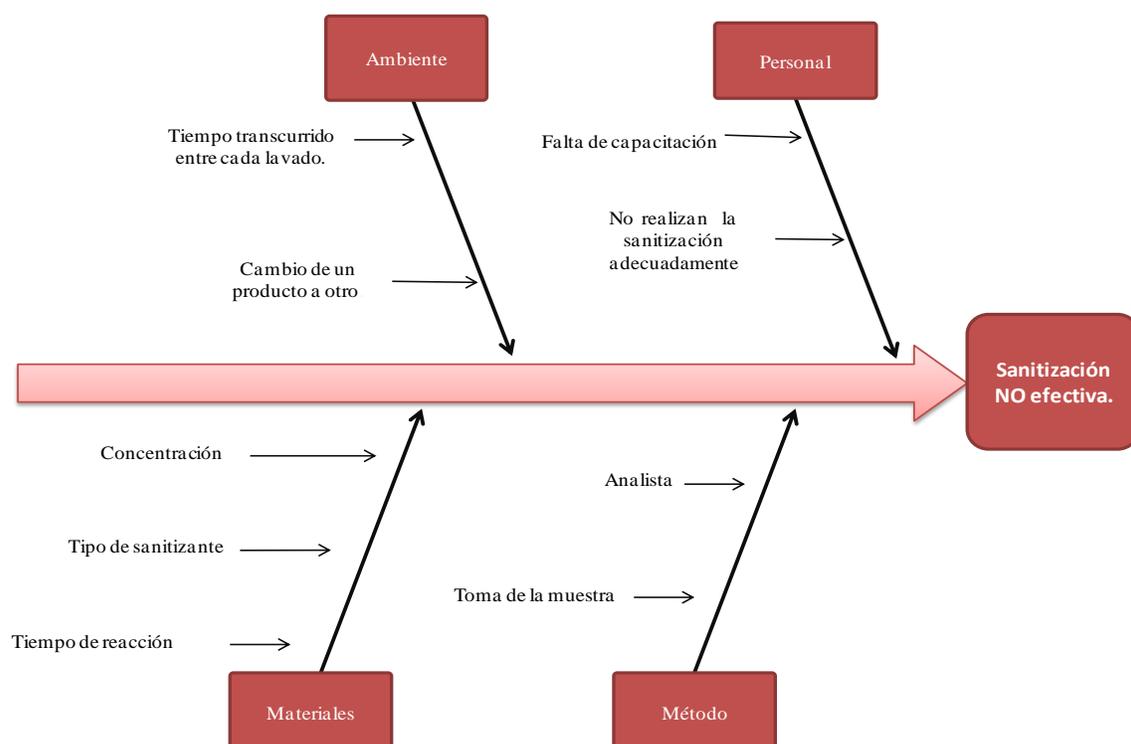


Figura 1. Diagrama de Ishikawa de las causas que originan una sanitización no efectiva.

La sanitización de los tanques se llevó a cabo siguiendo el proceso de sanitización ya establecido por la empresa dicho proceso se muestra en la Figura 2; el cual describe el procedimiento en general que se lleva a cabo para la limpieza y sanitización, en primer lugar se revisa la orden de trabajo, posteriormente se lleva a cabo el proceso de limpieza y sanitización paso por paso como se muestra en el Anexo 1, después se procede a tomar las muestras para las pruebas de luminiscencia y los análisis microbiológicos, si los resultados de las pruebas de luminiscencia son satisfactorios se libera el tanque y queda disponible para operar, pero en caso de que los resultados no sean favorables, deberá repetirse todo el proceso de limpieza y sanitización.

