



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

“EFECTO DE UN ANTIMICROBIANO ELABORADO CON
***Acetobacter aceti* AISLADOS DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ**
EN LA EMPRESA ARSAICO”

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR:

JOE FERNANDO LALA HARO

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

“EFECTO DE UN ANTIMICROBIANO ELABORADO CON
***Acetobacter aceti* AISLADOS DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ**
EN LA EMPRESA ARSAICO”

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR: JOE FERNANDO LALA HARO

DIRECTOR: ING. CÉSAR IVÁN FLORES MANCHENO Ph.D.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Joe Fernando Lala Haro

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Joe Fernando Lala Haro, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de enero del 2024



Joe Fernando Lala Haro

172340371-1

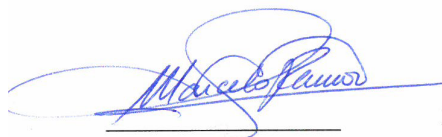
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **“EFECTO DE UN ANTIMICROBIANO ELABORADO CON *Acetobacter aceti* AISLADOS DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ EN LA EMPRESA ARSAICO**, realizado por el señor: **JOE FERNANDO LALA HARO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

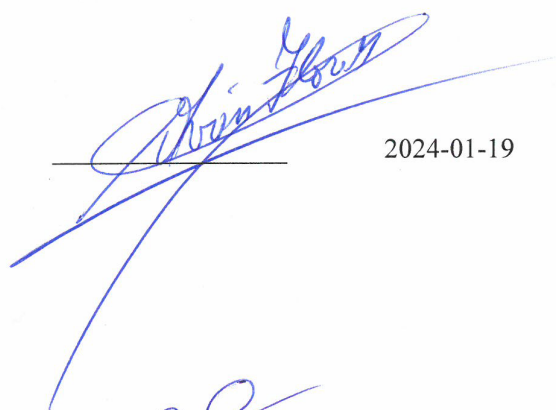
FECHA

Dr. Juan Marcelo Ramos Flores, MsC.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



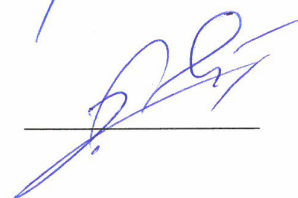
2024-01-19

Ing. César Iván Flores Mancheno, Ph.D.
DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024-01-19

Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC.
ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2024-01-19

DEDICATORIA

A mis padres, María Rita y Joe Neptalí, por su amor incondicional, apoyo constante y sacrificio incansable, gracias por ser mi fuente inagotable de inspiración y por creer en mí incluso cuando yo dudaba. Este logro es tan suyo como mío. A mis profesores y mentores, por su guía experta, paciencia y sabiduría compartida. Cada lección aprendida va más allá de las páginas de esta tesis; son fundamentales para mi crecimiento académico y personal. A mis amigos por las risas, el aliento y el compañerismo. Gracias por comprenderme las noches de estudio interminable y por celebrar cada pequeño paso hacia la meta final. A todos aquellos que, de alguna manera, contribuyeron a este logro, su impacto no ha pasado desapercibido. Agradezco sinceramente cada conversación, consejo y momento de apoyo que ha enriquecido este viaje académico. Esta tesis está dedicada a todos ustedes, quienes han sido la fuerza impulsora detrás de mis logros. Su influencia ha dejado una huella imborrable en mi camino hacia el conocimiento.

Joe

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por proporcionarme los recursos y el ambiente propicio para llevar a cabo esta investigación en especial a la Carrera de Agroindustria por formarme profesionalmente, a mi director de tesis, César Flores, y a mi asesor, Iván Salgado, cuya guía experta y dedicación han sido fundamentales para alcanzar este logro, a los miembros del equipo investigador perteneciente al grupo SEALPRA por su dedicación y colaboración y a la empresa ARSAICO Cia. Ltda. con quienes hemos trabajado conjuntamente.

Joe

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
INDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY / ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA	2
1.1 Planteamiento del problema	2
1.2 Justificación.....	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	3
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	3

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Antimicrobiano	4
2.2 Fuentes de Contaminación microbiana	5
2.3 Acetobacterias	5
2.4 Ácido acético.....	7
2.4.1 <i>Aspectos fisicoquímicos</i>	7
2.4.1.1 <i>pH</i>	7
2.4.1.2 <i>Acidez total</i>	8
2.4.1.3 <i>Acidez volátil</i>	8
2.5 Microorganismos	9

2.5.1	<i>Escherichia coli</i>	9
2.5.2	<i>Listeria monocytogenes</i>	10
2.5.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.5.4	<i>Salmonella spp.</i>	10
2.6	Requisitos microbiológicos	10

CAPITULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	12
3.1	Localización y duración del Experimento	12
3.2	Unidades experimentales	12
3.3	Materiales equipos e insumos	12
3.3.1	<i>Materiales</i>	12
3.3.2	<i>Equipos</i>	13
3.3.3	<i>Insumos</i>	13
3.4	Instalaciones	14
3.5	Tratamiento y Diseño Experimental	14
3.6	Mediciones experimentales	15
3.6.1	<i>Análisis Fisicoquímico, según la Norma INEN 2296:2013</i>	15
3.6.2	<i>Recuento De Microorganismos Antes De La Aplicación, según la Resolución Ministerial N° 461-2007/ MINSA</i>	15
3.6.3	<i>Recuento Microbiológico Después De La Aplicación según las UNE-EN ISO 18593: 2019 y la Resolución Ministerial N° 461-2007/ MINSA</i>	15
3.7	Análisis estadístico y pruebas de significancia	15
3.8	Procedimiento experimental	16
3.9	Proceso para la obtención del antimicrobiano	16
3.9.1	<i>Proceso experimental</i>	17
3.9.1.1	<i>Recepción de la materia prima</i>	17
3.9.1.2	<i>Selección y lavado</i>	17
3.9.1.3	<i>Cortado y Licuado</i>	17

3.9.1.4	<i>Fermentación alcohólica</i>	17
3.9.1.5	<i>Filtración</i>	17
3.9.1.6	<i>Inoculación</i>	17
3.9.1.7	<i>Fermentación acética</i>	18
3.9.1.8	<i>Filtrado</i>	18
3.9.1.9	<i>Envasado</i>	18
3.9.2	<i>Elaboración de Antimicrobiano</i>	18
3.9.2.1	<i>Formulación</i>	18
3.10	Metodología de evaluación	18
3.10.1	<i>Análisis Físicoquímico</i>	18
3.10.2	<i>Recuento De Microorganismos</i>	18

CAPITULO IV

4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	19
4.1	Caracterización Físicoquímica de un Antimicrobiano elaborado con <i>Acetobacter aceti</i>	19
4.2	Recuento de microorganismos	20

CAPITULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	22
5.1	Conclusiones	22
5.2	Recomendaciones	23

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Composición química del tomate riñón -----	6
Tabla 2-2: Tabla de aspectos fisicoquímicos para antimicrobiano-----	7
Tabla 2-3: Interpretación de resultados de acuerdo con los límites microbiológicos -----	10
Tabla 3-1: Condiciones meteorológicas del cantón Riobamba -----	12
Tabla 3-2: Esquema del experimento -----	14
Tabla 3-3: Esquema de ADEVA -----	16
Tabla 3-4: Tratamientos del antimicrobiano-----	16
Tabla 4-1: pH, acidez total y acidez volátil del antimicrobiano obtenido de la bacteria Acetobacter aceti-----	19
Tabla 4-2: Presencia de Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus y Salmonella spp. antes y después de la aplicación del antimicrobiano en diferentes porcentajes.-----	20

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A: DIAGRAMA DE PROCESO DE ELABORACIÓN DE ANTIMICROBIANO.

ANEXO B: PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA INOCULAR LA BACTERIA
ACETOBACTER ACETI.

ANEXO C: FORMULACIÓN Y ELABORACION DEL ANTIMICROBIANO.

ANEXO D: ANALISIS FISICOQUÍMICOS.

ANEXO E: TOMA DE MUESTRAS E INCUBACIÓN DE MICROORGANISMOS.

ANEXO F: CONTEO DE MICROORGANISMOS.

ANEXO G: TABLA DE RESULTADOS DE pH, ACIDEZ TOTAL Y ACIDEZ VOLÁTIL.

ANEXO H: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO pH.

ANEXO I: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO
ACIDEZ TOTAL.

ANEXO J: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO
ACIDEZ VOLÁTIL.

ANEXO K: VALORES DE pH DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE
ANTIMICROBIANO.

ANEXO L: VALORES DE ACIDEZ TOTAL DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE
ANTIMICROBIANO.

ANEXO M: VALORES DE ACIDEZ VOLÁTIL DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS
DE ANTIMICROBIANO.

ANEXO N: TABLA DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.

ANEXO O: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *ESCHERICHIA
COLI*.

ANEXO P: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *LISTERIA
MONOCYTOGENES*.

ANEXO Q: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

ANEXO R: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *SALMONELLA
SPP*.

ANEXO S: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO
T0 AL 67% DE ANTIMICROBIANO COMERCIAL.

ANEXO T: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO
T1 AL 65% DE ANTIMICROBIANO.

ANEXO U: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO
T2 AL 75% DE ANTIMICROBIANO.

ANEXO V: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO
T3 AL 80% DE ANTIMICROBIANO.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación busca proporcionar un uso a los microorganismos de interés biotecnológico para la desinfección de superficies (mesas de acero inoxidable), el propósito de esta investigación fue la elaboración de un antimicrobiano orgánico, utilizando *Acetobacter aceti*, aisladas de Boque Primario-Pungalá, frente a un antimicrobiano comercial. Se empleo un Diseño Completamente al Azar bajo un modelo lineal de 4 tratamientos con 4 repeticiones cada una. Para análisis fisicoquímicos, y microbiológicos antes y después de la aplicación se utilizó ADEVA, prueba de Turkey ($p < 0,05$) mediante una estadística descriptiva respectivamente. Los análisis fisicoquímicos de estos tratamientos registraron diferencias estadísticas, con relación al pH, a la acidez total y a la acidez volátil, sin embargo, se encuentran dentro de los límites establecidos en la norma INEN 2296. En cuanto a los valores microbiológicos obtenidos antes de la aplicación se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* estos valores exceden los límites máximos permitido por la norma UNE-EN ISO 18593 y la Resolución Ministerial N° 461. En cuanto a los resultados microbiológicos obtenidos después de la aplicación de los antimicrobianos para *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* los tratamientos T0 y T3 registran ausencia de estos patógenos, se encuentran dentro de los límites que establece norma UNE-EN ISO 1893 y la Resolución Ministerial N° 461, mientras que los T1 y T2 registraron una disminución mínima de la población microbiológica. Se concluye que los tratamientos presentan diferencias estadísticas entre sus respectivas medias con un valor más altos para el tratamiento T0 con valores de 2.51, 5,13% y 5,11% para pH, acidez total y acidez volátil respectivamente, mientras que después de la aplicación los tratamientos T0 y T3 registran ausencia para la población de los microorganismos patógenos encontrados en mesas de acero inoxidable

