



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN  
BIOTECNOLOGÍA**

**AUTOR: PÉREZ PASQUEL, STEFANY GABRIELA**

**TEMA: DETERMINACIÓN DE LA CARGA BACTERIANA DE AEROBIOS  
MESÓFILOS Y COLIFORMES TOTALES MEDIANTE LA VERIFICACIÓN  
PREVIA DE LOS MÉTODOS AOAC 990.12 Y 991.14,  
RESPECTIVAMENTE, EN ALIMENTOS PREPARADOS.  
QUITO-ECUADOR, 2012-2013.**

**DIRECTOR: GIA F., JAIME**

**CODIRECTOR: M. Sc. KOCH KAISER, ALMA ROSEL**

**SANGOLQUÍ, NOVIEMBRE 2013**

## **HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS**

**ELABORADO POR:**

---

Stefany Gabriela Pérez Pasquel

**COORDINADOR DE LA CARRERA**

---

Dra. María Augusta Chávez L.

**SECRETARIO ACADÉMICO**

---

Abg. Carlos Orozco

**SANGOLQUÍ, NOVIEMBRE 2013**

## CERTIFICACIÓN

Jaime F. Gia

M. Sc. Alma Rosel Koch Kaiser

### **Certifican:**

Que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por la Srta. STEFANY GABRIELA PÉREZ PASQUEL como requerimiento parcial a la obtención del título de INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA.

Sangolquí, Noviembre 2013

---

JAIME F. GIA

**DIRECTOR**

---

M. Sc. Alma Rosel Koch Kaiser

**CODIRECTOR**

## DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Stefany Gabriela Pérez Pasquel

Declaro que:

El proyecto de grado “**Determinación de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados. Quito–Ecuador, 2012-2013**”, ha sido desarrollada en base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme los autores constan al final de cada párrafo correspondiente. Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido científico del proyecto de grado en mención.

Sangolquí, Noviembre 2013

---

**Stefany Gabriela Pérez Pasquel**

## AUTORIZACIÓN

Yo, Stefany Gabriela Pérez Pasquel

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército, la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo **“Determinación de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados. Quito–Ecuador, 2012-2013”**, cuyo contenido y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, Noviembre 2013

---

**Stefany Gabriela Pérez Pasquel**

## DEDICATORIA

Con toda la humildad de mi corazón dedico este trabajo principalmente a Dios, por ser mi creador que por medio de cada triunfo y momento difícil que me han enseñado a valorarlo cada día más, por ser mi guía en todo momento y por permitirme haber llegado a este momento tan importante de mi formación personal.

De igual forma con todo mi cariño y amor para mis padres que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba y, a mi hermano por su apoyo incondicional, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

A toda mi familia en general, por compartir conmigo buenos y malos momentos y que en base a sus conocimientos y experiencia me han guiado de la mejor manera para ser la persona que soy.

“Si uno avanza confiadamente en la dirección de sus sueños y deseos para llevar la vida que ha imaginado, se encontrará con un éxito inesperado.”

-Henry David Thoreau-

**Stefany Gabriela Pérez Pasquel**

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño está tesis se las dedico a ustedes:

A Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mis padres Anita y César que con su ejemplo me han enseñado a luchar, a no desfallecer ni a rendirme ante nada y que con sus sabios consejos me han guiado a ser la persona que soy.

A mi hermano Andrés que con sus locuras me ha enseñado a vivir la vida de una manera diferente y a sonreír hasta en los momentos más difíciles.

A mi tía María del Carmen Pasquel que desde el inicio de mi carrera universitaria estuvo al pendiente guiándome y apoyando en cada paso y, sobre todo en la culminación del proyecto supo sembrar en mí el conocimiento necesario para concluir esta etapa importante de mi vida.

A toda mi familia que siempre ha estado pendiente cuidándome y guiándome para ser una persona de bien y, apoyándome a cumplir cada sueño que he tenido.

A mis queridos profesores Jaime y Almita que además de ser profesionales excelentes, los considero amigos por guiarme y enseñarme a lo largo de mi carrera universitaria.

A mis amigos y amigas de la universidad que cada uno con sus experiencias de vida y locuras me han enseñado a vivir y a disfrutar de la vida en buenos y malos momentos convirtiéndose en otro pilar importante en mi formación.

A Diani, Pame, Alex, Lenín, Andrés, Liz, Chesito que siempre han estado pendientes de mí y que con sus ocurrencias me han robado sonrisas hasta en los momentos más duros. Gracias por su apoyo incondicional.

A mi familia futbolera que nunca dejaron que desista y me alentaban a cumplir mis sueños, en especial a Jess, Monse, Tefa, Helada, Negrita, Adri, Xime porque junto a ustedes he compartido y vivido las experiencias más enriquecedoras de mi vida y, han sido la inspiración que mi corazón necesitaba para culminar esta etapa.

Finalmente, gracias a todas esas personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

**Stefany Gabriela Pérez Pasquel**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>PORTADA</b> .....	<b>i</b>
<b>HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS</b> .....	<b>ii</b>
<b>CERTIFICACIÓN</b> .....	<b>iii</b>
<b>DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD</b> .....	<b>iv</b>
<b>AUTORIZACIÓN</b> .....	<b>v</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>vi</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xv</b>
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>16</b>
1.1. Formulación del problema. ....	16
1.2. Justificación del problema.....	17
1.3. Objetivos de la investigación. ....	18
1.3.1. Objetivo general del proyecto.....	18
1.3.2. Objetivos específicos. ....	18
1.4. Marco Teórico.....	19
1.4.1. Validación y Verificación. ....	19
1.4.2. Microbiología de alimentos.....	20
1.4.3. Enfermedades de tipo alimentaria.....	22
1.4.4. Microorganismos indicadores.....	22
1.4.5. Manipulación correcta de los alimentos .....	23
1.4.6. Inocuidad y calidad de alimentos .....	25

1.5. Sistema de hipótesis.....	26
<b>CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
2.1. Participantes.....	27
2.2. Zona de estudio.....	27
2.3. Periodo de tiempo de investigación.....	28
2.4. Diseño estadístico.....	28
2.5. Metodología.....	29
2.5.1. Verificación del método.....	29
2.5.2. Muestreo.....	32
2.6. Análisis de datos.....	35
<b>CAPÍTULO 3: RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
3.1. Resultados de las siembras.....	39
3.2. Análisis estadístico para verificar los métodos.....	50
<b>CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN.....</b>	<b>60</b>
<b>CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES.....</b>	<b>66</b>
<b>CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>73</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2. 1.</b> Secuencia de validación de métodos .....	29
<b>Figura 2. 2.</b> Elección, desarrollo y evaluación de los métodos.....	30
<b>Figura 3. 1.</b> Diagrama de puntos para evaluar reproducibilidad en el nivel medio para aerobios mesófilos. ....	50
<b>Figura 3. 2.</b> Diagrama de puntos para evaluar repetibilidad en el nivel medio para aerobio mesófilos.....	53
<b>Figura 3. 3.</b> Carta de control evaluada para reproducibilidad en el nivel medio para aerobios mesófilos.....	57
<b>Figura 3. 4.</b> Carta de control evaluada para repetibilidad en el nivel medio para aerobio mesófilos por medio de incertidumbre. ....	58
<b>Figura 3. 5.</b> Cálculo de linealidad.....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2. 1.</b> Sistemática para la verificación de métodos.....	31
<b>Tabla 2. 2.</b> Relación peso-diluyente de la muestra .....	34
<b>Tabla 3. 1.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel bajo para Ají Criollo evaluado en reproducibilidad.....	39
<b>Tabla 3. 2.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel bajo para Ají Criollo evaluado en repetibilidad.....	40
<b>Tabla 3. 3.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel alto para Ají Criollo. ....	41
<b>Tabla 3. 4.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Criollo evaluado en reproducibilidad.....	42
<b>Tabla 3. 5.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Criollo evaluado en repetibilidad.....	43
<b>Tabla 3. 6.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel alto para Ají Manaba.....	44
<b>Tabla 3. 7.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Manaba evaluado en reproducibilidad. ....	45
<b>Tabla 3. 8.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Manaba evaluado en repetibilidad.....	46
<b>Tabla 3. 9.</b> Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Crudo.....	47
<b>Tabla 3. 10.</b> Resultados obtenidos en la determinación de Coliformes totales y <i>E. coli</i> en el nivel medio para Ají Criollo.....	48

<b>Tabla 3. 11.</b> Resultados obtenidos en la determinación de Coliformes totales y <i>E. coli</i> en el nivel alto para Ají Criollo.....	49
<b>Tabla 3. 12.</b> Tabla de análisis de varianza para evaluar reproducibilidad en aerobio mesófilos en el nivel medio.....	52
<b>Tabla 3. 13.</b> Tabla de análisis de varianza para evaluar reproducibilidad en aerobio mesófilos en el nivel medio.....	52
<b>Tabla 3. 14.</b> Límites de reproducibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales y <i>E. coli</i> .....	53
<b>Tabla 3. 15.</b> Tabla de igualdad de varianzas y medidas de resumen para evaluar repetibilidad en aerobio mesófilos nivel medio.....	54
<b>Tabla 3. 16.</b> Límites de repetibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales y <i>E. coli</i> .....	55
<b>Tabla 3. 17.</b> Tabla del cálculo de incertidumbre expandida.....	56
<b>Tabla 3. 18.</b> Tabla de exactitud por recuperabilidad.....	58
<b>Tabla 3. 19.</b> Tabla de linealidad.....	59

## RESUMEN

El propósito de esta investigación fue la determinación de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados para que con ayuda del programa InfoStat obtener estadísticas descriptivas y gráficos para el análisis exploratorio que permitan al laboratorio CEA conseguir una acreditación o certificación. Para la investigación se recolectó cada 15 días de 7 a 8 alimentos al azar incluido un ají del hotel Dann Carlton, hotel Casa Gangotena y Colegio Americano. En la verificación de los métodos se utilizó como matriz una muestra de ají seleccionada al azar en los diferentes establecimientos, mismo que se evaluó en tres niveles de concentración bajo parámetros de repetibilidad y reproducibilidad. En la determinación de la carga bacteriana de cada diez alimentos se sembró por duplicado uno seleccionado al azar, al obtener un mínimo de treinta datos se graficaron los resultados para aplicar en las cartas de control las reglas de Westgard lo que permitió evaluar el desempeño correcto del método en un periodo de tiempo. Los resultados obtenidos con ayuda de las pruebas de Duncan y Tukey, nos permitió verificar que la hipótesis planteada se cumple y que gracias a la incertidumbre conseguida menor al 10% indica que los métodos se aplicaron correctamente. Se identificó que otras posibles fuentes de contaminación en los alimentos, a parte una mala manipulación incorrecta, es causada por superficies mal desinfectadas y por el contacto directo del agua potable en la manipulación y preparación de productos finales.

### **Palabras clave:**

- Verificación
- Aerobios Mesófilos
- Coliformes Totales
- AOAC

## ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the bacterial load of aerobic mesophilic and total coliforms in prepared foods, through the verification of the AOAC 990.12 and 991.14 methods, respectively, in order to get, with the aid of the InfoStat software, descriptive statistics and graphs for exploratory analysis that will let the CEA Lab obtain accreditation or certification. For this research, a sample was collected every 15 days, the sample consisted of 7-8 random foods, including a chili from the Dann Carlton hotel, the Casa Gangotena hotel and the Colegio Americano. In the method verification process, a matrix was used, consisting of a chili sample, selected at random from all three establishments; this sample was evaluated at three concentration levels under repeatability and reproducibility parameters. In the process of determining the bacterial load, for every 10 foods, one food selected at random was sown by duplicate. When at least thirty data entries were obtained, the results were graphed in order to apply the rules of Westgard in control charts, which allowed to evaluate the correct performance of the method over a period of time. The results were obtained with the use of the Duncan and Tukey tests. These results support our original hypothesis and due to obtaining an uncertainty rate of less than 10%, they indicate that the methods were applied correctly. We identified that other potential sources of contamination in foods, other than mishandling, include improperly disinfected surfaces and direct contact with drinking water in the handling and preparation of final products.

### Keywords

- Verification
- Aerobic Mesophilic
- Total Coliforms
- AOAC

# **CAPÍTULO 1**

Determinación de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados.

Quito–Ecuador, 2012-2013.

## **1.1. Formulación del problema.**

Las bacterias, mohos y levaduras, al ser microorganismos transmisores de enfermedades, son primordiales para determinar si los alimentos se encuentran dentro del rango permitido que establece la norma tomada como criterio de aceptabilidad según el método aplicado. Las causas principales de la contaminación de un producto son: las superficies vivas, que implica manos con y sin guante, y superficies inertes como tablas de picar, mesas de trabajo, platos, cubiertos, entre otros (Métodos Analíticos, 2012).

El factor principal que evidencia la contaminación de un alimento pre y post preparado es la manipulación inadecuada de la materia prima al momento de procesarla, porque se genera un aumento de microorganismos a los ya existentes por su naturaleza lo que causa enfermedades gastrointestinales en el ser humano; en otras palabras el modo de vida de las personas influye la calidad de los alimentos (Ministerio de Salud Pública de Chile, 2000).

