

Mejora de inocuidad de bebidas UHT a través de la esterilización por inmersión de sus envases

Área de desarrollo

Stefano Vincenzo Doménico Roncatti Traverso

Ingeniería Civil en Bioingeniería

Índice

I. Resumen ejecutivo	3
I. Introducción	4
II. Objetivos	7
III. Estado del Arte	7
IV. Soluciones Escogida	9
V. Metodologías	10
VI. Medidas de Desempeño (KPI)	14
VII. Desarrollo del Proyecto	16
VII.1 Pruebas preliminares	17
VII.2 Prueba UHT	19
VIII. Evaluación Económica	20
X. Conclusiones	25
XI. Referencias	27
XII. Anexos	31

I. Resumen ejecutivo

CeTA alimentos es una corporación público-privada sin fines de lucro establecida en diferentes regiones, ofreciendo sus servicios a empresas de diferentes tamaños para facilitar el desarrollo de innovación alimentaria. La recontaminación de envases esterilizados provoca fallas en la producción de bebidas UHT a nivel de inocuidad del producto terminado que no cumplen con los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de Alimentos, ocasionando pérdidas de producción e inconsistencias en el servicio ofrecido a los clientes. El objetivo de este proyecto propone mejorar la inocuidad de las bebidas UHT a través de la aplicación de modificaciones en los sistemas de esterilización de envases. Por medio de una revisión bibliográfica, se opta por la esterilización por inmersión en una solución química para solventar el problema de inocuidad según las condiciones de la empresa. Se valida la metodología de esterilización en dos pruebas preliminares, haciendo comparaciones entre productos químicos y parámetros de operación, para luego certificar los ajustes en una prueba de producción de una bebida UHT. Los resultados entregan un alcance positivo en cuanto a la esterilización de envases por inmersión, proyectando más variables y focos control que es necesario validar para la línea de producción UHT.

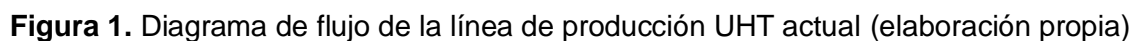
CeTA Alimentos is a non-profit public-private corporation set up in different regions, offering its services to companies of different sizes to facilitate the development of food innovation. The recontamination of sterilized packaging causes failures in the production of UHT beverages in terms of the safety of the finished product, which does not meet the limits established by the Food Sanitary Regulations, leading to production losses and inconsistencies in the service offered to customers. The objective of this project is to improve the safety of UHT beverages through the application of modifications in packaging sterilization systems. Through a literature review, sterilization by immersion in a chemical solution is chosen to solve the safety problem according to the company's conditions. The sterilization methodology is validated in two preliminary tests, making comparisons between chemical products and operating parameters, and then certifying the adjustments in a production test of a UHT beverage. The results show a positive scope about the sterilization of packaging by immersion, projecting more variables and control points that need to be validated for the UHT production line.

I. Introducción

Para 2050, se proyecta que el mundo necesitará alimentar a alrededor de 10.000 millones de personas, más de 2.000 millones más que la población actual (Siegel, 2021). El aumento rápido en la producción de alimentos ha llevado a una explotación histórica de los suelos, un incremento en el consumo de agua y mayores emisiones de gases de efecto invernadero, con consecuencias potencialmente irreversibles para el planeta (Blanco, 2022). La degradación del ozono estratosférico, la pérdida acelerada de la biodiversidad y las alteraciones en los ciclos de nitrógeno y azufre son cambios ambientales significativos que afectarán la producción de alimentos (McMichael, 2007). La industria alimentaria enfrenta desafíos sustanciales en términos de sostenibilidad, requiriendo transformaciones en los métodos de extracción de recursos y en la producción para minimizar el impacto ambiental, además de un implicar un cambio en la mentalidad de los consumidores, quienes deben apoyar prácticas de producción más respetuosas (FAO, 2018).

Se crea en 2015 el Centro Tecnológico para la Innovación Alimentaria (CeTA Alimentos), una corporación público-privada sin fines de lucro que surge de la asociación entre destacadas instituciones organizaciones que lideran los proyectos de I+D del país (Pontificia Universidad Católica, Fundación Chile, Universidad de la Frontera, Universidad de Chile, Universidad de Talca, AB Chile, Nutrisco) más el apoyo de CORFO. La misión de CeTA Alimentos es posicionar a Chile como potencia mundial en la producción de alimentos sofisticados, sustentables y sostenibles. Con centros estratégicos en Coquimbo (Zona Norte), Temuco (Zona Sur) y Santiago (Zona Centro), CeTA Alimentos ofrece servicios a empresas de todos los tamaños, facilitando la innovación alimentaria y adaptándose a las necesidades específicas de cada región. En CeTA zona centro, tras tres años de operación, se han logrado desarrollar diversos productos, incluyendo snacks, alimentos para mascotas, texturizados, lácteos, cereales, harinas y bebidas. Sin embargo, durante el proceso de producción de este último tipo de producto, se ha identificado una oportunidad de mejora.

Observamos en la **Figura 1**, que la línea de producción de bebidas o línea UHT comprende en su configuración 5 etapas principales, etapas que se enfocan en la producción y esterilización.



La incorporación del equipo UHT es reciente, por tanto, la línea no está estandarizada en términos de estructura y eficiencia. Según lo expuesto no presenta un circuito cerrado ya que la esterilización de envases no está conectada a la cámara aséptica, lo cual puede

generar una recontaminación de dichos envases durante el traslado. Los servicios de bebidas UHT desarrollados en 2023 han arrojado fallas en el estado del producto terminado posterior a una semana de la fecha de producción. Estas fallas revelan carga microbiana por sobre los estándares del Reglamento Sanitario (RSA) en el producto y se ven reflejadas en el cambio en el perfil de color, fermentación evidente y pH notoriamente ácido, factores que ponen en riesgo la inocuidad de las bebidas UHT.

La empresa atribuye el problema a una recontaminación de los envases durante el transporte. Específicamente, durante el último servicio de la línea UHT en agosto, se desarrolla una bebida con avellana como ingrediente principal. La producción estimada fue cercana a 50 litros por lote en un tiempo de 4 horas, resultando en 50 botellas de 1 litro envasadas. De esta producción total, se obtiene que en promedio 20 botellas presentaron una o más de las fallas expuestas, las cuales no logran cumplir con los criterios organolépticos establecidos por la empresa, es decir, se obtiene una merma que se acerca al 40% de la producción. En el servicio de la línea UHT la empresa acuerda con el beneficiario días de uso del equipo UHT a un costo de 25 UF/día. En caso de problemas, la empresa ocupa otro día sin costo, pero no garantiza la reducción de fallas. Esto implica un costo adicional para CeTA alimentos, así como la pérdida de disponibilidad de un operario para otras funciones en planta durante las horas de funcionamiento (2-5). La mayor preocupación para CeTA Alimentos radica en no poder ofrecer el servicio UHT completo que las empresas buscan, lo que afecta la fidelización del cliente. Al no poder poner a la venta un producto terminado y solo validar los procesos involucrados en la producción, los clientes no quedan completamente satisfechos con el servicio.

II. Objetivos

A partir del problema en la línea de producción UHT de la empresa CeTA alimentos, se plantea como objetivo general: *Mejorar la inocuidad de las bebidas UHT a través de la aplicación de modificaciones en los sistemas de esterilización de envases y su aplicación en productos, reduciendo al menos a un 15% la cantidad de bebidas defectuosas producidas, en un plazo de 4 meses.*

A partir del objetivo general presentado, se desprenden los objetivos específicos a continuación:

1. Definir el método de esterilización de envases alternativo o complementario para la línea de producción UHT que más se adecúe al contexto de CeTA alimentos.
2. Certificar la eficacia del método seleccionado para esterilización de envases utilizado en la línea UHT.
3. Analizar la inocuidad de los lotes de producción para una bebida en la línea UHT.
4. Elaborar un protocolo de esterilización para envases, definiendo un proceso de esterilización estándar y transversal en la línea UHT.

III. Estado del Arte

Se hace hincapié en métodos de esterilización para envases que están en contacto directo con alimentos descritos en la industria y que puedan ser aplicados para una línea UHT, encontrando tres tecnologías de mayor uso frecuente que efectúan esterilización mediante sistemas físicos, térmicos, no térmicos y/o químicos.

La esterilización mediante la tecnología de autoclave se efectúa en un equipo de acero hermético. En él circula vapor de agua a alta temperatura y a una alta presión. Es ventajoso en comparación a otros métodos por el gran poder de penetración debido a la humedad del vapor generada, lo que permite esterilizar de manera efectiva empaques de menor y gran tamaño (Camus Bustos, 2012). Los materiales de empaque utilizados en esta tecnología deben tener una resistencia térmica capaz de sostener temperaturas que superan los 100°C, de tal manera que no se vea afectada su estructura en el proceso de esterilización, esto excluye de cierta manera a algunos polímeros utilizados en la industria (Verkhivker, 2022) (Ma et al., 2022)

El método de luz pulsada (LP) es una tecnología no térmica que logra una rápida inactivación de los microorganismos en los materiales de envasado de alimentos (Gao et al., 2023). Por medio de luz de alta densidad con posibilidad de longitudes de onda desde ultravioleta hasta infrarroja, esta tecnología causa daños en el DNA provocando muerte celular. Puede reducir o reemplazar los productos químicos para superficies tradicionales, sumado a que posee características de fácil operación y corta duración de la irradiación (Chen et al., 2015). Aprobada por la Administración de alimentos y Medicamentos de EE. UU (Código de Regulación Federal, CFR: 21CFR179.41), la tecnología LP tiene bajos costos operativos ($4\text{J}/\text{cm}^2$), pero presenta limitaciones en cuanto a los altos costos de capital de los equipos (Chen et al., 2015).