Palabras clave: <ANTIMICROBIANO ORGÁNICO>, <ACETOBACTERIAS>, <ACERO INOXIDABLE>, <ANÁLISIS FISICOQUÍMICO>, <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO>



SUMMARY / ABSTRACT

This research aims to explore the utilization of biotechnologically significant microorganisms for surface disinfection, specifically stainless-steel tables. The primary objective was to develop an organic antimicrobial agent using *Acetobacter aceti* isolated from the Pungalá Primary Forest, compared with a commercial antimicrobial. The methodology employed a Completely Randomized Design under a linear model with four treatments, each replicated four times. Descriptive statistical procedures were applied for physicochemical and microbiological analyses pre- and post-application, employing ADEVA and Turkey's test ($p < 0.05$). Physicochemical tests of the treatments revealed statistical differences in pH, total acidity, and volatile acidity, albeit within the limits set by the INEN 2296 standard. Microbiological values obtained pre-application indicated the presence of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella spp.*, exceeding the maximum limits set by UNE-EN ISO 18593 and Ministerial Resolution No. 461. Post-application microbiological results for *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella spp.* showed the absence of these pathogens in treatments T0 and T3, conforming to UNE-EN ISO 1893 and Ministerial Resolution No. 461, while treatments T1 and T2 determined a minimal reduction in microbial population. Statistical analysis revealed significant differences among treatment means, with treatment T0 displaying higher values for pH (2.51), total acidity (5.13%), and volatile acidity (5.11%) pre-application. Following application, treatments T0 and T3 demonstrated the absence of the identified pathogenic microorganisms on stainless steel tables.

Keywords: <ORGANIC ANTIMICROBIAL> <ACETOBACTERIA> <STAINLESS STEEL>
<PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS> <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>.



Lic. Mónica Logroño B., Mgs
0602749533

INTRODUCCIÓN

Los agentes antimicrobianos son sustancias naturales o sintéticas, en el primer caso, algunos de ellos son producidos por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos, este último es un grupo de bacterias parecidas a hongos), en segundo lugar, los métodos de laboratorio prefieren productos sintéticos cuya función es frenar el crecimiento de otros microorganismos y quizás incluso eliminarlos (Cáceres Espitia et al., 2022 pág. 444).

La actividad de las sustancias antimicrobianas contra los microorganismos se basa en varios efectos individuales, incluyendo reacciones físicas, fisicoquímicas y bioquímicas de las células afectadas, varios factores individuales pueden producir efectos acumulativos e inhibidores que afectan a los microorganismos impidiendo la síntesis de las paredes celulares, membranas celulares, ácidos nucleicos y proteínas (Pastrana Puche et al., 2017 pág. 58).

Los mecanismos por los cuales los agentes antimicrobianos eliminan o inhiben el crecimiento microbiano son diversos y complejos, algunos de los cuales dañan las membranas celulares, activación irreversible de proteínas y cambios que causan daños profundos en los ácidos nucleicos, un antimicrobiano ideal, deberían tener propiedades, tales como amplio espectro, acción rápida, resistencia a factores ambientales, no toxicidad, compatibilidad con superficies y solubilidad en agua (González Herrera et al., 2019 pág. 76).

El proceso de fermentación es de gran importancia tanto desde el punto de vista industrial como desde el sector manufacturero porque el producto final tiene multitud de usos y aplicaciones en diversos campos, además, cabe destacar que las bacterias que fermentan el ácido acético necesariamente deben estar en presencia de oxígeno para que esto sea posible (Córdova García et al., 2022 pág. 82).

Las superficies presentan un riesgo mínimo de contaminación directa; las manos, herramientas o productos pueden contaminarse o entrar en contacto con estas superficies y contaminar a las personas u otras superficies y promover la contaminación cruzada secundaria (González Herrera et al., 2019 pág. 74).

Actualmente se busca alternativas naturales para garantizar la inocuidad de las superficies y con ello prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos y alargar la vida útil de los productos, en la industria se utilizan sustancias químicas para la desinfección, las cuales se asocian a problemas de resistencia microbiana y toxicidad (Carhuallanqui Pérez et al., 2020 pág. 26).

CAPÍTULO I

1. DIAGNOSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Actualmente se ha buscado oportunidades para la producción y uso de sustancias amigables con el medio ambiente y menos nocivas, y en ese sentido se ha impulsado el uso de antimicrobianos orgánicos, en las áreas de manipulación de alimentos, la exposición excesiva al uso de desinfectantes químicos puede causar dificultades a los trabajadores que allí trabajan, y los alimentos también pueden verse alterados debido a la contaminación cruzada, un ejemplo de alternativa antimicrobiana que vale la pena considerar es el vinagre, cuyas propiedades químicas asociadas con altas concentraciones de ácido acético pueden desencadenar procesos de degradación más rápidos, lo que a su vez ayuda a minimizar la toxicidad de los agentes químicos y sintéticos (Cáceres Espitia et al., 2022 pág. 441).

Darle un uso biotecnológico a la bacteria *Acetobacter aceti* aislada del bosque primario-Pungalá mediante la implementación de un antimicrobiano.

Ya que, comúnmente, en ambientes como laboratorios, el hogar o en lugares dedicados a la manipulación de alimentos, se suelen emplear desinfectantes de tipo sintético, que, por el alto contenido de agentes químicos como el cloro u otros componentes, llegan a producir efectos perjudiciales para la salud (Cáceres Espitia et al., 2022 págs. 440-441).

1.2 Justificación

En Ecuador el programa de limpieza y desinfección tiene por objetivo disminuir las cantidades de microorganismos contaminantes a niveles que no representen un peligro, con frecuencia se utilizan desinfectantes de tipo sintético, en lugares como laboratorios, hogares o áreas especializadas en la manipulación de alimentos, debido que la mayoría de microorganismos se encuentran unidos a la materia orgánica de la que se alimentan, los desinfectantes de tipo sintético, por su alto contenido químico, como el cloro y otros compuestos químicos, pueden llegar a ser nocivos para la salud, teniendo en cuenta dichos antecedentes se pretende realizar la siguiente investigación experimental para darle un uso biotecnológico a la bacteria *Acetobacter aceti* aislada del bosque Primario-Pungalá mediante la implementación de un antimicrobiano orgánico que sea efectivo contra microorganismos y no sea nocivo para la salud.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto de un antimicrobiano en el área de productos frescos elaborado con *Acetobacter aceti* aislados del bosque primario-Pungalá en la Empresa ARSAICO.

1.3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar el antimicrobiano orgánico obtenido de la bacteria *Acetobacter aceti* aislada del bosque primario-Pungalá.
- Identificar los microorganismos presentes en las mesas de acero inoxidable del área de productos frescos de la empresa ARSAICO.
- Determinar la efectividad del antimicrobiano orgánico elaborado a partir de la bacteria *Acetobacter aceti*.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antimicrobiano

Los antimicrobianos son sustancias o mezclas de sustancias que se utilizan para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos como bacterias, virus u hongos en superficies y objetos inertes (United States Environmental Protection Agency, 2023).

Los agentes antimicrobianos difieren significativamente en sus propiedades físicas y químicas, así como en su mecanismo de acción y espectro antimicrobiano, las clasificaciones más utilizadas para los agentes antimicrobianos son las basadas en su acción sobre las bacterias, es decir, las que los clasifican según su mecanismo de acción, entre las que se encuentran los bacteriostáticos que se refieren a aquéllos que inhiben la multiplicación bacteriana, la cual se reanuda una vez que se suspende el tratamiento y los bactericidas que poseen la propiedad de destruir la bacteria, su acción es irreversible (Cáceres Espitia et al., 2022 pág. 443).

Los antimicrobianos químicos son sustancias químicas empleadas para eliminar o reducir microorganismos en distintas superficies, el uso frecuente y prolongado puede conducir al desarrollo de resistencia bacteriana, disminuyendo su eficacia a largo plazo, algunos desinfectantes pueden resultar tóxicos o irritantes para la piel y las vías respiratorias, especialmente en concentraciones elevadas o aplicación inadecuada, en contraste, los antimicrobianos actúan de manera casi inmediata, logrando una notable reducción de microorganismos en poco tiempo, sin causar efectos adversos en la salud (Bolufer Gil, 2023, pág. 3).

Numerosas industrias biotecnológicas emplean microorganismos como factores de producción metabólica y para facilitar la transformación de productos fermentados, el avance de la biotecnología, especialmente en el ámbito de la microbiología industrial, ha generado un mayor reconocimiento del papel crucial de los microorganismos en diversos sectores económicos, incluyendo la agronomía, la industria alimentaria y biotecnológica, la salud, la química, la energía y la preservación del medio ambiente (González, 2001, pág. 114).

Los microorganismos han desempeñado una función esencial en la producción de productos ampliamente consumidos y solicitados, tales como pan, vino, queso, yogur, vitaminas, enzimas, proteínas, antibióticos y diversos medicamentos (Rabassa Olazábal et al., 2015 pág. 2).

2.2 Fuentes de Contaminación microbiana

Las superficies son uno de los medios más frecuentes de contaminación en la industria alimentaria y doméstica, las bacterias que colonizan las superficies pueden actuar como reservorio de microorganismos de descomposición, como *Pseudomonas aeruginosa* y/o patógenos como *S. aureus* o *L. monocytogene*. A su vez, estos pueden contaminar los alimentos directamente a través del ambiente del área de procesamiento e incluso por contacto si pueden sobrevivir, incluso después de su limpieza y desinfección (i Valls, 2006, págs. 11-12).

Una superficie segura aquella que no provoca modificaciones ni alteraciones perceptibles en las características organolépticas, las superficies conllevan un riesgo reducido de contaminación directa, ya que las manos, herramientas o productos podrían contaminarse al entrar en contacto con ellas, a su vez, podría propiciar la contaminación de personas u otras superficies (Comision Europea, 2015, pág. 10).

2.3 Acetobacterias

Las *Acetobacter sp.*, son bacterias aeróbicas obligadas y gramnegativas, se ubican en la clase *Alphaproteobacteria*, el orden *Rhodospirillales* y la familia *Acetobacteraceae*. Suelen hallarse en ambientes cálidos y húmedos, como en frutas, flores, intestinos de moscas de la fruta y en ciertos alimentos fermentados (Qiu et al., 2021 pág. 1).

Acetobacter aceti es un tipo de bacteria con forma de varilla que se presenta tanto en pares o cadenas como individualmente, se caracteriza por tener flagelos peritricos capaces de rotar en direcciones opuestas, esta bacteria puede sobrevivir en ambientes altamente ácidos y requiere oxígeno para su desarrollo, es estrictamente aerobia, estas bacterias necesitan condiciones específicas para crecer en cultivos, esto incluye temperaturas entre 25 °C y 30 °C, así como un pH que oscile entre 5.4 y 6.3, utiliza tanto alcohol como algunos carbohidratos como fuentes de carbono para finalmente generar ácido acético, desde un punto de vista comercial, esta bacteria es crucial, ya que se emplea en la producción de antimicrobianos a través del proceso de fermentación acética (López, 2023, págs. 2-5).

