



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD E
INOCUIDAD DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Sistema HACCP para carne de bovino (Bos taurus y Bos indicus):
Validación del punto crítico de control de desinfección

TESIS

Para optar el grado académico de Maestra en Sistemas de Gestión de la
Calidad e Inocuidad de la Industria Alimentaria

AUTOR

Bachiller Cerna Zeta, Rosa Maria

(ORCID: 0000.0002.0410.6975)

ASESOR

Magister Ramos Gorbeña, Juan Carlos

(ORCID: 0000.0002.9713.2653)

Lima, Perú

2022

Metadatos Complementarios

Datos de autor

Cerna Zeta, Rosa Maria

Tipo de documento de identidad del AUTOR: DNI

Número de documento de identidad del AUTOR: 08330919

Datos de asesor

Magister Ramos Gorbeña, Juan Carlos

Tipo de documento de identidad del ASESOR: DNI

Número de documento de identidad del ASESOR: 10243429

Datos del jurado

JURADO 1: Doctor Agurto Sáenz, Tomás Rene, DNI N°06105367, ORCID
0000.0001.5186.9265

JURADO 2: Doctora Montoya Terreros, Haydee, DNI N°07598606, ORCID
0000.0001.9052.1093

JURADO 3: Doctor Foy Valencia, Enzo Carol, DNI N°07006149, ORCID
0000.0001.7591.813X

Datos de la investigación

Campo del conocimiento OCDE: 721037

Código del Programa: 2.11.01

DEDICATORIA

A mi mamá Dina y a mi papá Segundo que desde el cielo siempre me acompañan, a mis hermanos, todos profesionales como fue el deseo de mis padres, a mi esposo, de quien siempre estaré orgullosa y a mi hijo que dentro de poco empezará sus estudios superiores, para que siga nuestro ejemplo, a todos ellos por ser la fuente de inspiración para continuar esta investigación, que empezó a muchos años, hasta terminarla.

AGRADECIMIENTO

A Dios quien siempre está a mi lado y que nunca me desampara.

A mi familia, por darme el tiempo y el espacio para terminar la tesis.

A todos mis amigos, a los de toda la vida y a los que fui conociendo a lo largo del desarrollo de la tesis, porque les toque la puerta y no dudaron en abrirla de par en par para apoyarme hasta alcanzar este meta que me había trazado, por lo que me siento bendecida con su amistad.

A los colegas, a los que desde el cielo me acompañan y a los que todavía tengo la dicha de seguir compartiendo su presencia, por sus valiosos aportes de conocimientos y experiencia.

Al Asesor de la Tesis y sus colaboradores de la Facultad de Biología de la Universidad Ricardo Palma, por su ayuda y las facilidades brindadas.

A las empresas que facilitaron y contribuyeron para el desarrollo y culminación de la tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
INDICE DE CONTENIDO	v
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 Descripción del problema	4
1.2 Formulación del problema	5
1.2.1 Problema general	5
1.2.2 Problemas específicos	5
1.3 Importancia y justificación del estudio	5
1.4 Delimitaciones del estudio	6
1.5 Objetivos de la investigación	7
1.5.1 Objetivo general	7
1.5.2 Objetivos específicos	7
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	9
2.1 Marco histórico	10
2.2 Investigaciones relacionadas con el tema	16
2.3 Estructura teórica y científica que sustenta el estudio	17
2.3.1 Sobre la contaminación de la carne	17
2.3.2 Los desinfectantes	41
2.3.2.1 Desinfectante natural: Biosanit	42
2.3.2.2 Desinfectante químico: Dióxido de Cloro	45
2.4 Definición de términos básicos	47
2.5 Fundamentos teóricos que sustentan la hipótesis	51
2.5.1 Validación del punto crítico de control (PCC)	51
2.6 Hipótesis	60

2.6.1 Hipótesis general	60
2.6.2 Hipótesis específicas	60
2.7 Variables	60
CAPITULO III. MARCO METODOLOGICO	63
3.1 Tipo, método y diseño de la investigación	64
3.2 Población y muestra	64
3.3 Diseño muestral	64
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	64
3.5 Descripción de procedimientos de análisis	66
CAPITULO IV. RESULTADOS Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS	76
4.1 Resultados	77
4.1.1 Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 24 horas para <i>E. coli</i> , Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales	78
4.1.2 Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 48 horas para <i>E. coli</i> , Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales	79
4.1.3 Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro, a las 24 y 48 horas para <i>E. coli</i> , Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales	80
4.1.4 Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit, a las 24 y 48 horas para <i>E. coli</i> , Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales	83
4.2 Análisis de los resultados	86
CONCLUSIONES / RECOMENDACIONES	92
Conclusiones	93
Recomendaciones	95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXOS	101
A Declaración de autenticidad y no plagio	102
B Autorización de Consentimiento para realizar la investigación	103
C Autorización de Matriz de consistencia	104
D Protocolos o Instrumentos Utilizados. Formato para la recolección de la información	105
E Tablas de Confiabilidad y Validez: Resultados del procesamiento de los datos	106

INDICE DE TABLAS

1	Mataderos en el Perú	12
2	Proceso del faenamiento de bovinos	14
3	Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación	29
4	Criterios microbiológicos para carnes	31
5	Pruebas analíticas relacionadas con la inocuidad y calidad microbiológica en productos cárnicos frescos refrigerados y congelados, excluyendo las carnes picadas	40
6	Composición del desinfectante Biosanit	43
7	Dosificación del Biosanit	45
8	Dosificación del Dióxido de Cloro	47
9	Características del Dióxido de Cloro	47
10	Dimensiones e indicadores de la variable independiente (X)	61
11	Dimensiones e indicadores de la variable dependiente (Y)	62
12	Pruebas para el desinfectante químico (Dióxido de Cloro) y para el desinfectante natural (Biosanit)	65

INDICE DE FIGURAS

1	Flujograma de faenamiento de bovinos	15
2	Distribución de las muestras de carne	65
3	Preparación de soluciones desinfectantes	68
4	Desinfección de la carne por pulverización	69
5	Colocación de la placa Petrifilm antes de la inoculación	72
6	Inoculación de la muestra en la placa Petrifilm	72
7	Inoculación de la muestra en la placa Petrifilm en el Laboratorio de Parasitología – URP	72
8	Tratamiento de la placa Petrifilm después de inocular la muestra	73
9	Uso del dispersor sobre la placa Petrifilm después de inocular la muestra	73
10	Incubación de las muestras	73
11	Placa Petrifilm con colonias de <i>E. coli</i> /Coliformes	74
12	Placa Petrifilm con colonias de <i>E. coli</i> /Coliformes en el Laboratorio de Parasitología – URP	74
13	Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos	75
14	Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos en el Laboratorio de Parasitología – URP	75
15	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 24 horas	78
16	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 24 horas	78
17	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 24 horas	78
18	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 48 horas	79
19	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 48 horas	79

20	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales para Dióxido de Cloro y Biosanit a las 48 horas	79
21	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) a las 24 horas para Dióxido de Cloro	80
22	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) a las 48 horas horas para Dióxido de Cloro	80
23	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 24 horas para Dióxido de Cloro	81
24	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 48 horas para Dióxido de Cloro	81
25	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas para Dióxido de Cloro	82
26	Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas para Dióxido de Cloro	82
27	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) del desinfectante Biosanit a las 24 horas	83
28	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) del desinfectante Biosanit a las 48 horas	83
29	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas	84
30	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas	84
31	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas	85
32	Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas	85

RESUMEN

El presente estudio fue realizado con la finalidad de validar el punto crítico de control (PPC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino, para lo cual se tenía que determinar la efectividad de los desinfectantes en la reducción de carga microbiológica de la carne.

De acuerdo al Codex Alimentarius, la validación es la obtención de pruebas que demuestran que una medida de control o combinación de medidas de control, si se aplican debidamente, es capaz de controlar el peligro.

Se utilizaron dos desinfectantes, el Dióxido de Cloro, de naturaleza química y el Biosanit, compuesto principalmente por ácidos orgánicos y considerado como un desinfectante natural, ambos productos se utilizan en la industria de alimentos por su efecto antimicrobiano, por ser inodoros e insípidos, no tóxicos y estables; ambos desinfectantes fueron aplicados utilizando las concentraciones (ppm ó mL/L) recomendadas por sus respectivos fabricantes.