La esterilización química es una tecnología que se lleva a cabo utilizando en forma de vapor o líquido, diferentes productos químicos que contienen aldehídos y sus derivados, peróxido de hidrógeno, ácido peracético, óxido de etileno, entre otros. El método más común es aplicar estos productos en fase gaseosa. Por ejemplo, el peróxido de hidrógeno (en concentraciones del orden de 65% v/v se lleva temperaturas elevadas y se incorpora mediante una máquina llenadora por alrededor de 1 segundo, para luego pasar al paquete por aireación con aire estéril para reducir las concentraciones H_2O_2 (Jildeh et al., 2020). Sin embargo, el uso de desinfectantes químicos para eliminar o inactivar patógenos puede causar problemas potencialmente tóxicos, corrosivos o de volatilidad (Gilca et al., 2020; Hua et al., 2019).

Dentro del marco de aplicación para CeTA alimentos, se encuentran dos restricciones significativas. La primera es que, en el corto plazo, no se tiene proyectado ninguna inversión para adquirir un nuevo equipo o sistema de esterilización, además del autoclave que ya opera en planta. Mientras que la segunda restricción es que debido a que el principal cuello de botella recae en la no-linealidad de la producción por UHT, es necesario que la solución implementada permita una esterilización y envasado aséptico.

IV. Soluciones Escogida

Antes a las limitaciones económicas y técnicas en la incorporación una nueva tecnología de esterilización se opta por la esterilización de envases por inmersión. Este método, más económico a corto plazo que la luz UV y calor húmedo, permite una operación aséptica acorde con las condiciones del centro. En la industria alimentaria, se utiliza un sistema cerrado para prevenir la contaminación, generando una región donde el prototipado del producto y la esterilización de envases realizan sin contacto externo finalizar la producción. (Chaval et al, 2016).

La esterilización por inmersión implica sumergir el envase en una solución esterilizante por un tiempo específico y luego airear para eliminar el exceso del químico. Aunque es una innovación simple en comparación con otras tecnologías, mejora a corto plazo la asepsia de la línea de UHT, permitiendo el esterilizado y envasado en un espacio aséptico mediante la cámara de envasado después del equipo UHT. Se espera que esta tecnología se incorpore mientras migra a un proceso estandarizado, fortaleciendo la línea UHT y la inocuidad del producto terminado.

Se utilizan productos químicos para la esterilización: peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y ácido peracético (CH_3CO_3H). Se prefiere el H_2O_2 debido a que se descompone cuando entra en contacto con sustancias orgánicas e inorgánicas, que incluyen algunos materiales de embalaje y la membrana celular de los microorganismos, siendo sus productos finales (agua y oxígeno) respetuosos con el medio ambiente, no tóxicos e inodoros (Jildeh et al., 2020). El H_2O_2 tiene una fuerte actividad de amplio espectro contra bacterias, levaduras, mohos, virus y esporas bacterianas (Besten et al., 2017), que en su descomposición es altamente reactivo, interfiriendo con la membrana celular, el núcleo y enzimas, llevando a la inactivación (Oberländer et al., 2018). El CH_3CO_3H , resultante de una reacción entre H_2O_2 y ácido acético, presenta características similares. Ambos productos químicos son utilizados para esterilización de equipos, filtros, cámaras de procesamiento aséptico y envases en contacto con alimentos, siendo volátiles y no dejando residuos perjudiciales para el envase, el producto y, en consecuencia, el consumidor (David et al., 2022). Del mismo modo, el CH_3CO_3H ha aumentado la eficiencia destructiva con H_2O_2 , incluso a 20°C. un 1% elimina más de 100 esporas resistentes en tan solo 5 minutos (Voicu et al, 2019), disminuyendo considerablemente el tiempo de esterilización.

V. Metodologías

Este proyecto, tiene como finalidad exponer y emplear una metodología reproducible que posibilite la esterilización por inmersión y el envasado en un circuito cerrado, limitando los focos de contaminación de la línea. Lo anterior se desarrolla mediante un plan de implementación compuesto por tres etapas:

1. Pruebas preliminares: necesarias para comprobar la eficacia del método de esterilización en los envases, permite también inclinarse por la solución química que entregue un mejor resultado microbiológico y/ o sea más económica, además de hacer ajustes en cuanto a variables como temperatura, tiempo y concentración.

En primer lugar, se preparan las Soluciones Químicas Esterilizantes (SQE), estabilizando la concentración de cada producto químico. Un nivel de carga biológica elevado en el envase requiere una dosis de esterilización más alta, que se puede llevar a cabo aumentando la concentración del esterilizante, el tiempo de permanencia, o ambos en conjunto (FDA, 2015). Dado que los proveedores suministran envases desinfectados y empaquetados con una carga biológica baja, se requiere una concentración mínima para una esterilización efectiva. Este proceso se lleva a cabo en uno o más recipientes resistentes a la corrosión y que permiten la inmersión completa. Posteriormente, los envases a esterilizar, las SQE y una herramienta manual se colocan en la cámara aséptica del equipo UHT. Si es necesario, se calientan las SQE mediante placas calefactoras hasta alcanzar la temperatura deseada.

A continuación, se efectúa la inmersión de los envases (botellas y tapas), considerando 10 botellas de cada material por prueba. Para validar la efectividad de procesos de esterilización, se toma un grupo seleccionado de microorganismos resistentes, con los cuales se cuestiona la capacidad del proceso de esterilización considerando un enfoque de las variables del proceso hacia ese grupo (FDA, 2023). A la fecha, no hay regulación clara para sistemas con peróxido de hidrógeno a baja y alta temperatura, pero puede tenerse en cuenta como indicador biológico los microorganismos *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus atrophaeus* y *Bacillus subtilis* SA 22 (WHO, 2019; Jildeh et al, 2021), considerando al con mayor resistencia a la hora de determinar el tiempo de inmersión, según la concentración y temperatura

de operación. Los kits de detección o inóculos de estos microorganismos de control conllevan altos costos de adquisición y tiempos de espera que no se ajustan al desarrollo del proyecto. Del mismo modo, la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas (N° 461-2007/MINSAL) establece que debe emplearse un recuento de enterobacterias y aerobios para medir la carga, categoría abarca y se hace cargo de los microorganismos mencionados. Cada envase que haya cumplido con su tiempo de inmersión es dispuesto nuevamente en la cámara hasta que seque por completo. Después de completar el tiempo de inmersión, cada envase se coloca en la cámara hasta que se seque completamente. La medición del tiempo de secado comienza cuando el último envase termina la inmersión. Una vez que todas las botellas y tapas están secas, se cierran utilizando la extensión de guantes proporcionada en la cámara de envasado aséptico.

Posterior a la esterilización de envases se debe realizar un análisis de la superficie interior del envase (botella y tapa), para verificar la carga microbiana existente. El análisis se realiza mediante el muestreo con placas 3M™ Petrifilm™ de aerobios rápido (RAC) y enterobacterias (EB) referenciadas en el **Anexo 5**, siguiendo la guía para la interpretación de sus resultados (3M México, 2017). Estos microorganismos que sirven como indicadores biológicos para determinar la esterilidad de un envase (Mladenović et al., 2021). Se ingresa al área de flujo laminar de la campana, tomando precauciones para evitar contaminación, disponiendo lo necesario para el análisis (**Anexo 6**). Para obtener la muestra, se frota una tórula o hisopo estéril por diez puntos de referencia de la superficie comprometida, muestreando un área aproximada de 20 a 100 cm² rotando la tórula (Flores & Alberto, 2014; Febré et al, 2016). La torula es depositada en un tubo de agua peptonada de 9 ml. Se agita el tubo, para luego depositar 1ml en la placa y dejarla incubar el tiempo que indica la placa.

2. Prueba de producción en línea UHT: esta es la etapa más importante, ya que permite certificar las modificaciones en esterilización ahora a nivel de la línea de producción, ejecutando un proceso UHT aséptico desde la esterilización de envases hasta el envasado de una bebida de formulación conocida. La validación de esta etapa permite producir productos biológicamente estables y de larga vida útil sin adición de

preservante ni necesidad de cadena de frío, previniendo biocontaminantes que causen problemas al consumidor (Jildeh et al, 2021).

En esta etapa, siguiendo la configuración actualizada expuesta en la **Figura 2**, se divide la operación en dos momentos de trabajo, debido a los tiempos que emplea el secado de la esterilización por inmersión.