El antimicrobiano se obtiene a través de la fermentación de diferentes sustratos, como soluciones de almidón, soluciones azucaradas o productos con contenido alcohólico como vino o sidra, este

proceso se lleva a cabo con la participación de bacterias del género *Acetobacter* (Cedeño Cedeño, 2013, pág. 9).

El tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) es parte de la familia *Solanaceae*, género *Solanum*. se trata de una planta herbácea que puede ser anual o bianual, originaria de América Central y del Sur, en la actualidad, es la hortaliza más cultivada a nivel global, gracias a su valor nutricional y a la alta demanda en la dieta diaria. Su popularidad se debe a su capacidad de producción elevada y su rentabilidad (Pinchao Coral, 2019, pág. 1).

En la tabla 1-2 se presenta la composición química del tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*)

Tabla 2-1: Composición química del tomate riñón

Nutrientes	Valor (100 g)
Agua	94,7
Energía	22 kcal
Proteína	1 g
Grasa	0,11 g
Carbohidratos	3,84 g
Fibra	1 g
Calcio	10 mg
Hierro	0,6 mg
Magnesio	10 mg
Fósforo	27 mg
Potasio	290 mg
Zinc	0,22 mg
Sodio	3 mg
Vitamina C	26 mg
Vitamina A	82,3 ug
Licopeno	2860 ug
Luteína	56 ug

Fuente: Peñafiel Rosero, 2022

Realizado por: Lala J., 2023.

La fermentación acética es realizada por bacterias del género *Acetobacter* transforman el etanol en agua y ácido acético, mediante una fermentación acética, esta conversión puede ser llevada a cabo por diversas bacterias y otros microorganismos capaces de producir ácido acético a partir de

sustratos que contienen etanol, la fermentación acética puede prolongarse a lo largo de varios años, siempre y cuando se mantengan las condiciones que favorecen la selección y desarrollo de microorganismos con alta tolerancia a la acidez y requisitos nutricionales mínimos (Chávez Lema, 2019, pág. 17).

2.4 Ácido acético

El ácido acético, un ácido débil común, muestra una alta toxicidad para los microorganismos, en concentraciones por encima de 5 g/L inhiben el crecimiento y metabolismo microbiano, su capacidad para atravesar la membrana celular y penetrar en las células es la razón principal de su toxicidad, elevando las concentraciones dentro de las células y perturbando funciones fisiológicas de la membrana celular (Qiu et al., 2021 págs. 5-6).

Entre sus propiedades destacamos que es un líquido incoloro y de olor fuerte e irritante, también puede ser un sólido a temperaturas debajo de los 17 °C, se utiliza en la producción de medicamentos, colorantes, plásticos, aditivos alimentarios y pesticidas (New Jersey Department of Health, 2017, pág. 1).

2.4.1 Aspectos fisicoquímicos

Tabla 2-2: Tabla de aspectos fisicoquímicos para antimicrobiano

Requisitos	Min.	Max.
pH	2,3	2,8
Acidez total	4	6
Acidez volátil	3,7	-

Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013.

Realizado por: Lala J., 2023.

2.4.1.1 pH

En cuanto al valor de pH que deben cumplir los antimicrobianos determinados por la norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013 pág. 2) menciona que son de 2,3 como mínimo y de 2,8 como máximo.

Se puede decir que el ácido acético es clasificado como un ácido debido a la presencia de un exceso de iones de hidrogeno (H_3O^+) en su solución, esta abundancia de iones de hidroxilo

genera un entorno ácido. Por otro lado, un exceso de iones (OH^-) en una solución se asocia con propiedades básicas o alcalinas (Mettler Toledo, 2016, pág. 5).

Para medir el pH, se requiere un instrumento de medición sensible a los iones de hidronio que determinan este valor, el método implica el uso de un sensor con una membrana de vidrio que responde a los iones de hidronio al entrar en contacto con una muestra de solución, lo que permite observar la reacción y obtener la medida del pH (Mettler Toledo, 2016, pág. 7).

2.4.1.2 *Acidez total*

En cuanto al valor de acidez total que deben cumplir los antimicrobianos determinados por la norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013 pág. 2) menciona que son de 4 como mínimo y de 6 como máximo.

La acidez total representa la acumulación de todos los ácidos que se pueden valorar en diferentes sustratos, esta evaluación implica la titulación ácido-base de un ácido débil con una base fuerte, como el hidróxido de sodio (NaOH), para determinar la cantidad total de ácidos presentes (Mettler Toledo, 2016, pág. 4).

Para calcular la acidez total del antimicrobiano con fenolftaleína como indicador, se añade entre 1 y 3 ml del antimicrobiano en un recipiente adecuado y se valora utilizando una solución alcalina de 0.1 N (Morán Figueroa, 2021, pág. 55).

2.4.1.3 *Acidez volátil*

En cuanto al valor de acidez volátil que deben cumplir los antimicrobianos determinados por la norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013 pág. 2) menciona que es de 3,7 como mínimo.

Es el conjunto de ácidos grasos de la serie acética que se hallan en el antimicrobiano, bien en estado libre o salificado, se excluyen de la acidez volátil los ácidos láctico y succínico, el ácido carbónico y el anhídrido sulfuroso libre y combinado, la acidez volátil está formada sobre todo por ácido acético en un 90-95% (J-Jimeno, 2019, pág. 1).

Se sigue el enfoque ácido-base, que implica tomar 10 ml de antimicrobiano, incrementándolo a un volumen entre 25 y 30 ml, luego, se agrega de 2 a 3 gotas de fenolftaleína como indicador, se llena una bureta con una solución de NaOH de concentración conocida, el proceso de valoración

comienza al goteo controlado de la solución de hidróxido de sodio sobre el antimicrobiano, agitándolo contantemente, la titulación culmina cuando se produce un cambio de color, generalmente violeta, en este punto, se detiene el flujo de la bureta y se mide el volumen de la solución añadida (Morán Figueroa, 2021, pág. 56).

2.5 Microorganismos

La contaminación surge debido a microorganismos con ciclos de vida específicos que, para completarse, requieren habitar entornos donde pueden degradar la calidad, representando un riesgo significativo para los seres vivos al tener la capacidad de causar enfermedades infecciosas o parasitarias, en este contexto, la contaminación se produce cuando un microorganismo de este tipo infesta un entorno, afectando negativamente a diversos organismos vivos (Ropero Portillo, 2020, pág. 2).

Los microorganismos muestran signos de mala higiene debido a un proceso inadecuado o contaminación posterior al proceso, se utilizan porque son fáciles y rápidos de identificar, su ausencia en superficies indica que la higiene y el proceso se realizaron correctamente, mientras que su presencia suele indicar un potencial problema o falla, el microorganismo blanco será aquel de importancia para la determinación en cuestión (Michanie, 2012, pág. 9).

La determinación de microorganismos aerobios mesófilos es el recuento más popular para evaluar la higiene de superficies e incluso de la mayoría de los alimentos, se considera una superficie inerte y limpia usualmente tiene un recuento de mesófilos que no supera a 10 UFC/cm² (UFC o Unidades Formadoras de Colonias), las Enterobacteriaceae y coliformes son los indicadores más usados hasta hace muy poco, coliformes fue el grupo más buscado por la industria de alimentos, en algunos países el grupo coliforme fue reemplazado por las Enterobacterias, el grupo coliformes se caracteriza por fermentar la lactosa y esta propiedad se usa para detectarlos y enumerarlos, los géneros normalmente pertenecientes al grupo son *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Escherichia*, particularmente *E. coli* (Michanie, 2012, pág. 9).

2.5.1 *Escherichia coli*

E. coli es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichia*. Por lo general, las encontramos en formas de varilla y miden aproximadamente 2.0 micrómetros (µm) largo y 0.25 µm diámetro, con un volumen de celda de 0.6-0.7 Puede crecer entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Algunos pueden crecer en pH de 4,4 y zonas con una actividad de agua mínima de 0,95 (Chandana Panchangam, 2015, pág. 1).

2.5.2 *Listeria monocytogenes*

Listeria es una bacteria facultativa anaerobia que prospera a una temperatura óptima de 37°C. *L. monocytogenes* presenta características psicrotróficas, lo que le permite sobrevivir a temperaturas cercanas a cero grados. Además, puede desarrollarse en un rango de pH de 4,6 a 9,5 y en condiciones de baja actividad de agua, incluso tan baja como 0,92. Sorprendentemente, esta bacteria es capaz de crecer en concentraciones de sal de hasta el 30%. *L. monocytogenes* generalmente muere mediante cocción o pasteurización. Puede sobrevivir a ciertas formas de pasteurización, especialmente si el recuento bacteriano es alto (Herrera A et al., 2012 pág. 3).

2.5.3 *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son un gran grupo de bacterias gram positivas que miden entre 0,5 y 1,5 micrones de diámetro. Se caracterizan por estar dispuestas en grupos que asemejan racimos de uvas, este género tiene una gran adaptabilidad. Son bacterias inmóviles, sin esporas, no tienen cápsula, aunque algunas cepas desarrollan una cápsula viscosa, son anaerobias facultativas, los estafilococos crecen bien en rangos de pH de 4.8 a 9.4 y a temperaturas de 25 a 43 °C (Zendejas Manzo et al., 2014 pág. 130).

2.5.4 *Salmonella spp.*

Es un bacilo gram negativo tamaño que se comporta como un patógeno intracelular facultativo (anaerobio facultativo) que se encuentra en el intestino de humanos y animales sanos, no requieren NaCl para crecer, pero pueden crecer en presencia de 0,4-4%; la mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen a esta temperatura. 5-47 °C, su temperatura óptima es 35-37 °C y sobreviven en un rango de pH de 4-9 y una actividad de agua de 0,94-0,99 (Alfaro Mora, 2018, pág. 113).

2.6 Requisitos microbiológicos

Tabla 2-3: Interpretación de resultados de acuerdo con los límites microbiológicos

Superficies Inertes			
Método Hisopo	Superficie regular		
Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Fuentes

<i>S. aureus</i>	< 0,1 UFC / cm ²	< 1 UFC / cm ²	(Ministerio de Salud, 2007)
<i>L. monocytogenes,</i> <i>Salmonella spp.</i>	Ausencia / superficie muestreada en cm ²	Ausencia / superficie muestreada en cm ²	(Ministerio de Salud, 2007)
<i>E. coli</i>	-	< 1 UFC/superficie muestreada	(Asociación Española de Normalización, 2019)

Realizado por: Lala J., 2023.

A diferencia de otros agentes patógenos como *E. coli* o *Salmonella*, que suelen ingresar a las instalaciones de procesamiento con la materia prima, la bacteria *Listeria monocytogenes* tiene la capacidad de establecerse como residente en dichas instalaciones, provocando una contaminación recurrente del producto en cada etapa del proceso (Restauración Colectiva, 2019, pág. 1).