El tipo de investigación aplicada consistió en el método que se basa en el Diseño Bifactorial de 2x2 (desinfectantes x tiempo) con 03 repeticiones por cada combinación de niveles. Los factores experimentales fueron la concentración del desinfectante por el tiempo de exposición, se utilizaron dos concentraciones (mínima y máxima) y dos tiempos (24 y 48 horas), siendo la variable independiente (X): el efecto del Dióxido de Cloro y del Biosanit y la variable dependiente (Y): la reducción de microorganismos (*Escherichia coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales), como indicadores de contaminación de la carne.

El estudio se realizó en cortes de carne provenientes de ganado bovino faenado en una planta de faenamiento (camal) de la ciudad de Lima-Perú, autorizada por el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria), autoridad nacional competente en Perú.

Se analizaron 5 lotes de carne correspondientes a 5 días de producción en condiciones de procesamiento estandarizadas.

Todos los tratamientos fueron eficaces en la reducción de la carga microbiológica, sin embargo, el Biosanit mostró tanto a las 24 como a las 48 horas, mayor efectividad en la reducción de la carga microbiológica que el Dióxido de Cloro.

El Biosanit esta compuesto por ácidos orgánicos y aceites esenciales, quienes actúan de forma sinérgica. Los ácidos orgánicos como el acético, cítrico, láctico, son ácidos débiles, en solución una parte se encontrará disociada $[H^+]$ $[A^-]$ (separada) y otra no disociada $[HA]$ (juntos), sin embargo, el poder antimicrobiano se debe a su forma no disociada, la que depende del pH. La forma disociada no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos, en cambio la forma no disociada, si atraviesa la membrana y afecta el pH intracelular microbiano. En cuanto a los aceites esenciales (ejm: eucalipto), la actividad antimicrobiana se debe a los terpenoides. Los aceites esenciales deterioran la pared celular de los microorganismos, se adhieren a los lípidos de la membrana citoplasmática e inactivan los sistemas enzimáticos de las bacterias.

El Biosanit tiene una mayor efectividad en la reducción de microorganismos con la mayor concentración (concentración máxima: 500 ppm ó 5 mL/L), demostrando mayor efectividad en la reducción de *E. coli*, luego para Coliformes Totales y por último para Aerobios Mesófilos Totales.

Palabras clave: Sistema HACCP, validación, desinfectantes, carne de bovino, Biosanit, Dióxido de Cloro

ABSTRAC

The present study was carried out in order to validate the critical control point (CCP) of disinfection of the HACCP System for beef, for which the effectiveness of disinfectants in reducing the microbiological load of meat had to be determined.

According to the Codex Alimentarius, validation is the obtaining evidences that demonstrates that a control measure or combination of control measures, if properly applied, is capable of controlling the hazard.

Two disinfectants were used, Chlorine Dioxide which is chemical nature and Biosanit, composed mainly of organic acids and considered as a natural disinfectant, both products are used in the food industry for antimicrobial effect, for being odorless and tasteless, non-toxic and stable; both disinfectants were applied using the concentrations (ppm or mL/L) recommended by their respective manufacturers.

The type of applied research consisted of the method that is based on the Bifactorial Design of 2x2 (disinfectants x time) with 03 repetitions for each combination of levels. The experimental factors were the concentration of the disinfectant by the time of exposure, two concentrations (minimum and maximum) and two times (24 and 48 hours) were used, the independent variable (X): the effect of Chlorine Dioxide and Biosanit and the dependent variable (Y): the reduction of microorganisms (*Escherichia coli*, Total Coliforms and Total Mesophilic Aerobes), as indicators of meat contamination.

The study was carried out on cuts of meat from cattle slaughtered in a slaughter plant (camal) in the city of Lima, Peru, authorized by SENASA (National Agricultural Health Service), the competent national authority in Peru.

Five (05) batches of meat corresponding to 5 days of production were analyzed under standardized processing conditions.

All treatments were effective in reducing the microbiological load, however, the Biosanit showed both at 24 and 48 hours, greater effectiveness in reducing the microbiological load than Chlorine Dioxide.

Biosanit is composed of organic acids and essential oils, which act synergistically. Organic acids such as acetic, citric, lactic acids, are weak acids, in solution one part will be dissociated $[H^+]$ $[A^-]$ (separated) and another not dissociated $[HA]$ (together), however, the antimicrobial power is due to its non-dissociated form, which depends on the pH. The dissociated form does not easily cross the plasma membrane of microorganisms, while the non-dissociated form does cross the membrane and affects the microbial intracellular pH. As for essential oils (e.g. eucalyptus), the antimicrobial activity is due to terpenoids. Essential oils deteriorate the cell wall of microorganisms, adhere to cytoplasmic membrane lipids, and inactivate bacteria's enzyme systems.

Biosanit has a greater effectiveness in the reduction of microorganisms with the highest concentration (maximum concentration: 500 ppm or 5 mL/L), demonstrating greater effectiveness in the reduction of *E. coli*, then for Total Coliforms and finally for Total Mesophilic Aerobes.

Keywords: HACCP system, validation, disinfectants, beef, Biosanit, Chlorine dioxide

INTRODUCCIÓN

En el Perú, la mayor producción y consumo de carne, después de la de aves, es la de bovinos o comúnmente conocida como carne de res, cuya importancia de su consumo, está asociada principalmente a su indiscutible valor nutricional y a sus apreciables características organolépticas, lo que la convierte en la materia prima preferida en una gran variedad de preparaciones tanto a nivel industrial como culinarias.

La carne de bovino por su contenido proteico y su alto valor de actividad de agua (a_w) está considerada dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos, al igual que la mayoría de los productos elaborados a partir de ella.

A pesar de que el músculo como tal, es prácticamente estéril, las condiciones de manipulación de la carne, puede hacerla muy susceptible a la contaminación debido a que por sus características ofrece las condiciones necesarias para el crecimiento de microorganismos causantes de enfermedades de origen alimentario. En este tipo de productos, sobre todo frescos o con procesamiento inadecuados, los microorganismos se multiplican con rapidez, especialmente a temperaturas por encima de las de refrigeración, afectando su inocuidad y que pueden derivar en problemas de salud pública.

Según los Principios Generales de Higiene de la Carne del Codex Alimentarius, la carne tiene que ser inocua e idónea para el consumo humano, y todos los sectores interesados incluyendo el gobierno, la industria y los consumidores, deben contribuir con su parte para lograr este objetivo.

En este sentido, se hace imprescindible realizar estudios que contribuyan a mejorar las condiciones de higiene en la obtención de la carne a lo largo de la cadena productiva de los alimentos, con la finalidad de contar con alimentos inocuos en salvaguarda de la salud de los consumidores.

Por lo expuesto, se planteó realizar la presente investigación para contribuir al mejoramiento del control efectivo de la contaminación microbiana en la carne de bovino,

validando el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP (Análisis de peligros y puntos críticos de control) para la carne de bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*), para ello se hizo uso de dos desinfectantes en diferentes concentraciones. Un desinfectante de origen químico (Dióxido de Cloro) y otro de origen natural (Biosanit), compuesto principalmente de ácidos orgánicos naturales (ácidos orgánicos como el cineol, ácido cítrico y ácido acético).

Para la validación del punto crítico de control (PCC), generalmente las empresas, sobre todo las pequeñas y medianas, utilizan la información dada por el proveedor del desinfectante o de publicaciones científicas o técnicas de otros países, sin embargo, dada la naturaleza de la actividades para la obtención de la carne a nivel local, es posible que los valores que se deben aplicar no sean los mismos que los valores indicados en las referencias bibliográficas utilizadas, por esta razón, es necesario contar con información local y para ello se debe recurrir a experimentos propios y específicos para validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

En nuestro país, a pesar que desde el año 1998, la legislación reconoce al Sistema HACCP (Análisis de peligros y puntos críticos de control) como un sistema que permite identificar, evaluar y controlar los peligros que son importantes para la inocuidad de los alimentos y que por tanto, su aplicación es de carácter obligatorio para el proceso de fabricación de alimentos, aún existen algunas deficiencias en la aplicación del Sistema HACCP, sobre todo en las actividades correspondientes al procesamiento primario para la obtención de carnes de las diferentes especies de animales de abasto, debido a una serie de factores, entre ellos, la falta de información adecuada a nuestra realidad, regulación no específica sobre el tema, etc.