Por otra parte, para obtener un alimento crudo o cocido de calidad éste debe pasar por análisis previos a su elaboración (cuando es materia prima), durante su producción y, finalmente, como producto terminado (Métodos Analíticos, 2012). Los métodos aplicados por un laboratorio para determinar si existe contaminación microbiológica, garantiza un resultado confiable en esta área y la satisfacción del cliente con la precaución de evitar poner en riesgo su salud (Hirata, 2009).

## **1.2. Justificación del problema.**

En la actualidad, la calidad del producto que se expende a los consumidores es cada vez más rigurosa y las empresas que brindan este servicio se ven en la necesidad de buscar laboratorios que den garantía a sus productos, asegurando que el alimento terminado sea saludable para el cliente que lo consume.

A fin de mejorar la calidad de los productos, las empresas se ven obligadas a implementar un Sistema de Gestión de Calidad. Para ayudar a este proceso se apoyan en laboratorios que proporcionen datos veraces, es decir que sean exactos y precisos, para confirmar si el producto previo a su elaboración (materia prima), durante el proceso y listo para consumir, se encuentra elaborado con normas de calidad que son exigidas por parte del consumidor y por la misma empresa que le otorga el sello de calidad y el prestigio al servicio que proporcionan.

En base a lo expuesto anteriormente, el Centro Especializado de Análisis “CEA” es un laboratorio que proporciona sus servicios a diferentes empresas; para asegurar la confiabilidad de los resultados en microbiología de alimentos se basa en los métodos de referencia **AOAC 990.12 y 991.14** que determinan la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes

totales lo que asegurara la calidad del examen y proporciona resultados confiables tanto al consumidor como a la empresa que contrata el servicio.

### **1.3. Objetivos de la investigación.**

#### **1.3.1. Objetivo general del proyecto.**

Determinar la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados para consumo humano.

#### **1.3.2. Objetivos específicos.**

- Verificar que los métodos AOAC 990.12 y 991.14 se aplican de manera correcta en el laboratorio.
- Establecer la sistemática para la verificación de métodos microbiológicos, incluidos los criterios de aceptación y rechazo.
- Analizar estadísticamente la verificación y cumplimiento de los métodos.
- Determinar la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales.
- Identificar las posibles fuentes de contaminación microbiana existentes en el proceso.
- Aplicar un control de buenas prácticas en la elaboración de los productos pre y pos preparados para su consumo.

## **1.4. Marco Teórico.**

### **1.4.1. Validación y Verificación.**

Las tendencias en el consumo mundial de alimentos se orientan a la demanda de productos que cumplan con estrictas normas de sanidad, inocuidad y calidad; como consecuencia de un entorno comercial que se vuelve más exigente y competitivo debido a la globalización de los mercados y a la interdependencia económica (ICCA, 2008).

Por tanto, día a día salen al mercado alimentos que se ven en la necesidad de ser analizados para suplir las necesidades y preferencias de los consumidores sin comprometer su salud (Léon, 2006).

Para dar respuesta a éstas necesidades, se impulsó la creación de laboratorios que investiguen la calidad y condiciones en las que se encuentran los alimentos y así brindar asesoría a las personas y/o empresas productoras de comestibles.

Los análisis van desde la caracterización físico química hasta el microbiológico que conlleva a determinar la confiabilidad y verificar el cumplimiento de los niveles de calidad requeridos y pre establecidos para que puedan salir al mercado y tener aceptación entre los consumidores (Léon, 2006).

Por consiguiente, con el fin de garantizar el cumplimiento de los requisitos a la calidad y seguridad alimentaria, los laboratorios deben contar con métodos analíticos optimizados y fiables. Además, el análisis es un procedimiento fundamental mediante el cual se obtiene información, recolección de datos, que pasan previamente por un estudio exhaustivo y proporcionan confianza en los resultados (Universidad de Zaragoza, 2011).

La validación y verificación de métodos, son parte fundamental para que todo el sistema de gestión de calidad en un laboratorio de análisis cumpla con las normativas nacionales e internacionales, emplean un conjunto de parámetros que comprueban las hipótesis en las que se basa un método analítico que al mismo tiempo establece y documenta las características de rendimiento que demuestran la exactitud y precisión en los resultados (Universidad de Zaragoza, 2011).

Por otra parte, para llevar a cabo la validación y/o verificación de un método microbiológico hay que tener presente el rol que cumple: la calidad de los medios de cultivo a utilizar para la recuperación de la microflora bacteriana presente en el producto y la calibración y verificación de los equipos que se utilizan en este tipo de técnicas (Léon, 2006).

La información que se obtiene al estudiar la microflora alimentaria permite conocer las fuentes de contaminación y valorar las normas de higiene utilizadas en la elaboración y manipulación del alimento que se analiza, detectar la presencia de flora patógena (*E. coli*) que suponga un riesgo para la salud del consumidor y establecer en qué momento se producen fenómenos de alteración en los distintos alimentos, con el fin de delimitar su período de conservación (Anderson & Pascual, 2000).

Por último, para la correcta selección de un método analítico es preciso considerar todos aquellos factores que pueden influir en la validez del resultado para descartar de manera verás un valor erróneo (Métodos Analíticos, 2012).

#### **1.4.2. Microbiología de alimentos.**

La microbiología es el estudio de los microorganismos mediante la relación microorganismo-ambiente, entendiéndose como cualquier

organismo vivo imperceptible a la vista humana y que utiliza nutrientes del medio ambiente para producir desechos que lo alteran de forma substancial (Rugama & Castillo, 2010).

Según Sara Abu, 2008, “todas las etapas por las que pasan los alimentos antes de llegar al consumidor tienen el propósito de asegurar su higiene y reducir la incidencia de enfermedades infecciosas producidas por los microorganismos que se encuentran en ellos”.

Puesto que los alimentos están contaminados desde su origen (animal, planta o vegetal) hasta el transporte y venta, sin contar el momento de procesarlos (Abu, 2008), éstos se convierten en vehículos de infecciones (ingestión de microorganismos patógenos) o de intoxicaciones (ingestión de toxinas producidas por microorganismos) graves (Rugama & Castillo, 2010).

Por otra parte, existen microorganismos de diversos tipos y cada uno tiene diferentes condiciones o entornos ecológicos que les permiten sobrevivir y mantenerse resistentes. Por factores propios y externos, físicos y químicos, algunos son resistentes a temperaturas extremadamente frías o calientes, a ácidos, que se reproducen incluso con pequeñas cantidades de agua y oxígeno formando una sobrepoblación microbiana causantes de enfermedades (Abu, 2008).

Para controlar y/o evitar enfermedades, la microbiología tiene un rol importante para proporcionar conocimiento sobre procesos infecciosos, mejorar las prácticas sanitarias y aumentar el uso de agentes microbianos (Abu, 2008).

En fin, una de las principales actividades en la conservación y elaboración de alimentos es reducir la contaminación de los mismos, sea biótica o abiótica, para lo cual se necesita identificar los agentes

contaminantes y sus fuentes con lo que se caracteriza su potencial tóxico y en último lugar controlar los niveles de los contaminantes y así establecer programas prácticos para las personas involucradas en todos los sectores de la cadena alimentaria (Rugama & Castillo, 2010).

#### **1.4.3. Enfermedades de tipo alimentaria**

Ahora bien, son muchas las enfermedades transmitidas por alimentos y la gran parte de ellas son producidas por bacterias, virus, toxinas y parásitos; la mayoría de infecciones se deben a especies bacterianas de los géneros *Salmomella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli O157:H7* y a toxinas de especies bacterianas *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* (Pascual, 2005).

Según el Manual de Higiene Alimentaria, las enfermedades de tipo alimentaria se originan por el consumo de alimentos que poseen toxinas, que se reconocen por su sintomatología en las personas mediante la aparición de un cuadro agudo, en un lapso viable presente en un síndrome clínico característico (Piédrola, 2000).

#### **1.4.4. Microorganismos indicadores**

Los microorganismos indicadores son aquellos que advierten del manejo inapropiado de los alimentos y su presencia señala la existencia de microorganismos patógenos, su detección fácil y rápida en los laboratorios nos permite clasificarlos en bacterias anaerobias (*Escherichia coli* y coliformes totales) y aerobias (Castón, 2010).

En conclusión, hay que tener presente que un microorganismo marcador trabaja como índice (cuya presencia por encima de límites numéricos indica la posible presencia de patógenos) e indicador (cuya

presencia en cantidades determinadas indica un proceso o tratamiento de inocuidad inadecuado) al mismo tiempo (Varela & Martínez, 2006).

#### **1.4.5. Manipulación correcta de los alimentos**

- **Compra y recepción de la materia prima**

Según la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica “ANMAT”, 2008 la materia prima que se utiliza para la elaboración de los alimentos y aquellos que se encuentran listos para su consumo deben tener un control continuo y al mismo tiempo realizar un control y calificación de proveedores para conocer si están debidamente habilitados y fiscalizados por la Autoridad Sanitaria competente.

- **Prevención de la contaminación cruzada**

Se conoce como contaminación cruzada a la transferencia de bacterias de un alimento a otro y existen tres maneras para originarse: de comida a comida, de persona a comida y de equipos o utensilios a la comida (ANMAT, 2008).

Para evitar la contaminación cruzada se debe separar los alimentos crudos de los cocidos durante su almacenamiento y preparación, lavar las manos con agua y jabón entre la manipulación, luego desinfectar con alcohol o gel desinfectante, almacenar los diferentes productos adquiridos en congeladores diferentes y separados en fundas, limpiar adecuadamente y con frecuencia los lugares de almacenamiento, lavar minuciosamente los utensilios utilizados para manipular los comestibles y desinfectar superficies y equipos con productos especiales definidos para ello y con la ayuda de papel desechable (ANMAT, 2008).

- **Control de temperaturas**

El control de las temperaturas en la fase de almacenamiento tanto en frío como al momento de cocción, determina el factor más asociado a la transmisión de enfermedades por los alimentos. Así mismo, los equipos de refrigeración y de cocción deben poseer un termómetro, registro y medición de la temperatura de funcionamiento y, control de lavado y desinfección para facilitar los controles que se debe realizar semanalmente para la manipulación correcta del elaborador/ manipulador, inspector y consumidor (ANMAT, 2008).

- **Personal**

El personal debe tener el conocimiento necesario para manipular los alimentos dentro y fuera del lugar de trabajo para asegurar la inocuidad de los mismos (ANMAT, 2008).

Puesto que quienes manipulan los alimentos son los vehículos principales de la transmisión de bacterias por medio de sus manos, el lavado y desinfección de manos constante y adecuado es un requisito por parte del personal (ANMAT, 2008).

Finalmente, la ropa del personal debe ser adecuada para cada trabajo dentro y fuera de las instalaciones donde se procesan los alimentos y que deben ser cambiadas, desinfectadas, lavadas y secadas de manera adecuada para evitar contaminar otras superficies y los alimentos (ANMAT, 2008).

- **Limpieza y desinfección**

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, 2008 dice que es necesario realizar tareas de limpieza y desinfección diariamente para asegurar que todos los lugares en el sitio de trabajo (pisos, paredes, techos, áreas auxiliares) estén apropiadamente limpias, incluyendo los equipos y utensilios que se utilizan para cada tarea mediante el uso de productos químicos en función de un procedimiento adecuado.

#### **1.4.6. Inocuidad y calidad de alimentos**

La palabra inocuidad en alimentos engloba todos los riesgos que los alimentos pueden crear en la salud del consumidor, sean crónicos o agudos (Calaña & Chais, 2009).

Según los hábitos de consumo de la población, el objetivo de la inocuidad alimentaria es eliminar y/o controlar los factores, elementos o agentes presentes en los alimentos que sean de riesgo para la salud de los consumidores y que inciden de manera directa en la morbi-mortalidad (Ministerio de Salud Pública de Chile, 2000).

El consumidor demanda calidad, es decir que el valor de cada producto engloba atributos negativos, como estado de descomposición, contaminación con suciedad, decoloración y olores desagradables; y positivos como origen, color, aroma, textura y métodos de elaboración de los alimentos (Calaña & Chais, 2009).

Para el fin mencionado los alimentos pasan por un control obligatorio que realizan las autoridades nacionales o locales para proteger al consumidor y garantizar que todos los alimentos durante su producción,

manipulación, almacenamiento, elaboración y distribución sean inocuos, sanos y aptos para el consumo humano, cumpliendo con los requisitos de inocuidad y calidad de acuerdo con las disposiciones de la ley vigente (Calaña & Chais, 2009).

### **1.5. Sistema de hipótesis**

Es posible determinar la carga bacteriana en muestras de alimentos al verificar y aplicar tanto el método AOAC 990.12 para aerobios mesófilos, como el método AOAC 991.14 para coliformes totales en alimentos preparados.

## **CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Participantes.**

La presente investigación se realizó con el apoyo del Colegio Americano Junior College, Hotel Dann Carlton y Hotel Casa Gangotena, Quito 2012-2013.