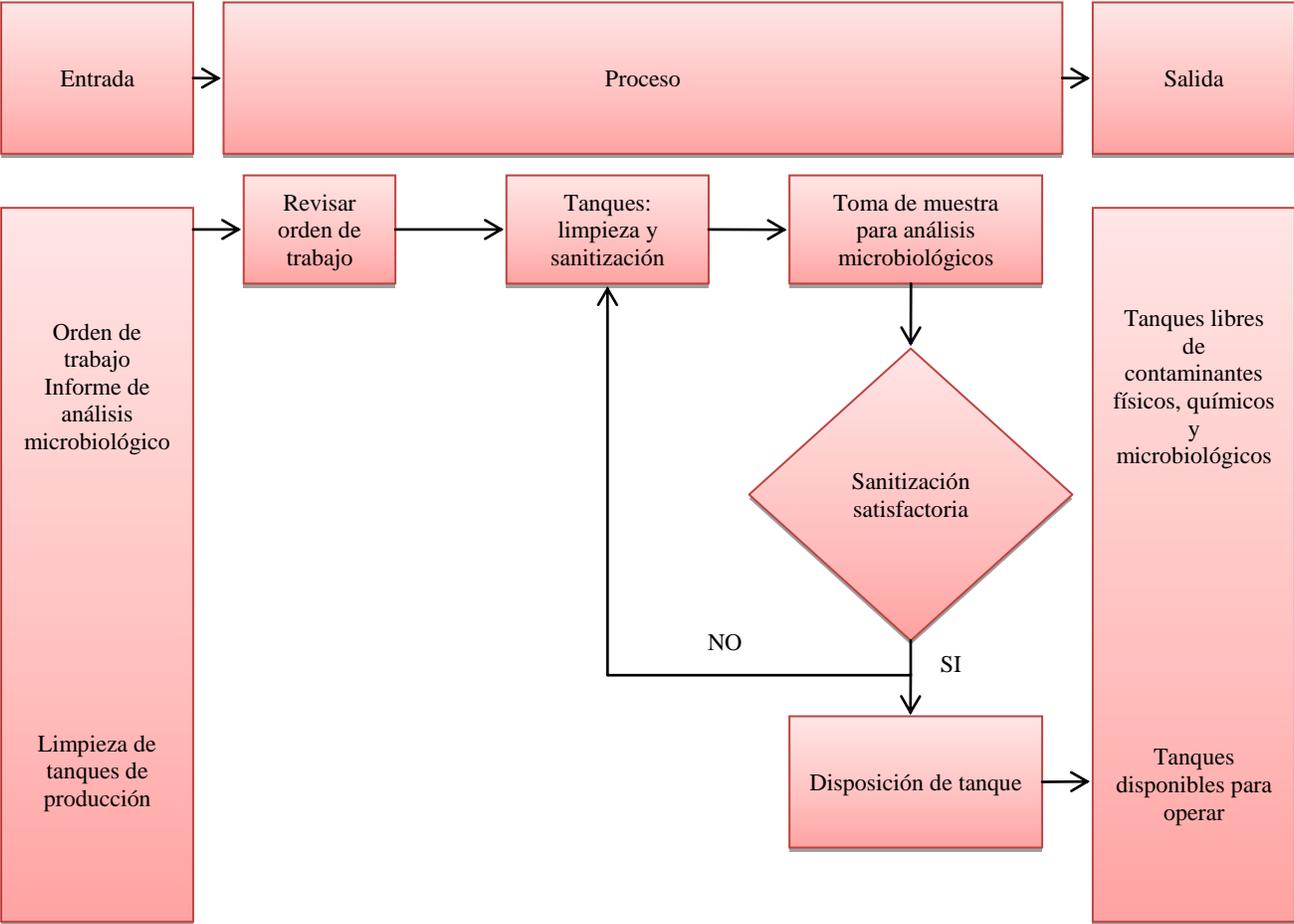


Figura 2. Proceso para la sanitización.

3.2 Evaluación de la sanitización

3.2.1 Prueba de bioluminiscencia:

Materiales y equipos:

- Luminómetro
- Muestreador de superficie.

Toma de la muestra:

1. Abrir el muestreador (jalar el embolo y sacarlo del tubo principal)
2. Tomar la muestra frotando el muestreador en un área específica que se va a validar (10 x 10 cm) en forma de estría cruzada.
3. Cerrar el muestreador, empujar hasta el fondo y agitar dos veces para hacer contacto la luciferasa y el ATP.
4. Introducir el aplicador al luminómetro para efectuar la lectura de resultados, el cual aparecerá en la pantalla después de un corto tiempo.
5. Para determinar la lectura de resultados, los cuales se miden en Unidades Relativas de Luz (RLU) y determinar el estado de inspección, se consideran de la siguiente manera con los parámetros establecidos en la Tabla 1, si la prueba marca luz verde y tiene <150 RLU el tanque se encuentra en estado limpio y puede comenzar a ser utilizado, si el resultado marca luz amarilla y tiene >150 RLU <300 RLU el tanque se encontrara en estado marginal o de precaución en este caso es responsabilidad del supervisor decidir si continua o repite el proceso de lavado y sanitización y por último, si el resultado de la prueba marca luz roja y tiene >300 RLU el tanque se encuentra sucio y es rechazado por lo cual es obligatorio repetir el proceso de lavado y sanitizado.