La desinfección es considerada como uno de los puntos críticos de control (PCC) del Sistema HACCP para obtención de las carnes, sin embargo, a nivel nacional, existen muchas plantas de faenamiento de animales de abasto, que la aplican de manera incorrecta o lo que es más preocupante que no la aplican. Entre los mayores problemas que se presentan en la desinfección como consecuencia de la falta de conocimiento sobre el tema, se tiene el uso de sustancias no adecuadas para la reducción de la carga microbiana, la preparación y la aplicación inadecuada de la solución desinfectante, entre otras, lo cual afecta negativamente la inocuidad de la carne y por ende podría representar un riesgo para la salud de los consumidores.

El uso de sustancias desinfectantes permitidas y en condiciones apropiadas de aplicación, se presenta como un aporte a la solución de este problema, por ello el interés de plantear el presente estudio que aspira a contribuir al mejoramiento de las actuales prácticas de procesamiento de carnes y al cumplimiento de lo consignado en Ley de Inocuidad de los alimentos de nuestro país, que establece como derecho de los consumidores, que toda persona tiene derecho a consumir alimentos inocuos.

En este sentido, en la presente investigación se dará a conocer que mediante la validación del punto crítico de control (PCC) del Sistema HACCP, usando desinfectantes de origen químico o de origen natural en determinadas concentraciones, se puede lograr una desinfección eficaz de la carne de bovino y por lo tanto, garantizar su inocuidad y calidad.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuáles son los valores de la concentración de desinfectante para validar el PCC de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino?

1.2.2 Problemas específicos

- ✓ ¿Se cuenta con un valor conocido de la concentración del Dióxido de Cloro (desinfectante químico) para la validación del PCC de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovinos a nivel local?
- ✓ ¿Se cuenta con un valor conocido de la concentración del Biosanit (desinfectante natural) para la validación del PCC de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovinos a nivel local?

1.3 Importancia y justificación del estudio

Para la determinación de los puntos críticos de control (PCC) del Sistema de HACCP, se recomienda no tomar parámetros asociados a resultados de análisis microbiológicos, debido al tiempo que toma la obtención de los resultados de análisis, teniendo que esperar varios días, incluso, dada la naturaleza del producto, se podría dar el caso, que los resultados de los análisis demoren más tiempo que el tiempo de vida útil del producto.

Para el proceso de desinfección de las carnes por muchos años se han utilizado sustancias cloradas, que si bien han demostrado ser efectivas en cuanto a la reducción de microorganismos, en algunos casos, han sido responsables de ocasionar algún tipo de alteración de las características organolépticas: color, olor y sabor, es por ello que se hace necesario la búsqueda de productos alternativos que además de cumplir con la finalidad de desinfectar no causen alteraciones en la calidad de la carne, en este sentido, el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) y Biosanit (desinfectante natural), se presentan como alternativas viables, sin embargo, se requiere encontrar las concentraciones apropiadas para su aplicación.

Respecto a las sustancias desinfectantes, debido a que su efectividad puede variar por una serie de factores, si bien los fabricantes recomiendan la concentración para su uso, es importante, que las plantas de faenamiento se aseguren de tener referencias de las concentraciones que le aseguren reducir la carga microbiológica de manera eficaz.

Lo antes mencionado, justifica la necesidad de contar con valores de concentraciones conocidas de desinfectantes, que permitan validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección de la carne de bovino a nivel local.

1.4 Delimitaciones del estudio

Entre las principales limitaciones que se pueden presentar en el desarrollo de la presente investigación, tenemos la falta de información a nivel nacional sobre la concentración de los desinfectantes a ser utilizada en el proceso de desinfección de carnes, cabe mencionar que toda empresa que cuenta con un Sistema HACCP, tiene la obligación de validar las concentraciones de los productos desinfectantes que utiliza; sin embargo, esta información no es de conocimiento general para la industria cárnica.

Algunos establecimientos dedicados al faenamiento y salas de desposte donde se realiza la obtención de los cortes de carne comerciales muestran algún tipo de resistencia a realizar pruebas con otros desinfectantes diferentes a las sustancias cloradas, principalmente por desconocimiento y temor a un incremento en los costos.

1.5 Objetivos de la investigación

La validación se sustenta en la recolección y la evaluación de información científica, técnica y de observación, para determinar si las medidas de control son o no capaces de lograr su propósito específico en función del control de peligros.

La validación implica la medición del rendimiento frente a un resultado u objetivo deseado de inocuidad de los alimentos, con respecto a un nivel requerido del control del peligro.

La validación se lleva a cabo en el momento en que se diseña una medida de control o un sistema de control de inocuidad de los alimentos, o cuando los cambios surgidos indican la necesidad de una revalidación. La validación de las medidas de control se realiza, de ser posible, antes de su plena aplicación.

1.5.1 Objetivo general

Validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino, a partir de una concentración conocida de desinfectante que puede ser de origen químico u natural, que demuestre su efectividad en la reducción de la contaminación por microorganismos.

1.5.2 Objetivos específicos

- a) Determinar los valores de la concentración del Dióxido de Cloro (desinfectante químico) que reducen la contaminación de microorganismos (*Escherichia coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales), para validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino.

- b) Determinar los valores de la concentración del Biosanit (desinfectante natural) que reducen la contaminación de microorganismos (*Escherichia coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales), para validar el punto crítico de control (PCC) desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino.

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 Marco histórico

A nivel mundial, según Motarjemi and Lelieveld (2014), en su publicación sobre los Fundamentos en la gestión de la seguridad alimentaria en el entorno industrial: desafíos y perspectivas del siglo 21, manifiesta que el final del siglo 20 estuvo marcado por un aumento drástico en la incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos, brotes a gran escala y la aparición de nuevos patógenos transmitidos por los alimentos y peligros químicos. Un número alarmante de incidentes y crisis de inocuidad de los alimentos, ampliamente reportados por los medios de comunicación, también alimentó la sensación de inseguridad entre los consumidores. Se cree que una combinación de diferentes factores ha contribuido a esta tendencia, entre los cuales:

- La industrialización de la producción agrícola, la producción en masa y el aumento del número de establecimientos de servicios alimentarios;
- La liberalización del comercio y el creciente número de productos alimenticios importados;
- Turismo, urbanización con cambios posteriores en el estilo de vida, patrón de consumo de alimentos y prácticas de preparación de alimentos.

Además, la mayor disponibilidad y accesibilidad a la información y su rápida comunicación a través de las redes sociales y de masas amplificaron aún más la sensación de inseguridad.

La percepción del consumidor y la tendencia de exigir alimentos de mejor calidad, más frescos y prácticas de producción de alimentos más éticas también ha pesado en el proceso de toma de decisiones.

Estos desarrollos han sido el impulso para cambios importantes en la gestión de la inocuidad de los alimentos y el desarrollo de nuevos procedimientos y principios para la toma de decisiones, cambios en los sistemas y requisitos para la producción y el procesamiento de alimentos, y para el fortalecimiento de la infraestructura para la gestión de la inocuidad de los alimentos.

Por lo tanto, el siglo 21 establece el comienzo de una nueva era en la seguridad alimentaria. Revisando la historia de la seguridad alimentaria desde tiempos prehistóricos, podemos dividirla en tres grandes épocas:

- Un momento en el que los consumidores gestionaban directamente la seguridad de los productos consumiendo un alimento y juzgando la seguridad por su impacto en su salud;
- Un período en el que los gobiernos gestionaban la inocuidad de los alimentos probando productos y eliminando del mercado productos contaminados o no conformes; en general, los alimentos se consideraban seguros a menos que las personas se enfermaran o las pruebas indicaran lo contrario; y
- La era actual en la que las empresas alimentarias se han hecho responsables de proporcionar pruebas de que han tomado las medidas necesarias para evitar la contaminación de los alimentos. Esto significa que los alimentos se consideran inocuos cuando hay pruebas de que se han tomado las medidas de salvaguardia y se han observado las condiciones higiénicas de producción, transformación, transporte y distribución o preparación.

En nuestro país la situación no ha sido muy distinta a lo sucedido a nivel mundial, sin embargo, hay diferencias sustanciales en el tratamiento de la inocuidad por parte de las autoridades sanitarias. En el Perú, según se establece en el Decreto Legislativo N° 1062, Ley de Inocuidad de los alimentos, tenemos tres autoridades sanitarias en materia de inocuidad de los alimentos. Las actividades pecuarias están reguladas por el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI), siendo el Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA, la autoridad competente en materia de sanidad animal y vegetal e inocuidad agroalimentaria.