### **2.2. Zona de estudio.**

El Colegio Americano Junior College, Hotel Dann Carlton y Hotel Casa Gangotena consta de diferentes áreas que comprenden: pastelería, cocina-producción, cocina-restaurant, cocina fría, cocina caliente y lugares de expendio al consumidor final; de las cuales se seleccionó y recolectó siete muestras al azar entre alimentos crudos, cocidos y platos ya preparados.

La investigación se realizó en la zona norte, centro y centro-sur ubicados en las direcciones siguientes: avenida Manuel Benigno Cueva N80-190, avenida República de El Salvador N34-377 y avenida Bolívar Oe6-41 y Cuenca, respectivamente.

### **2.3. Periodo de tiempo de investigación.**

El proyecto de tesis **“Determinación de la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales mediante la verificación previa de los métodos AOAC 990.12 y 991.14, respectivamente, en alimentos preparados. Quito–Ecuador, 2013”**, se llevó a cabo desde 01 de julio del 2012 hasta el 15 de febrero del 2013.

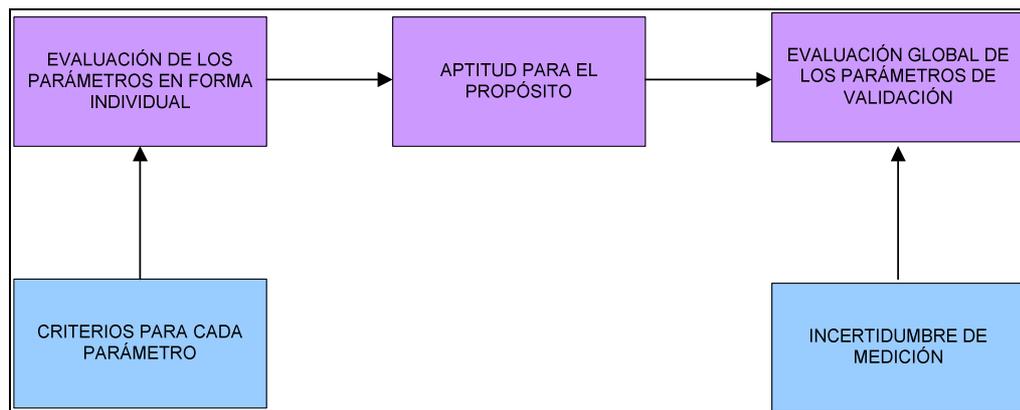
### **2.4. Diseño estadístico.**

Gracias a resultados obtenidos en análisis previos de diferentes alimentos que el laboratorio CEA realizó, se los clasificó según su: manipulación, ingredientes, preparación, almacenamiento, limpieza de la materia prima y tiempo de expendio al consumidor.

Para verificar los métodos AOAC 990.12 y 990.14 se requirió seleccionar un alimento al azar considerando su relevancia al ser causante de enfermedades, para lo cual la matriz que se escogió se evaluó en tres niveles de concentración bajo, medio y alto.

La verificación de los métodos se realizó mediante la guía internacional AOAC, que toma en cuenta los parámetros de repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, robustez, límite de detección y cuantificación en base a un diseño en bloques completamente al azar; y con el análisis de las muestras inter-laboratorios (laboratorio LASA y BIOLAB) lo que permitió comprobar que se aplicó de forma adecuada el método 990.12 y 991.14.

Para verificar los métodos AOAC 990.12 y 991.14 se utilizó la figura 2.1 como referencia de la Eurachem para determinar el orden secuencial de la validación dada por la norma ISO 17025.



**Figura 2. 1. Secuencia de validación de métodos(Eurachem, 1998)**

Se controlaron diferentes factores que influyen directamente en la verificación de los métodos tales como la temperatura de incubación, el tiempo de incubación para leer los resultados, la cantidad de muestra a sembrar en las placas petrifilm, el pesaje de la muestra para mantener la relación con el diluyente de 1:10, los equipos de incubación y al analista que realiza los conteos (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

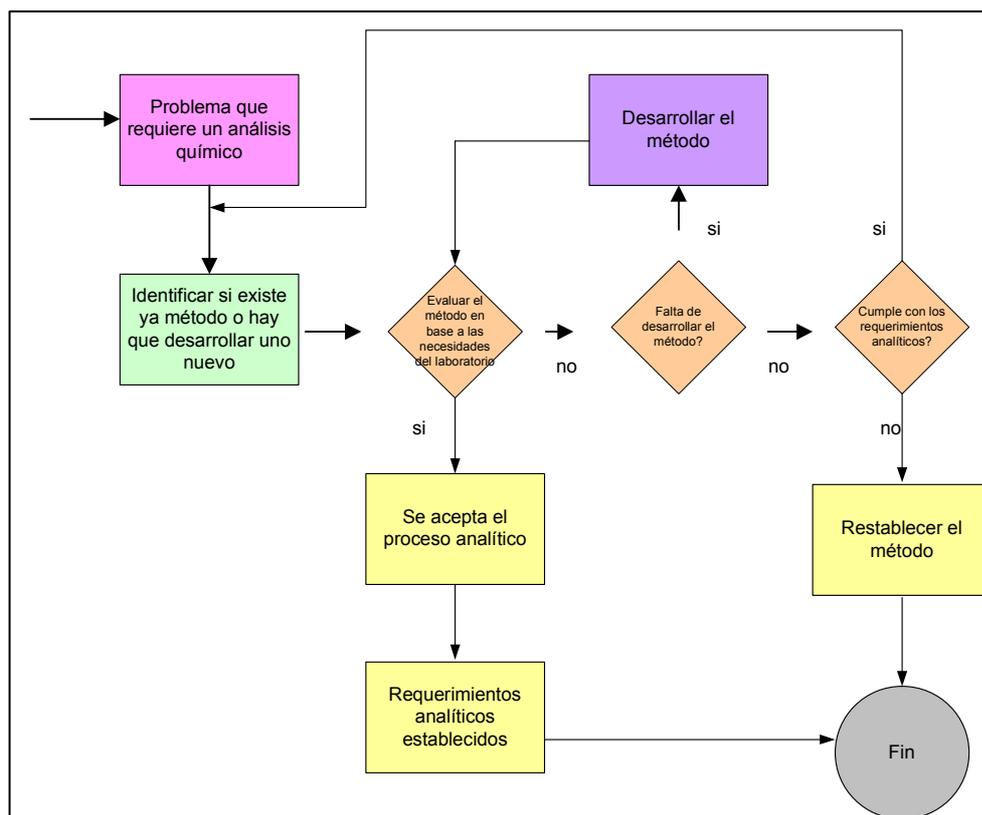
Mediante dos siembras del mismo alimento en los medios respectivos para la determinación de aerobios mesófilos y coliformes totales, se valoró el grado de repetibilidad de la carga bacteriana. El criterio de aceptación para este ensayo se determinó durante la verificación con el cálculo de la incertidumbre expandida.

## **2.5. Metodología.**

### **2.5.1. Verificación del método.**

La verificación de los métodos AOAC 990.12 y 990.14 se basan en la guía de la Eurachem, 1998; que indica los pasos y/o procedimiento a seguir para confirmar que los ya validados por estándares de organizaciones y aprobadas como AOAC internacional, son aplicados de manera correcta.

Lo que nos lleva a entender que la validación es la implementación de una metodología nueva mientras que la verificación es confirmar y/o mejorar el procedimiento a utilizar, como lo establece la Eurachem en la figura 2.2.



**Figura 2. 2. Elección, desarrollo y evaluación de los métodos según (Eurachem, 1998)**

Para la selección de parámetros, niveles y repeticiones se utilizó la matriz seleccionada al azar, ají, que se prepara de varias maneras y posee ingredientes diferentes en el Colegio Americano Junior College, Hotel Dann Carlton y Hotel Casa Gangotena que se recolectaron en tres fundas estériles que permiten evaluar los niveles bajo, medio y alto de concentración.

Los parámetros a evaluar en el ají recolectado en las tres instituciones, según la Eurachem, se midieron en tres niveles de

concentración bajo, medio y alto lo que permitió evaluar al mismo tiempo el límite de reproducibilidad y repetibilidad cada uno con el número de repeticiones establecidas como se indica en la tabla 2.1.

**Tabla 2. 1. Sistemática para la verificación de métodos según la (Eurachem, 1998)**

Parámetro	Niveles	Repeticiones
Límite de Detección	1	10
Límite de Cuantificación	1	10
Repetibilidad	3	10
Reproducibilidad	3	10
Exactitud	3	10
Robustez	3	10
<b>Total</b>		<b>140</b>

Se utilizó una funda muestreada de ají criollo, manaba y crudo de las tres recolectadas para verificar cada nivel de concentración.

En el nivel bajo de concentración se pesó en un recipiente de vidrio estéril 5 g de muestra (ají criollo, manaba y crudo) con 45 mL de diluyente (caldo nutritivo) y se esterilizó en el autoclave. Posteriormente se sembró en los petrifilm.

Para el nivel medio se sembró la muestra recolectada con diluciones ( $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ ) para aerobios mesófilos y solamente con ( $10^{-1}$ ) para coliformes totales y *E. coli*.

Cada una de las fundas recolectadas restante se dejaron al ambiente en un lugar estéril del laboratorio para que las bacterias se multipliquen de manera normal y se sembró con diluciones ( $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ ) para aerobios mesófilos y solamente con ( $10^{-1}$ ) para coliformes totales y *E. coli*.

Para el límite de detección se evaluó haciendo siembra por reproducibilidad, es decir de las diez muestras cinco las sembró un analista y las restantes otra.

Para el límite de cuantificación se evaluó haciendo siembra por repetibilidad, es decir de las diez muestras las sembró un mismo analista.

Por otra parte, para determinar la exactitud se usaron pellets que poseen de 1-10 UFC/pellet de bacterias *Escherichia coli* ATCC 25922 que se sembró en conjunto con una muestra de ají no determinado para obtener una recuperabilidad de la muestra al 100%.

De la misma manera, para el análisis de linealidad se sembró consecutivamente la muestra de ají indistinto más la cepa ATCC 25922 en diluciones que van desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ .

Como último se realizó un control de calidad interno (CCI) mediante la siembra por duplicado de un alimento seleccionado al azar de cada diez que se muestrean.

### **2.5.2. Muestreo.**

Se recolectó muestras dos veces al mes entre el período agosto 2012 – febrero 2013, con excepción del colegio Americano en el cual se muestreó una vez cada seis meses.

El intervalo de tiempo entre cada muestro no influye en el análisis estadístico que se realiza en los resultados obtenidos.

Una vez fijadas las fechas de muestreo en cada institución, al momento de recolectar los alimentos se colocó ya sean estos sólidos o líquidos en una funda estéril Stomacher etiquetada con el nombre y código del producto (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Las muestras seleccionadas fueron al azar entre alimentos crudos y cocidos, jugos, ensaladas, vinagretas y materia prima, pero con una muestra de ají obligatoriamente que se utilizó como matriz para la verificación del método.

El transporte se realizó en cadena de frío en un recipiente con hielo, se almacenaron las muestras según su naturaleza evitando su rotura o deterioro, en el menor tiempo posible llegaron al laboratorio, con el control de temperatura y tiempo, y así evitar la multiplicación de bacterias, de esta manera los resultados reflejan la flora que, cualitativamente y cuantitativamente, estaba presente en el alimento al momento del muestreo.

Una vez en el laboratorio, se escribieron los datos de cada muestra en el registro interno de trabajo de alimentos con el código correspondiente de cada alimento.

A continuación se realizó la trituración de alimentos sólidos cuidando la integridad de los mismos para evitar la destrucción de los gérmenes por ruptura de la membrana.

Para pesar la muestra con exactitud y evitar la manipulación excesiva se procedió a esterilizar un frasco de vidrio con el que se enceró la balanza previamente.

Segundo, asépticamente se pesó la muestra (manteniendo la relación 1:10 con el diluyente)  $10 \pm 0.1$  g de muestra representativa dentro

del recipiente estéril y se agregó 90 mL de diluyente, como lo muestra la tabla 2.2 para la relación peso-diluyente de la muestra (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

**Tabla 2. 2. Relación peso-diluyente de la muestra (Pérez, 2013)**

"A" Cantidad pesada (g)	Cantidad pesada X 9	Resultado	"B" Cantidad de diluyente a agregar (mL)	Sumatoria de A+B=C	División para obtener relación 1:10 (A/C)
1	1 x 9	9	9	10	1:10
5	5 x 9	45	45	50	5:50=1:10
10	10 x 9	90	90	100	10:100=1:10

Por último se homogenizó la muestra por un lapso de un minuto a velocidad media con agitación suave (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Previo a la siembra de la muestra, se rotularon las membranas petrifilm, para microorganismos aerobios mesófilos y *E. coli*-coliformes totales, con el código de la muestra y dilución correspondiente (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Para sembrar en las membranas ya rotuladas se levantó la laminilla de plástico y se inoculó un mililitro de acuerdo a lo descrito en la tabla 2.2, evitando la formación de burbujas de aire, se procedió a bajarla y se colocó el aplicador con la cara lisa hacia arriba en el centro de la placa ejerciendo fuerza para que la muestra se distribuya uniformemente antes de que se forme el gel (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Se retiró el aplicador después de un minuto para permitir que solidifique el gel; se procedió a incubar las membranas en posición horizontal, cara arriba, en pilas 20 a 35°C ± 1°C por 48 ± 3 horas como lo especifica la norma AOAC, con un vaso de precipitación lleno de agua

destilada lo cual humidifica la incubadora y favorece el crecimiento de las bacterias (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Se realizó un mínimo de dos diluciones para cada uno de los métodos; en el caso de ser necesario se diluyó la muestra hasta  $10^{-5}$  principalmente para obtener un conteo dentro de parámetros para el nivel alto (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Finalmente, al momento de realizar el conteo de colonias para aerobios mesófilos se seleccionaron membranas que presentaban un rango de conteo entre 30 y 300 colonias, mientras que para coliformes totales las colonias debían encontrarse en un rango de 15 a 150 colonias las mismas que se expresaron en UFC/g (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

## **2.6. Análisis de datos.**

Para analizar los valores obtenidos, se hizo uso del programa estadístico InfoStat en el cual, se realiza un histograma que permite evaluar la reproducibilidad en el ají criollo, crudo y manaba en sus tres niveles de concentración e identifica de manera visual si existe una diferencia significativa entre las medias entre los dos analistas.