Figura 2. Diagrama de flujo de la línea UHT modificada (elaboración propia)

En un primer momento, se reitera la metodología de esterilización por inmersión realizada en las pruebas preliminares, junto a los ajustes validados de concentración, temperatura, tiempo de inmersión, tiempo de secado. En segunda instancia, se desarrolla una bebida de formulación común, con el uso de una serie de equipos en planta para finalizar con el equipo UHT. Finalmente se envasa el producto terminado y se almacena a temperatura ambiente. Se consideran al menos 20 botellas de 250 ml cada material para el envasado (un total de 40), para llegar cerca del volumen de producción mínimo del equipo UHT (25 Litros). Además, se debe considerar un tamaño de muestra de al menos 5 botellas autoclavadas que operen como control positivo del análisis de inocuidad.

A continuación, se realiza el análisis microbiológico de la bebida en cuestión. Como detalla el RSA (1997/2023) para bebidas analcohólicas no carbonatadas, se establece como límite de carga inferior (m) y superior (M), 10^2 y 10^3 UFC/ml respectivamente. Según los criterios microbiológicos, se considera “aceptable” entre 0 y m , “medianamente aceptable” entre m y M , y “rechazable” con valores superiores M . Para este tipo de productos deben analizarse 5 muestras, de las cuales no más de 2 pueden contener un número de microorganismos entre m y M (MINSAL, 1998/2023). Finalmente, el tipo de producto de esta línea entra en la categoría 2 de riesgo (de un

total de 15), categoría en la que se usan parámetros que tienen por objetivo definir la vida útil y alteración del producto, como es el recuento de aerobios, mohos y levaduras, etc. Para analizar aerobios, es recomendable mantener el producto en las condiciones óptimas de crecimiento del tipo de microorganismo. En este caso, se debe mantener a una temperatura entre 20 y 45°C y que el pH de la bebida que suele estar entre 6,5 y 7,5 (Rodrigues & Trindade-Silva, 2016).

3. Actualización línea de procesos: última etapa de implementación, que está sujeta al éxito de las dos etapas anteriores. Consiste en adicionar la nueva metodología a la línea de producción, resultando en la configuración observada en la **Figura 2**. Esto viene acompañado de la elaboración de un protocolo de esterilización para CeTA alimentos, que detalle la metodología del proceso y los EPP necesarios para una segura ejecución.

VI. Medidas de Desempeño (KPI)

Para evaluar el éxito del proyecto, se han definido las siguientes medidas de desempeño asociadas a objetivos específicos ya establecidos:

1. Para *definir el mejor método de esterilización de envases* se medirá el costo de tecnología (C_{tec}) seleccionada como solución, y el sistema actual, dado en la evaluación económica por el siguiente cálculo:

$$C_{tec} = \frac{C_o + C_i + C_v}{n} \quad [\$/CLP / \text{unidad producida}]$$

Ecuación 1. Cálculo para costo de tecnología (elaboración propia).

En donde,

C_o : Costo de operación; agua, energía, insumos, etc. [$\$/CLP/min$].

C_i : Costo de inversión inicial; compra de equipos, patentes, etc. [$\$/CLP$].

C_v : Costo variable; acondicionamiento, horas hombre, etc. [$\$/CLP$].

n : Número de botellas esterilizadas en un ciclo [unidad producida]

2. Para analizar la *eficacia de la tecnología* es necesario medir la carga microbiana de la muestra de envases luego del proceso de esterilización, así también la carga microbiana presente en el producto terminado. Este valor viene dado por la interpretación de las plaqueo de las muestras mencionadas, a través de la siguiente fórmula.

$$\text{Unidades Formadoras de Colonias} \left[\frac{UFC}{ml} \right] = \frac{N^\circ \text{ de colonias por placa} * \text{Factor de dilución}}{\text{Volumen total de solución (ml)}}$$

Ecuación 2. Cálculo de UFC para la interpretación de placas Petrifilm (SAG, 2012; 3M México, 2017).

3. Luego, el análisis debe medir la eficiencia de producción a través de las fallas productivas (F_p) para bebidas UHT, considerando la inocuidad las bebidas. Esto se define a través de la siguiente ecuación:

$$F_p = \left(\frac{\text{bebidas defectuosas}}{\text{bebidas producidas}} \times 100\% \right) \leq 15\%$$

Ecuación 3. Cálculo para fallas productivas línea UHT (elaboración propia).

Este KPI es el más significativo, ya que responde directamente al objetivo general del proyecto, proyectando que las *bebidas defectuosas* no superen el 15% del total producido. Para determinar si una bebida entra o no en la categoría de *defectuosa*, se evalúan ciertos factores que, de manera complementaria, ayudan a validar esta hipótesis.

Factor microbiológico: a través del conteo y cuantificación de la carga microbiana por medio de la **Ecuación 2**, se determina la aprobación del producto según los parámetros establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (1997/2023).

Factores cuantitativos: numéricamente se evalúa un cambio en el pH de la muestra y un cambio en los grados brix. Una reducción de pH indica que la bebida se vuelve ácida. Una disminución de brix indica que hay menos azúcares totales en la bebida. Ambos cambios drásticos reflejan actividad ácido-láctica o fermentadora, es decir, presencia de microorganismos.

VII. Desarrollo del Proyecto

Se desarrolla la implementación del proyecto siguiendo las metodologías planteadas anteriormente, tomando en cuenta el plan de trabajo que se puede observar en el **Anexo 1**. En cada una de las etapas de la implementación se consideran los diferentes elementos que puedan obstaculizar, retrasar o definitivamente llevar al fracaso del proyecto. Estos riesgos se exponen en la matriz de la **Figura 3** a continuación.

RIESGO	PROBABILIDAD DE RIESGO	IMPACTO EN EL PROYECTO	MITIGACIÓN
TIPO DE RIESGO	1- MUY IMPROBABLE 2- IMPROBABLE 3- PROBABLE 4- MUY PROBABLE	1-INSIGNIFICANTE 2-BAJO 3-MEDIO 4-ALTO 5-EXTREMO	MEDIDAS NECESARIAS PARA DISMINUIR EL IMPACTO DEL RIESGO.
Apertura de la cámara aséptica durante esterilizado, secado o envasado.	2 - Improbable	4 - Alto	Revisión y mantención de la cámara aséptica – Iterar nuevamente el proceso afectado.
Falta de Insumos para esterilización de botellas.	2 - Improbable	4 - Alto	Revisión de las proporciones necesarias por prueba y el stock en bodega – Adquirir formatos de mayor volumen que los anteriores.
Falta de ingredientes para replicar la bebida líquida utilizada en pruebas.	3 - Probable	1 - Bajo	Revisión de las proporciones necesarias por lote y el stock en bodega – Cambio de ingrediente(s) para la formulación.
Fallas en equipos de la línea de producción UHT.	1 - Improbable	4 - Alto	Mantenciones periódicas de los equipos de la línea – Revisión de disponibilidad de equipos análogos a la línea – Reparación en caso de fallas – Adquisición de una nueva unidad.
Fallas en equipo UHT.	1 - Improbable	5 - Extremo	Mantenciones periódicas del equipo UHT – Reparación en caso de fallas – Adquisición de una nueva unidad.
Falta de insumos para el análisis microbiológico.	2 - Improbable	3 - Medio	Revisión del stock de material microbiológico – Externalizar el análisis microbiológico – Compra de nuevo material microbiológico.
Error del muestreo / plaqueo microbiológico.	3 - Probable	2 - Bajo	Procedimiento supervisado por un tercero – Análisis por triplicado – Comprobar con una muestra control.
Línea de producción ocupada por servicios y/o mantenciones.	4 – Muy probable	4 - Alto	Programar, coordinar y solicitar con anticipación el uso de todos los equipos necesarios para los procesos.

Figura 3. Matriz de riesgos para implementación del proyecto (elaboración propia).

VII.1 Pruebas preliminares

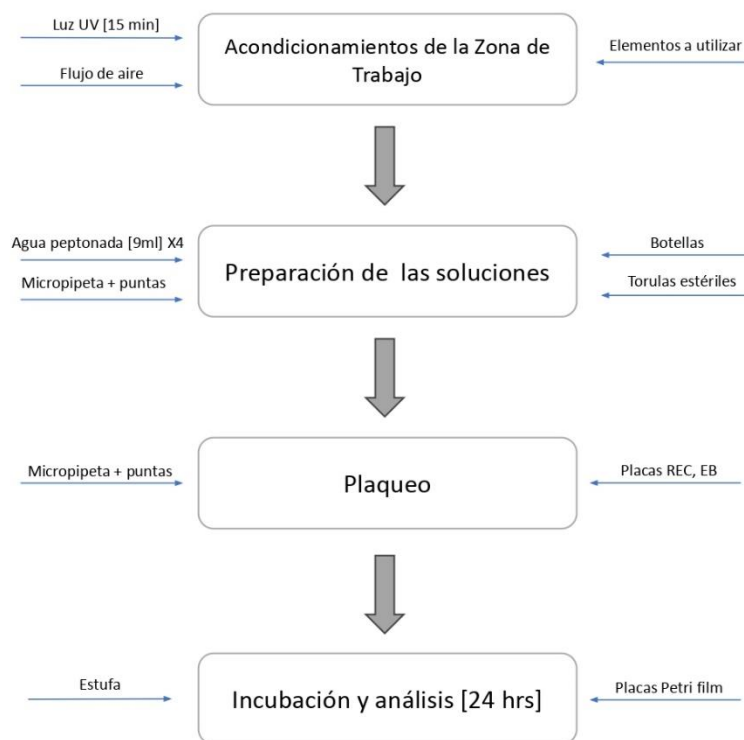
La primera prueba preliminar de esterilización se realiza el 16 de octubre. Se utilizan como envases, botellas PET y de vidrio de 250 ml obtenidas de diferentes proveedores (10 de cada tipo, **Anexo 3**), además de cuatro soluciones de 1800 ml, dos con ácido peracético ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$) y dos con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 0,5%. Debido a las concentraciones iniciales de los productos químicos, 5% y 30% respectivamente, los volúmenes que se utilizan son los siguientes: 180 ml $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ - 1620 ml agua destilada y 30 ml H_2O_2 – 1770 ml agua destilada. Mediante el uso de placas térmicas, se calienta cada una de las soluciones hasta los 56°C (**Anexo 4**), temperatura límite de resistencia térmica experimental de las botellas PET utilizadas. El tiempo de calentamiento fue de 1,5 horas. Una vez alcanzada la temperatura se efectúa la inmersión de las botellas y tapas durante un tiempo de 3.5 minutos, resultando 4 matrices de trabajo: Matriz 1: vidrio $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$, Matriz 2: vidrio H_2O_2 , Matriz 3: PET $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$, Matriz 4: PET H_2O_2 . El tiempo de inmersión es estimado mediante una revisión bibliográfica, utilizando el modelo logarítmico a continuación,