Las actividades pecuarias son actividades económicas primarias destinadas a la producción de alimentos mediante la crianza de animales aptos para el consumo humano, en nuestro país cobra principal importancia la crianza de ganado bovino, porque está directamente relacionada con la producción de carne proveniente de esta especie animal.

Según la información del Anuario Estadístico de Producción Ganadera y Avícola del 2020 del MIDAGRI, la carne de bovino o comúnmente conocida como “carne de res”, es la segunda carne de mayor consumo en nuestro país después de la carne de pollo y que se consume en mayor proporción que otras carnes de otras especies animales, como cerdo, ovino, caprino, etc.

Dentro de la cadena productiva, la crianza del ganado bovino corresponde a la producción primaria mientras que el faenamiento de los animales y el desposte para la obtención de los cortes de carne corresponden al procesamiento primario.

A nivel nacional, según el Sistema Integrado de Gestión de Insumos Agropecuarios – SIGIA del SENASA, se cuenta con 99 mataderos o plantas de faenamiento, las mismas que se encuentran distribuidas en todo el país, según se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1: Mataderos en el Perú

MATADEROS EN REGIONES	REGISTRADOS
AMAZONAS	2
ANCASH	3
APURIMAC	2
AREQUIPA	11
AYACUCHO	8
CAJAMARCA	1
CUSCO	4
HUANUCO	1
ICA	1
JUNIN	15
LA LIBERTAD	7
LAMBAYEQUE	8
LIMA – CALLAO	8
MADRE DE DIOS	3
MOQUEGUA	3
PASCO	3
PUNO	4
SAN MARTIN	7
TACNA	3
UCAYALI	3
VRAE	1
TOTAL	99

Fuente: SIGIA Web / SENASA

En las plantas de faenamiento o canales se realiza una serie de operaciones para la obtención de las carcasas o canales, que en el caso de los bovinos consiste en el cuerpo del animal sin vísceras, sin apéndices (cabeza, patas y cola) y sin piel, las carcasas o canales pueden ser comercializadas como tales o ser llevadas a centros de corte o desposte para la obtención de los cortes de carne.

Según el Artículo 14° sobre la Producción y Procesamiento Primario, en el Capítulo III de Alimentos agropecuarios primarios y piensos del Reglamento de inocuidad agroalimentaria (D.S N° 004-2011-AG), los productores de alimentos agropecuarios primarios deberán implementar los lineamientos sobre Buenas Prácticas de Producción e Higiene que establezca el SENASA.

Los procesadores primarios de alimentos agropecuarios primarios y piensos, deberán cumplir con la aplicación de los principios del Sistema HACCP y desarrollar Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento-POES que describan los métodos de saneamiento diarios a ser cumplidos, es decir, tanto en las plantas de faenamiento como los centros de corte o desposte deben contar con el Sistema HACCP y aplicar la desinfección de las carcasas o la carne.

En la Guía de Buenas Prácticas de Faenado de Animales de Abasto del SENASA – Servicio Nacional Sanidad Agraria del Perú, publicada en enero del 2022, se describen las operaciones que se efectúan para la obtención de las carcasas de bovinos, las mismas que se resumen en la tabla 2 y en la figura 1, donde se presenta el flujograma de dicho proceso.

Tabla 2.- Proceso del faenamiento de bovinos

ETAPA DEL PROCESO	DESCRIPCIÓN
Recepción del animal vivo	Los animales son recepcionados en corrales, previa verificación de la documentación respectiva que sustenta tanto su estado sanitario como su propiedad.
Inspección ante mortem	El Médico Veterinario Autorizado inspecciona el estado sanitario del animal y determina su aptitud para el faenamiento.
Bañado	Los animales son transportados desde los corrales hacia la planta de faena por una manga, al final de la misma y antes de su ingreso a la planta de faena, se realiza el bañado del animal para disminuir los riesgos de contaminación y relajamiento mediante la vasoconstricción.
Aturdimiento	Los animales deben ser aturridos antes del sacrificio por un método apropiado y reconocido, que produce la pérdida inmediata del conocimiento y que dure hasta la muerte del animal.
Izado	Luego del aturdimiento se sujeta al animal por una de las patas posteriores y se eleva hacia el riel.
Degüello / Desangrado	Una vez suspendido el animal se efectúa un corte (punzada) entre la yugular y la carótida para producirle la muerte mediante el desangrado. Los cuchillos deben estar limpios y afilados, ser suficientemente largo para la especie y tamaño de animal.
Desuello	La piel es retirada en su totalidad y llevada a otra área para su posterior comercialización. Para el desuello se debe ligar los terminales expuestos del sistema digestivo (esófago y recto), para evitar contaminación cruzada y mantener las condiciones de inocuidad de la carne; Esta operación incluye el retiro de patas, testículos y cabeza.
Eviscerado	Retiro de las vísceras torácicas y abdominales. Las vísceras se trasladan al área de menudencia para su proceso.
Seccionamiento de la carcasa	Se realiza el corte longitudinal de la carcasa para generar dos medias carcasas. Se efectúa el retiro de la cola.
Inspección postmortem	El Médico Veterinario Autorizado realiza la inspección sanitaria y las condiciones de inocuidad.
Lavado	Retiro de materias extrañas con agua a presión y escobillas.
Pesado	Se pesan las medias carcasas y se registra en el sistema
Desinfección	Se desinfecta por aspersión con solución desinfectante de acuerdo a los procedimientos establecidos.
Almacenamiento	Se almacena en cámaras de refrigeración como mínimo 24 horas hasta alcanzar una temperatura menor a 4°C.
Despacho	Se despachan las carcasas de acuerdo a lo solicitado por el cliente.

Fuente: Elaboración propia basada en la Guía de Buenas Prácticas de Faenado de Animales de Abasto del SENASA

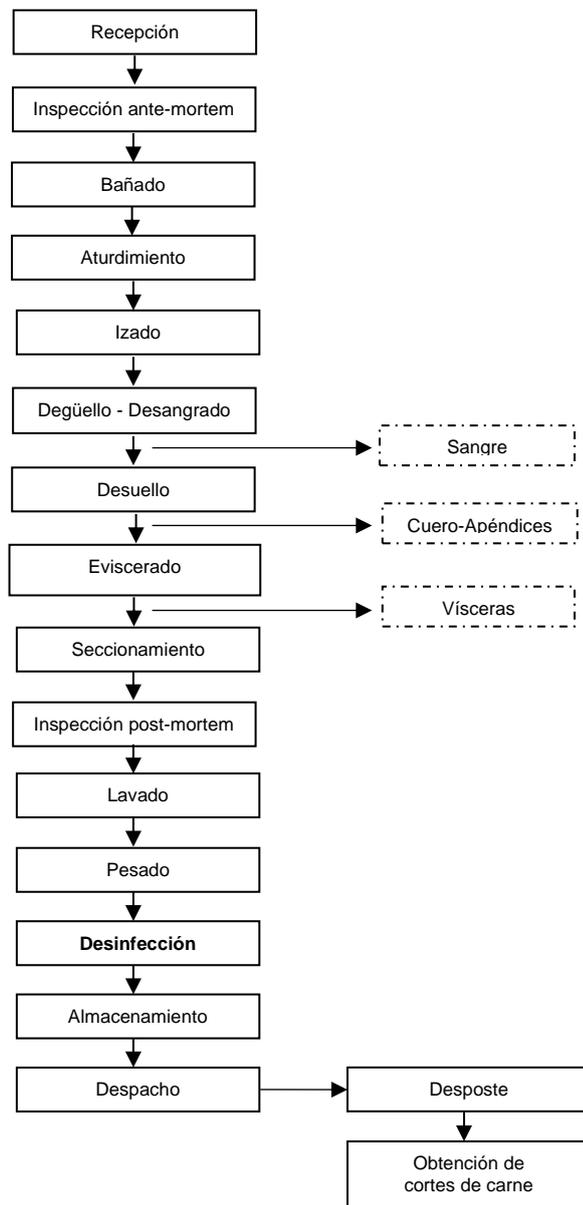


Figura 1: Flujograma del faenamiento de bovinos

Fuente: Elaboración propia basada en la Guía de Buenas Prácticas de Faenado de Animales de Abasto del SENASA

2.2 Investigaciones relacionadas con el tema

Tal como se mencionó una de las limitaciones del estudio, es la información limitada sobre estudios relacionados con el tema de la presente investigación.