El análisis de varianza para reproducibilidad se realiza por medio de las pruebas de Tukey y Duncan que permiten corroborar con datos estadísticos, evidencia objetiva, si las medias entre los analistas son o no diferentes.

Al momento de evaluar repetibilidad el diagrama de puntos nos permitirá observar gráficamente sólo la diferencia de medias entre el ají criollo, manaba y crudo ya que es un único analista quien realiza las

repeticiones y por dicho motivo no es necesario realizar las pruebas de Tukey y Duncan.

Una vez que se identifica en reproducibilidad y repetibilidad que existe diferencia entre las medias de los tres ajíes se procederá a realizar la prueba de F o Fisher que comprueba por medio del cálculo de la probabilidad ( $p \geq 0.05$ ) si hay o no diferencia entre las medias.

Finalmente, con el valor obtenido de la probabilidad (p) se procede a calcular los valores máximos y mínimos (límites de detección y cuantificación) que son los rangos entre los cuales deben encontrarse los valores que se obtengan de la siembra por duplicado para el Control de Calidad Interno (CCI) aplicando las siguientes fórmulas:

$$L_{R1} = 1,96 * S_1 \quad L_{R2} = 1,96 * S_2$$

$$L_{r1} = 1,96 * S_1 \quad L_{r2} = 1,96 * S_2$$

Donde:

R= reproducibilidad

r= repetibilidad

Para el Control de Calidad Interno se realizó la siembra por duplicado de un alimento escogido al azar de cada diez que se muestreen hasta obtener un mínimo de treinta valores que servirán para graficar en las cartas de control y evaluar si el procedimiento se realiza de manera correcta.

Por otra parte se realizará el cálculo de la incertidumbre para obtener los límites de las cartas de control teniendo en cuenta las fuentes y/o componentes que se encuentran medidos en condiciones definidas o diferentes como se observa en el anexo 1 que indica el diagrama de causa-efecto.

En el cálculo de la incertidumbre expandida, primeramente se utiliza el valor de incertidumbre de la balanza y estufa que el personal de metrología obtiene al momento de calibrar los equipos.

Para repetibilidad se utiliza el menor valor entre las desviaciones estándar obtenidas de los tres ajíes y en el nivel alto se saca la raíz cuadrada igualmente de las desviaciones estándar.

Otro valor a tomar en cuenta es la raíz cuadra del valor de la desviación estándar al momento de realizar la exactitud por recuperabilidad.

Finalmente, la incertidumbre expandida (U) para aerobios mesófilos y coliformes totales en los niveles medio y alto es la raíz cuadrada de la sumatoria de todos los cuadrados de los valores obtenidos anteriormente multiplicados por el factor de cobertura que es constante ( $k=2$ ), para un 95% de intervalo de confianza, y así se establece el intervalo superior e inferior dentro de los cuales los valores obtenidos en las siembras por duplicado se deben encontrar.

Para establecer los criterios de aceptación entre los cuales deben estar los valores obtenidos en el estudio, se calcula el porcentaje de incertidumbre expandida con el valor de U dividido en cada nivel por el valor más alto obtenido en la concentración de bacterias y todo eso dividido para cien, dicho resultado se debe encontrar 30% y así se aprueban los criterios.

Con los límites de cuantificación y detección y el rango obtenido con el cálculo de la incertidumbre se grafica las cartas de control, que son los valores sembrados por duplicado graficados en los intervalos, e indica si los resultados se encuentran dentro del rango permitido para conocer los posibles errores en el método y corregirlos.

Para determinar la exactitud recuperabilidad se utiliza cualquier ají y la cepa de bacterias ATCC 25922 de *E. coli*, ya que poseen una cantidad conocida de bacterias.

Primero lo siembra el ají solo y después la mezcla el ají con la cepa cuantificada ATCC en dos diluciones cada una, para determinar la recuperabilidad de la muestra se resta el valor obtenido de la mezcla (ají + ATCC) del valor del ají solo y el resultado debe indicar que se recuperó el 100% de bacterias *E. coli*.

La linealidad se obtiene al sembrar consecutivamente una muestra indistinta de ají en cinco diluciones diferentes.

Para todos los análisis y estudios estadísticos se calcula el logaritmo natural de los resultados para obtener valores pequeños y se observe de mejor las gráficas.

## CAPÍTULO 3: RESULTADOS

### 3.1. Resultados de las siembras

Al esterilizar el ají en el autoclave se obtuvo 0 UFC/g para el nivel bajo de concentración, lo que indica que no crecieron bacterias aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli* evaluadas en repetibilidad y reproducibilidad como a continuación se indican en la tabla 3.1 y 3.2 e indica que el proceso de esterilización se encuentra verificado. El anexo 2 indica las tablas de los resultados obtenidos para los ajíes manaba y crudo.

**Tabla 3. 1. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel bajo para Ají Criollo evaluado en reproducibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL BAJO)				
REPRODUCIBILIDAD				
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCIÓN DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE DETECCIÓN)
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-01	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-02	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-03	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-04	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-05	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-06	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-07	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-08	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-09	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJÍ CRIOLLO	15081201-10	10 <sup>-1</sup>	0

**Tabla 3. 2. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel bajo para Ají Criollo evaluado en repetibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL BAJO)				
REPETIBILIDAD				
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN)
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-11	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-12	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-13	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-14	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-15	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-16	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-17	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-18	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-19	10 <sup>-1</sup>	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-20	10 <sup>-1</sup>	0

En el conteo de colonias para aerobio mesófilos se obtuvo como resultado valores que sobrepasan el límite establecido por la AOAC para aerobio mesófilos,  $1 \times 10^5$  UFC/g, en el ají criollo por lo que se establecieron dichos valores en el nivel alto de concentración como se muestra en la tabla 3.3.

**Tabla 3. 3. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel alto para Ají Criollo.**

AEROBIO MESOFILOS (NIVEL ALTO)				
REPRODUCIBILIDAD				
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE DETECCIÓN)
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-21	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-22	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-23	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-24	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-25	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-26	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-27	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-28	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-29	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-30	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-31	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-32	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-33	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-34	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-35	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-36	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-37	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-38	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-39	10 <sup>-2</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-40	10 <sup>-2</sup>	1000000

AEROBIO MESOFILOS (NIVEL ALTO)				
REPETIBILIDAD				
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN)
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-41	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-42	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-43	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-44	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-45	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-46	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-47	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-48	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-49	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-50	10 <sup>-1</sup>	1000000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-51	10 <sup>-2</sup>	272000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-52	10 <sup>-2</sup>	252000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-53	10 <sup>-2</sup>	244000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-54	10 <sup>-2</sup>	256000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-55	10 <sup>-2</sup>	276000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-56	10 <sup>-2</sup>	200000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-57	10 <sup>-2</sup>	240000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-58	10 <sup>-2</sup>	200000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-59	10 <sup>-2</sup>	206000
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-60	10 <sup>-2</sup>	240000

El nivel medio de aerobio mesófilos se realizó con 4 y 5 diluciones al ají criollo y se obtuvo valores dentro del rango establecido como se observa en la tabla 3.4.y 3.5.

**Tabla 3. 4. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Criollo evaluado en reproducibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)							
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCIÓN DE LA MUESTRA	REPRODUCIBILIDAD			
				RESULTADO ( LÍMITE DE DETECCIÓN)			
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-61	10 <sup>-4</sup>	62	20	10000	12400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-62	10 <sup>-4</sup>	61	20	10000	12200000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-63	10 <sup>-4</sup>	59	20	10000	11800000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-64	10 <sup>-4</sup>	59	20	10000	11800000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-65	10 <sup>-4</sup>	57	20	10000	11400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-66	10 <sup>-4</sup>	71	20	10000	14200000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-67	10 <sup>-4</sup>	72	20	10000	14400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-68	10 <sup>-4</sup>	68	20	10000	13600000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-69	10 <sup>-4</sup>	66	20	10000	13200000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-70	10 <sup>-4</sup>	70	20	10000	14000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-71	10 <sup>-5</sup>	13	20	100000	26000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-72	10 <sup>-5</sup>	14	20	100000	28000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-73	10 <sup>-5</sup>	14	20	100000	28000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-74	10 <sup>-5</sup>	16	20	100000	32000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-75	10 <sup>-5</sup>	18	20	100000	36000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-76	10 <sup>-5</sup>	17	20	100000	34000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-77	10 <sup>-5</sup>	18	20	100000	36000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-78	10 <sup>-5</sup>	15	20	100000	30000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-79	10 <sup>-5</sup>	16	20	100000	32000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-80	10 <sup>-5</sup>	18	20	100000	36000000

**Tabla 3. 5. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Criollo evaluado en repetibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)							
REPETIBILIDAD							
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE CUANTIFICACION)			
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-81	10 <sup>-4</sup>	57	20	10000	11400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-82	10 <sup>-4</sup>	55	20	10000	11000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-83	10 <sup>-4</sup>	58	20	10000	11600000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-84	10 <sup>-4</sup>	62	20	10000	12400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-85	10 <sup>-4</sup>	62	20	10000	12400000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-86	10 <sup>-4</sup>	56	20	10000	11200000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-87	10 <sup>-4</sup>	59	20	10000	11800000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-88	10 <sup>-4</sup>	60	20	10000	12000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-89	10 <sup>-4</sup>	60	20	10000	12000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-90	10 <sup>-4</sup>	50	20	10000	10000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-91	10 <sup>-5</sup>	13	20	100000	26000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-92	10 <sup>-5</sup>	17	20	100000	34000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-93	10 <sup>-5</sup>	15	20	100000	30000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-94	10 <sup>-5</sup>	14	20	100000	28000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-95	10 <sup>-5</sup>	22	20	100000	44000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-96	10 <sup>-5</sup>	18	20	100000	36000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-97	10 <sup>-5</sup>	20	20	100000	40000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-98	10 <sup>-5</sup>	19	20	100000	38000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-99	10 <sup>-5</sup>	18	20	100000	36000000
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-100	10 <sup>-5</sup>	19	20	100000	38000000

Se obtuvo resultados similares en el ají manaba y, aunque los valores no sobrepasaban el límite se los consideró para el nivel alto como se observa en la tabla 3.6. para obtener un conteo de bacterias visibles en el petrifilm.

**Tabla 3. 6. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel alto para Ají Manaba.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL ALTO)						
REPRODUCIBILIDAD						
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE DETECCIÓN)		
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-21	10 <sup>-1</sup>	48	10	480
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-22	10 <sup>-1</sup>	128	10	1280
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-23	10 <sup>-1</sup>	56	10	560
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-24	10 <sup>-1</sup>	150	10	1500
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-25	10 <sup>-1</sup>	74	10	740
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-26	10 <sup>-1</sup>	169	10	1690
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-27	10 <sup>-1</sup>	116	10	1160
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-28	10 <sup>-1</sup>	119	10	1190
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-29	10 <sup>-1</sup>	118	10	1180
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-30	10 <sup>-1</sup>	200	10	2000
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-31	10 <sup>-2</sup>	29	100	2900
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-32	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-33	10 <sup>-2</sup>	33	100	3300
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-34	10 <sup>-2</sup>	27	100	2700
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-35	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-36	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-37	10 <sup>-2</sup>	33	100	3300
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-38	10 <sup>-2</sup>	46	100	4600
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-39	10 <sup>-2</sup>	27	100	2700
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-40	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
REPETIBILIDAD						
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE CUANTIFICACIÓN)		
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-41	10 <sup>-1</sup>	125	10	1250
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-42	10 <sup>-1</sup>	186	10	1860
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-43	10 <sup>-1</sup>	88	10	880
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-44	10 <sup>-1</sup>	203	10	2030
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-45	10 <sup>-1</sup>	108	10	1080
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-46	10 <sup>-1</sup>	137	10	1370
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-47	10 <sup>-1</sup>	122	10	1220
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-48	10 <sup>-1</sup>	189	10	1890
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-49	10 <sup>-1</sup>	167	10	1670
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-50	10 <sup>-1</sup>	34	10	340
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-51	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-52	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-53	10 <sup>-2</sup>	32	100	3200
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-54	10 <sup>-2</sup>	32	100	3200
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-55	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-56	10 <sup>-2</sup>	36	100	3600
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-57	10 <sup>-2</sup>	25	100	2500
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-58	10 <sup>-2</sup>	33	100	3300
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-59	10 <sup>-2</sup>	33	100	3300
15/08/2012	AJI MANABA	15081202-60	10 <sup>-2</sup>	26	100	2600

En los valores para el nivel medio se obtuvo manteniendo la segunda dilución del nivel alto y realizando una más y dio como resultado cantidades similares y menores a los obtenidos anteriormente, como se muestra en la tabla 3.7. y 3.8., con el fin de diferenciar los dos niveles.