Tabla 1. Estado de inspección.

Estado de inspección	
Limpio: Empieza la producción	<150 RLU
Marginal: Precaución	>150 RLU <300 RLU
Rechazo: Volver a limpiar y sanitizar.	>300 RLU

3.2.2 Pruebas microbiológicas:

Determinación de *E. Coli* y *Coliformes totales* en placa petrifilm

Materiales y equipos:

- Balanza granataria con un alcance mayor a 100 g
- Bolsas peristálticas estériles.
- Termómetro con alcance mayor a 100°C
- Estufa de Incubación.
- Pipetas 1 y 10 ml.
- Guantes estériles.

Procedimiento:

1. Pesar 1 g de la muestra a analizar en la bolsa peristáltica.
2. Adicionar 9 ml de agua, (dilución 1:10).
3. Cerrar la bolsa de manera que quede bien sellada y mezclar vigorosamente (1 a 2 minutos).
4. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana.

5. Levantar el film superior de la placa y con una pipeta perpendicular a la placa colocar 1 ml de muestra en el centro del film inferior.
6. Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire; no dejarlo caer.
7. Colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo con la cara lisa hacia abajo y con cuidado ejercer una presión sobre el mismo para esparcir el inóculo sobre el área circular de la placa teniendo cuidado de no girar ni deslizar el aplicador.
8. Levantar el aplicador y esperar 1 minuto a que solidifique el gel.
9. Incubar la placa Petrifilm con la cara hacia arriba por 24 +/- 2 Hrs. a 35 +/- 1 °C y realizar la lectura de la placa.
10. Volver a colocar la placa en la estufa por otras 24 +/- 2 Hrs. a 1 °C y realizar un nuevo conteo.
11. Leer las placas Petrifilm en una fuente de luz con aumento tomando en cuenta que:
 - a. La presencia de *E. Coli* produce gas natural y las colonias además producen una precipitación azul. Contar las colonias azules asociadas con burbujas de gas como colonias confirmadas de *E. Coli*.
 - b. Los coliformes producen colonias de color rojo asociadas con las burbujas de gas.
12. Reportar el resultado vía telefónica al Laboratorio de Control de Calidad de Elaboración.
13. Registrar en los documentos correspondientes.

Notas:

- Para reportar presencia de *E.Coli* esto será: el número de colonias azules con burbujas de gas que aparezcan en la placa multiplicarlo por 10 que es el inverso de la dilución, y reportarlo como UFC/g
- En caso de no observar crecimiento en la muestra reportar como: "No desarrollo de coliformes" negativo o ausente.
- Cuando el número de colonias es mayor a 150, hacer una estimación del recuento, contando el número de colonias por centímetro cuadrado y multiplicar por 20 para

obtener el recuento total por placa y posteriormente multiplicar por la inversa de la dilución.

- Cuando las Placas tengan muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, el color del gel se intensifique o bien en el caso de ser colonias de *E.Coli* el gel se torne azul o púrpura se considerará que las colonias son Muy Numerosas Para Contar y se reportará como MNPC.
- Si el número esperado de colonias en la muestra es muy grande se podrán hacer diluciones decimales adicionales y entonces para obtener el resultado multiplicar por la inversa de la dilución con que se trabajó.

Determinación de *Salmonella*

Materiales y equipos:

- Balanza granataria con un alcance mayor a 100 g
- Bolsas peristálticas estériles.
- Termómetro con alcance mayor a 50°C
- Estufa de Incubación.
- Baño de Temperatura constante.
- Guantes estériles.