Carvajal, A. (2007), en Costa Rica ha efectuado el siguiente trabajo: Evaluación de la efectividad de un agente desinfectante utilizado en plantas procesadoras de carne”, para la obtención del grado de licenciamiento en Microbiología y Química Clínica, el cual tenía por objetivo probar la capacidad microbicida del agente desinfectante ácido peracético sobre muestras de carne cruda previamente inoculadas con varios indicadores microbiológicos, observándose una disminuida capacidad de reducir poblaciones bacterianas presentes no solamente bajo tiempos de exposición superiores a los utilizados en la practica industrial, sino bajo concentraciones mayores a las indicadas por el fabricante del desinfectante pero dentro del rango considerado como seguro para su uso.

Se aplicó un desinfectante comercial a base de ácido peracético ajustándolo a concentraciones de 80 ppm, 160 ppm y 200 ppm por un tiempo de contacto de 20 minutos, obteniéndose como resultado, que no representa un método satisfactorio de reducción *E. coli*, *Stafilococos aureus* y *Clostridium perfringens* inoculados sobre muestras de carne de consumo.

Ojeda, C. y Vásquez, G. (2008), en Ecuador, efectuaron el estudio sobre la “Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de microorganismos Aerobios mesófilos y, Coliformes Totales y Fecales en canales de bovinos”, en la Escuela Superior Politécnica del Litoral - Centro de Investigación Científica y Tecnológica. El estudio estaba enfocado en la reducción de carga microbiana en canales bovinos, aplicando de forma directa soluciones de ácidos orgánicos como, el ácido láctico y el ácido peracético, los cuales tienen un efecto adverso en el desarrollo de bacterias patógenas, causantes de deterioro y problemas de salud en los consumidores. Inicialmente se establecieron las principales causas de deterioro de las canales bovinas y los microorganismos patógenos relacionados; paralelamente se hizo un diagnóstico inicial a fin de determinar las cargas iniciales de microorganismos presentes en las canales y a su vez se identificó la presencia de *E. coli* en las mismas;

luego se escogió la mejor alternativa para la desinfección de las canales utilizando ácidos orgánicos, para lo cual se consideró al ácido láctico y al ácido peracético en diferentes concentraciones, se escogieron estos ácidos debido a su inocuidad y fácil adquisición. El método a través del cual se aplicó estas soluciones fue por aspersión. La efectividad de dichas soluciones se determinó a través del análisis microbiológico de recuento en placas de Aerobios mesófilos, y Coliformes totales y fecales, en función al grado de supervivencia de los microorganismos.

Sánchez, R. (2011), en Perú efectuó el estudio sobre el “Efecto de desinfectantes químicos y extractos de plantas sobre la carga bacteriana en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*), para la obtención del Título de Magister en Calidad e Inocuidad de la Industria Alimentaria. El estudio fue realizado con la finalidad de evaluar la efectividad del Dióxido de Cloro (DC), extracto de hojas de eucalipto - semilla de toronja (EHE-ST) y extracto de semilla - pulpa de toronja (ES-PT) en distintas concentraciones (ppm) sobre la reducción de recuentos promedios de bacterias aerobias mesófilas, *E. coli* y coliformes totales en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*). Se utilizó un diseño factorial completamente al azar con siete tratamientos: T1 = Control, T2 = DC 20 ppm, T3 = DC 30 ppm, T4 = EHE-ST 3000 ppm, T5 = EHE-ST 5000 ppm, T6 = ES-PT 400 ppm y T7 = ES-PT 800 ppm, con 5 repeticiones (carcasas) cada uno, excepto en T1 (n=6). Todos los tratamientos fueron eficaces en reducir los recuentos de bacterias aerobias mesófilas en las carcasas con respecto al control (T1) ($p < 0.05$). En la reducción de *E. coli*, T5 fue más eficaz con respecto a T1 ($p < 0.05$), y en la reducción de coliformes totales, T3, T5, T6 y T7 fueron más eficaces con respecto a T1 ($p < 0.05$). Se concluye que el uso de DC 30 ppm y EHT-ST 5000 ppm favorecen las reducciones de recuentos promedios de bacterias en carcasas de cuyes.

2.3 Estructura teórica y científica que sustenta el estudio

2.3.1 Sobre la contaminación de la carne

La carne fresca comienza a sufrir modificaciones desde el momento en el que el animal se sacrifica. Tan pronto como el animal es desangrado, los mecanismos de defensa contra microorganismos invasores prácticamente

desaparecen. Los tejidos dejan de respirar debido a la deficiencia de oxígeno, y toda reserva de glucógenos es metabolizada por vías fermentativas, resultando la acumulación de ácido láctico y el consecuente descenso en el pH. La extensión de este descenso influirá en la naturaleza de la flora alterante que se desarrollará por último en la superficie de la canal.

La carne de animales recientemente sacrificados es contaminada por una amplia variedad de especies bacterianas. El grado de contaminación inicial está influido por el grado de higiene en las prácticas del sacrificio

Autores como Price y Scheweigert (1994), en su libro “Ciencia de la carne y de los productos cárnicos”, hace mención que antes del sacrificio, los tejidos comestibles de un animal sano se pueden considerar estériles. Se encuentran protegidos de la contaminación por la piel que funciona una cubierta casi perfecta. Además, el tracto intestinal sirve como barrera efectiva a la inmensa masa de microorganismos que contiene. Normalmente, cualquier microorganismo que penetrase estas barreras sería destruido rápidamente por las defensas naturales del organismo. Tras el sacrificio, sin embargo, estos mecanismos quedan bloqueados, y los tejidos expuestos se hacen altamente perecederos. Los tejidos animales quedan expuestos entonces a un gran número de microorganismos como los de la piel o los del tracto intestinal. La superficie externa de la piel o el cuero está intensamente contaminada por una amplia variedad de microorganismos. La incisión de la piel proporciona la primera vía de entrada para los contaminantes. Además, es posible que algunos de los microorganismos del tracto intestinal encuentren su camino hacia la superficie de la canal durante las operaciones de formado. Ocurre alguna contaminación durante la operación de degüello, y es posible que algunos de estos microorganismos puedan llegar los tejidos musculares por el torrente circulatorio inmediatamente antes de la muerte.

Según Restrepo et al, 2001, sobre la contaminación de la carne, indica que los microorganismos que alteran la carne, llegan a ella por infección del animal vivo -contaminación endógena- o por invasión posmortem-contaminación exógena. Aunque ambas son de gran importancia, la alteración de la carne a

consecuencia de la contaminación exógena es la más frecuente, así, el hombre puede sufrir graves infecciones o intoxicaciones por el consumo de carne procedente de animales sanos.

Después del sacrificio y de la evisceración del animal, la carne conserva las características microbianas generales que tenía previo al sacrificio. La superficie del animal está contaminada por microorganismos provenientes del suelo, el aire y el agua, mientras que el músculo esquelético está prácticamente libre de ellos. Ahora bien, existe un número extremadamente alto de microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal de los animales, y es de esperarse que algunos de ellos puedan encontrar el camino a la superficie de las canales durante el proceso de evisceración; adicionalmente, algunos animales aparentemente sanos pueden albergar microorganismos en el hígado, riñones, nódulos linfáticos y bazo, los cuales pueden llegar al músculo esquelético vía sistema circulatorio, generalmente se encuentran en el músculo en muy bajas cantidades. La contaminación también puede ocurrir en el proceso de insensibilización (previo al degüello), cuando éste se realiza por el medio del puntillazo, los microorganismos son distribuidos vía sistema circulatorio a los músculos.

En la medida que la canal sufre los diferentes cortes que son requeridos para la comercialización de las carnes, la superficie de contacto con el ambiente es mayor y las posibilidades de contaminación también lo son. Las condiciones medioambientales y de manejo (equipos, utensilios, operarios, entre muchos otros), y las características de la carne determinan finalmente la cantidad y calidad de microorganismos presentes.

Debido a la gran variedad de fuentes de contaminación, los tipos de microorganismos que suelen encontrarse en las carnes son muchos y muy variables.

La contaminación de canales de bovino y porcino después del sacrificio y enfriamiento, es variable y puede ser constituida de 10^1 - 10^5 mesófilos aeróbicos por cm^2 , dependiendo de la canal, sitio de la canal y lugar de donde

provenza. El ratio de enfriamiento afecta la proporción de microorganismos psicrófilos a mesófilos, los cuales a su vez dependen de la temperatura, tiempo, velocidad del aire y humedad relativa. Inicialmente la contaminación superficial por psicrotróficos es menor que 10^2 y la contaminación con Enterobacteriaceas es menor que $10^1 - 10^2$ por cm^2 .