$$\log N(t) = \log N_0 - \frac{t}{D}$$

Ecuación 4. Log-linear model (Sawale et al., 2022)

siendo N_0 : población inicial, $N(t)$: población final, t : tiempo de inmersión, D : tiempo de reducción microbiana de 1 ciclo logarítmico. El tiempo y utilizado, considera las condiciones de operación (temperatura y concentración), una reducción de dos ciclos microbianos, aproximando el tiempo mediante el uso del valor de referencia $D_{55^\circ\text{C}}$ de 1,75 de *Bacillus atrophaeus* (Sawale et al., 2022), microorganismo aprobado para validar procesos de esterilización con peróxido de hidrógeno (Jildeh et al, 2020). Todo esto en un espacio adyacente pero fuera de la cámara aséptica. A medida que se termina la inmersión de un lote, este se ubica dentro de la cámara. Cuando todas las botellas pasan por inmersión, se dejan secar por aproximadamente 22 horas, una vez hayan sido secados todos los envases.

Luego, se cuantifica la carga microbiana de la superficie interior de botellas y tapas mediante el muestreo de un envase de cada matriz siguiendo el diagrama de flujo detallado en la **Figura 4**.



Laboratorio de Desarrollo

Figura 4. Diagrama de flujo para plakeo microbiológico de los envases UHT (elaboración propia).

Para ello, se hace uso de las placas 3M™ Petrifilm™ de tipo RAC (recuento rápido de aerobios) y EB (recuento de enterobacterias). Se plaquea cada muestra mediante el uso de tómulas estériles y agua peptonada de 9 ml con una dilución de 10^{-1} , dejando incubar a una temperatura de 37°C por 24 horas como indicaba la recomendación de las placas (3M México, 2017). Pasado el tiempo de incubación, se realiza el recuento de colonias, calculando la cantidad de UFC/cm² por a través de la **Ecuación 5**.

La segunda prueba se realiza el 7 de noviembre y tiene como objetivo ajustar parámetros de operación que permitieran optimizar el proceso según los resultados de la prueba N°1. Debido a los resultados prometedores, se propone analizar la influencia de la temperatura en el proceso de esterilización, disminuyendo la temperatura de inmersión, pero manteniendo el resto de los parámetros. Esto permitiría reducir el tiempo de operación (reduciendo el tiempo de calentamiento) así como el gasto energético asociado. Se ejecuta la prueba utilizando nuevamente concentraciones de CH₃CO₃H y H₂O₂ al 0,5%, alcanzando a temperatura ambiente los 22.5 y 22.0 °C, respectivamente. Se dispone dentro de la cámara

todo el material necesario, para luego encender la luz UV (durante 15 minutos) y el flujo de aire laminar. En esta prueba, se utiliza un tiempo de inmersión de 7 minutos, aproximado mediante la función log linear el tiempo de inmersión con un valor de referencia $D_{23^{\circ}\text{C}}$ de 3,78 de *Bacillus atrophaeus* (Sawale et al., 2022), y un tiempo de secado de 2 horas. Cabe destacar que, debido a no calentar las soluciones, se lleva a cabo todo el procedimiento de esterilización dentro de la cámara, lo que lo convierte en un sistema completamente aséptico y cerrado que se proyecta al envasado de un hipotético producto en la prueba UHT, como lo plantea la metodología de este proyecto. Luego, se cuantifica la carga microbiana de la superficie interior de botellas y tapas mediante la misma metodología utilizada en la prueba n°1, pero esta vez muestreando dos envases de cada matriz (de un total de 5). Esto se hace con el objetivo de ampliar el universo de análisis, obteniendo resultados más representativos.

VII.2 Prueba UHT

Previo a la operación esta prueba, se efectúa un muestreo de puntos críticos que pudieran generar una contaminación no prevista. Para ello se realiza un análisis tipo RAC y de ATP en rincones de la cámara de envasado donde puede la luz UV no alcance, además de verificar la presencia de biopelículas al interior del UHT mediante la aplicación de un producto utilizado por CeTA. En ambos análisis se obtiene ausencia de carga microbiana.

La prueba de producción UHT se desarrolla en dos días de operación. El primer día se ejecuta la esterilización de los envases dentro de la cámara aséptica, siguiendo la metodología y parámetros de la prueba preliminar n°2. A través de los resultados de dicha prueba, se opta por seguir trabajando solo con el H_2O_2 ya que, si bien la eficiencia de esterilización de $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ y H_2O_2 es similar, el costo de implementación del H_2O_2 es levemente menor (**Anexo 7**). Se esterilizan 20 botellas PET y 20 botellas de vidrio de 250 ml con una solución de H_2O_2 al 0,5%, dejando los envases esterilizados dispuestos para el envasado, además de ello, se agregan 5 botellas autoclavadas como grupo control.

El segundo día, se ejecuta la producción de la bebida siguiendo las etapas de la línea UHT (**Figura 2**) que responden y son necesarias según formulación de la bebida utilizada en base a harina de arroz extruida y aceite de coco (**Anexo 8**), siendo agua el componente en mayor proporción; previamente a nivel de laboratorio se elabora una pequeña mezcla de unos 100 ml con tal de medir la carga microbiana inicial de la bebida (**Anexo 9**). El lote de producción es de 27 litros (~25 kg), volumen mínimo necesario para operación del equipo UHT presente en la empresa. Primero, la mezcla se somete a una molienda en el molino

coloidal para disminuir el tamaño de partícula, para luego pasar por un filtro de cartucho con tal de eliminar el material sólido insoluble. A continuación, se lleva el producto filtrado al homogeneizador de pistones para homogenizar la bebida con una presión de 300 bares. Finalmente, el batch de la bebida llega al equipo UHT para ser esterilizada a una temperatura de 138°C con un tiempo de retención de 5 segundos. Todo culmina en el envasado del producto terminado dentro de la cámara aséptica utilizando 40 envases esterilizados por inmersión y 5 autoclavados, rotulando cada uno según su orden de envasado. Se extrae una botella para evaluar el producto post-UHT, resultando pH 6,85 y 5.2 grados brix.

Luego de una semana, se ejecuta un análisis microbiológico de 5 muestras del inicio de la producción, 5 muestras del medio y 5 muestras del final. En cada grupo de botellas 2 son de vidrio, 2 son de PET y 1 de control, alcanzando el tamaño de muestra n de 5 elementos establecido por el RSA. Para el análisis se hace realizan dos diluciones (10^{-1} , 10^{-2}) utilizando placas de aerobios (RAC). Del mismo modo, se analiza el perfil el resto del lote (30 bebidas), evaluando pH y grados brix. A través de estos análisis, se valida la eficacia del sistema de esterilización por sobre el sistema actual, obteniendo resultados de carga microbiana que deben responder a los estándares para bebidas analcohólicas no carbonatadas que establece el Reglamento Sanitario de los Alimentos (1997/2023).

VIII. Evaluación Económica

Para dimensionar los efectos de la solución, más allá del impacto funcional que puede tener en la empresa, se desarrolla un cálculo del coste de esterilización sin y con proyecto, proyectando flujos para la obtención de un VAN. De esta manera, no solo establecer que la implementación de modificaciones en esterilización para los envases de la línea UHT son igual de eficaces que el sistema actual, sino que también poder certificar que esta nueva propuesta de trabajo representa una oportunidad financiera. Para este acercamiento se considera un lote de 40 botellas de 250 ml.

Situación Sin Proyecto (\$6.421,5875)			
	Costo	Valores por lote	Costo real
Autoclave	\$ 55 CLP/ kWh	1,1125 kWh	\$61,19
Rollo aluminio	\$ 106 CLP/ m	3,4 m	\$ 360,4 CLP
Operario	\$ 6.000 CLP / hora	1 hora	\$ 3.000 CLP

Tabla 1. Costos asociados a esterilización de envases UHT sin proyecto, considerando en el consumo la potencia de autoclave (4,45kW/h) y 15 minutos por ciclo.