Procedimiento:

1. Pesar 25 +/- 1 g de la muestra a analizar en una bolsa peristáltica y cerrarla.
2. En otra bolsa peristáltica transferir el contenido de un frasco de medio REVIVE y agregarle 200 ml de agua a 42 +/- 1°C.
3. Cerrar la bolsa con el medio hidratado de manera que quede bien sellada y mezclar vigorosamente hasta que se disuelva el medio (1 a 2 minutos).
4. Adicionar los 25 g de muestra dentro de la bolsa que contiene el medio REVIVE hidratado, cerrar la bolsa herméticamente y agitar la muestra hasta que se vea

- homogénea; agitar la bolsa fuertemente usando un movimiento horizontal para asegurar un buen mezclado (2 a 3 minutos).
5. Una vez que la mezcla esté homogénea, abrir la bolsa para cerrarla de manera que permita el intercambio de aire (no sellar).
 6. Incubar la muestra a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 2 Hrs \pm 10 minutos.
 7. Mientras la muestra está en incubación reconstituir el medio de enriquecimiento; transferir el contenido del frasco del medio de enriquecimiento a una bolsa peristáltica y adicionarle 200 ml de agua a $42 \pm 1^\circ\text{C}$.
 8. Cerrar la bolsa de manera que quede bien sellada y mezclar vigorosamente hasta que se disuelva el medio (1 a 2 minutos).
 9. Conservar el medio reconstituido a $42 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta que se vaya a utilizar.
 10. Cuando la muestra con el medio REVIVE cumpla con el tiempo de incubación sacarla de la estufa y agregarle el medio reconstituido a $42 \pm 1^\circ\text{C}$, cerrar la bolsa herméticamente y agitar vigorosamente usando un movimiento horizontal para asegurar un buen mezclado.
 11. Una vez que la mezcla esté homogénea, abrir la bolsa para cerrarla nuevamente de manera que permita el intercambio de aire (no sellar).
 12. Incubar la mezcla a $42 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 Hrs \pm 30 minutos.
 13. Una vez que se cumpla con el tiempo de incubación sacarla de la estufa y colocarla en un soporte adecuado para que no se derrame.
 14. Cuando el dispositivo de prueba esté a temperatura ambiente, sacarlo de su sobre y colocarlo en una superficie plana.
 15. Agitar suavemente la bolsa que contiene la mezcla.
 16. Con la pipeta absorber parte de la mezcla y adicionar 5 gotas al PUERTO CIRCULAR del dispositivo de prueba.
 17. Esperar de 15 a 20 minutos para observar el resultado.
 18. Reportar el resultado vía telefónica.
 19. Registrar en el documento correspondiente.

4. Resultados y Discusión

Se realizó la supervisión “**in situ**” del proceso de limpieza y sanitización durante un periodo de ocho semanas en las cuales se tomaron los siguientes registros de lavado y sanitización de tanques expresados en la Tabla 2. Para llevar un control de las fechas específicas de ejecución, lote, turno, No. de tanque lavado, operador, supervisor en turno, el material de limpieza utilizado y el tipo de sanitizante en este caso solo aplica H₂O₂.

Tabla 2. Registro de lavado de tanques.

FECHA	LOTE	TURNO	TANQUES																	OPERADOR	SUPERVISOR	MATERIAL DE LIMPIEZA	TIPO DE SANITIZANTE				
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	A					OTRO			
12-02-17	7012	1						X																Operador 1	Supervisor 3	Agua	H ₂ O ₂
12-02-17	7012	1																						Operador 1	Supervisor 3	Agua	H ₂ O ₂
13-02-17	7023	2																						Operador 2	Supervisor 2	Agua	H ₂ O ₂
14-02-17	7024	2					X		X															Operador 3	Supervisor 2	Agua	H ₂ O ₂
14-02-17	7024	1																						Operador 3	Supervisor 2	Agua	H ₂ O ₂
05-03-17	7036	1	X		X																			Operador 2	Supervisor 2	Agua	H ₂ O ₂
07-03-17	7038	2																						Operador 1	Supervisor 1	Agua	H ₂ O ₂
16-03-17	7047	1					X	X																Operador 1	Supervisor 3	Agua	H ₂ O ₂
17-03-17	7048	1																						Operador 2	Supervisor 1	Agua	H ₂ O ₂
18-03-17	7049	1																						Operador 2	Supervisor 1	Agua	H ₂ O ₂

4.1 Resultados de la prueba de luminiscencia

En la tabla 3, se encuentran expresados los resultados obtenidos de las pruebas de luminiscencia, la primera columna hace referencia al No. de muestra, en la segunda columna se expresa el No. de tanque sanitizado, la tercera la fecha de en la que se realizó la sanitización y la prueba de luminiscencia, en la cuarta columna se expresa el resultado del estado de inspección en RLU, en la columna quinta se muestran las UFC por cada 100 cm² de superficie analizada.