De acuerdo con lo que reporta (Yagnik et al., 2018 pág. 2), en su trabajo titulado “Antimicrobial activity of apple cider vinegar against Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans; downregulating cytokine and microbial protein expresión” reporto que al aplicar un antimicrobiano inhibió la presencia *S. aureus* y *E. coli*.

En la investigación “Listeriosis enfermedad en círculos” reportado por (Institute For International Cooperation In Animal Biologic, 2007, pág. 1), *L. monocytogenes* es sensible al hipoclorito de sodio al 1%, al etanol al 70% o al glutaraldehído. También se puede eliminar mediante calor húmedo (121°C durante al menos 15 minutos) o calor seco (160-170°C durante 1 hora).

Lo que reporto (Alfaro Mora, 2018, pág. 113) en su investigación titulada “Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos” la *Salmonella* es sensible al calor y a menudo muere a temperaturas de 70°C o más. Se produce una inhibición completa del crecimiento menor que 7 °C, pH 3,8 y actividad del agua 0,94.

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización y duración del Experimento

El trabajo experimental se llevó a cabo en el Ecuador, provincia de Chimborazo, cantón Riobamba, en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ubicada en la Av. Panamericana Sur km 1½ en los Laboratorios de Bromatología y Nutrición Animal, así como en el de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Pecuarias. Teniendo una duración de 90 días.

Las condiciones meteorológicas de la zona de influencia se describen en la tabla 3-1

Tabla 3-1: Condiciones meteorológicas del cantón Riobamba

INDICADORES	PROMEDIO
Temperatura (°C)	11,97
Precipitación (mm)	122
Humedad relativa (%)	85
Días lluviosos (días)	15
Horas de sol (horas)	5,40

Fuente: Climate Data, 2022.

Realizado por: Lala J., 2023.

3.2 Unidades experimentales

Cada unidad experimental estuvo constituida por 250 ml de muestra por repetición, teniendo 4 repeticiones por tratamiento, dando un total de 4000 ml.

3.3 Materiales equipos e insumos

3.3.1 *Materiales*

- Frasco termorresistente
- Cajas de Petri
- Botellas de Plástico
- Frascos de Vidrio
- Cilindro de Gas

- Coladores
- Gradilla de Metal
- Imán Agitador Magnético
- Tubos de Eppendorf
- Tubos de ensayo
- Vasos de Precipitación
- Papel film
- Papel de Cocina
- Papel Industrial
- Papel de aluminio
- Puntas Plásticas de 1 ml
- Cofia
- Guantes
- Mascarilla
- Mandil
- Agitador Magnético
- Hisopo para Toma de Muestras.

3.3.2 Equipos

- Autoclave
- Balanza Analítica
- Baño María
- Incubadora
- Mechero a Gas
- Micropipeta Volumétrica
- pH metro
- Refrigeradora
- Licuadora
- Contador de colonias
- Airlock

3.3.3 Insumos

- Agua Destilada
- Alcohol al 70%

- Alcohol al 96%
- Acetobacter Agar (Glucose)
- Pulpa de Tomate (*Lycopersicon esculentum*)
- Bacteria: *Acetobacter aceti* aislada del Bosque Primario-Pungalá
- Hidróxido de Sodio 0,1N.
- MacConkey Agar
- Trypticase Soy Agar
- Baird-Parker Agar Base
- Agar EMB

3.4 Instalaciones

Se realizó en los Laboratorios de Bromatología y Nutrición Animal y en el Laboratorio de Ciencias Biológicas, de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

3.5 Tratamiento y Diseño Experimental

Se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de antimicrobiano (65, 75, 80 %) aplicados a mesas de acero inoxidable en la empresa ARSAICO Cia. Ltda. para ser comparado con un control (67%), por lo que se contó con 4 tratamientos experimentales y cada uno de ellos con 4 repeticiones, como se observa en la Tabla 3-2:

Tabla 3-2: Esquema del experimento

Tipos de antimicrobianos	Código	N° Repeticiones	T.U.E.*	ml/Trat.
T0 Antimicrobiano comercial 67%	T0	4	250ml	1000
T1 Antimicrobiano 65%	T1	4	250ml	1000
T2 Antimicrobiano 75%	T2	4	250ml	1000
T3 Antimicrobiano 80%	T3	4	250ml	1000
Total, ml				4000

TUE*: Tamaño de la Unidad Experimental 250 ml

Realizado por: Lala J., 2023.

Las mediciones experimentales serán modeladas bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) el mismo consta de 4 tratamientos, 4 repeticiones. En donde La fórmula del diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación.

μ = Efecto de la media por observación.

α_i =Efecto de los tratamientos.

ϵ_{ij} =Efecto del error experimental

3.6 Mediciones experimentales

Las mediciones experimentales consideradas serán:

3.6.1 *Análisis Fisicoquímico, según la Norma INEN 2296:2013*

- Acidez total, (como ácido acético), %
- Acidez volátil, (como ácido acético), %
- pH a 20 °C

3.6.2 *Recuento De Microorganismos Antes De La Aplicación, según la Resolución Ministerial N° 461-2007/ MINSA*

- *Escherichia coli* (Ufc/cm²)
- *Listeria monocytogenes* (Ufc/ cm²)
- *Staphylococcus aureus* (Ufc/ cm²)
- *Salmonella spp.* (Ufc/ cm²)

3.6.3 *Recuento Microbiológico Después De La Aplicación según las UNE-EN ISO 18593: 2019 y la Resolución Ministerial N° 461-2007/ MINSA*

- *Escherichia coli* (Ufc/ cm²)
- *Listeria monocytogenes* (Ufc/ cm²)
- *Staphylococcus aureus* (Ufc/ cm²)
- *Salmonella spp.* (Ufc/ cm²)

3.7 Análisis estadístico y pruebas de significancia

Para la estimación de las diferentes variables de la presente investigación se llevarán a cabo varios análisis de laboratorio. Los resultados que se obtengan serán evaluados mediante las siguientes pruebas estadísticas completamente al azar:

- Análisis de Varianza (ADEVA), para aceptar la hipótesis.
- Separación de medias ($P < 0,05$) a través de la prueba de Tukey.
- Estadística Descriptiva.

El esquema del ADEVA se reporta en la tabla 3-3.

Tabla 3-3: Esquema de ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	$(n-1) = 15$
Tratamientos	$(t-1) = 3$
Error	$(n-1) - (t-1) = 12$

GL*: Grados de Libertad

Realizado por: Lala J., 2023.

3.8 Procedimiento experimental

Tabla 3-4: Tratamientos del antimicrobiano

	TRATAMIENTOS			
	T0 (67%)	T1 (65%)	T2 (75%)	T3 (80%)
Mesas de acero inoxidable	670 ml de ácido acético + 330 ml de H ₂ O destilada	650 ml de ácido acético + 350 ml de H ₂ O destilada	750 ml de ácido acético + 250 ml de H ₂ O destilada	800 ml de ácido acético + 200 ml de H ₂ O destilada

Realizado por: Lala J., 2023.

3.9 Proceso para la obtención del antimicrobiano

Durante la fermentación, las sustancias orgánicas sufren una serie de cambios químicos (reducciones y oxidaciones) en ausencia o presencia de oxígeno, que produce energía, algunas de las cuales se oxidan y otras se reducen aún más. Los sustratos se descomponen mediante enzimas producidas por microorganismos para este fin, el proceso natural de obtención conlleva a dos fermentaciones diferentes; La fermentación alcohólica, las levaduras presentes en la fruta transforman los azúcares en alcohol y la fermentación acética, las acetobacterias convierten el alcohol en ácido acético (Chávez Lema, 2019, pág. 15).

3.9.1 Proceso experimental

De acuerdo con (Huaman Sanchez, 2019) se procede de la siguiente manera para la elaboración del antimicrobiano (págs. 30-31).

3.9.1.1 Recepción de la materia prima

Se recibió el Tomate Riñón (*Lycopersicon esculentum*) de la empresa ARSAICO Cia. Ltda. y se realizó una inspección visual para verificar que se encuentre en perfecto estado.

3.9.1.2 Selección y lavado

Mediante un análisis visual, se seleccionó los Tomates que se encuentren en mejor estado, los que no presenten ninguna alteración fisicoquímica o biológica, se procedió a lavar con agua para eliminar la mayor cantidad de impurezas que pueda contener.

3.9.1.3 Cortado y Licuado:

Con la ayuda de un cuchillo se procedió a cortar el tomate en cuatro partes, las cuales serán llevadas a la licuadora para triturar y de esta manera conseguir un sustrato.

3.9.1.4 Fermentación alcohólica

Se llevó el sustrato a envases de vidrio para realizar la fermentación, la cual se realizó a una temperatura de 22 a 25 °C aproximadamente.

3.9.1.5 Filtración

Se filtró el sustrato con un colador y una malla de nailon ultrafino a envases de vidrio.

3.9.1.6 Inoculación

Se agregó la bacteria *Acetobacter aceti*, para que realice proceso de fermentación acética y así obtener el ácido acético de Tomate Riñón (*Lycopersicon esculentum*).

3.9.1.7 Fermentación acética

Este proceso se realizó a una temperatura de 25 °C.

3.9.1.8 Filtrado

Se filtró el sustrato para retirar cualquier elemento extraño que pueda estar presente.

3.9.1.9 Envasado

El ácido acético se envasó en botellas de vidrio para conservar de mejor manera las características.

3.9.2 Elaboración de Antimicrobiano

3.9.2.1 Formulación

Se procedió a preparar el Antimicrobiano en diferentes concentraciones, las cuales contienen 65%, 75% y 80% de ácido acético respectivamente.

3.10 Metodología de evaluación

3.10.1 Análisis Físicoquímico

Para los análisis físicoquímicos de pH, acidez total y acidez volátil del antimicrobiano se utilizará la Norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013) la cual indica cada uno de los procesos a seguir para el análisis.

3.10.2 Recuento De Microorganismos

Para la toma de muestras de microorganismos en las mesas de acero inoxidable se utilizó la Resolución Ministerial N° 461 (Ministerio de Salud, 2007), para determinar los niveles aceptables de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*, en superficies en contacto se utilizó la norma UNE-EN ISO 18593 (Asociación Española de Normalización, 2019) y la Resolución Ministerial N° 461 (Ministerio de Salud, 2007).

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Caracterización Físicoquímica de un Antimicrobiano elaborado con *Acetobacter aceti*

Los parámetros evaluados pH, acidez total y acidez volátil se reportan en la tabla 4-1.

Tabla 4-1: pH, acidez total y acidez volátil del antimicrobiano obtenido de la bacteria *Acetobacter aceti*

Tratamientos	Variables		
	pH	Acidez total	Acidez volátil
Antimicrobiano comercial 67%	2.51 a	5.13 d	5.11 d
Antimicrobiano 65%	2.73 d	4.75 a	4.73 a
Antimicrobiano 75%	2.63 c	4.88 b	4.84 b
Antimicrobiano 80%	2.55 b	4.97 c	4.92 c
E.E.	0.0034	0.22	0.16
Prob.	0.0001	0.0001	0.0001

E.E. Error estándar

Prob. Probabilidad

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Lala J., 2023.