Situación Con Proyecto (\$12.980,168)			
	Costo	Valores por lote	Costo real
Tecsa ® Oxclear	\$ 3.641 CLP/ Lt	0,048 Lt	\$ 174,768 CLP
Agua Destilada	\$ 100 CLP/ Lt	7,152 Lt	\$ 715,2 CLP
Operario	\$ 6.000 / hora	2 horas	\$ 12.000 CLP
Cámara envasadora	\$ 55 CLP/ kWh	1,64 kWh	\$ 90,2 CLP

Tabla 2. Costos asociados a esterilización de envases UHT con proyecto, considerando en el consumo la cámara envasadora la luz UV y el blowing o ventilador y 2 horas aproximadas por ciclo.

A través de las **Tablas 1 y 2**, se observa que la situación sin proyecto es menos costosa para CeTA Alimentos, costando \$6.558.5805 menos por lote de esterilizado. La implementación del proyecto tiene un fuerte impacto en la productividad al eliminar servicios repetidos por fallas de inocuidad del producto terminado. En 2023, se realizan 12 días de servicios UHT al mes, aproximadamente el 40% (≈ 5) son días de repetición debido a fallas y no por cotizaciones, lo que sugiere la posibilidad de cotizar y realizar otros 5 servicios UHT mensualmente. Considerando el precio de cotización de 25UF por día para el servicio UHT (valor UF \approx \$36.000), con un interés del 10% y los valores a un año, el VAN es de \$71.310.608,71 para la situación sin proyecto. Para la situación con proyecto, el VAN es de \$121.349.505,59 según los flujos del **Anexo 10**.

IX. Resultados

La **Tabla 3** expone los resultados cuantitativos del análisis microbiológico de la prueba n°1. El conteo de colonias es referenciado con las placas del **Anexo 11 y 12**, obteniendo las unidades formadoras de colonias por medio de la **Ecuación 6**.

Análisis Microbiológico Prueba n°1 - AP, PH 0,5% - $\approx 56^{\circ}\text{C}$				
Matriz 1 Vidrio - AP	RAC		EB	
	Colonias	UFC / cm^2	Colonias	UFC / cm^2
Botella	0	<10	0	<10
Tapa	0	<10	0	<10
Matriz 2 Vidrio - PH	RAC		EB	
	Colonias	UFC / cm^2	Colonias	UFC / cm^2
Botella	0	<10	0	<10
Tapa	0	<10	0	<10
Matriz 3 PET - AP	RAC		EB	
	Colonias	UFC / cm^2	Colonias	UFC / cm^2
Botella	0	<10	0	<10
Tapa	1	10	0	<10
Matriz 4 PET - PH	RAC		EB	
	Colonias	UFC / cm^2	Colonias	UFC / cm^2
Botella	0	<10	0	<10
Tapa	1	10	0	<10

Tabla 3. Resultados de análisis microbiológico para prueba preliminar n°1.

En general se observa una acción eficaz de ambos productos químicos resultando en la gran mayoría de las muestras analizadas un total de <10 UFC/cm² (valor para 0 colonias según la sensibilidad de la placa). En la tapa PET-AP y la tapa PET-PH el total es de 10 UFC/cm², siendo aún un valor inferior y permitido por la normativa (N° 461-2007/MINSAL) para envases en contacto con alimentos. Esto indica que bajo los parámetros de la prueba n°1 ([0,5%], 56°C, 5 minutos de inmersión) la esterilización es eficaz a nivel experimental.

La **Tabla 4** expone los resultados cuantitativos del análisis microbiológico de la prueba n°2 que corresponde a la superficie interior de los envases para ambos materiales utilizados, considerando esterilización con $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ y H_2O_2 al 0,5%, a temperatura ambiente. El conteo de colonias es referenciado con las placas del **Anexo 13**, obteniendo las unidades formadoras de colonias por medio de la **Ecuación 7**.

Análisis Microbiológico Prueba n°2 - AP, PH 0,5% - $\approx 23^\circ\text{C}$					
Matriz 1 Vidrio - AP	RAC		Matriz 2 Vidrio - PH	RAC	
	Colonias	UFC / cm^2		Colonias	UFC / cm^2
Botella N°1	0	<10	Botella N°1	0	<10
Botella N°2	0	<10	Botella N°2	0	<10
Tapa N°1	0	<10	Tapa N°1	0	<10
Tapa N°2	0	<10	Tapa N°2	0	<10
Matriz 3 PET - AP	RAC		Matriz 4 PET - PH	RAC	
	Colonias	UFC / cm^2		Colonias	UFC / cm^2
Botella N°1	0	<10	Botella N°1	0	<10
Botella N°2	0	<10	Botella N°2	0	<10
Tapa N°1	0	<10	Tapa N°1	0	<10
Tapa N°2	0	<10	Tapa N°2	0	<10

Tabla 4. Resultados de análisis microbiológico para prueba n °2.

Se observa una acción eficaz de ambos productos químicos, reflejado en que todas las presentan un total de 0 colonias que, dada a la sensibilidad de la placa implica una cantidad <10 UFC/cm². En base a esto, es posible certificar que para efectos de las condiciones en las cuales se trabaja, no es necesaria la aplicación de calor para la esterilización, pudiendo ejecutar el proceso a temperatura ambiente y obtener resultados similares en cuando a carga de aerobios. Estos resultados dan paso a replicar esta metodología ahora en la prueba UHT, certificando la esterilización por inmersión previa al desarrollo de una bebida.

La **Tabla 5** expone los resultados cuantitativos del análisis microbiológico de la prueba UHT que corresponde al muestreo de la bebida, considerando esterilización de envases con $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$ 0,5%, a temperatura ambiente. El conteo de colonias es referenciado con las placas del **Anexo 14**, obteniendo las unidades formadoras de colonias por medio de la **Ecuación 8**.

Análisis Microbiológico Prueba UHT - PH 0,5% - $\approx 23^\circ\text{C}$						
Etapa	N° Botella	Material	RAC			
			10-1		10-2	
			Colonias	UFC / ml	Colonias	UFC / ml
INICIO	1	Vidrio (Autoclavada)	MNPC	-	MNPC	-
	2	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	3	PET	MNPC	-	MNPC	-
	4	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	5	PET	MNPC	-	MNPC	-
MEDIO	19	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	20	Vidrio (Autoclavada)	MNPC	-	MNPC	-
	21	PET	MNPC	-	MNPC	-
	22	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	23	PET	MNPC	-	MNPC	-
FINAL	37	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	38	PET	MNPC	-	MNPC	-
	39	Vidrio	MNPC	-	MNPC	-
	40	Vidrio (Autoclavada)	MNPC	-	MNPC	-
	41	PET	MNPC	-	211	21.100

Tabla 5. Resultados de análisis microbiológico para prueba UHT.

Luego de 1 semana de pasar por la línea UHT el análisis entrega que en la primera dilución el conteo de colonias para todas las muestras (Vidrio, PET, Autoclavadas) son *Muy Numerosas Para Contar* (MNPC). Para la segunda dilución se repite el patrón salvo para la muestra 41, con total de 21.100 UFC/ml. Complementario a eso, el análisis cuantitativo para el resto de las bebidas muestra una disminución de pH, bajando desde 6.8 a 4.5 en promedio. Del mismo modo se obtiene una disminución de grados brix, bajando desde 5.2 a 3.0 en

promedio. Estos resultados muestran una actividad microbiana clara en la carga de las bebidas analizadas, que se certifican con una disminución de pH y de grados brix debido al consumo y metabolismo de los microorganismos. Lo anterior no permite validar la esterilización por inmersión de los envases a nivel de producción, es decir, a nivel del proceso completo, ya que se alcanza un porcentaje de fallas productivas notoriamente superior al 15% estimado en el objetivo general.

X. Conclusiones

En cuanto a la esterilización por inmersión, es posible decir que cumple con los estándares de operación en términos del lote de botellas necesarios para una producción UHT, se acomoda a las condiciones económicas y técnicas del contexto actual de CeTA alimentos, y lo más importante como se expone en las **Tabla 3 y 4**, se alcanza la esterilización no dejando carga microbiana aerobia en la superficie. Es importante mencionar que esta metodología hasta el momento únicamente es probada para condiciones determinadas: temperatura ambiente de 25°C, temperatura de SQE 22°C, tiempo de inmersión de 6 minutos, botellas de vidrio y PET de un proveedor específico, concentración de 0.5% de los productos químicos, etc.

Finalmente, el análisis de resultados de la prueba UHT deja en evidencia que no se logra reducir las fallas de bebidas UHT por inocuidad según propone el objetivo principal del proyecto. Sin embargo, de las pruebas n°1 y n°2 se certifica la metodología de esterilización por inmersión propuesta como solución ante la recontaminación de envases, cumpliendo con uno de sus ejes. Ahora bien, no se refleja una mejora de la inocuidad por medio de esta innovación ya que pueden existir otros factores en el proceso que están impidiendo que el producto al momento de ser envasado este estéril, los cuales no están intrínsecamente relacionados a la esterilidad del envase. Es necesario seguir analizando esta línea de producción desde la base de cada elemento del sistema para llegar al punto que está obstaculizando el desarrollo correcto, para ello se recomienda a la empresa examinar primero si el equipo UHT está operando según los valores que se ejecutan por pantalla, lo cual no se cuestiona inicialmente debido a la poca antigüedad del equipo (menos de 1 año). En paralelo se recomienda revisar la esterilidad de toda la configuración interior del equipo UHT, así como de la cámara envasadora aséptica. Si bien se efectúa un análisis de esterilidad en el desarrollo del proyecto, pueden existir elementos que se hayan pasado por alto, o bien, dados por hecho.