Los contaminantes comunes de las canales son bastones Gram-negativos y micrococos, incluidas *Pseudomonas spp.*, *Moraxella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Flavobacterium spp.*, entre otras.

Adicionalmente pueden existir bacterias productoras de ácido láctico, hongos, levaduras y virus entéricos en bajas cantidades. La contaminación es muy variable y pueden incluirse algunos microorganismos patógenos como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*, que provienen ya sea de la microflora intestinal o del medio ambiente; algunos de esos patógenos están más asociados a la carne de unas especies que de otras como por ejemplo la *Y. Enterolitica* en la carne de cerdo.

Mohos de diferentes géneros al alcanzar la superficie de la carne se desarrollan sobre ella. Son especialmente interesantes las especies de los géneros *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Oospora*, *Thamnidium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Chaetostylum*, *Rhizopus* y *Monillia*. A menudo se encuentran levaduras, especialmente no esporuladas.

A pesar de que es posible encontrarlos en la carne fresca, principalmente en canales sometidas a largos períodos de almacenamiento y maduración (“añejamiento”), lo cual reduce el crecimiento de bacterias debido al desecamiento superficial, los hongos y las levaduras se encuentran con mayor frecuencia en productos cárnicos salados y deshidratados.

Entre las muchas bacterias que pueden encontrarse como contaminantes de la carne, las más importantes son las de los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella* y *Streptomyces*.

El procesamiento de las canales y el subsecuente manejo de la carne, determinan el destino de los microorganismos originalmente presentes en ella. En general, psicrótrófos como las *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* y *Lactobacillus*, predominan en carne refrigerada, en cantidades que dependen del pH inicial y de la atmósfera gaseosa. Los microorganismos mesófilos adquieren importancia cuando la temperatura de almacenamiento se eleva a 15° C.

La contaminación se incrementa en carnes picadas porque ellas generalmente provienen de recortes sumamente manipulados, en los cuales existe una gran área superficial y las condiciones para el crecimiento y desarrollo de microorganismos, principalmente los psicrótrofos aeróbicos, son mayores, ocasionando grandes deterioros. La carne cruda se halla sujeta a las alteraciones producidas por sus propias enzimas y las ocasionadas por la actividad microbiana; la grasa puede además oxidarse químicamente. Para hacer más tierna la carne de vacuno mayor, es conveniente cierto grado de autólisis, lo que se consigue en el proceso de maduración o “añejamiento”.

Los cambios producidos por la autólisis incluyen cierto grado de acción proteolítica sobre los músculos y tejido conjuntivo y una ligera hidrólisis de las grasas. La autólisis excesiva determina el “agriado”, término que se aplica a numerosas alteraciones sufridas por los alimentos y a casi todas en las que se presenta olor ácido; es difícil distinguir entre el “agriado” por autólisis y los defectos causados por acción bacteriana, en especial cuando se trata de proteólisis. La hidrólisis preliminar de las proteínas por las enzimas de la carne estimula el comienzo del desarrollo de los microorganismos, suministrándoles compuestos nitrogenados más sencillos que son necesarios

para el desarrollo de ciertos microorganismos que son incapaces de atacar las proteínas originales.

Condiciones para la proliferación microbiana

Entre las condiciones que favorecen la proliferación microbiana en la carne y los productos cárnicos están incluidos los factores de crecimiento o condiciones favorables para que los microorganismos presentes en ellos, aumenten su número y por consiguiente se incremente la población microbiana. Cuando se presenta alguno de los factores de riesgo y los productos se contaminan, comienzan a jugar un papel importantísimo las condiciones y características de la carne y se estimula el crecimiento y multiplicación de los microorganismos infectantes.

El caldo de carne se ha reconocido tradicionalmente como un excelente medio de cultivo, el músculo contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos, sin embargo, no es un buen medio nutritivo, inmediatamente después de su obtención. En efecto, sus nutrientes no son directamente accesibles por las barreras que es necesario penetrar previamente (pared celular, tejido conjuntivo, aponeurosis, grasa de cobertura, entre otros).

La penetración de los microorganismos en la carne, en las canales o en piezas gruesas es lenta; por el contrario, en carnes despiezadas o picadas es bastante fácil.

Los factores que influyen en el crecimiento de los microorganismos en las carnes son la actividad de agua (A_w), el potencial de óxido-reducción (E_h), el pH, las necesidades nutritivas y la temperatura y en productos cárnicos, también los aditivos utilizados.

Actividad de agua (A_w)

La A_w mide la disponibilidad de agua del medio donde se encuentran los microorganismos, lo que es igual a la relación entre la presión de vapor de agua de la solución y la presión de vapor de agua del agua pura. La A_w de la carne fresca es de 0.98 - 0.99, cifras que son sumamente favorables para la multiplicación de todas las especies microbianas. Las variaciones en el A_w de la superficie de la carne (relacionada con la humedad relativa) tiene grandes repercusiones sobre el crecimiento microbiano superficial; todo descenso en el A_w , supone una desecación que se opone a la multiplicación microbiana. Podría pensarse entonces que debería descartarse la conservación de la carne en ambientes húmedos, sin embargo, el ambiente seco asociado con el frío, que provoca una buena inhibición microbiana, trae consigo problemas como pérdida de masa y por consiguiente pérdidas económicas.

Potencial de óxido-reducción (Eh):

Inmediatamente después de la muerte del animal, el músculo todavía contiene en profundidad reservas de oxígeno, que hacen que el Eh sea positivo y elevado, lo que favorece el crecimiento de gérmenes aerobios (requieren de la presencia de oxígeno para desarrollarse); los principales microorganismos de este tipo que contaminan la carne son los pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Micrococcus*.

Luego las reservas de O_2 se agotan por falta de renovación por la sangre, el Eh profundo disminuye rápidamente y se hace negativo. Las condiciones reductoras que se crean, son propicias para el desarrollo de gérmenes anaerobios de la putrefacción, los más representativos de este tipo son los del género *Clostridium*.

Existen otros microorganismos denominados anaerobios facultativos que pueden desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno y los más representativos en la carne y los productos cárnicos son los pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Stafilococcus* y *Coliformes*. Los

géneros *Streptococcus* y *Pediococcus* son microaerobios y también es posible encontrarlos como contaminantes de la carne.

pH :

El pH del músculo en vivo está cerca de la neutralidad, después de la muerte desciende más o menos rápidamente, para alcanzar después de la rigidez cadavérica valores entre 5.4 y 5.8 (en condiciones normales y dependiendo de la especie).

Los microorganismos son extremadamente sensibles a las variaciones del pH y generalmente cuando este es bajo, suele producirse un descenso en la velocidad del crecimiento microbiano.

Las más afectadas son las bacterias, luego las levaduras y los más resistentes a pH bajos son los mohos. Teniendo en cuenta lo anterior, significa que las carnes con valores de pH elevados están más expuestas a las acciones microbianas, sobre todo a la putrefacción. La mayoría de las bacterias crecen a valores de pH entre 5 y 8.

Necesidades nutritivas:

Después de haber transcurrido en el músculo los procesos bioquímicos posteriores a su obtención, este aporta los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de la mayoría de los microorganismos. Satisface desde las necesidades tan simples de la *Escherichia coli*, hasta los complejos requerimientos nutricionales del *Streptococcus faecium*.

Temperatura:

La temperatura del músculo inmediatamente después del sacrificio es relativamente alta (aproximadamente 37° C), temperatura ideal para el desarrollo de las bacterias mesófilas (entre 25 y 40° C, sin embargo, es posible encontrarlas hasta 10° C).

Generalmente, una vez obtenidas las canales estas son refrigeradas y en los procesos posteriores de corte, almacenamiento y comercialización se continua con la cadena de frío, es común encontrar microorganismos contaminantes psicrófilos (requieren temperaturas entre 10 y 30° C como temperatura óptima, pero pueden crecer más lentamente hasta los 0° C), los microorganismos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter* y *Flavobacterium* son los que frecuentemente se encuentran en carnes frescas sometidas a temperaturas de refrigeración.

Alteraciones de la carne fresca

Arango y Restrepo (2000), señalan en su publicación sobre Microbiología de la carne, que los tipos más comunes de alteración de la carne se pueden clasificar basándose en las condiciones aeróbicas o anaerobias en que se realizan.