**Tabla 3. 7. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Manaba evaluado en reproducibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)						
REPRODUCIBILIDAD						
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE DETECCIÓN)		
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-61	10 <sup>-2</sup>	47	100	4700
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-62	10 <sup>-2</sup>	37	100	3700
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-63	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-64	10 <sup>-2</sup>	29	100	2900
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-65	10 <sup>-2</sup>	25	100	2500
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-66	10 <sup>-2</sup>	29	100	2900
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-67	10 <sup>-2</sup>	39	100	3900
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-68	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-69	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-70	10 <sup>-2</sup>	40	100	4000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-71	10 <sup>-3</sup>	8	1000	8000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-72	10 <sup>-3</sup>	5	1000	5000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-73	10 <sup>-3</sup>	5	1000	5000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-74	10 <sup>-3</sup>	6	1000	6000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-75	10 <sup>-3</sup>	8	1000	8000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-76	10 <sup>-3</sup>	14	1000	14000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-77	10 <sup>-3</sup>	5	1000	5000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-78	10 <sup>-3</sup>	4	1000	4000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-79	10 <sup>-3</sup>	4	1000	4000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-80	10 <sup>-3</sup>	8	1000	8000

**Tabla 3. 8. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Aji Manaba evaluado en repetibilidad.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)						
REPETIBILIDAD						
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE CUANTIFICACION)		
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-81	10 <sup>-2</sup>	28	100	2800
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-82	10 <sup>-2</sup>	34	100	3400
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-83	10 <sup>-2</sup>	31	100	3100
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-84	10 <sup>-2</sup>	44	100	4400
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-85	10 <sup>-2</sup>	45	100	4500
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-86	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-87	10 <sup>-2</sup>	32	100	3200
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-88	10 <sup>-2</sup>	30	100	3000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-89	10 <sup>-2</sup>	31	100	3100
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-90	10 <sup>-2</sup>	28	100	2800
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-91	10 <sup>-3</sup>	2	1000	2000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-92	10 <sup>-3</sup>	6	1000	6000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-93	10 <sup>-3</sup>	10	1000	10000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-94	10 <sup>-3</sup>	10	1000	10000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-95	10 <sup>-3</sup>	5	1000	5000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-96	10 <sup>-3</sup>	11	1000	11000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-97	10 <sup>-3</sup>	10	1000	10000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-98	10 <sup>-3</sup>	9	1000	9000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-99	10 <sup>-3</sup>	6	1000	6000
16/08/2012	AJI MANABA	16081202-100	10 <sup>-3</sup>	9	1000	9000

Por el contrario el nivel medio del ají crudo en las dos diluciones respectivas (10<sup>-1</sup> y 10<sup>-2</sup>) dio como resultado valores admisibles dentro del rango como se observa en la tabla 3.9. y, el nivel alto al sembrarlo como indica el capítulo 2 evidenció concentraciones mayores como se observa en la tabla A.4.1. del anexo 4.

**Tabla 3. 9. Resultados obtenidos en la determinación de aerobios mesófilos en el nivel medio para Ají Crudo.**

AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)						
REPRODUCIBILIDAD						
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE DETECCIÓN)		
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-21	10 <sup>-1</sup>	32	10	320
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-22	10 <sup>-1</sup>	40	10	400
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-23	10 <sup>-1</sup>	44	10	440
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-24	10 <sup>-1</sup>	49	10	490
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-25	10 <sup>-1</sup>	43	10	430
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-26	10 <sup>-1</sup>	40	10	400
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-27	10 <sup>-1</sup>	33	10	330
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-28	10 <sup>-1</sup>	30	10	300
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-29	10 <sup>-1</sup>	38	10	380
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-30	10 <sup>-1</sup>	34	10	340
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-31	10 <sup>-2</sup>	5	100	500
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-32	10 <sup>-2</sup>	8	100	800
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-33	10 <sup>-2</sup>	13	100	1300
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-34	10 <sup>-2</sup>	9	100	900
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-35	10 <sup>-2</sup>	6	100	600
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-36	10 <sup>-2</sup>	11	100	1100
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-37	10 <sup>-2</sup>	12	100	1200
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-38	10 <sup>-2</sup>	12	100	1200
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-39	10 <sup>-2</sup>	10	100	1000
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-40	10 <sup>-2</sup>	8	100	800
AEROBIOS MESÓFILOS (NIVEL MEDIO)						
REPETIBILIDAD						
FECHA DEL ANÁLISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE CUANTIFICACIÓN)		
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-41	10 <sup>-1</sup>	31	10	310
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-42	10 <sup>-1</sup>	22	10	220
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-43	10 <sup>-1</sup>	35	10	350
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-44	10 <sup>-1</sup>	31	10	310
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-45	10 <sup>-1</sup>	36	10	360
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-46	10 <sup>-1</sup>	37	10	370
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-47	10 <sup>-1</sup>	52	10	520
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-48	10 <sup>-1</sup>	37	10	370
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-49	10 <sup>-1</sup>	28	10	280
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-50	10 <sup>-1</sup>	38	10	380
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-51	10 <sup>-2</sup>	4	100	400
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-52	10 <sup>-2</sup>	8	100	800
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-53	10 <sup>-2</sup>	10	100	1000
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-54	10 <sup>-2</sup>	11	100	1100
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-55	10 <sup>-2</sup>	13	100	1300
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-56	10 <sup>-2</sup>	2	100	200
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-57	10 <sup>-2</sup>	1	100	100
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-58	10 <sup>-2</sup>	11	100	1100
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-59	10 <sup>-2</sup>	10	100	1000
16/08/2012	AJI CRUDO	16081203-60	10 <sup>-2</sup>	10	100	1000

En el nivel medio para determinar coliformes totales y *E. coli* se obtuvo valores sólo para el ají criollo como se observa en la tabla 3.10., mientras que para el ají manaba y crudo no hubo crecimiento bacteriano como el anexo 3 lo evidencia.

**Tabla 3. 10. Resultados obtenidos en la determinación de Coliformes totales y *E. coli* en el nivel medio para Ají Criollo.**

COLIFORMES TOTALES - <i>E. Coli</i> (NIVEL MEDIO)											
REPRODUCIBILIDAD											
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE DETECCION)						LOG	
				COLIFORMES TOTALES			<i>Escherichia Coli</i>			COLIFORMES TOTALES	<i>Escherichia Coli</i>
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-21	10 <sup>-1</sup>	37	10	370	2	10	20	2,56820172	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-22	10 <sup>-1</sup>	35	10	350	3	10	30	2,54406804	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-23	10 <sup>-1</sup>	32	10	320	3	10	30	2,50514998	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-24	10 <sup>-1</sup>	26	10	260	2	10	20	2,41497335	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-25	10 <sup>-1</sup>	40	10	400	3	10	30	2,60205999	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-26	10 <sup>-1</sup>	47	10	470	2	10	20	2,67209786	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-27	10 <sup>-1</sup>	46	10	460	5	10	50	2,66275783	1,69897
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-28	10 <sup>-1</sup>	51	10	510	2	10	20	2,70757018	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-29	10 <sup>-1</sup>	45	10	450	2	10	20	2,65321251	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-30	10 <sup>-1</sup>	82	10	820	3	10	30	2,91381385	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-31	10 <sup>-2</sup>	17	100	1700	1	100	100	3,23044892	2
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-32	10 <sup>-2</sup>	17	100	1700	0	100	0	3,23044892	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-33	10 <sup>-2</sup>	17	100	1700	0	100	0	3,23044892	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-34	10 <sup>-2</sup>	18	100	1800	0	100	0	3,25527251	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-35	10 <sup>-2</sup>	10	100	1000	0	100	0	3	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-36	10 <sup>-2</sup>	23	100	2300	0	100	0	3,36172784	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-37	10 <sup>-2</sup>	13	100	1300	0	100	0	3,11394335	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-38	10 <sup>-2</sup>	14	100	1400	0	100	0	3,14612804	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-39	10 <sup>-2</sup>	16	100	1600	0	100	0	3,20411998	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-40	10 <sup>-2</sup>	3	100	300	0	100	0	2,47712125	0

COLIFORMES TOTALES - <i>E. Coli</i> (NIVEL MEDIO)											
REPETIBILIDAD											
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCION DE LA MUESTRA	RESULTADO ( LIMITE DE CUANTIFICACION)						LOG	
				COLIFORMES TOTALES			<i>Escherichia Coli</i>			COLIFORMES TOTALES	<i>Escherichia Coli</i>
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-41	10 <sup>-1</sup>	43	10	430	3	10	30	2,63346846	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-42	10 <sup>-1</sup>	45	10	450	2	10	20	2,65321251	1,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-43	10 <sup>-1</sup>	42	10	420	3	10	30	2,62324929	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-44	10 <sup>-1</sup>	51	10	510	4	10	40	2,70757018	1,60205999
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-45	10 <sup>-1</sup>	40	10	400	4	10	40	2,60205999	1,60205999
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-46	10 <sup>-1</sup>	45	10	450	3	10	30	2,65321251	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-47	10 <sup>-1</sup>	42	10	420	6	10	60	2,62324929	1,77815125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-48	10 <sup>-1</sup>	40	10	400	3	10	30	2,60205999	1,47712125
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-49	10 <sup>-1</sup>	46	10	460	4	10	40	2,66275783	1,60205999
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-50	10 <sup>-1</sup>	42	10	420	4	10	40	2,62324929	1,60205999
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-51	10 <sup>-2</sup>	17	100	1700	0	100	0	3,23044892	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-52	10 <sup>-2</sup>	16	100	1600	1	100	100	3,20411998	2
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-53	10 <sup>-2</sup>	21	100	2100	1	100	100	3,32221929	2
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-54	10 <sup>-2</sup>	16	100	1600	0	100	0	3,20411998	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-55	10 <sup>-2</sup>	21	100	2100	2	100	200	3,32221929	2,30103
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-56	10 <sup>-2</sup>	19	100	1900	1	100	100	3,2787536	2
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-57	10 <sup>-2</sup>	18	100	1800	0	100	0	3,25627251	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-58	10 <sup>-2</sup>	17	100	1700	1	100	100	3,23044892	2
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-59	10 <sup>-2</sup>	7	100	700	0	100	0	2,84509804	0
15/08/2012	AJI CRIOLLO	15081201-60	10 <sup>-2</sup>	9	100	900	0	100	0	2,95424251	0

En el nivel alto de coliformes totales y *E. coli*, al nutrir el ají crudo y manaba con bacterias del ají criollo, se obtuvo valores dentro del rango permitido por la AOAC (coliformes totales:  $1 \times 10^3$ , *E. coli*:  $1 \times 10$ ) como se observa en el anexo 4 y, el ají criollo al contener concentraciones altas la muestra se diluyó 5 y 6 veces para obtener valores para el nivel alto como se observa en la tabla 3.11.