La disponibilidad de equipos para validar las pruebas fue un obstáculo del proyecto, más aún cuando este no está en la primera línea de prioridad, pero pudo solventarse dedicando una planificación y solicitud anticipada verificando que las fechas no perjudicaran algún servicio o actividad importante para el centro. Luego del exhaustivo trabajo en el proyecto de pasantía, se proyecta un desarrollo que tiene un gran impacto en la empresa, recabando información que se pasaba por alto o bien consideraba validada a nivel teórico, lo que puede dar paso a nuevos protocolos de limpieza y revisión periódica para mitigar fallas.

XI. Referencias

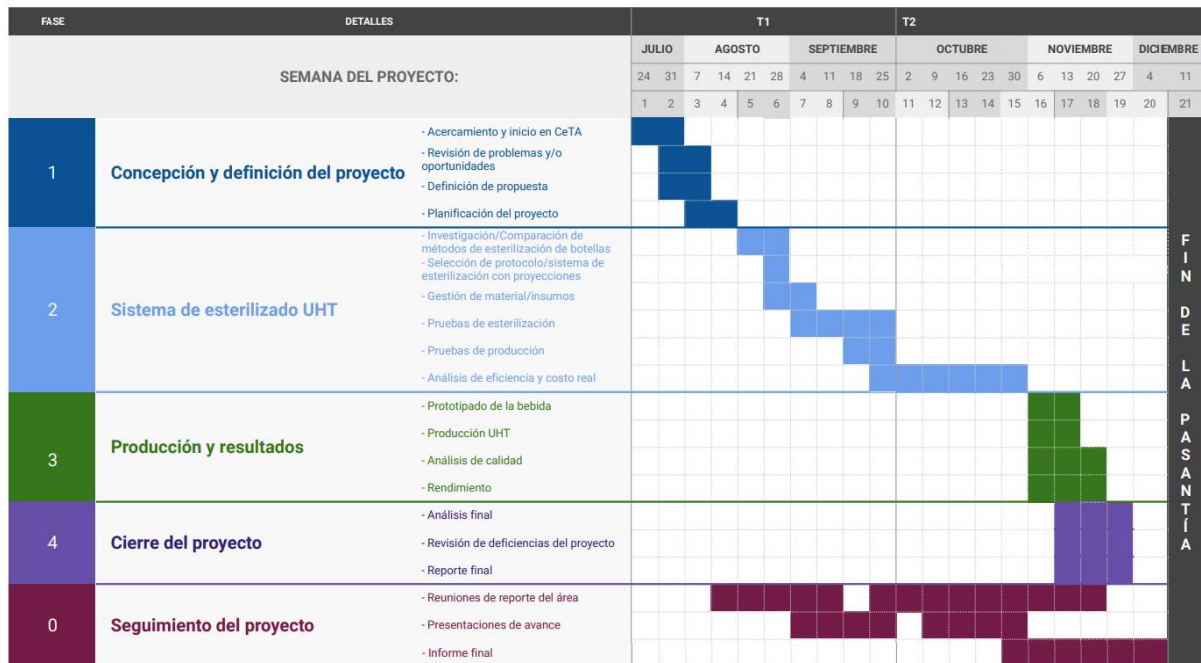
1. Akilloğlu, H. G., Chatterton, D. E., & Lund, M. N. (2022). Maillard Reaction products and amino acid cross-links in liquid infant Formula: Effects of UHT treatment and Storage. *Food Chemistry*, 396, 133687. [\[Link\]](#)
2. Besten, H.D., Berendsen, E.M., Wells-Bennik, M., Straatsma, H., & Zwietering, M.H. (2017). Two complementary approaches to quantify variability in heat resistance of spores of *Bacillus subtilis*. *International Journal of Food Microbiology*, 253, 48-53. [\[Link\]](#)
3. Blanco, P. (2022). Los retos de la industria agroalimentaria: el crecimiento demográfico y el cambio climático. [\[Link\]](#)
4. Block, S. S. (1991). Disinfection, sterilization, and preservation. [\[Link\]](#)
5. Camus Bustos, M. (2012). Recomendaciones a considerar para el uso seguro de autoclaves. Instituto de Salud Pública de Chile. [\[Link\]](#)
6. Chavan, R. S., Ansari, M., Bhatt, S., Encyclopedia of Food and Health (Eds: B. Caballero, P. M. Finglas, F. Toldrá), Academic Press, Oxford and Waltham, MA 2016, pp. 191–198.
7. Chen, B., Lung, H., Yang, B. B., & Wang, C. (2015). Pulsed light sterilization of packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 1-9. [\[Link\]](#)
8. David, J. R. D., Coronel, P., & Šimunović, J. (2022). Handbook of Aseptic Processing and Packaging. En CRC Press eBooks. [\[Link\]](#)
9. Doyle, M. P., & Meng, J. (2006). Bacteria in food and beverage production. En Springer eBooks (pp. 797-811). [\[Link\]](#)
10. Flores, M., & Alberto, C. (2014). Validación de sanitización y limpieza de tanques de mezcla y línea de llenado de soluciones para hemodiálisis: Industrial y Comercial Baxter de Chile Ltda. [\[Link\]](#)
11. U.S. Department of Food and Drug Administration (FDA). (2015/2017). Reprocessing medical devices in health care settings: Validation methods and labeling - Guidance for industry and Food and Drug Administration staff. [\[Link\]](#)
12. U.S. Department of Food and Drug Administration (FDA). (1996/2023). Irradiation in the production, processing, and handling of food – Pulsed light for the treatment of food. 21CFR179.41. [\[Link\]](#)
13. U.S. Department of Food and Drug Administration (FDA). (2023). Sterilization process indicator. [\[Link\]](#)
14. Febré, N., Silva, V., Báez, A., Palza, H., Delgado, K., Aburto, I., & Silva, V. (2016). Comportamiento antibacteriano de partículas de cobre frente a microorganismos

- obtenidos de úlceras crónicas infectadas y su relación con la resistencia a antimicrobianos de uso común. *Revista Medica De Chile*, 144(12), 1523-1530. [\[Link\]](#)
15. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. Transforming Food and Agriculture to Achieve the SDGs. Roma (Italy). [\[Link\]](#)
16. Gao, F., Lyu, C., Ning, Z., Zhao, S., Shao, L., Xu, X., & Wang, H. (2023). Inactivation of salmonella biofilms formed on stainless steel surfaces by pulsed light. *Food Control*, 153, 109955. [\[Link\]](#)
17. Hayrapetyan, H., Nederhoff, L., Vollebregt, M., Mastwijk, H., & Groot, M. N. (2020). Inactivation kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* spores by a peracetic acid or hydrogen peroxide fog in comparison to the liquid form. *International Journal of Food Microbiology*, 316, 108418. [\[Link\]](#)
18. Huang, K., Yi, J., Young, G. M., & Nitin, N. (2022). Cell-based carriers incorporated antimicrobial coatings on diverse food contact surfaces for preventing cross-contamination of fresh produce. *Food Control*, 134, 108700. [\[Link\]](#)
19. ISO 4833-1:2013/Amd1:2022. Enumeration of microorganisms. ISO. 2013.
20. ISO 21528-2:2017. Enterobacteriaceae - Detection and enumeration. ISO. 2017.
21. Jildeh, Z. B., Kirchner, P., Oberländer, J., Vahidpour, F., Wagner, P., & Schöning, M. J. (2020). Development of a package-sterilization process for aseptic filling machines: a numerical approach and validation for surface treatment with hydrogen peroxide. *Sensors and Actuators A: Physical*, 303, 111691. [\[Link\]](#)
22. Jildeh, Z. B., Wagner, P., & Schöning, M. J. (2021). Sterilization of objects, products, and packaging surfaces and their characterization in different fields of industry: The status in 2020. *physica status solidi (a) applications and materials science*, 218(13). [\[Link\]](#)
23. Ma, J., Wang, Z., Xu, J., Hu, C., Qiu, T., & Huang, Z. (2022). Effect of autoclave sterilization, gamma irradiation and high-pressure processing on the migration of 4,4'-MDA and its isomers in laminated food packaging bags. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100875. [\[Link\]](#)
24. McEvoy, B., & Rowan, N. J. (2019). Terminal sterilization of medical devices using vaporized hydrogen peroxide: A review of current methods and emerging opportunities. *Journal of Applied Microbiology*, 127(5), 1403-1420. [\[Link\]](#)
25. McMichael, A. J. (2007). Impact of climatic and other environmental changes on food production and population health in the coming decades. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(2), 195-201. [\[Link\]](#)