Entre las alteraciones más comunes sufridas en condiciones de aerobiosis, tenemos:

- a) Mucosidad superficial: La temperatura y la cantidad de agua disponible influyen en el tipo de microorganismo causante de esta alteración. A temperaturas de refrigeración, la humedad abundante favorece el crecimiento de bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter* y *Flavobacterium*; con menos humedad se ven favorecidos los *Micrococcus* y las levaduras y a menor humedad, los mohos.
- b) Modificaciones en el color de los pigmentos de la carne: El típico color rojo de la carne puede cambiar a tonalidades diversas y a distintos colores como verde, pardo o gris, a consecuencia de la producción por parte de las bacterias especialmente de los géneros *Clostridium*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, de ciertos compuestos oxidantes como los peróxidos o el Sulfuro de Hidrógeno.
- c) Modificaciones sufridas por las grasas: En las carnes expuestas al aire tiene lugar la oxidación de las grasas no saturadas, catalizada por el cobre y la luz.

La hidrólisis proporciona el aroma de los ácidos grasos liberados; el enranciamiento de las grasas puede ser producido por especies lipolíticas como *Pseudomonas* y *Bacillus* o por mohos y levaduras.

- d) Fluorescencia: Es un defecto poco frecuente producido especialmente por bacterias del género *Flavobacterium*, que se desarrollan en la superficie de la carne.
- e) Olores y sabores extraños: Aparecen como consecuencia del crecimiento bacteriano en la superficie, es generalmente el primer síntoma de alteración de la carne. Las levaduras son capaces de desarrollarse en condiciones de aerobiosis en la superficie de la carne, produciendo una película superficial viscosa, lipólisis que conlleva a olores y sabores anormales, y coloraciones anormales blancas, crema, rosada o parda debidas a los pigmentos de ellas. La coloración superficial debida al desarrollo de mohos y Levaduras está generalmente localizada; la profundidad y extensión alcanzados por el defecto dependen exclusivamente del tiempo disponible para la difusión de los productos de descomposición. Si los gérmenes abundan en la superficie, es probable que penetren a bastante profundidad. Las bacterias facultativas se desarrollan y difunden lentamente hacia adentro los géneros de bacterias involucrados en esta alteración son principalmente *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Microbacterium* y *Lactobacillus*

Las bacterias anaerobias y facultativas pueden crecer en el interior de la carne, donde reinan las condiciones de anaerobiosis y ocasionan diversas alteraciones, tales como:

- a) Agriado: En este estado, la carne presenta olor y algunas veces sabor agrio. Puede deberse a varios factores, como: las propias enzimas de la carne, la producción anaerobia de ácidos grasos o lácticos por acción bacteriana, la proteólisis (sin putrefacción) producida por bacterias facultativas o anaerobias, a la que se le denomina “fermentación agria hedionda”.

- b) Putrefacción: Consiste en la degradación anaerobia de las proteínas con la consecuente producción de sustancias, algunas de ellas tóxicas, que aportan olores y sabores desagradables, entre ellas se cuentan sulfuros (p.e. Sulfuro de hidrógeno y metil sulfuro), mercaptanos, indol, escatol, amoníaco y aminas (p.e. putrecina, cadaverina e isobutilamina), dichas sustancias provienen de la degradación enzimática de los aminoácidos liberados luego de la hidrólisis por parte de algunas bacterias. Las bacterias involucradas en esta alteración pertenecen a los géneros *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Micobacterium*, *Micrococcus* y *Bacillus*.
- c) Husmo: Son sabores y olores anormales asociados a agriado o putrefacción próxima a los huesos. Las bacterias involucradas en esta alteración son anaerobias y facultativas, especialmente del grupo coliforme y los géneros *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Staphylococcus*.

En el Manual de Buenas Prácticas para la Industria de la Carne, FAO (2007), indica que la higiene de los alimentos se define como “todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad e idoneidad de los alimentos en todos los pasos de la cadena productiva del alimento”.

La higiene de la carne es una ciencia demandante y tiene que tratar con diferentes clases de riesgos, como los riesgos de la contaminación con patógenos microbiológicos que pueden ser detectados sólo con técnicas de laboratorio.

Revisiones recientes identifican que los portadores sanos de patógenos peligrosos son los causantes principales de la mayoría de los riesgos de origen cárnico a la salud humana, por ejemplo: *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolítica* y *Listeria monocytogenes*.

La ICMSF (1999), señala en su publicación sobre Microorganismos de los Alimentos, en cuanto a los Programas de Muestreo para carnes crudas, que dado que no existe ninguna prueba que relacione los recuentos totales de

aerobios en la superficie de las canales con un riesgo sanitario, no pueden rechazarse partidas de producto, por razones sanitarias, solamente porque su carga de aerobios en la superficie es elevada. No obstante, el recuento de aerobios en placa (RAP) puede usarse como un medio de control de Buenas Prácticas de Comercialización (BPC) y los criterios basados en estos recuentos pueden ser una valiosa aportación al control de calidad interno en la industria. El control de calidad microbiológico del procesado de la carne conlleva el desarrollo y uso de métodos de procesado diseñados para mantener baja la carga microbiana, reduciendo la contaminación e impidiendo su multiplicación. Puede realizarse un control microbiológico del producto y de la planta en los puntos críticos para evaluar la eficacia de los valores higienizantes en la limitación del crecimiento microbiano. Estos recuentos pueden compararse con los criterios de RAP establecidos para algunos productos en particular preparados bajo condiciones específicas.

Los programas de muestreo y los criterios microbiológicos para ciertos productos cárnicos crudos se encuentran descritos en diferentes publicaciones referidas a dichos productos, como en la normativa legal nacional, en la R.M. N° 591-2008/MINSA que aprueba la NTS 071-MINSA/DIGESA-V.01 Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas para consumo humano. A continuación, se muestran los planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación, considerados en la R.M. N° 591-2008/MINSA.

Tabla 3: Planes de muestreo para combinaciones de diferentes grados de riesgo para la salud y diversas condiciones de manipulación

Grado de importancia en la relación con la utilidad y el riesgo sanitario	Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimento o bebida luego del muestro		
	Condiciones que reducen el riesgo	Condiciones que no modifican el riesgo	Condiciones que pueden aumentar el riesgo
Sin riesgo directo para la salud Utilidad (por ejemplo Vida útil y alteración)	Aumento de vida útil Categoría 1 3 Clases n=5, c=3	Sin modificación Categoría 2 3 Clases N=5, c=2	Disminución de vida útil Categoría 3 3 Clases n=5, c=3
Riesgo para la salud bajo indirecto (indicadores)	Disminución del riesgo Categoría 4 3 Clases n=5, c=3	Sin modificación Categoría 5 3 Clases n=5, c=2	Aumento del riesgo Categoría 6 3 Clases n=5, c=1
Moderado, directo, diseminación limitada	Categoría 7 3 Clases n=5, c=2	Categoría 8 3 Clases n=5, c=1	Categoría 9 3 Clases n=10, c=1
Moderado directo, diseminación potencialmente extensa	Categoría 10 2 Clases n=5, c=0	Categoría 11 2 Clases n=10, c=0	Categoría 12 2 Clases n=20, c=0
Grave directo	Categoría 13 2 Clases n=15, c=0	Categoría 14 2 Clases n=30, c=0	Categoría 15 2 Clases n=60, c=0

Fuente: R.M. N° 591-2008/MINSA

Leyenda:

- **Categoría:** Grado de riesgo que representan los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento.
- **n:** Número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se realizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.
- **c:** Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables de un plan de muestreo de 2 clases o un número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre “m” y “M” en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a “c” se rechaza el lote.

- **m:** Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a “m”, representa un producto aceptable y los valores superiores a “m” indican lotes aceptables o inaceptables.
- **M:** Los valores de recuentos microbianos superiores a “M” son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

Los planes de muestreo sólo se aplican al lote o lotes de alimentos y bebidas; se sustentan en el riesgo para la salud y las condiciones normales de manipulación y consumo del alimento.

Los planes de muestreo se expresan en términos de planes de muestreo de dos y tres clases que dependen del grado del peligro involucrado. Un plan de muestreo de dos clases se usa cuando no se puede tolerar la presencia o ciertos niveles de un microorganismo en ninguna de las unidades de muestra. Un plan de muestreo de tres clases se usa cuando se puede tolerar cierta cantidad de microorganismos en algunas de las unidades de muestras.