La tabla 4-1 revela valores de pH los diferentes tratamientos estudiados, registrándose diferencias estadísticas altamente significativas, con un valor óptimo de pH para el tratamiento testigo de 2.51 en relación con los otros antimicrobianos. Posiblemente esto se deba a la cantidad de ácido acético presente en los distintos antimicrobianos. Sin embargo, estos valores se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013).

Como se observa en la tabla 4-1 los valores de acidez total registrados en los tratamientos estudiados presentan diferencias estadísticas altamente significativas, con un valor óptimo de acidez total para el tratamiento testigo de 5.13 % en relación con los demás antimicrobianos. Posiblemente esto se deba a la cantidad de los ácidos presentes como es el ácido acético el cual se encuentra en los distintos antimicrobianos. Sin embargo, estos valores se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013).

En la tabla 4-1 se presenta valores de acidez volátil entre los diferentes tratamientos de antimicrobiano los cuales indican diferencias estadísticas altamente significativas, con un valor óptimos de acidez volátil para el tratamiento testigo de 5.11 % en relación con los demás antimicrobianos. Posiblemente esto se debe al conjunto de ácidos formados durante la fermentación los cuales se encuentran presentes en los diferentes antimicrobianos. Sin embargo, estos valores se encuentran dentro de los rangos establecidos por la Norma INEN 2296 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013).

4.2 Recuento de microorganismos

Los resultados de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* antes y después de la aplicación del antimicrobiano en diferentes niveles de concentración se presentan en la tabla 4-2.

Tabla 4-2: Presencia de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* antes y después de la aplicación del antimicrobiano en diferentes porcentajes.

Microorganismo	ANTES	DESPUÉS UFC/cm ²				E.E	Prob.
	UFC/cm ²	T0 (67%)	T1 (65%)	T2 (75%)	T3 (80%)		
	M. acero inoxida.						
<i>Escherichia coli</i>	1.16x10 ²	0 c	1.13x10 ² b	1.15x10 ² a	0 c	0.29	0.0001
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.1775x10 ²	0 b	1.1425x10 ² a	1.1375x10 ² a	0 b	0.18	0.0001
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.165x10 ²	0 b	1.1575x10 ² a	1.1525x10 ² a	0 b	0.27	0.0001
<i>Salmonella spp</i>	1.17x10 ²	0 b	1.1575x10 ² a	1.16x10 ² a	0 b	0.24	0.0001

E.E. Error estándar

Prob. Probabilidad

C.V. Coeficiente de variación

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Lala J., 2023.

Como revela la tabla 4-2 antes de la aplicación de los distintos tratamientos (antimicrobianos) analizados se observa una población de *Escherichia coli* de 1.16 x10² UFC/cm². Al aplicar los antimicrobianos analizados, registra ausencia de población de *Escherichia coli* en los tratamientos T0 y T3; sin embargo, en los tratamientos T1 y T2 registra una disminución mínima de la

población de esta bacteria. Esto posiblemente se debe a la cantidad de ácido acético presente. Los resultados obtenidos en la presente investigación están dentro de los rangos permitidos por la norma UNE-EN ISO 18593 (Asociación Española de Normalización, 2019) mientras que los tratamientos T1 y T2 no cumplen con el requisito que establece $< 1 \text{ UFC/cm}^2$.

La tabla 4-2 antes de la aplicación de los distintos tratamientos (antimicrobianos) analizados presenta una población de *Listeria monocytogenes* de $1.1775 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$. Después de la aplicación de los distintos antimicrobianos estudiados, se registra ausencia de población de *Listeria monocytogenes* en los tratamientos T0 y T3; mientras que en los tratamientos T1 y T2 registra una pequeña disminución bacteriana. Esto se deba posiblemente a la cantidad de ácido acético presente. Adicionalmente los resultados obtenidos en la presente investigación están dentro del rango aceptable por la Resolución Ministerial N° 461 (Ministerio de Salud, 2007) mientras que los tratamientos T1 y T2 no cumplen con el requerimiento que establece Ausencia UFC/cm^2 .

Como se presenta en la tabla 4-2 antes de la aplicación de los diferentes tratamientos (antimicrobianos) estudiados la población de *Staphylococcus aureus* es de $1.165 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$. Una vez aplicados los distintos antimicrobianos analizados, se registra ausencia de población de *Staphylococcus aureus* para los tratamientos T0 y T3; por otra parte, para los tratamientos T1 y T2 presenta una mínima disminución bacteriana. Esto se deba posiblemente a la cantidad de ácido acético presente. Adicionalmente los resultados obtenidos en la presente investigación están dentro del rango aceptado por la Resolución Ministerial N° 461 (Ministerio de Salud, 2007) mientras que los tratamientos T1 y T2 no cumplen con el requerimiento que establece $< 1 \text{ UFC/cm}^2$.

En la tabla 4-2 indica que antes de la aplicación de los distintos tratamientos (antimicrobiano) analizados la población de *Salmonella spp.* es de $1.17 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$. Después de la aplicación de los diferentes tratamientos estudiados, se registró ausencia de población de *Salmonella spp.* para los tratamientos T0 y T3; por otro lado, para los tratamientos T1 y T2 presenta una disminución mínima de población de dichas bacterias. Posiblemente esto se deba a la cantidad de ácido acético presente. Adicionalmente los resultados obtenidos en la presente investigación están dentro del rango aceptado por la Resolución Ministerial N° 461 (Ministerio de Salud, 2007) mientras que los tratamientos T1 y T2 no cumplen con el requerimiento que establece Ausencia UFC/cm^2 .

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Al caracterizar los antimicrobianos elaborados con la bacteria *Acetobacter aceti* los parámetros fisicoquímicos (pH, Acidez total y acidez volátil) registraron diferencias estadísticas entre sus respectivas medias, encontrándose dentro de los límites de aceptación que establece la Norma INEN 2296, con valores más altos para el tratamiento testigo con valores de 2.51, 5.13% y 5,11%, para pH, acidez total y acidez volátil respectivamente.
- Al evaluar microbiológicamente antes de la aplicación del antimicrobiano en las superficies de las mesas analizadas, se registraron presencia de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* con poblaciones elevadas de 1.16×10^2 UFC/cm², 1.1775×10^2 UFC/cm², 1.165×10^2 UFC/cm² y 1.17×10^2 UFC/cm² respectivamente.
- El efecto del antimicrobiano al analizar las mesas de acero inoxidable después de su aplicación, registro ausencia de la población de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* en los tratamientos T0 (76% ácido acético) y T3 (80% de ácido acético) siendo los más eficaces, ya que se encuentran dentro de los requisitos de la norma UNE-EN ISO 18593 y la Resolución Ministerial N° 461.

5.2 Recomendaciones

- Utilizar el mejor tratamiento T3 con 80% de ácido acético como método de desinfección en superficies por su eficacia.
- Realizar más investigaciones sobre el efecto antimicrobiano de la bacteria *Acetobacter aceti* en diferentes superficies de interés agroindustrial como utensilios, maquinaria, pisos, paredes.
- Elaborar un antimicrobiano con bacteria *Acetobacter aceti* utilizando otros sustratos de origen biológico para determinar su eficacia.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ALFARO MORA, Ramsés.** "Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp* en humanos". *Revista Cubana de Medicina General Integral* [en línea], 2018, (Cuba) vol. 34 (3), págs. 110-122. [Consulta: 20 noviembre 2023]. ISSN 1561-3038. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012
2. **BOLUFER GIL, Marc.** *Desinfectantes en la Higiene y Salud*. [blog]. [Consulta: 20 noviembre 2023]. Disponible en: <https://ventajasydesventajas.com/desinfectantes-ventajas-y-desventajas/#:~:text=Las%20desventajas%20de%20utilizar%20desinfectantes%20qu%C3%ADMICOS%20en%20el,la%20creaci%C3%B3n%20de%20bacterias%20resistentes%20a%20los%20desinfectantes.>
3. **CÁCERES ESPITIA, John Jairo; CAYCEDO LOZANO, Liliana & TTUJILLO SUÁREZ, Diana Marcela.** "Efecto Bactericida Del Ácido Acético Presente En El Vinagre, Una Alternativa A Desinfectantes Sintéticos o Químicos". *Revista boletín REDIPE* [en línea], 2022, (Colombia), vol. 11 (1), págs. 440-451. [Consulta: 21 noviembre 2023]. ISSN 2256-1536. Disponible en: <https://revista.redipe.org/index.php/1/article/view/1653/1563>
4. **CARHUALLANQUI PÉREZ, Andrea; SALAZAR SALVATIERRA, Maria Elena & RAMOS DELGADO, Daphne.** "Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*". *Revista de Investigaciones Altoandinas* [en línea], 2020, (Perú), vol. 22 (1), págs. 25-33. [Consulta: 22 noviembre 2023]. ISSN 2313-2957. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572020000100025&lng=es&nrm=iso&tlng=es
5. **CEDEÑO CEDEÑO, Nelida Del Carmen.** Proceso Para la Elaboración de Vinagre de Banano (*Musa paradisíaca* I var. *Sapientum*) con Sabor a Albahaca (*Ocimum Basilicum*). [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Agraria del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrarias. Guayaquil-Ecuador. 2013. págs. 1-47. [Consulta: 2023-11-22]. Disponible en: <https://1library.co/document/yj7x1g65-universidad-agraria-del-ecuador-monograf%C3%ADa.html>

6. **CHANDANA PANCHANGAM, Sri.** *Escherichia coli (e.coli)*. [blog]. [Consulta: 22 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/282070990_Escherichia_Coli
7. **CHÁVEZ LEMA, Jonathan Gabriel.** Estudio del proceso de la Elaboración de Vinagre a Partir de Desechos de Frutas.[En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias de la Ingeniería y Aplicadas, Carrera de Ingeniería Industrial. Cotopaxi-Ecuador. 2019. págs. 1-74. [Consulta: 2023-11-23]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5432/1/PI-001369.pdf>
8. **COMISION EUROPEA.** *Materiales en contacto con alimentos*. [en línea]. Luxemburgo: AECOSAN, 2015 . [Consulta: 22 noviembre 2023]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/336207/ANNEX.pdf?sequence=1>
9. **CÓRDOVA GARCÍA, Melissa Jamilet; SOLÓRZANO CEVALLOS, Jennifer Monserrate; MOREIRA MENDOZA, Carlos Antonio & LATORRE CASTRO, Gisela Beatriz.** "Cinética De Fermentación Acética Utilizando Acetobacter Aceti Como Agente Biológico". *Revista Científica INGENIAR*. [en línea], 2022, (Ecuador), vol. 5 (10), págs. 81-94. [Consulta: 22 noviembre 2023]. ISSN 2737-6249. Disponible en: <http://journalingeniar.org/index.php/ingeniar/article/view/93/130>
10. **GONZÁLES HERRERA, Sandra Luz; LOZADA MÉNDEZ, Margarita & HERNÁNDEZ GARCIA, Nazcir Arturo.** "Protocolo de limpieza y desinfección de mesas de trabajo en los laboratorios de enseñanza de Ciencias de la Salud-Xalapa". *UVserva* [en línea], 2019, (Mexico), vol. 7, págs. 72-81. [Consulta: 21 noviembre 2023]. ISSN 2448-7430. Disponible en: <https://uvserva.uv.mx/index.php/Uvserva/article/view/2607/4528>
11. **GONZÁLEZ, N.** "Microbiología industrial. Los microorganismos de interés industrial". *Revista De Química*. [en línea], 2001, (España), vol. 15 (1), págs. 114-115. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4761>