Tabla 3.Resultados de la prueba de luminiscencia.

NO. DE MUESTRA	NO. DE TANQUE	FECHA	TURNO	ESTADO DE INSPECCIÓN (RLU)	UFC/100cm ²
1	7	12-02-17	1	15	<10 UFC/100cm ²
2	10	12-02-17	1	10	<10 UFC/100cm ²
3	13	13-02-17	2	1	<10 UFC/100cm ²
4	TANQUES BALANZA	13-02-17	2	0	<10 UFC/100cm ²
5	5	14-02-17	2	0	<10 UFC/100cm ²
6	7	14-02-17	2	0	<10 UFC/100cm ²
7	9	14-02-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
8	10	14-02-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
9	A	14-02-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
10	1	05-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
11	3	05-03-17	1	1	<10 UFC/100cm ²
12	TANQUES BALANZA	05-03-17	1	3	<10 UFC/100cm ²
13	9	07-03-17	2	8	<10 UFC/100cm ²
14	10	07-03-17	2	5	<10 UFC/100cm ²
15	5	16-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
16	6	16-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
17	TANQUES BALANZA	16-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
18	12	17-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
19	13	17-03-17	1	1	<10 UFC/100cm ²
20	9	18-03-17	1	2	<10 UFC/100cm ²
21	10	18-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²
22	A	18-03-17	1	0	<10 UFC/100cm ²

Acorde con los resultados de las pruebas de luminiscencia observados en la Figura 3, de las 22 muestras tomadas de los tanques de mezclado en el área de evaporación, se obtuvo como criterio de aceptación un valor de <150 RLU, como criterio de alerta el límite de >150 RLU <300 RLU y como un criterio de rechazo un valor >300 . Por el método de luminiscencia los resultados encontrados en el 100% de las muestras fue de <10 UFC/100cm² lo cual es conforme con los valores manejados en la empresa. Se observó también que el estado de inspección tiene ligeros incrementos en la muestra 1, 2, 13 y 14 mismas muestras que se tomaron a los tanques que fueron lavados y sanitizados por el Operador 1.