**Tabla 3. 11. Resultados obtenidos en la determinación de Coliformes totales y *E. coli* en el nivel alto para Ají Criollo.**

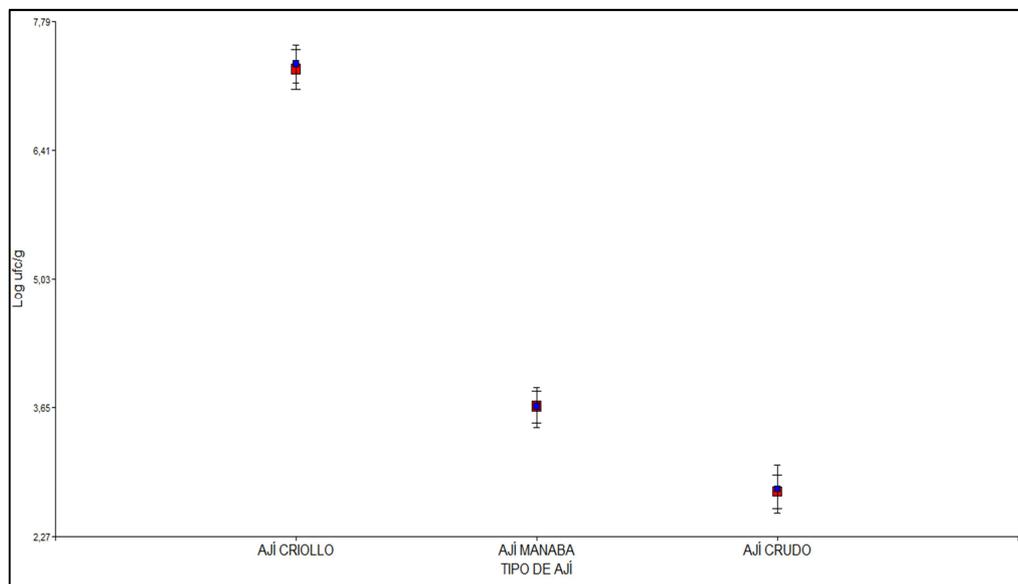
COLIFORMES TOTALES - <i>E. Coli</i> (NIVEL ALTO)											
REPETIBILIDAD											
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCIÓN DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE DETECCIÓN)						LOG	
				COLIFORMES TOTALES		<i>Escherichia Coli</i>		COLIFORMES TOTALES	<i>Escherichia Coli</i>		
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-61	10 <sup>-5</sup>	6	100000	600000	1	100000	100000	5,77815125	5
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-62	10 <sup>-5</sup>	4	100000	400000	0	100000	0	5,60205999	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-63	10 <sup>-5</sup>	4	100000	400000	0	100000	0	5,60205999	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-64	10 <sup>-5</sup>	2	100000	200000	0	100000	0	5,30103	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-65	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-66	10 <sup>-5</sup>	2	100000	200000	0	100000	0	5,30103	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-67	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-68	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-69	10 <sup>-5</sup>	2	100000	200000	0	100000	0	5,30103	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-70	10 <sup>-5</sup>	4	100000	400000	1	100000	100000	5,60205999	5
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-71	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-72	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-73	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-74	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-75	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-76	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-77	10 <sup>-5</sup>	1	1000000	1000000	1	1000000	1000000	6	6
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-78	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-79	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-80	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0

COLIFORMES TOTALES - <i>E. Coli</i> (NIVEL ALTO)											
REPETIBILIDAD											
FECHA DEL ANALISIS	NOMBRE DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	DILUCIÓN DE LA MUESTRA	RESULTADO (LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN)						LOG	
				COLIFORMES TOTALES		<i>Escherichia Coli</i>		COLIFORMES TOTALES	<i>Escherichia Coli</i>		
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-81	10 <sup>-5</sup>	3	100000	300000	0	100000	0	5,47712125	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-82	10 <sup>-5</sup>	2	100000	200000	0	100000	0	5,30103	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-83	10 <sup>-5</sup>	5	100000	500000	0	100000	0	5,69897	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-84	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-85	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-86	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-87	10 <sup>-5</sup>	2	100000	200000	0	100000	0	5,30103	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-88	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-89	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-90	10 <sup>-5</sup>	1	100000	100000	0	100000	0	5	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-91	10 <sup>-5</sup>	1	1000000	1000000	0	1000000	0	6	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-92	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-93	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-94	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-95	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-96	10 <sup>-5</sup>	1	1000000	1000000	0	1000000	0	6	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-97	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-98	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-99	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0
16/08/2012	AJI CRIOLLO	16081201-100	10 <sup>-5</sup>	0	1000000	0	0	1000000	0	0	0

### 3.2. Análisis estadístico para verificar los métodos

En el análisis estadístico el figura 3.1. mediante el diagrama de puntos indica visualmente que existe una diferencia significativa entre las medias de los dos analistas en cada uno de los ajíes al momento de evaluar la reproducibilidad en aerobio mesófilos para el nivel medio en el ensayo. El anexo 5 indica los resultados obtenidos en los diferentes niveles de concentración restantes.



**Figura 3. 1. Diagrama de puntos para evaluar reproducibilidad en el nivel medio para aerobios mesófilos.**

Mediante el análisis de varianza (ANOVA), en la tabla 3.9. para el estudio de reproducibilidad de aerobio mesófilos en el nivel medio se obtuvo valores que corroboran, mediante las pruebas de Tukey y Duncan (color rosado), que el valor de las medias entre los dos analistas no son significativamente diferentes.

De igual manera la tabla 3.12. indica que el valor de las medias entre el ají criollo, manaba y crudo son diferentes (color celeste) y para verificar

estos valores por medio de la prueba de Fisher se obtuvo que el valores de  $p \geq 0.05$  (color morado), que muestran estadísticamente que los tres ajíes son diferentes.

En base a las fórmulas planteadas en el análisis de datos de materiales y métodos en conjunto con los valores obtenidos de las medidas de resumen de la tabla 3.13. (color verde) se obtuvo los límites de detección superior e inferior como se observa en la tabla 3.14. que son de utilidad para determinar el rango máximo y mínimo entre los que deben estar los valores del control interno de calidad (CCI).

El anexo 5 y 7 muestran los resultados obtenidos para el estudio de aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli* en los niveles de concentración medio y alto restantes.

**Tabla 3. 12. Tabla de análisis de varianza para evaluar reproducibilidad en aerobio mesófilos en el nivel medio.**

ANÁLISIS DE VARIANZA														
Error		2,39	56	0,04	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV					
Total		233,58	59		Log ufc/g	60	0,99	0,99	4,52					
Test: Tukey		Alfa= 0,05	DMS= 0,15755		Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)									
Error:	0,0427	gl:	56		F.V	SC	gl	CM	F	p-valor				
Tipo de aji	Medias	n	E.E	Letra	Modelo	231,19	3	77,06	1802,93	<0,0001				
AJI CRUDO	2,77	20	0,05	A	Tipo de aji	231,18	2	115,59	2704,26	<0,0001				
AJI MANABA	3,66	20	0,05	B	analista	0,01	1	0,01	0,26	0,6094				
AJI CRIOLLO	7,3	20	0,05	C	Error	2,39	56	0,04						
Test: Tukey		Alfa= 0,05	DMS= 0,10701		Total	233,58	59							
Error:	0,0427	gl:	56			Test: Duncan		Alfa= 0,05						
Analista	Medias	n	E.E	Letra		Error:	0,0427	gl:	56					
1	4,56	30	0,04	A		Tipo de aji	Medias	n	E.E	Letra				
2	4,59	30	0,04	A		AJI CRUDO	2,77	20	0,05	A				
<p><b>Nota:</b></p> <p>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p≤0,05)</p>						AJI MANABA	3,66	20	0,05	B				
						AJI CRIOLLO	7,3	20	0,05	C				
						Test: Duncan		Alfa= 0,05	DMS= 0,10701					
						Error:	0,0427	gl:	56					
						Analista	Medias	n	E.E	Letra				
						1	4,56	30	0,04	A				
						2	4,59	30	0,04	A				
					Prueba de F para igualdad de varianzas									
					Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n(1)	n(2)	Var(1)	Var(2)	F	p	prueba
					Log ufc/g	Aji Criollo	Aji Crudo	20	20	0,04	0,05	0,87	0,7624	Bilateral
Log ufc/g	Aji Criollo	Aji Manaba	20	20	0,04	0,04	1,17	0,7416	Bilateral					
Log ufc/g	Aji Crudo	Aji Manaba	20	20	0,05	0,04	1,34	0,5279	Bilateral					

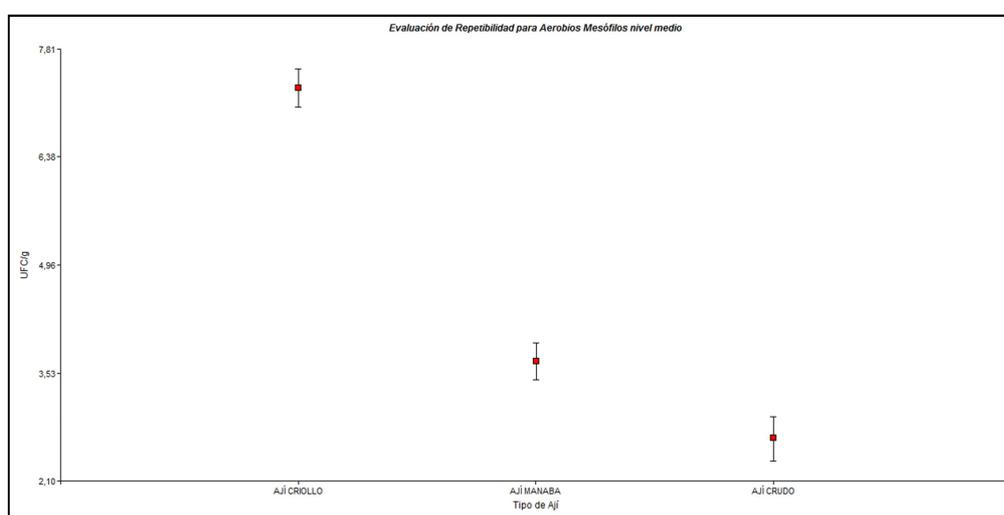
**Tabla 3. 13. Tabla de análisis de varianza para evaluar reproducibilidad en aerobio mesófilos en el nivel medio.**

Medidas de resumen						
Tipo de aji	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
Aji Criollo	Log ufc/g	20	7,3	0,21	7,06	7,56
Aji Crudo	Log ufc/g	20	2,77	0,22	2,48	3,11
Aji Manaba	Log ufc/g	20	3,66	0,19	3,40	4,15

**Tabla 3. 14. Límites de reproducibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales**

LÍMITES DE REPRODUCIBILIDAD					
Para aerobio mesófilos nivel medio			Para aerobio mesófilos nivel alto		
$L_{R1}$	0,43		$L_{R1}$	0,56	
<b>Límite inferior</b>		0	<b>Límite inferior</b>		0
<b>Límite superior</b>		0,43	<b>Límite superior</b>		0,56
Para coliformes totales nivel medio			Para coliformes totales nivel alto		
$L_{R1}$	0,62		$L_{R1}$	0,35	
<b>Límite inferior</b>		0	<b>Límite inferior</b>		0
<b>Límite superior</b>		0,62	<b>Límite superior</b>		0,35

En el diagrama de puntos del figura 3.2. indica visualmente que existe una diferencia significativa entre las medias de cada uno de los ajíes al momento de evaluar la repetibilidad en aerobio mesófilos para el nivel medio en el ensayo. El anexo 6 indica los resultados obtenidos en los diferentes niveles de concentración restantes.



**Figura 3. 2. Diagrama de puntos para evaluar repetibilidad en el nivel medio para aerobio mesófilos.**

Al momento de evaluar la repetibilidad, la tabla 3.15. indica que el valor de las medias entre el ají criollo, manaba y crudo son diferentes gracias a la prueba de Fisher, porque se obtuvo valores de  $p \geq 0.05$  (color azul) que muestran estadísticamente que los tres ajíes son diferentes.

En base a las fórmulas planteadas en el análisis de datos de materiales y métodos en conjunto con los valores obtenidos de las medidas de resumen de la tabla 3.15 (color verde) se obtuvo los límites de detección superior e inferior como se observa en la tabla 3.16. que son de utilidad para determinar el rango máximo y mínimo entre los que deben estar los valores del control interno de calidad (CCI).

El anexo 6 y 8 muestran los resultados obtenidos para el estudio de aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli* en los niveles de concentración medio y alto restantes.

**Tabla 3. 15. Tabla de igualdad de varianzas y medidas de resumen para evaluar repetibilidad en aerobio mesófilos nivel medio.**

Prueba de F para igualdad de varianzas									
Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n(1)	n(2)	Var(1)	Var(2)	F	p	prueba
Log ufc/g	Ají Criollo	Ají Crudo	20	20	0,06	0,09	0,69	0,4228	Bilateral
Log ufc/g	Ají Criollo	Ají Manaba	20	20	0,06	0,06	1,11	0,8211	Bilateral
Log ufc/g	Ají Crudo	Ají Manaba	20	20	0,09	0,06	1,61	0,3052	Bilateral
Medidas de resumen									
Tipo de ají	Variable	n	Media	D.E.	Min	Máx			
Ají Criollo	Log ufc/g	20	7,3	0,25	7,00	7,64			
Ají Crudo	Log ufc/g	20	2,67	0,30	2,00	3,11			
Ají Manaba	Log ufc/g	20	3,68	0,24	3,30	4,04			

**Tabla 3. 16. Límites de repetibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli***

<b>LÍMITES DE REPETIBILIDAD</b>				
<b>Para aerobio mesófilos nivel medio</b>			<b>Para aerobio mesófilos nivel alto</b>	
$L_{r1}$	0,58		$L_{r1}$	0,62
			$L_{r2}$	0,25
Límite inferior		0	Límite inferior	
Límite superior		0,58	Límite superior	
Límite superior		0,58	Límite superior	
<b>Para coliformes totales nivel medio</b>			<b>Para coliformes totales nivel alto</b>	
$L_{r1}$	0,58		$L_{r1}$	3,56
			$L_{r2}$	1,79
Límite inferior		0	Límite inferior	
Límite superior		0,58	Límite superior	
Límite superior		0,58	Límite superior	
Límite superior		0,58	Límite superior	
<b>Para <i>E.coli</i> nivel medio</b>				
$L_{r1}$	1,56			
Límite inferior		0		
Límite superior		1,56		

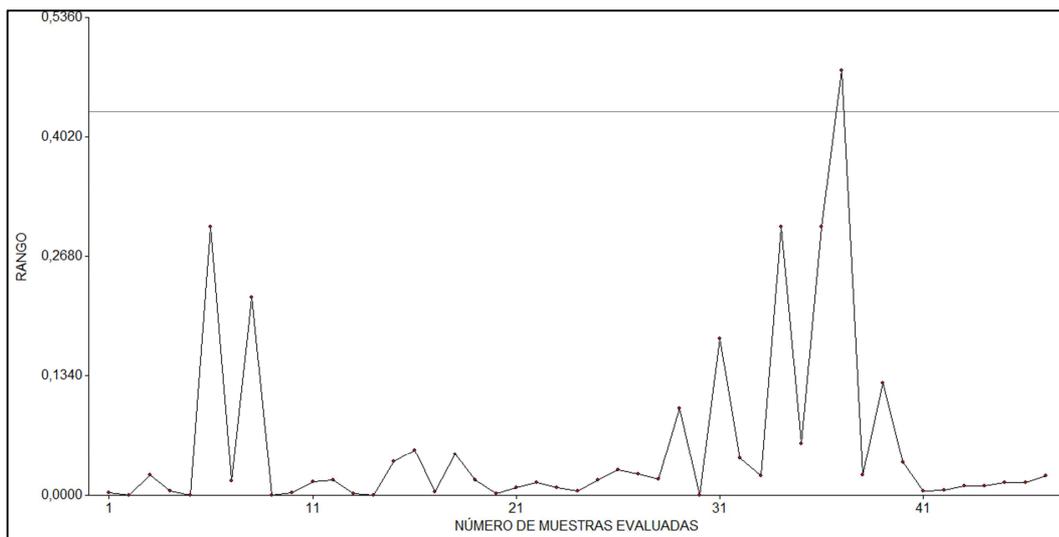
Las siembras por duplicado para el control de calidad interno nos dieron como resultado los valores del anexo 9.