12. **HERRERA A, Fanny & SUÁREZ Q, William.** "Aislamiento E Identificación De Listeria Spp. A Partir De Muestras De Pescado Fresco Expendido En Pamplona (Norte De Santander)". *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* [en línea], 2012, (Colombia), vol. 15 (2), págs. 257-265. [Consulta: 22 noviembre 2023]. ISSN 0123-4226. Disponible en: http://scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000200002
13. **HUAMAN SANCHEZ, Carmen Soledad.** Producción Familiar de Vinagre de Manzana Delicia (*Malus domestica-red delicious*) en el Laboratorio de la Planta Piloto de Procesos Orgánicos de la Facultad de Ingeniería Química y Metalúrgica. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrion, Facultad de Ingeniería Agraria, Industria Alimentarias y Ambiental, Ingeniería en Industria Alimentaria. Huacho-Perú, 2019. págs. 1-54. [Consulta: 2023-11-22]. Disponible en: <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/3326/Huaman%20sanchez%20carmen%20soledad.pdf?sequence=2>
14. **I VALLS, Núria Fuster.** Importancia Del Control Higiénico De Las Superficies Alimentarias Mediante Técnicas Rápidas Y Tradicionales Para Evitar Y/O Minimizar Las Contaminaciones Cruzadas. [En línea]. (Trabajo de titulación) Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona-España. 2006. págs. 1-149. [Consulta: 2023-11-23]. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2006/tdx-1005107-165210/nfv1de1.pdf>
15. **INSTITUTE FOR INTERNATIONAL COOPERATION IN ANIMAL BIOLOGIC.** "Listeriosis". *The Center for Food Security & Public Health* [en línea], 2007, (España), págs. 1-6. [Consulta: 22 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/listeriosis-es.pdf>
16. **NTE INEN 2296.** *Requisitos Vinagres.*
17. **J-JIMENO.** *Técnica Operativa De La Acidez Volátil (Método Garcia-Tena).* [blog]. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en: https://jjimeno.com/download/TECNICA_OPERATIVA_DE_LA_ACIDEZ_VOLATIL1.pdf

18. **LÓPEZ, Beatriz.** *Acetobacter*. [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/acetobacter/#:~:text=Caracter%C3%ADsticas%20de%20Acetobacter%201%20La%20mayor%C3%ADa%20de%20las,...%205%20Uso%20comercial.%20...%206%20Patogenicidad.%20>
19. **METTLER TOLEDO.** *Medición de la acidez en los alimentos*. [blog]. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.mt.com/mx/es/home/applications/laboratory/food-and-beverages/acidity-measurement.html>
20. **METTLER TOLEDO.** *Teoría y Práctica de Aplicaciones de pH en el Laboratorio*. [blog]. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.sesst.org/wp-content/uploads/2019/06/30237094a_v04.16_ph_measurement_guide_es_lr.pdf
21. **MICHANIE, Silvia.** "Monitoreo de la Higiene de Superficies". *Britania*. [en línea], 2012, (Argentina), vol. 2, págs. 1-19. [Consulta: 22 noviembre 2023]. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/OneDrive/Tesis/Documentos%20Tesis/TESIS/ApunteII-MONITOREODEHIGIENE.pdf>
22. **MORÁN FIGUEROA, Deyanira Madelaine.** Obtención de vinagre natural a partir de residuos orgánicos (cáscara) de piña (Ananas comosus) tipo Golden Sweet o MD-2. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales, Carrera de Ingeniería en Alimentos. Carchi-Ecuador. 2021, págs. 1-101. [Consulta: 2023-11-23]. Disponible en: <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/1309/1/059-%20MOR%C3%81N%20FIGUEROA%20DEYANIRA%20MADELAINA.pdf>
23. **NEW JERSEY DEPARTMENT OF HEALTH.** *Hoja Informativa sobre Sustancias Peligrosas*. [blog]. [Consulta: 22 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/0004sp.pdf>
24. **PASTRANA PUCHE, Yenis Ibeth; DURANGO VILLADIEGO, Alba Manuela & ACEVEDO CORREA, Diofanor.** "Efecto Antimicrobiano Del Clavo Y La Canela Sobre Patógenos". *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [en línea], 2017,

(Colombia), vol. 15 (1), págs. 56-65. [Consulta: 20 noviembre 2023]. ISSN 1692-3561. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612017000100007&lng=en&nrm=iso&tlng=es

25. PEÑAFIEL ROSERO, Diana Carolina. *Manual de Hortalizas Ecuatorianas*. [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: https://issuu.com/dcpenafiel/docs/manual_tomate_ri_n

26. PINCHAO CORAL, Oscar Liprando. Identificación de los daños causados por botrytris en el cultivo de tomate de riñón (*Lycopersicon esculentum Mill*), bajo invernadero, en la Comunidad San José, Cantón Pimampiro, provincia de Imbabura. [En línea]. (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Babahoyo. Carchi-Ecuador. 2019. págs. 1-23. [Consulta: 2023-11-21]. Disponible en: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6422/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000201.pdf?sequence=1>

27. QIU XIAOMAN, Zhang Yao & HONG Housheng. "Clasificación de las bacterias del ácido acético y su mecanismo resistente a los ácidos". *AMB Express* [en línea], 2021, (China), vol. 29, págs. 1-15. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-021-01189-6>

28. RABASSA OLAZÁBAL, Glenia; PÉREZ SÁNCHEZ, Amaury; GONZÁLES SUÁREZ, Erenio; PÉREZ SÁNCHEZ, Eddy Javier & ÁLVAREZ LAUGART, Euclides. "La microbiología industrial como herramienta efectiva en la obtención de productos de alta demanda". *Revista Virtual Pro*. [en línea], 2015, (Cuba), vol. 156, págs. 1-31. [Consulta: 21 noviembre 2023]. ISSN 1900-6241. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/321059252_La_microbiologia_industrial_como_herramienta_efectiva_en_la_obtencion_de_productos_de_alta_demanda

29. RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 461. *Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas*.

30. RESTAURACIÓN COLECTIVA. *Proceso de limpieza y desinfección para el control de la Listeria monocytogenes*. 2019. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en:

<https://www.restauracioncolectiva.com/n/proceso-de-limpieza-y-desinfeccion-para-el-control-de-la-listeria-monocytogenes>

31. **ROPERO PORTILLO, Sandra.** *Contaminación biológica.* [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/contaminacion-biologica-que-es-tipos-y-ejemplos-2517.html>

32. **UNE-EN ISO 18593.** *Microbiología de la cadena alimentaria Métodos horizontales para toma de muestras de superficies.*

33. **UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.** *Antimicrobiano.* [blog] 2023. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/what-are-antimicrobial-pesticides>

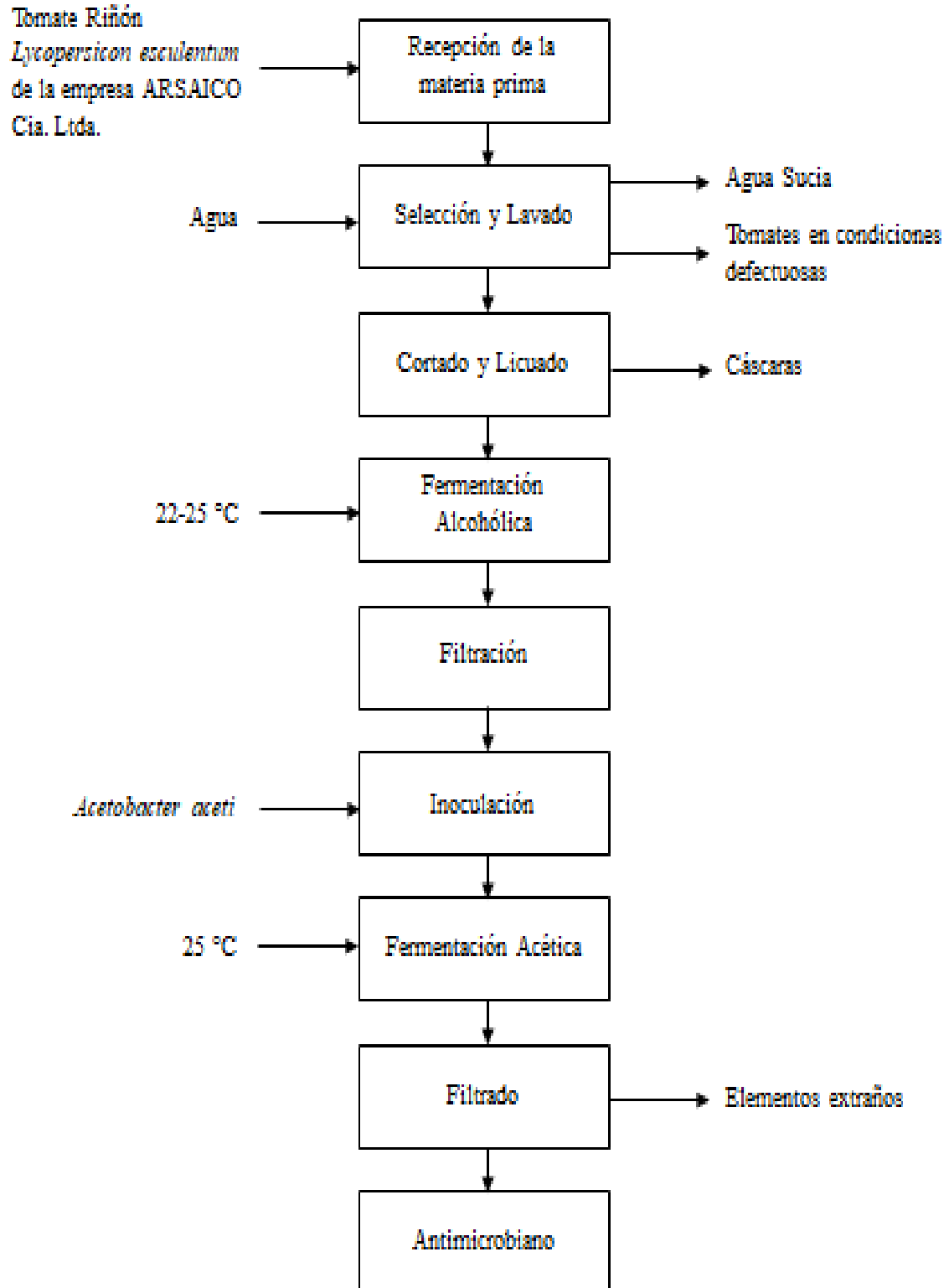
34. **YAGNIK DARSHNA , Serafin Vlad & SHAH, Ajit J.** "Antimicrobial activity of apple cider vinegar against Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans; downregulating cytokine and microbial protein expression". *SCIENTIFIC REPORTS* [en línea], 2018, (Reino Unido), vol. 8 (1732), págs. 1-12. [Consulta: 23 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5788933/pdf/41598_2017_Article_18618.pdf

35. **ZENDEJAS MANZO, Guadalupe Socorro; AVALOS FLORES, Héctor & SOTO PADILLA, Marisela Yadira.** "Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación". *Rev Biomed* [en línea], 2014, (México), vol. 25 (3), págs. 129-143. [Consulta: 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>



ANEXOS

ANEXO A: DIAGRAMA DE PROCESO DE ELABORACIÓN DE ANTIMICROBIANO.