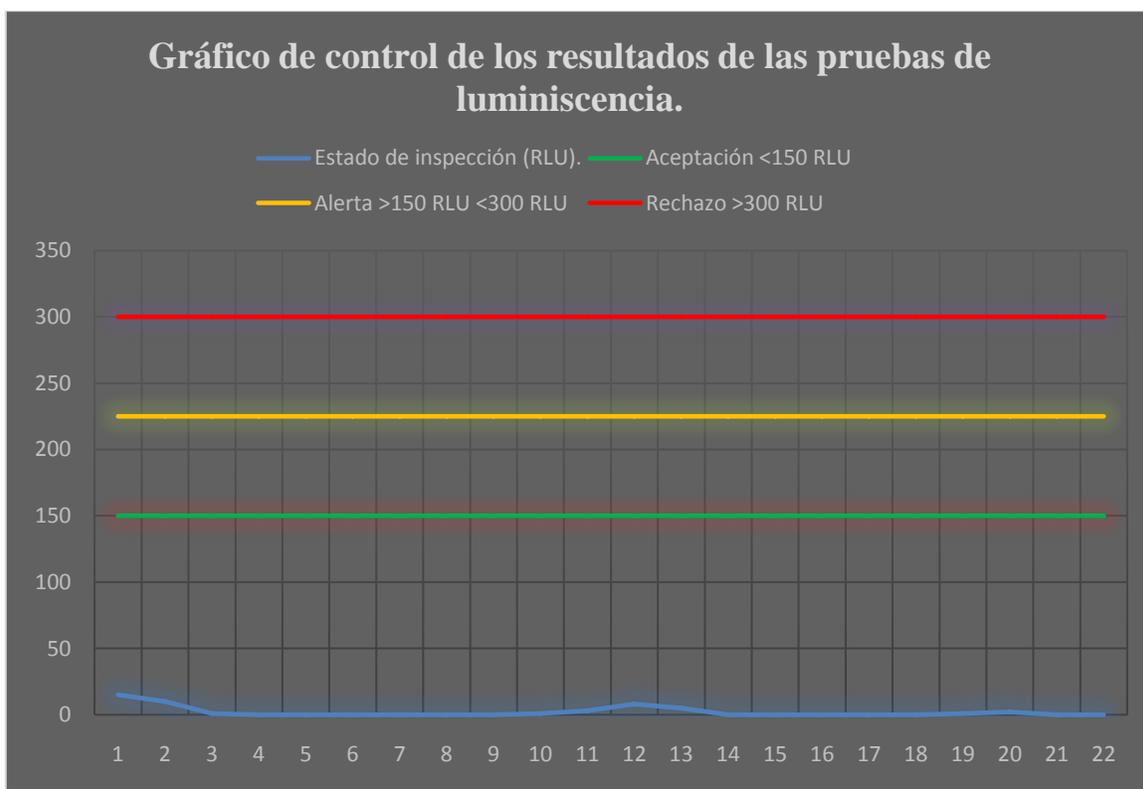


Figura 3. Gráfico de control de los resultados de las pruebas de luminiscencia.

4.2 Resultados de los análisis microbiológicos

Posterior a las pruebas de luminiscencia, se realizó la toma de muestra para realizar los análisis microbiológicos; *E. Coli* y *Salmonella* los resultados de estos análisis se expresan en la tabla 4, en la primera columna el número de muestra al que corresponde, la segunda hace referencia al número de tanque que corresponde, en la tercera columna se muestra la fecha en la que se realizó el análisis, la cuarta columna muestra el turno al que corresponde cada muestra, por último en la quinta y sexta columna se muestra el resultado de los análisis antes mencionados los cuales son favorables ya que presentaron AUSENCIA de estos microorganismos.

Tabla 4. Resultados de los análisis microbiológicos.

NO. DE MUESTRA	No. de tanque	Fecha	Turno	Resultados	
				<i>E. Coli</i>	<i>Salmonella</i>
1	7	12-02-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
2	10	12-02-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
3	13	13-02-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
4	TANQUES BALANZA	13-02-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
5	5	14-02-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
6	7	14-02-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
7	9	14-02-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
8	10	14-02-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
9	A	14-02-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
10	1	05-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
11	3	05-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
12	TANQUES BALANZA	05-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
13	9	07-03-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
14	10	07-03-17	2	AUSENCIA	AUSENCIA
15	5	16-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
16	6	16-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
17	TANQUES BALANZA	16-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
18	12	17-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
19	13	17-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
20	9	18-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
21	10	18-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA
22	A	18-03-17	1	AUSENCIA	AUSENCIA

5. Conclusiones

Con el presente estudio se logró evaluar la correcta realización del procedimiento de limpieza y sanitización de los tanques de producción en el área de evaporación, por parte de los operarios y supervisores dentro de la empresa Café Tostado de Exportación por método de bioluminiscencia y análisis microbiológicos.

Debido a que los resultados fueron favorables, para el caso de las pruebas de bioluminiscencia y los análisis microbiológicos podemos descartar algunas de las causas del diagnóstico en el diagrama de Ishikawa quedando como la causa principal; El personal ya que mientras el operador es supervisado minuciosamente mientras realiza el proceso de limpieza y sanitización de los tanques, este realiza de manera correcta cada uno de los pasos del procedimiento establecido, de lo contrario si no es supervisado no cumple con todos los pasos del procedimiento lo cual ocasiona na sanitización no efectiva.

Se logró concluir que el proceso de limpieza y sanitización utilizado por la empresa es el adecuado, siempre y cuando el operador la realice de manera correcta y se encuentre bajo supervisión “*in situ*”.