26. Ministerio de Agricultura (SAG). (2012). Instructivo Técnico De Análisis Para Recuento De Microorganismos Aerobios Mesófilos Mediante Técnica Petrifilm. D-ATR-AAT-14. [\[Link\]](#)
27. Ministerio de Salud (MINSAL). (2007). Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas. (s. f.). N° 461-2007/MINSAL.
28. Ministerio de Salud (MINSAL). (1997/2023). Reglamento Sanitario de los Alimentos. N° 82/22 -2023. [\[Link\]](#)
29. Mladenović, K. G., Grujović, M. Ž., Kiš, M., Fumeg, S., Tkalec, V. J., Stefanović, O. D., & Kocić-Tanackov, S. (2021). Enterobacteriaceae in food safety with an emphasis on raw milk and meat. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(23), 8615-8627. [\[Link\]](#)
30. Oberländer, J., Mayer, M., Greeff, A., Keusgen, M., & Schöning, M. J. (2018). Spore-based biosensor to monitor the microbicidal efficacy of gaseous hydrogen peroxide sterilization processes. *Biosensors and Bioelectronics*, 104, 87-94. [\[Link\]](#)
31. Placas 3M™ Petrifilm™ Aerobios - Guía de Interpretación. (2017). *3M México*. [\[Link\]](#)
32. Placas 3M™ Petrifilm™ Enterobacterias - Guía de Interpretación. (2017). *3M México*. [\[Link\]](#)
33. Rodrigues, T. B., & Trindade-Silva, A. E. (2016). Molecular diversity of environmental prokaryotes. En CRC Press eBooks. [\[Link\]](#)
34. Rutala, W. A., & Weber, D. J. (2008/2019). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. CDC Stacks. [\[Link\]](#)
35. Sawale, M., Cheng, X., Drolia, R., Benyathiar, P., Ozadali, F., Bhunia, A. K., & Mishra, D. K. (2022). Inactivation kinetics of bacillus atrophaeus in liquid hydrogen peroxide for aseptic package sterilization. *LWT*, 170, 114074. [\[Link\]](#)
36. Schilling, W., & Lesak, D. (2022). The Making of a Plant-Based Beverage. *Food Technology Magazine*, 76(3). [\[Link\]](#)
37. Siegel, F.R. (2021). Food 2050: More Mouths to Feed—Food Availability and Access. In: *The Earth's Human Carrying Capacity*. Springer, Cham. [\[Link\]](#)
38. Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice. (2004, octubre). U.S. Department of Food and Drug Administration (FDA). [\[Link\]](#)
39. Verkhivker Y. G., Myroshnichenko E. M., Use of polymer packaging for various food products with long-term storage. *J mate poly sci*, 2022; 2(2): 1-6. [\[Link\]](#)

40. Voicu, G., Constantin, G., Elena Stefan, Tudor, P., Munteanu, M., & Zelanzinski, T. (2019). ASPECTS REGARDING THE ASEPTIC PACKAGING OF FOOD PRODUCTS. ACTA TECHNICA CORVINIENSIS – Bulletin of Engineering, XII.
41. World Health Organization (WHO). (2019). The International Pharmacopoeia, 9th ed. Geneva, Switzerland. [\[Link\]](#)

XII. Anexos



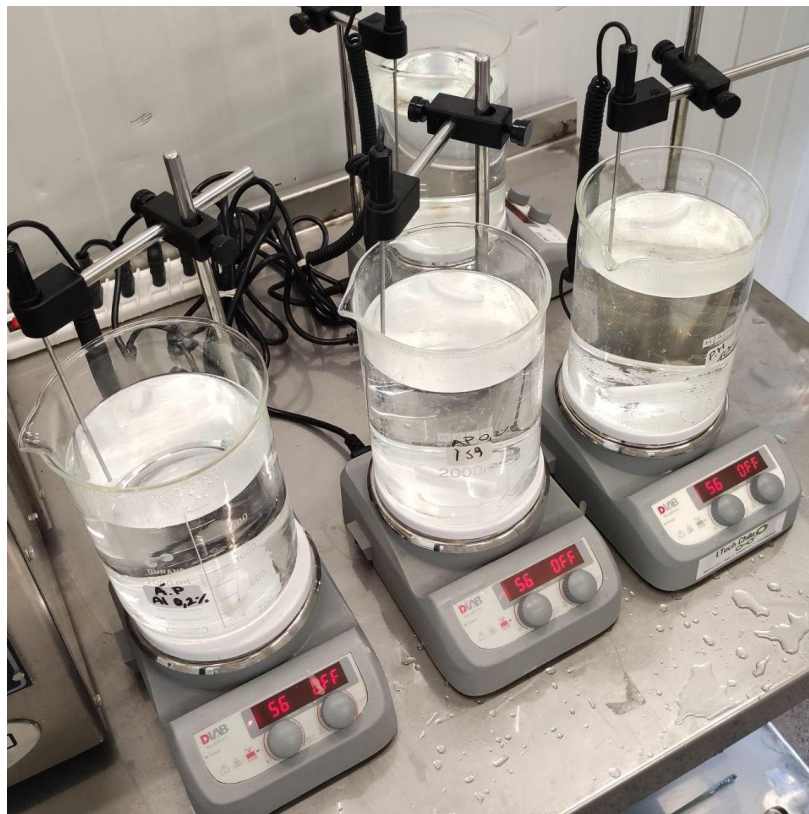
Anexo 1. Carta Gantt del proyecto de pasantía en CeTA alimentos (elaboración propia).



Anexo 2. Referencia de cámara aséptica.



Anexo 3. Botellas de PET y vidrio de 250 ml utilizadas.




Anexo 4. Referencia de configuración de calentamiento de SQE para prueba N°1.



Anexo 5. Placas Petri film RAC y EB 3M utilizadas para análisis microbiológico de superficie de botellas y producto terminado.



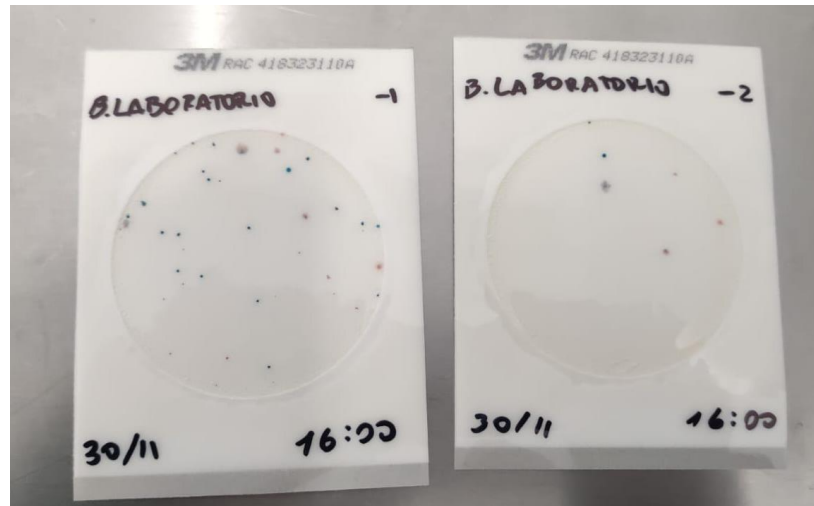
Anexo 6. Referencia de configuración de análisis microbiológico de superficie.

Producto	Descripción	Proveedor	Precio x litro o kilo	Total, Con IVA
Tecsa® Oxclear	Desinfectante peróxido de hidrógeno		\$3,060	\$3,641
Tecsa® Per Plus	Desinfectante ácido peracético grado alimento con registro ISP.		\$3,200	\$3,808

Anexo 7. Tabla de costos asociados a productos químicos utilizados en la esterilización.

Materia Prima	%	(g)
Agua	93,82	21.955
Harina de Arroz Extruida	4	1.000
Aceite de Coco	2	500
Goma Gellan	0,03	7,5
Fosfato Tricálcico CAFOS 322	0,1	25
Sal común	0,05	12,5
TOTAL	100	25.000
Sólidos Totales (STT)	5,34	1.335

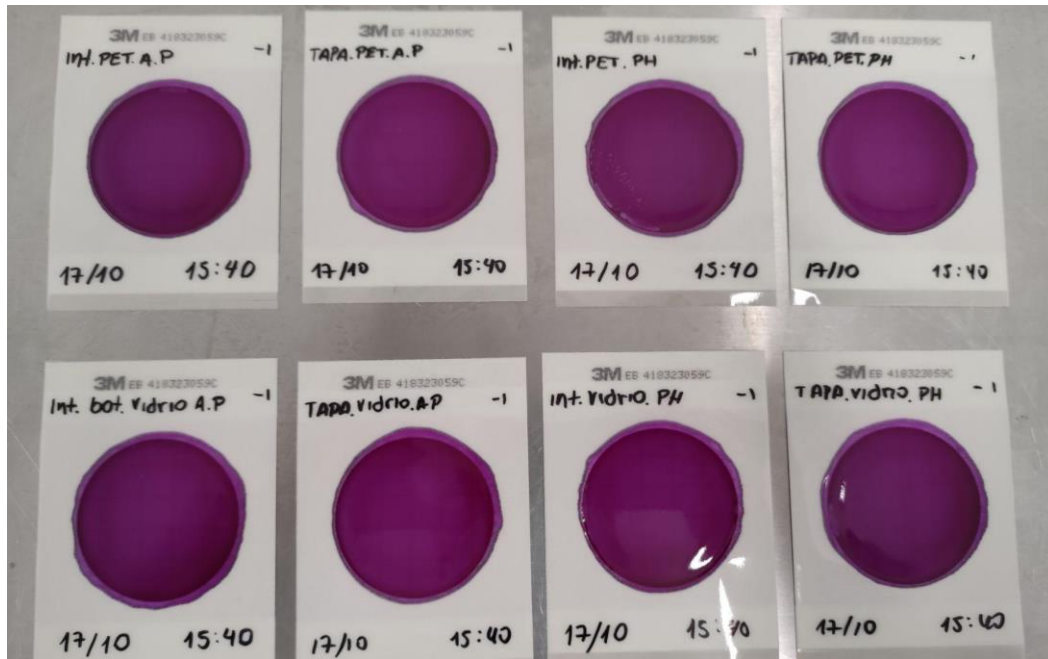
Anexo 8. Formulación de bebida con base de harina de arroz extruida y aceite de coco, utilizada para la prueba UHT.