ANEXO B: PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA INOCULAR LA BACTERIA
Acetobacter aceti.



ANEXO C: FORMULACIÓN Y ELABORACION DEL ANTIMICROBIANO.



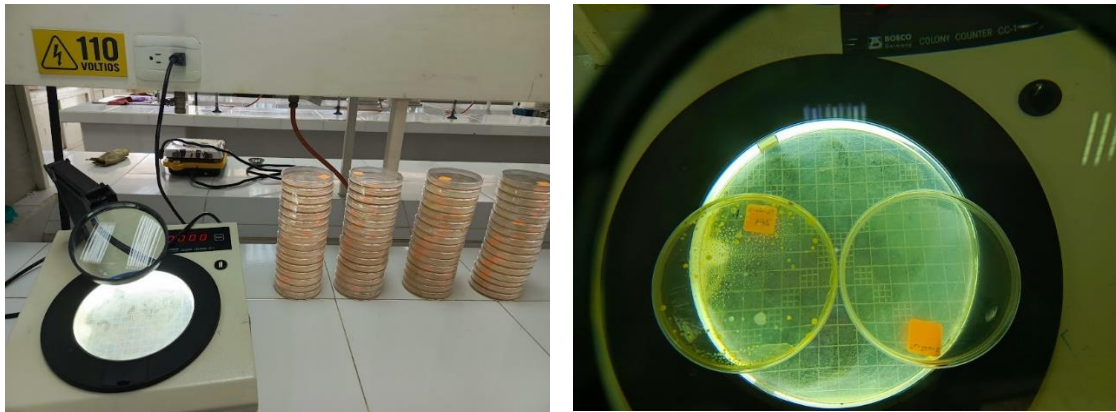
ANEXO D: ANALISIS FISICOQUÍMICOS.



ANEXO E: TOMA DE MUESTRAS E INCUBACIÓN DE MICROORGANISMOS.



ANEXO F: CONTEO DE MICROORGANISMOS.



ANEXO G: TABLA DE RESULTADOS DE pH, ACIDEZ TOTAL Y ACIDEZ VOLÁTIL.

Tratamiento	pH	Acidez total	Acidez volátil
T0	2.51	5.13	5.11
T0	2.51	5.12	5.10
T0	2.52	5.12	5.10
T0	2.51	5.14	5.11
T1	2.74	4.77	4.74
T1	2.72	4.74	4.72
T1	2.72	4.74	4.72
T1	2.73	4.76	4.73
T2	2.63	4.87	4.83
T2	2.62	4.88	4.84
T2	2.64	4.89	4.85
T2	2.63	4.87	4.84
T3	2.55	4.97	4.92
T3	2.55	4.98	4.93
T3	2.55	4.97	4.92
T3	2.55	4.96	4.91

ANEXO H: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO pH.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	16	0.99	0.99	0.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.11	3	0.04	791.64	<0.0001
Error	5.5E-04	12	4.6E-05		
Total	0.11	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01421

Error: 0.0000 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T0	2.51	4	3.4E-03	A		
T3	2.55	4	3.4E-03		B	
T2	2.63	4	3.4E-03			C
T1	2.73	4	3.4E-03			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO I: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO ACIDEZ TOTAL.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez total	16	1.00	0.99	0.22

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.30	3	0.10	840.47	<0.0001
Error	1.4E-03	12	1.2E-04		
Total	0.30	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.02288

Error: 0.0001 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T1	4.75	4	0.01	A		
T2	4.88	4	0.01		B	
T3	4.97	4	0.01			C
T0	5.13	4	0.01			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO J: ANALISIS ESTADISTICO FISICOQUÍMICO DEL ANTIMICROBIANO ACIDEZ VOLÁTIL.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez volátil	16	1.00	1.00	0.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0.30	3	0.10	1564.23	<0.0001
Error	7.8E-04	12	6.5E-05		
Total	0.30	15			

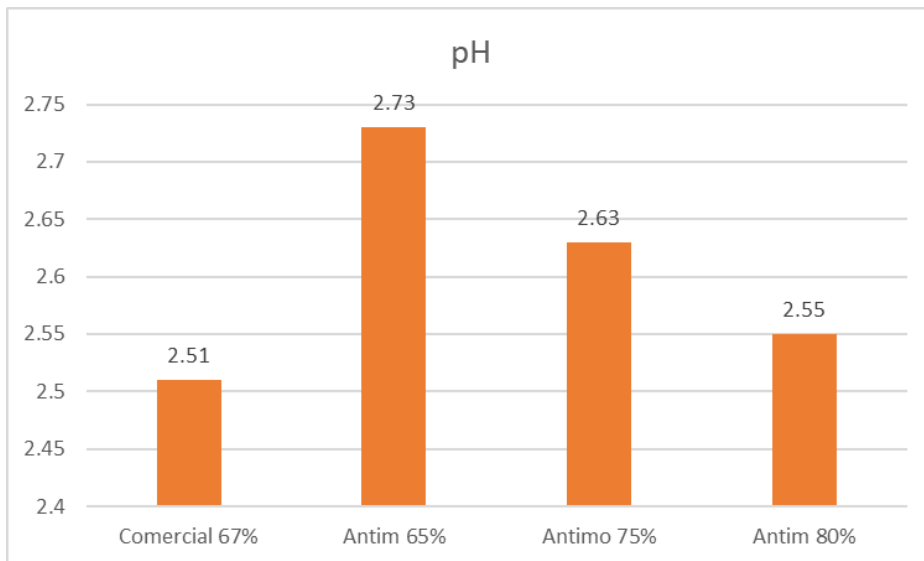
Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01687

Error: 0.0001 gl: 12

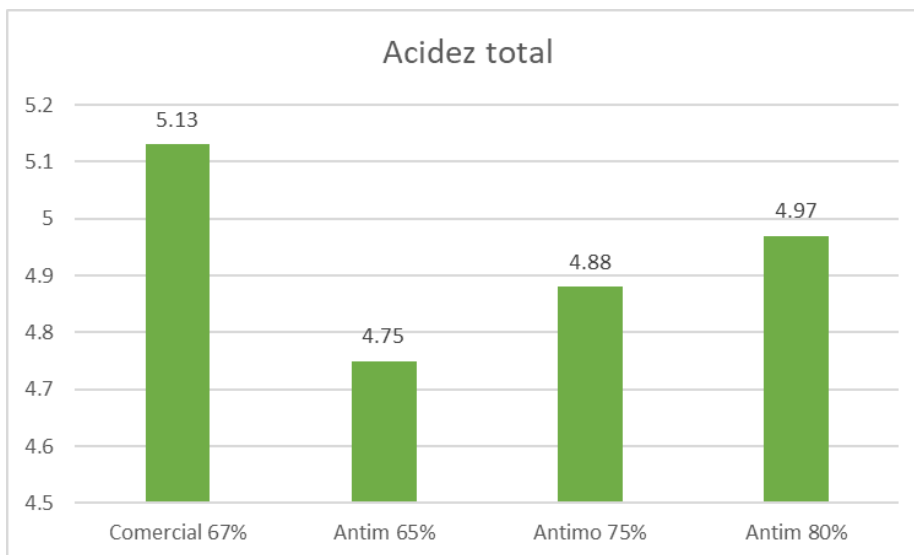
Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T1	4.73	4	4.0E-03	A		
T2	4.84	4	4.0E-03		B	
T3	4.92	4	4.0E-03			C
T0	5.11	4	4.0E-03			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

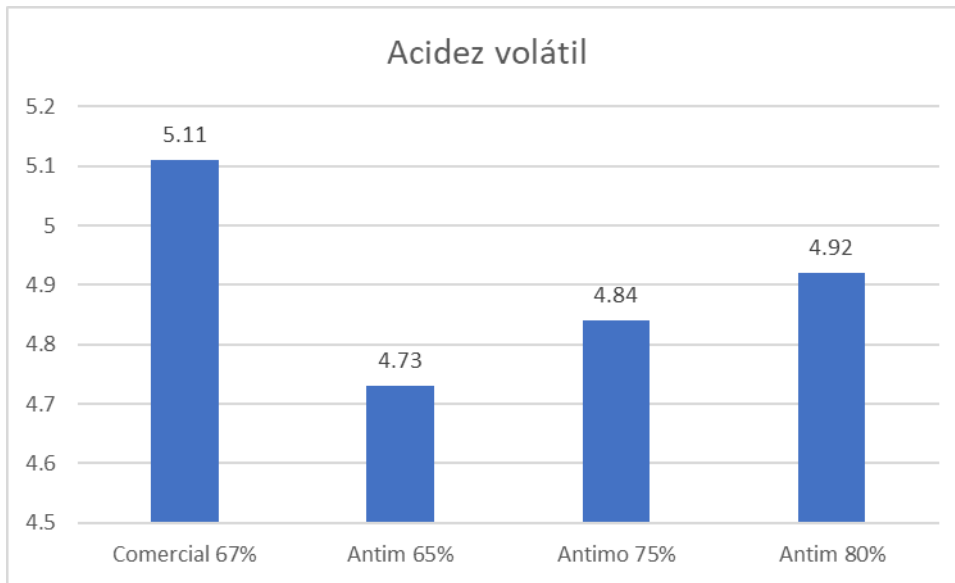
ANEXO K: VALORES DE pH DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE ANTIMICROBIANO.



ANEXO L: VALORES DE ACIDEZ TOTAL DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE ANTIMICROBIANO.



ANEXO M: VALORES DE ACIDEZ VOLÁTIL DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE ANTIMICROBIANO.



ANEXO N: TABLA DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.