5.1 Recomendaciones

- Es recomendable seguir el programa de capacitación continua a los operadores y supervisores, sobre cómo deben realizar la limpieza y sanitización de los tanques de producción, además de concientizarlos sobre la importancia de esta actividad para calidad del producto final.
- Asegurar que el operador que realizara la limpieza y sanitización sea supervisado mientras realiza el proceso.
- Comprobar el manejo correcto de la BPL por parte de los analistas, como parte fundamental para los resultados de las pruebas de luminiscencia y análisis microbiológicos.
- Realizar la limpieza y sanitización de los tanques el día establecido para evitar que la suciedad se adhiera y pueda dificultar el procedimiento de limpieza.

Todo esto contribuirá de manera certera a lograr que la sanitización sea efectiva lo cual contribuye a tener resultados satisfactorios en la calidad del producto final.

6. Referencias

1. Alan García Pérez. (2007). *"Guía técnica para el Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas"*. Lima: Ministerio de salud.
2. Anderson, M. d. (2000). *MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA ALIMENTOS Y BEBIDAS*. Madrid España: Díaz de Santos S.A.
3. C.V., C. T. (07 de Mayo de 2012). Uso y manejo del Luminometro. *INS-CCN-105* . Córdoba, Veracruz, México: Control de calidad envasado.
4. Café Tostado de Exportación S.A. de C.V. (25 de Marzo de 2012). Detección de Salmonella. *INS-CCN-021/3* . Córdoba , Veracruz, México: Control de calidad envasado.
5. Exportación, C. T. (25 de Marzo de 2012). Recepción de muestras para Análisis Microbiológicos . *INS-CCN-027/2* . Córdoba , Veracruz, México: Control de Calidad envasado.
6. Expotación, C. T. (07 de mayo de 2012). Determinación de E.Coli y Coliformes Totales. *INS-CCN-105* . Córdoba, Veracruz, México: Control de calidad envasado.
7. Hyginov, C. (2001). *GUIA PARA LA ELABORACIÓN DE UN PLAN DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN*. España: Acribia.
8. OPS/OMS. (2016). ESTABLECIMIENTO: MANTENIMIENTO, LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN. *Centros colaboradores de OPS/OMS* , 1-3.
9. Ribes, C. A. (2002). *MÉTODOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LOS ALIMENTOS*. Ediciones Díaz de Santos.
10. Richard Hayes, S. J. (2007). *HIGIENE DE LOS ALIMENTOS, MICROBIOLOGÍA Y HACCP*. España: Acribia, 2002.

7. Anexos

Anexo 1. Limpieza y sanitización de Tanques

Limpieza exterior

1. Aplicar agua potable en todo el contorno del tanque empezando de la parte superior hacia abajo.
2. Lavar la manguera de nivel enjuagando con agua, limpiador líquido biodegradable (Swipe) y aplicando posteriormente peróxido de hidrogeno con atomizador.

Limpieza interior

1. Verificar que el tanque este vacío y se encuentre fuera de servicio.
2. Realizar un pre-enjuague con agua potable, para remover las partículas adheridas a la superficie del tanque.
3. Verificar el área, si existen residuos desprendidos durante el pre-enjuague (bagazo), recogerlos y depositarlos en los recipientes correspondientes.
4. Utilizar guantes, botas, y gafas de protección.
5. Cambiarse el uniforme para ingresar al tanque y evitar posibles contaminaciones.
6. Aplicar Limpiador líquido biodegradable (Swipe) al interior del tanque.
7. Aplicar un enjuague con agua potable.
8. En áreas donde se observen adherencias de suciedad, frotar con fibra plástica y enjuagar nuevamente.

Sanitización

1. Verter en un atomizador 500 ml. De peróxido de hidrogeno al 3% de pureza y aplicarlo directamente en la superficie interna del tanque comenzando por la parte superior, permitir un tiempo de contacto de 5 a 10 minutos.
2. La cantidad de H₂O₂ utilizado en la sanitización de cada tanque dependerá del volumen de estos.

Tabla 1. Volumen de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) utilizado en la sanitización de tanques.

Tanques	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Aroma
Volumen de tanques (Lts.)	7000	7000	13000	13000	13000	6000	13000	13000	2000	20000	1000	1000	40000	4000
Peróxido de hidrógeno (Lts.)	1.250	1.250	1.5	1.5	1.5	1.0	1.5	1.5	0.750	0.750	0.5	0.5	0.850	0.850

3. Aplicar un último enjuague con agua de proceso.