Por otra parte, con la incertidumbre expandida calculada se obtuvieron valores para los límites superior e inferior entre los cuales deben encontrarse los valores obtenidos en las siembras por duplicado del anexo 9, como se observa en la tabla 3.17.

**Tabla 3. 17. Tabla del cálculo de incertidumbre expandida.**

	FUENTE	VALOR U	UNIDADES				
	BALANZA	0,016	gramos				
	ESTUFA	0	°C				
<b>REPETIBILIDAD</b>							
AM	NIVEL MEDIO	0,23	log UFC/g		CT		
	NIVEL ALTO	0,316227766	log UFC/g			NIVEL MEDIO	
						NIVEL ALTO	0,14142136 log UFC/g
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>							
AM	NIVEL MEDIO	0,223606798	log UFC/g		CT	NIVEL MEDIO	
	ALTO	0,282842712	log UFC/g			NIVEL ALTO	0,28284271 log UFC/g
<b>EXACTITUD</b>							
		0,741619849	0,23				
	NIVEL ALTO		NIVEL MEDIO		NIVEL ALTO		
	INCERTIDUMBRE "u"				INCERTIDUMBRE "u"		
	0,854550174		0,39503924		0,80638452		
	INCERTIDUMBRE EXPANDIDA "U"				INCERTIDUMBRE EXPANDIDA "U"		
	1,709100348		0,79007848		1,61276905		
	PORCENTAJE DE U						
	28,4850058		21,6459857		PORCENTAJE DE U		
					36,653842		
	LIMITE AM NIVEL ALTO				LIMITE CT NIVEL ALTO		
	4,290899652	INFERIOR	5,20992152		6,01276905	SUPERIOR	
	7,709100348	SUPERIOR	6,79007848		2,78723095	INFERIOR	

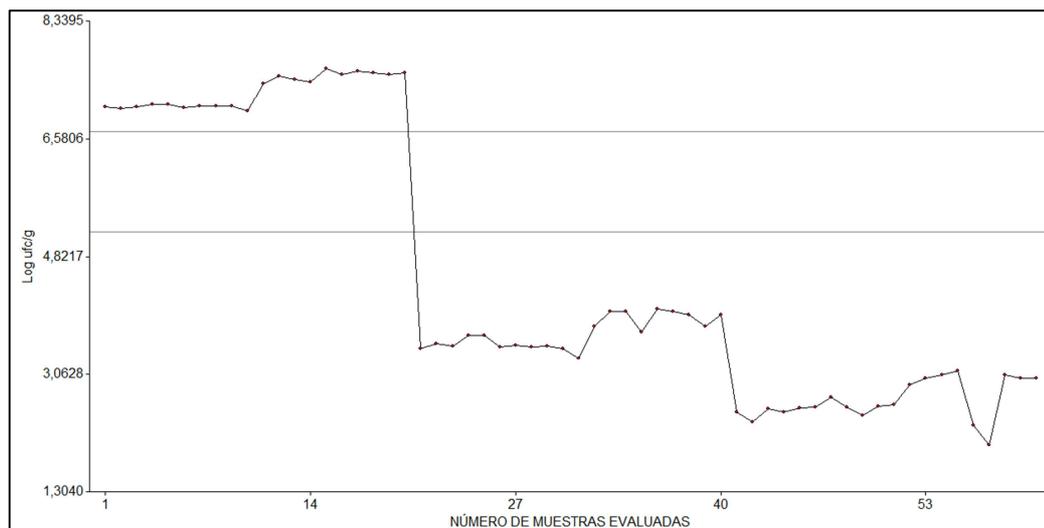
Con los resultados obtenidos en la tabla 3.14. y 3.16. junto con los valores del anexo 9 se obtuvieron las diferentes cartas de control. El figura 3.3. nos indica que la muestra 37 se encuentra fuera del límite superior y que la variabilidad de picos evidencia las diferentes concentraciones de bacterias aerobio mesófilos que existe en diversos alimentos según haya sido su preparación y/o manipulación y, pone en alerta al analista para realizar una nueva siembra y comprobar que el procedimiento se hace de manera correcta.



**Figura 3. 3. Carta de control evaluada para reproducibilidad en el nivel medio para aerobios mesófilos.**

El anexo 10 indica los resultados de las cartas de control restantes evaluadas para repetibilidad y reproducibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli* e indican que el procedimiento se aplica de manera correcta con algunos llamados de atención posiblemente en la homogenización o por la cantidad elevada de bacterias en los alimentos.

Con los resultados obtenidos en la tabla 3.17. y los valores del anexo 9 permitieron obtener las diferentes cartas de control con el cálculo de la incertidumbre. El figura 3.4. indica que todos los valores se encuentran fuera de los límites superior e inferior lo que evidencia que el error se encuentra en la calibración de los equipos y/o en el analista al momento de homogenizar la muestra para la siembra y/o en la técnica de pipeteo.



**Figura 3. 4. Carta de control evaluada para repetibilidad en el nivel medio para aerobio mesófilos por medio de incertidumbre.**

El anexo 11 indica los resultados de las cartas de control restantes evaluadas para repetibilidad y reproducibilidad para aerobio mesófilos, coliformes totales y *E. coli* e indican que aunque el procedimiento se aplica de manera correcta el error se debe a factores externos y no enfocados al analista existiendo algunos llamados de atención posiblemente en la homogenización o por la cantidad elevada de bacterias presente en los alimentos.

La tabla 3.18. indica que se logró recuperar el 100% de bacterias presentes en la muestra.

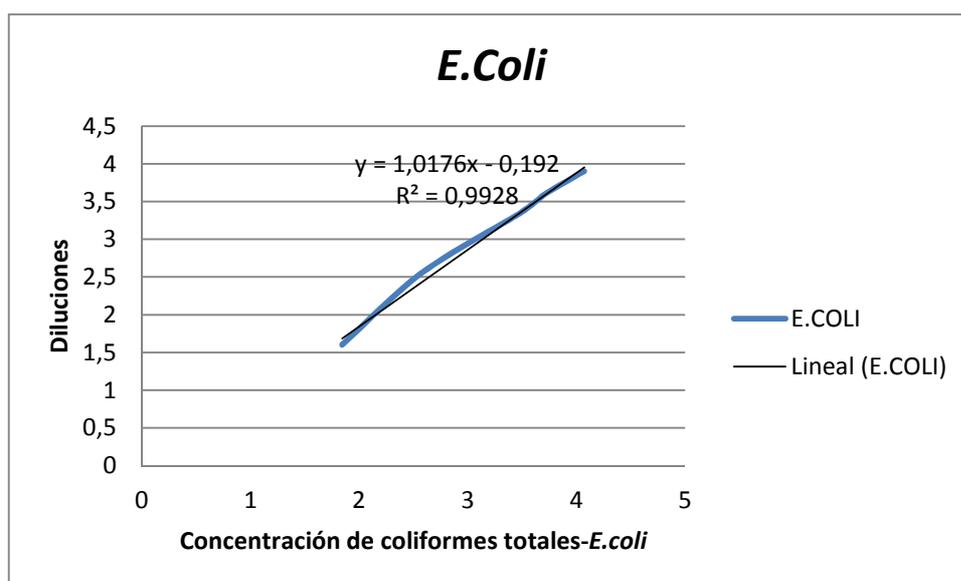
**Tabla 3. 18. Tabla de exactitud por recuperabilidad.**

EXACTITUD POR RECUPERABILIDAD ( <i>E. Coli</i> )							
AJI NORMAL		AJI+ATCC		ATCC		RECUPERABILIDAD	
DILUCION		DILUCION		DILUCION		DILUCION	
10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
600	40	3600	530	3000	490	3000	490
2,77815125	1,60205999	3,5563025	2,72427587	3,47712125	2,69019608	3,47712125	2,69019608

Se obtuvo mediante la siembra consecutiva de diluciones que van de 1 a 5 la linealidad presente en la muestra como se observa en la tabla 3.19 y en la figura 3.5.

**Tabla 3. 19. Tabla de linealidad**

LINEALIDAD (ATCC + AJÍ)					
MUESTRA	DILUCIÓN	RESULTADO		LOG	
		COLIFORMES TOTALES	<i>E.Coli</i>	COLIFORMES TOTALES	<i>E.Coli</i>
1	-1	11800	8000	4,07188201	3,90308999
2	-2	5200	4000	3,71600334	3,60205999
3	-3	3000	2200	3,47712125	3,34242268
4	-4	380	360	2,5797836	2,5563025
5	-5	70	40	1,84509804	1,60205999



**Figura 3. 5. Cálculo de linealidad**

## **CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN**

Los microorganismos tienen la capacidad de multiplicarse en cualquier ambiente y de manera acelerada con las condiciones adecuadas; para contrarrestar el crecimiento apresurado de bacterias las instituciones que preparan gran variedad de productos alimenticios se ven obligados a mantener estándares de calidad con ayuda de análisis microbiológicos de cada uno de los productos que ofrecen al consumidor. Por esta razón, el laboratorio CEA determinó la carga bacteriana de aerobios mesófilos y coliformes totales, en tres establecimientos que solicitaron un estudio de la calidad de sus productos, que conllevó la previa verificación de los métodos AOAC 990.12 y 991.14 respectivamente, seleccionando como alimento preparado al ají para obtener resultados clínicamente útiles en cada investigación.

Se seleccionó el ají como matriz por ser considerado crítico ya que antes de llegar a manos del usuario pasa por un proceso que involucra varios aspectos; entre ellos: la manipulación higiénica de los mismos, desde su producción, distribución, almacenamiento y consumo, etapas en las cuales están involucrados los productores primarios que manipulan el alimento para transportarlo y lo transforman hasta llegar al consumidor. Así mismo, se la considera crítica por ser un reservorio de bacterias una vez que ha sido preparado, por ejemplo, al momento de ser manipulado puede contaminarse con otros alimentos, superficies, recipientes y utensilios que no fueron desinfectados previamente, es decir se contaminan de manera primaria, directa y/o cruzada, siendo las causas principales de enfermedades comunes que son de origen alimentario (Chávez, 2006).

Según la guía de inocuidad alimentaria en su estudio de producción y distribución de aguacate muestra que el agua es un factor determinante en la presencia de bacterias patógenas de *E. coli*. Gracias a la investigación realizada, al momento de seleccionar el ají como matriz se tomó en cuenta la presencia del agua, por ser un elemento en constante contacto con los ingredientes utilizados para su preparación, en las manos de quien lo realiza y en las superficies donde se elabora, como causa de la presencia de bacterias encontradas en el análisis de los alimentos (Salazar & González, 1999).

Los productos y servicios llegan a ser de calidad cuando al momento de ser analizados permiten la mejora continua de la empresa que los ofrece. Gracias a estos antecedentes el laboratorio CEA realizó la verificación de sus métodos con el fin de garantizar al cliente que el producto que consumen es de buena calidad y que cumple con los parámetros normados por la ley ecuatoriana en función de los parámetros que demanda la norma INEN – ISO 17025:2005 (Gobierno de Chile "SAG", 2000).