MICROORGANISMO	ANTES	DESPUÉS			
	Mesa acero inoxidable	T0 (67%)	T1 (65%)	T2 (75%)	T3 (80%)
<i>Escherichia coli</i>	1.15×10^2	0	1.13×10^2	1.14×10^2	0
<i>Escherichia coli</i>	1.16×10^2	0	1.14×10^2	1.15×10^2	0
<i>Escherichia coli</i>	1.17×10^2	0	1.13×10^2	1.16×10^2	0
<i>Escherichia coli</i>	1.16×10^2	0	1.12×10^2	1.15×10^2	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.17×10^2	0	1.14×10^2	1.14×10^2	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.18×10^2	0	1.15×10^2	1.13×10^2	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.18×10^2	0	1.14×10^2	1.14×10^2	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.18×10^2	0	1.14×10^2	1.14×10^2	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.16×10^2	0	1.15×10^2	1.15×10^2	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.17×10^2	0	1.16×10^2	1.16×10^2	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.17×10^2	0	1.15×10^2	1.15×10^2	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.16×10^2	0	1.17×10^2	1.15×10^2	0
<i>Salmonella spp.</i>	1.16×10^2	0	1.15×10^2	1.15×10^2	0
<i>Salmonella spp.</i>	1.17×10^2	0	1.16×10^2	1.16×10^2	0
<i>Salmonella spp.</i>	1.18×10^2	0	1.16×10^2	1.17×10^2	0
<i>Salmonella spp.</i>	1.17×10^2	0	1.16×10^2	1.16×10^2	0

ANEXO O: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *ESCHERICHIA COLI*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Después <i>E. coli</i>	16	1.00	1.00	1.01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	51992.00	3	17330.67	51992.00	<0.0001
Error	4.00	12	0.33		
Total	51996.00	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.21205

Error: 0.3333 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	115.00	4	0.29	A
T1	113.00	4	0.29	B
T0	0.00	4	0.29	C
T3	0.00	4	0.29	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO P: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Después <i>L. monocytogenes</i>	16	1.00	1.00	0.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	51984.50	3	17328.17	138625.33	<0.0001
Error	1.50	12	0.12		
Total	51986.00	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.74223

Error: 0.1250 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1	114.25	4	0.18	A
T2	113.75	4	0.18	A
T0	0.00	4	0.18	B
T3	0.00	4	0.18	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO Q: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Después <i>S. aureus</i>	16	1.00	1.00	0.94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	53361.50	3	17787.17	60984.57	<0.0001
Error	3.50	12	0.29		
Total	53365.00	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.13377

Error: 0.2917 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1	115.75	4	0.27	A
T2	115.25	4	0.27	A
T0	0.00	4	0.27	B
T3	0.00	4	0.27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO R: ANALISIS ESTADISTICO MICROBIOLOGICO DESPUÉS DE *SALMONELLA SPP.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Después <i>Salmonella spp</i>	16	1.00	1.00	0.83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	53708.19	3	17902.73	78121.00	<0.0001
Error	2.75	12	0.23		
Total	53710.94	15			

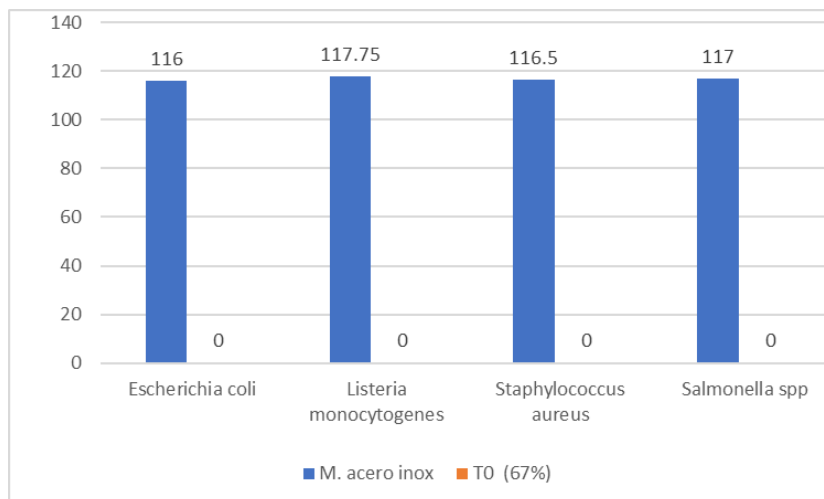
Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.00498

Error: 0.2292 gl: 12

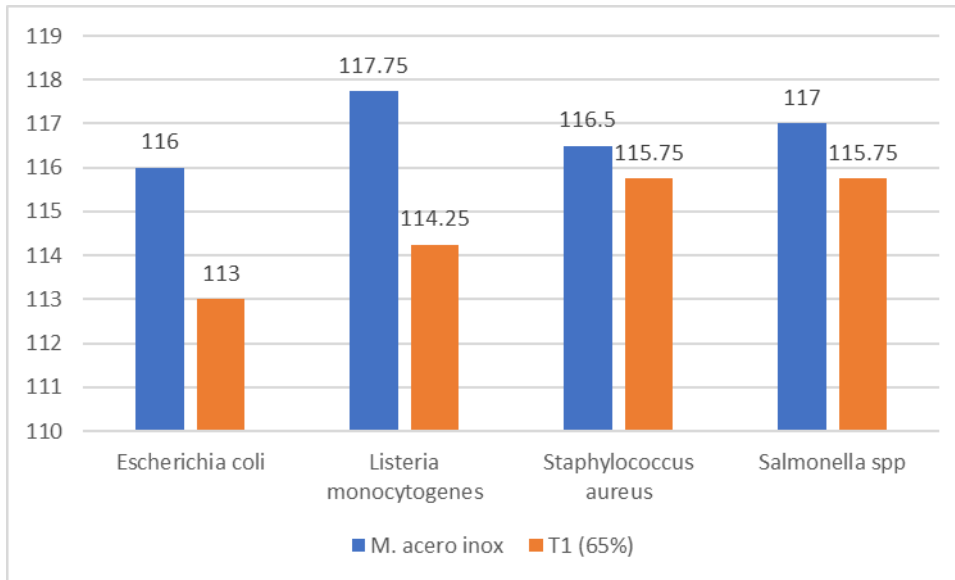
Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T2	116.00	4	0.24	A
T1	115.75	4	0.24	A
T0	0.00	4	0.24	B
T3	0.00	4	0.24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

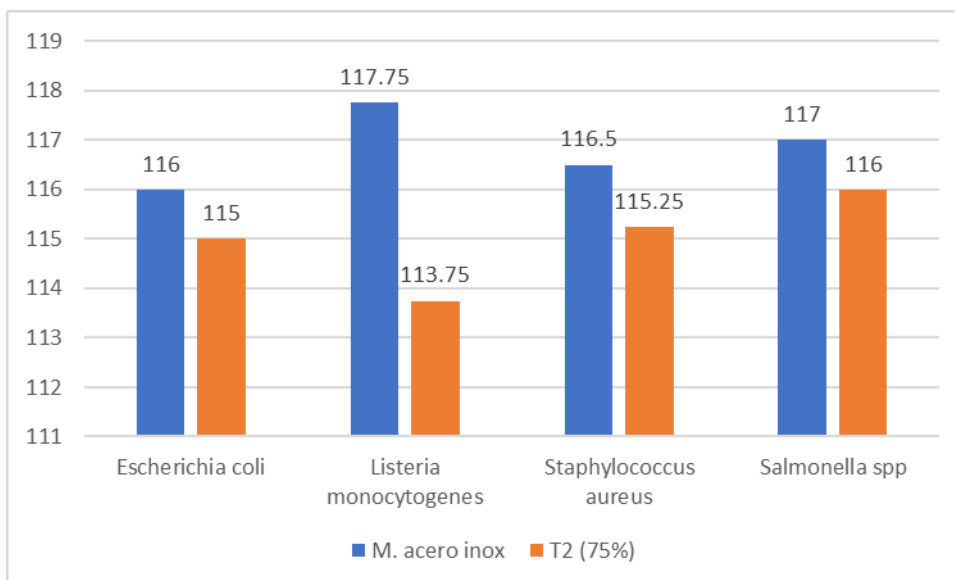
ANEXO S: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO T0 AL 67% DE ANTIMICROBIANO COMERCIAL.



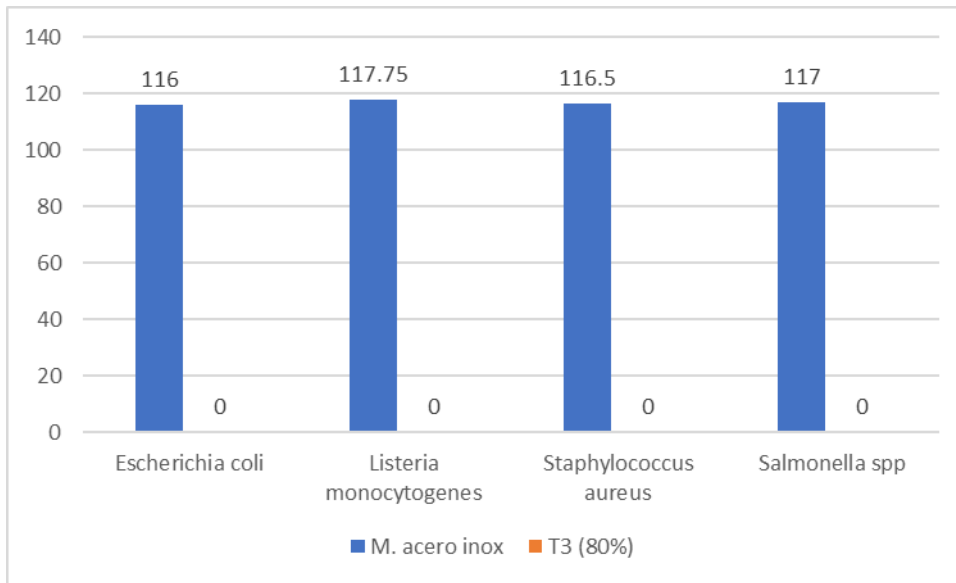
ANEXO T: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO T1 AL 65% DE ANTIMICROBIANO.



ANEXO U: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO T2 AL 75% DE ANTIMICROBIANO.



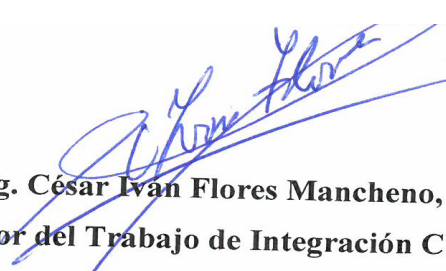
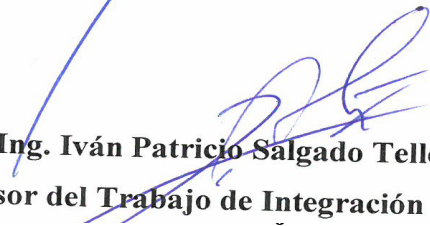
ANEXO V: VALORES ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO T3 AL 80% DE ANTIMICROBIANO.





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 02/02/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Joe Fernando Lala Haro
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Agroindustria
Título a optar: Ingeniero Agroindustrial
<p> Ing. César Iván Flores Mancheno, PhD. Director del Trabajo de Integración Curricular</p> <p> Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC. Asesor del Trabajo de Integración Curricular</p>