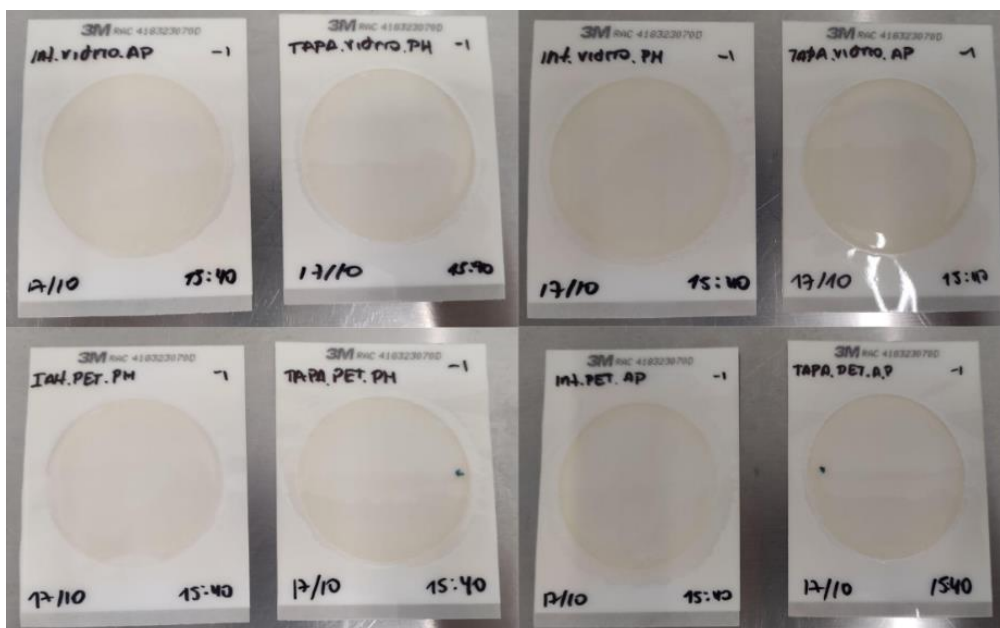
Anexo 9. Placas Petrifilm RAC para conteo de colonias de aerobios en bebida a nivel de laboratorio, previo a los procesos de producción en planta. Incubación en estufa de cultivo a 37.0°C por 24 horas

		Flujo de Caja para situación <u>sin proyecto</u> ANUAL											
Cotización UHT	25	UF/servicio											
Servicios UHT	7	mensual											
Tasa	10%	anual											
	1%	mensual											
UF	36.000	CLP											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Costos	-	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951	-44.951
Ingresos	-	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000	6.300.000
NETO	-	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049	6.255.049
VAN	\$71.310.608,71												
		Flujo de Caja para situación <u>con proyecto</u> ANUAL											
Cotización UHT	25	UF/servicio											
Servicios UHT	12	mensual											
Tasa	10%	anual											
	1%	mensual											
UF	36.000	CLP											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Costos	-	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762	-155.762
Ingresos	-	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000	10.800.000
NETO	-	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238	10.644.238
VAN	\$121.349.505,59												

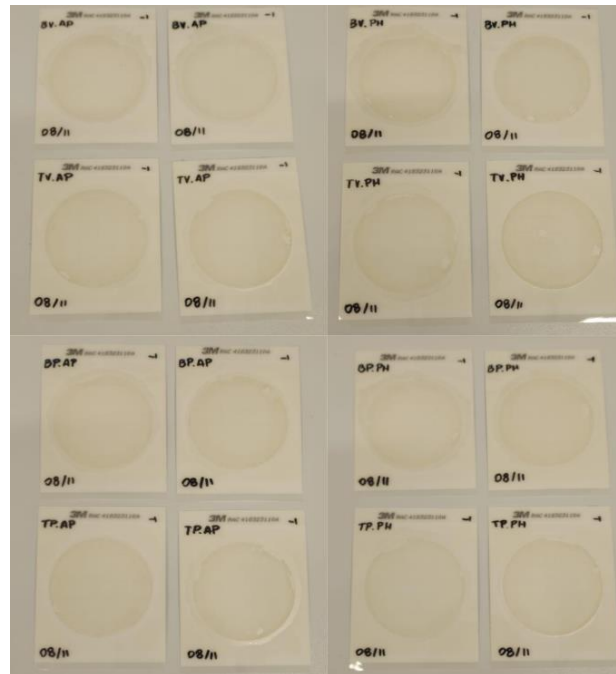
Anexo 10. Flujos de caja para cálculo de VAN de situación sin proyecto y con proyecto, llevado a la anualidad con una tasa anual del 10%, y con un valor de la UF de \$36.000.



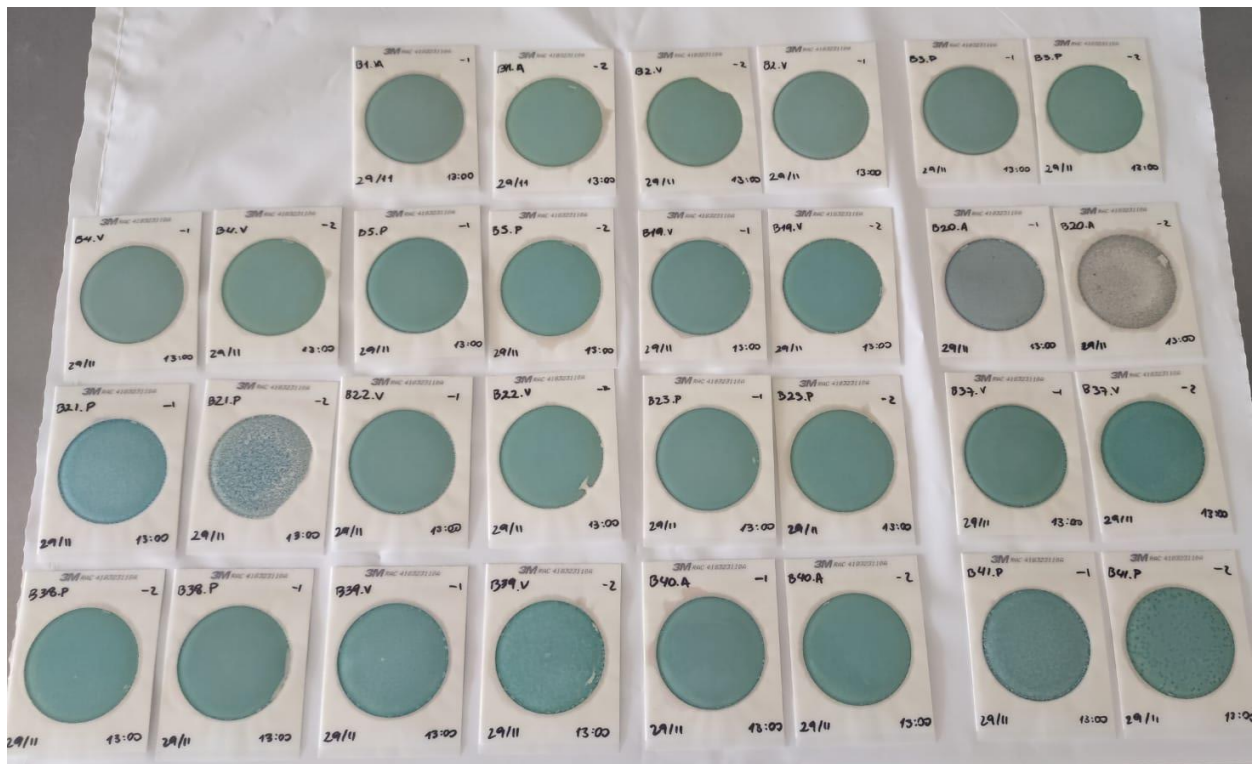
Anexo 11. Placas Petrifilm EB para conteo de colonias de enterobacterias en superficie interior de botellas y tapas. Incubación en estufa de cultivo a 37.0°C por 24 horas (prueba de esterilización n°1)



Anexo 2. Placas Petrifilm RAC para conteo de colonias de aerobios en superficie interior de botellas y tapas. Incubación en estufa de cultivo a 37.0°C por 24 horas (prueba de esterilización n°1)



Anexo 3. Placas Petrifilm RAC para conteo de colonias de aerobios en superficie interior de botellas y tapas. Incubación en estufa de cultivo a 37.0°C por 24 horas (pruebas de esterilización n°2).



Anexo 14. Placas Petrifilm RAC para conteo de colonias de aerobios en la bebida de la prueba de producción UHT luego de una semana.