Existen varios métodos para detectar bacterias en alimentos, aquellos que determinan no solo el recuento de microorganismos viables totales (aerobios mesófilos) sino también los que producen enfermedades. La técnica que el laboratorio CEA emplea en cada análisis demanda mucho tiempo pero dan resultados exactos y confiables porque es el ser humano quien confirma lo hecho y emite el resultado y no un equipo electrónico que genera una probabilidad de haber encontrado lo solicitado; por el contrario se está implementando tecnología diferente para investigar las muestras en menor tiempo y con una sensibilidad alto, por ello la doctora María Antonia Ferrús de la Universidad Politécnica de Valencia da a conocer que los métodos utilizados en el pasado detectan ciertos microorganismos mientras que otros pasan aún desapercibidos, lo que afirma es que gracias a la implementación de métodos moleculares en el diagnóstico se puede

identificar directamente la secuencia específica de DNA de la bacteria patógena generando controversia porque el equipo debe tener una sensibilidad demasiado alta caso contrario la técnica no será de mucha utilidad (UPV, 2009).

Para verificar si la metodología empleada en el laboratorio CEA se realiza correctamente se analizó ají de chocho en base a los métodos AOAC y BAM e INEN que se utilizan en los laboratorios LABOLAB y LASA respectivamente.

En base al anexo 13 se puede observar que los métodos INEN Y AOAC evidencian que existe presencia de bacterias pero se debe considerar que el valor numérico obtenido puede no reflejar el número real de microorganismos vitales (viables) en la muestra, porque las células microbianas suelen agruparse formando cadenas, grumos, racimos o pares y no separarse a pesar de la homogeneización y dilución de la muestra, por tanto, una colonia puede provenir de una célula individual o de un agrupamiento bacteriano; de igual manera si han sufrido alguna lesión o no tienen las condiciones adecuadas de crecimiento no podrán multiplicarse (INEN, 2006).

Por otro lado, el método BAM utilizado en LABOLAB no solamente es un estudio de recuento en placa sino de siembra en profundidad lo que permite verificar la efectividad del método y determinar el origen de la contaminación durante los procesos de elaboración de los alimentos, dando a conocer resultados verdaderos de la presencia de bacterias (ISPCH, 2012).

Cada una de las metodologías utilizadas son buenas en algunos casos pero deficientes en otros debido al número de colonias encontradas

en un tiempo de incubación determinado porque por pruebas confirmatorias q se realiza en los métodos AOAC e INEN se obtiene un resultado verídico en 72 horas para coliformes totales y *E. coli* siendo una desventaja, lo que no sucede con el método BAM.

El anexo 13 indica que para recuento de aerobio mesófilos el método BAM es el más específico debido a la cantidad de colonias encontradas con precisión y exactitud.

Para coliformes totales el rango tiene mayor amplitud para el método AOAC permitiendo encontrar hasta  $10^3$  colonias mientras que para BAM e INEN solamente es hasta  $10^2$ , pudiendo ser una desventaja si existiesen más bacterias ya que se deben realizar más diluciones hasta encontrar la cantidad de microorganismos dentro de parámetros.

Para *E. coli* en los tres métodos se establece que el número máximo de colonias presentes en un alimento debe ser de 10, porque es causante de una gran variedad de enfermedades gastrointestinales que si no se tratan a tiempo causan la muerte o un daño severo en el organismo humano.

Por último, sin importar el método a emplear el llevar un control de calidad interno en el laboratorio se considera importante porque permite conocer si el procedimiento que usa el establecimiento y la capacitación que reciben los analistas es adecuada para garantizar los resultados (Valenzuela, 2010).

## **CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES**

Se determinó gracias a la metodología aplicada, al momento de realizar el conteo bacteriano, que los alimentos por distintos que sean evidencia que existe carga bacteriana tolerable debido a una manipulación obligada para su generación.

Se consideran alimentos críticos, aquellos que sufren de una manipulación considerable, que no van a ser sometidos a acción térmica previo a su consumo, igualmente aquellos en los que se requieren varios componentes crudos. Ejemplo: ají, ensaladas crudas, jugos.

Con los porcentajes de incertidumbre obtenidos se confirmó que los métodos AOAC 990.12 y 991.14 se aplicaron de forma apropiada en el laboratorio CEA.

Las fuentes principales de contaminación son la manipulación inadecuada de la materia prima, el lavado inadecuado del material (frutas y legumbres) para su bodegaje y posterior uso, la falta de desinfección apropiada en los utensilios utilizados, la mala higiene del personal, por contaminación cruzada con otros productos y el agua.

Los resultados obtenidos en los inter laboratorios no se pueden comparar por que la metodología empleada en cada uno de ellos es diferente.

En los análisis inter laboratorios se muestra que los resultados obtenidos están dentro de parámetros en cada una las metodologías aplicadas.

## **CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES**

Seguir e implementar la guía de buenas prácticas que se encuentra en el anexo 14 en base a referencias bibliográficas.

La calidad del agua debe ser purificada o mínimo potable no solo para la preparación de los alimentos sino para todo el proceso – materia prima, preparación – lavado de manos, utensilios, etc.

Realizar rutinariamente análisis de agua, superficies vivas y muertas.

Realizar control microbiológico periódico y al azar al personal durante el trabajo, después del trabajo o antes de que inicie para controlar la carga bacteriana.

Tomar al azar de manera periódica diferentes utensilios para realizar el estudio microbiológico (vasos, cubiertos, diferentes platos).

Toda la materia prima debe ser lavada y pasada por desinfectante por dos ocasiones antes de ser procesada, los alimentos más lo requieren son: frutas (mora, frutilla), perejil, culantro, cebollas, cebollines, por sus superficies irregulares.

Los alimentos que no son sometidos a acción térmica (cocción – horneado), deben ser controlados microbiológicamente con mucha regularidad.

Es importante que exista luz solar en las cocinas, porque permite el ingreso de luz UV importante para eliminar la presencia de mohos y levaduras cuyos tóxicos pueden causar intoxicación alimentaria.

No utilizar derivados de productos yodados para desinfectar, solo puede ser usado como sanitizante y no tiene mucha acción sobre mohos y levaduras.

No utilizar de manera indefinida el mismo desinfectante o sanitizante, porque en cada reproducción bacteriana el 10% genera resistencia.

## CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA

Métodos Analíticos. (2012). *Selección y Validación de Métodos Analíticos*.

Recuperado el 2012 de febrero de 2012, de

<http://www.euskadi.net/r33->

[2709/es/contenidos/informacion/sanidad\\_alimentaria/es\\_1247/adjuntos/vigila9519.pdf](http://www.euskadi.net/r33-2709/es/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/vigila9519.pdf)

Abu, S. (2008). *Los microorganismos que contaminan los alimentos*.

Recuperado el 14 de febrero de 2012, de

<http://radio.rpp.com.pe/saludenrpp/los-microorganismos-que-contaminan-los-alimentos/>

Anderson, P., & Pascual, V. (2000). *Metodología analítica para alimentos y bebidas*. madrid.

ANMAT, A. N. (2008). *Recomendaciones para la correcta manipulación de alimentos en locales que elaboran y venden comidas preparadas*.

Recuperado el 15 de febrero de 2012, de

[http://www.anmat.gov.ar/cuida\\_tus\\_alimentos/locales.pdf](http://www.anmat.gov.ar/cuida_tus_alimentos/locales.pdf)

Calaña, G., & Chais, E. (2009). *Gestión de la calidad e inocuidad alimentaria en restauración*. Recuperado el 13 de febrero de 2012

Castón, M. (2010). *Higiene, inspección y control alimentario*. Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practic-1/tema-1.pdf>

Chávez, H. (2006). *Manipulación higiénica de los alimentos*. Recuperado el 29 de mayo de 2013

Eurachem. (1998). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods* .  
Recuperado el 2012 de agosto de 2012, de  
<http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/valid.pdf>

Food And Agriculture Organization Of The Unites Nations. (2000). *Código Internacional Recomendado de Prácticas – Principios Generales de Higiene de Alimentos*. Recuperado el 13 de febrero de 2012, de  
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/w8088s/w8088s01.pdf>

Food And Agriculture Organization Of The Unites Nations. (2006). *Perfil de proyecto calidad e inocuidad de alimentos*. Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://www.qcaquality.com.ar/sistema-de-seguridad-de-los-alimentos-haccp-y-gmp.html>

Gobierno de Chile "SAG". (2000). *Instructivo para recuento de microorganismos aerobios mesófilos mediante técnica petrifilm AOAC 990.12*. Recuperado el 16 de febrero de 2012, de  
<http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hB17Pf6lazkmq89cmzNMQGw%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=23275>

Hirata, M. (2009). *Por qué validar métodos analíticos?* Recuperado el 18 de febrero de 2012, de <http://es.scribd.com/doc/4925527/porque-validar-metodos-analiticos>

- ICCA, I. I. (2008). *Buenas prácticas agrícolas*. Recuperado el 18 de febrero de 2012, de [http://www.iica.int/Esp/Programas/agronegocios/Publicaciones%20de%20Comercio%20Agronegocios%20e%20Inocuidad/Cuaderno11\\_BP A.pdf](http://www.iica.int/Esp/Programas/agronegocios/Publicaciones%20de%20Comercio%20Agronegocios%20e%20Inocuidad/Cuaderno11_BP A.pdf)
- INEN, I. E. (2006). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos*. Recuperado el 5 de agosto de 2013, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.5.2006.pdf>
- ISPCH, I. d. (2012). *Procedimiento recuento aerobios en placa método BAM online 2001*. Recuperado el 7 de agosto de 2013, de [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/doc/microbiologia\\_alimentos/PRT-023.pdf](http://www.ispch.cl/lab_amb/doc/microbiologia_alimentos/PRT-023.pdf)
- Ivo. (2000). *Seguridad e higiene en la cocina, Turismo. Equipo y maquinaria. Superficies del piso. Instrumentos de trabajo. Ventilación. Apariencia personal. Seguridad. Electrodomésticos. Gas, Argentina*. Recuperado el 29 de mayo de 2013, de <http://html.rincondelvago.com/seguridad-e-higiene-en-la-cocina.html>
- Léon, J. (2006). *Validación secundaria del método de número más probable y recuento en placa profunda para coliformes totales y fecales en muestras de alimentos basada en la norma ISO NRC 17025*. Recuperado el 18 de febrero de 2012, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis273.pdf>
- L&S Consultores. (2003). *Validación de métodos de ensayo*. Recuperado el 18 de febrero de 2012, de <http://www.lysconsultores.com/Descargar/NT004.pdf>

- Manual De Higiene Alimentaria. (2012). *Certificado de manipulación, comidas preparadas*. Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://www.gamsa.es/material/docs/2.pdf>
- Ministerio de Salud Pública de Chile. (2000). *Inocuidad Alimentaria*. Recuperado el 13 de febrero de 2012, de <http://www.ispch.cl/inocuidad-alimentaria>
- Organización Mundial De La Salud. (2009). *10 Datos sobre la inocuidad de los alimentos*. Recuperado el 13 de febrero de 2012 de [http://www.who.int/features/factfiles/food\\_safety/es/index.html](http://www.who.int/features/factfiles/food_safety/es/index.html)
- Organismo Mundial de la Salud "OMS" (2007). *Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos*. Recuperado el 29 de mayo de 2013, de [http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual\\_keys\\_es.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf)
- Pascual, A. (2005). *Enfermedades de tipo alimentario*. . Recuperado el 14 de febrero de 2012, de [http://libritosgt.blogspot.com/2011/10/enfermedades-de-origen-alimentario-su\\_03.html](http://libritosgt.blogspot.com/2011/10/enfermedades-de-origen-alimentario-su_03.html)
- Pérez, S. (2013). *Relación peso-diluyente de la muestra* . Recuperado el 5 de agosto de 2013
- Quality Consulting Associates "QCA". (2012). *Sistema de seguridad de los alimentos HACCP y GMP*. Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://www.qcaquality.com.ar/sistema-de-seguridad-de-los-alimentos-haccp-y-gmp.html>

- Piédrola, G. (2000). *Medicina preventiva y salud pública*. España: MASSON.
- Rugama, F., & Castillo, Y. (2010). *Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria*. Recuperado el 14 de febrero de 2012, de <http://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>
- Salazar, H., & González, R. (1999). *Guía de inocuidad alimentaria y sus implicaciones para la producción y distribución del aguacate "HASS" mexicano*. Recuperado el 15 de junio de 2013
- Universidad de Zaragoza. (2011). *Validación de técnicas analíticas aplicadas al control de calidad y seguridad alimentaria*. Recuperado el 18 de febrero de 2012, de <http://titulaciones.unizar.es/admin/lectorPDFasig.php?cod=62017&year>
- UPV. (2009). *Proponen nuevos métodos para detectar bacterias en alimentos*. . Recuperado el 19 de junio de 2013, de <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Proponen-nuevos-metodos-para-detectar-bacterias-en-alimentos>
- Valenzuela, L. (2010). *Herramientas estadísticas para control de calidad*. Recuperado el 29 de mayo de 2013, de [http://www.acreditacionensalud.cl/media/users/14/748893/files/222147/Clase\\_4.pdf](http://www.acreditacionensalud.cl/media/users/14/748893/files/222147/Clase_4.pdf)
- Varela, E., & Martínez, J. (2006). *Seguridad, Calidad e Inocuidad Alimentaria para México*. Recuperado el 13 de febrero de 2012, de <http://www.turevista.uat.edu.mx/INOCUIDAD.htm>

# ANEXOS