Como referencia para los criterios microbiológicos, en general los microorganismos se agrupan como:

- a) Microorganismos indicadores de alteración:** en las categorías 1, 2, 3 se definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como microorganismos **aerobios mesófilos**, bacterias heterotróficas, aerobios mesófilos esporulados, mohos, levaduras, levaduras osmófilas, bacterias ácido-lácticas, microorganismos lipolíticos.
- b) Microorganismos indicadores de higiene:** en las categorías 4, 5 y 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como **Coliformes** (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a Coliformes totales, *Escherichia coli*, anaerobios sulfito-reductores, Enterobacteriaceas, (a excepción de “preparaciones en polvo o fórmulas para lactantes” que se consideran en el grupo de microorganismos patógenos)

Según la R.M. N° 591-2008/MINSA que aprueba la NTS 071-MINSA/DIGESA-V.01, NTS 071-MINSA/DIGESA-V.01 Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas para consumo humano, se tiene los siguientes criterios microbiológicos para carnes:

Tabla 4: Criterios microbiológicos para carnes

X. CARNES Y PRODUCTOS CARNICOS	Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
						m	M
X.3 Carne cruda, de bovino, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros; refrigerada o congelada	Aerobios mesófilos (30°C)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁷
	<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	----
X.6 Carnes crudas picadas y molidas	Aerobios mesófilos (30°C)	2	3	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5x10 ²
	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	----
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10	2	5	0	Ausencia/25 g	----

Fuente: R.M. N° 591-2008/MINSA

Las propuestas para carnes crudas se basan en datos limitados, recogidos principalmente a un nivel de producción y bajo determinadas circunstancias. Los criterios se han establecido como una guía y su aplicación debe incluir cierto grado de tolerancia. Por ejemplo, una carne aceptable provisionalmente, o incluso rechazable, por estos criterios, tendría una vida útil muy corta como producto fresco, aunque condiciones de refrigeración fueran excelentes, pero podría emplearse en productos tratados térmicamente.

Las bacterias productoras de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs)

Este tipo de enfermedad es causada o transmitida por los alimentos en general, y depende del tipo de microorganismo que se haya desarrollado sobre el alimento. La enfermedad alimentaria puede ser de dos tipos: intoxicación alimentaria, la cual es debida a la ingestión de una toxina formada por un microorganismo sobre el alimento, previo al consumo de este, e infección alimentaria, la cual se produce debido a la invasión, crecimiento y lesión del huésped, por parte de microorganismos patógenos ingeridos en el alimento, una vez en el huésped, algunos de estos microorganismos pueden producir toxinas, lo que conlleva a una toxicoinfección.

Varias de las bacterias causantes de toxicoinfecciones alimentarias son aerobias, tales como: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella spp*, *Yersinia enterolítica*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*.

Características de algunas bacterias patógenas implicadas en enfermedades transmitidas por productos cárnicos

Según Y. H. Hui, et al (2016), la carne es un producto perecedero que contiene una gran cantidad de nutrientes para el crecimiento y desarrollo de microorganismos, ninguno de los procesos utilizados para convertir el ganado en carne puede garantizar hasta el momento la ausencia de microorganismos en productos cárnicos.

La flora microbiana característica de la carne fresca se irá modificando a lo largo del proceso de elaboración y almacenamiento según las condiciones que influyen en el crecimiento de los microorganismos, por lo tanto los niveles y/o tipos de microorganismos variarán dependiendo del producto y de las condiciones de almacenamiento.

Algunos microorganismos tienen mayor impacto en las características organolépticas de un alimento que otros debido a la presencia de diferentes enzimas que actúan sobre los constituyentes de la carne y por lo tanto alteran el producto sin embargo existen algunos microorganismos que son patógenos para el ser humano y que aun cuando hayan proliferado en el alimento, generalmente no muestran signos de alteración, de allí que los niveles y tipos de microorganismos reflejarán la integridad y la seguridad de un alimento así como la efectividad de las medidas utilizadas para su control y destrucción, por lo que para poder controlar y distribuir esa flora microbiana indeseable es importante conocer quiénes forman parte de ella y cómo se comportan a lo largo del proceso de elaboración y conservación del producto cárnico.

Salmonella es una de las bacterias que mayor número de enfermedades transmitidas por los alimentos ha causado y sigue causando, esto se debe a su ubicuidad en el medio ambiente y su prevalencia a lo largo de toda la cadena alimenticia, además de la cantidad de factores de virulencia que tiene para evadir los mecanismos de defensa del hospedero.

Las infecciones en el ser humano provocan condiciones clínicas severas como fiebre entérica o tifoidea, enterocolitis e infecciones sistémicas.

Salmonella spp es una bacteria Gram negativa facultativa con forma de bacilo de la familia Enterobacteriaceae, presenta crecimiento óptimo a 37 °C, crece en amplios intervalos de temperatura, entre 2 a 54 °C y a un pH de 4,5 a 9,5 y permanece viable en condiciones de congelación, por lo que provoca preocupación en la seguridad alimentaria. Solamente los ácidos propiónico y el acético utilizados en los alimentos parecen tener cierto efecto bactericida.

La contaminación por *Salmonella* en la carne se produce en las canales de los animales en los camales.

Listeria monocytogenes es una bacteria Gram positiva en forma de bacilos, que provoca enfermedades severas como la meningitis y encefalitis en humanos, otro síndrome asociado con este microorganismo es la listeriosis en mujeres embarazadas.

La transmisión de listeria puede ocurrir por la ruta oral debido al consumo de alimentos contaminados como la leche cruda, el queso, carne cruda o con otros alimentos contaminados, como las ensaladas empacadas.

Es un patógeno psicrotrófico frecuente en productos cárnicos listos para consumo incluyendo los embutidos tipo Frankfurter y Bologna que generalmente se contaminan después del proceso de elaboración

Campylobacter jejuni y otras especies relacionadas se han reportado como agentes microbianos que han provocado un alto número de casos de problemas estomacales severos y agudos en prácticamente todo el mundo actualmente es considerado uno de los principales microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos

Son bacterias Gram negativas de forma delgada y curvada o espiral de movilidad característica en forma de sacacorchos producida por un flagelo polar en uno de los extremos de la célula.

Campylobacter jejuni es susceptible a una variedad de condiciones ambientales que no le permiten sobrevivir por periodos largos afuera de su hospedero, este microorganismo no crece a temperaturas por debajo de 30 °C, es microaerofílico y sensible a la desecación a altas concentraciones de oxígeno, como las ambientales, y a pH bajo, de allí que no debería sobrevivir en productos adecuadamente cocinados.

Después del sacrificio se ha encontrado que *Campylobacter jejuni* en el 19 al 70% de las canales de ovinos, en el 2 al 32% de bovinos adultos y en el 20 al 97% de canales de terneras y en el 20 al 60% de los canales por porcinos. Sin embargo, durante la refrigeración de las canales se reducen significativamente sus recuerdos e incidencia aunque las evidencias epidemiológicas demuestran que la carne de las canales de bovino, ovino y porcino es una causa relativamente pequeña de las infecciones por *Campylobacter*, se le considera un microorganismo emergente con infecciones esporádicas y de mucha importancia en la salud pública

Yersinia enterocolitica es un enteropatógeno humano que produce diarreas, fiebres y dolores abdominales es miembro de la familia *Enterobacteriaceae* y como tal es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo y oxidasa negativo que fermenta la glucosa.

Hasta donde se conoce las posibles vías de transmisión al humano además de la infección entre humanos, es la transmisión de los animales hacia el hombre y en consecuencia también el uso del agua contaminada.

Yersinia enterocolitica se ha aislado de todos los animales de camales, (especialmente de la faringe) y del excremento de lechones donde se han aislado los serotipos patógenos del humano. Además de ser una bacteria facultativa, es psicrotrófica y estas características le permiten sobrevivir y multiplicarse también en productos empacados y conservados en refrigeración y en congelación.

Es un patógeno muy versátil que se adapta a condiciones variadas del medio ambiente dentro y fuera del hospedero, es susceptible al calentamiento y se destruye por pasteurización a 71.8 °C durante 18 segundos.

Escherichia coli, forman parte de la microflora normal anaeróbica facultativa de los tractos intestinales de humanos y animales de sangre caliente.

Las cepas se identifican con base a 3 antígenos de superficie que permite su serotipificación: O (somático), H (flagelo) y K (cápsula). Las cepas de *E. coli* que causan diarreas se categorizan en grupos específicos basados en sus propias virulencias los mecanismos de patogenicidad, los síndromes clínicos y los distintos serogrupos O:H. Algunas de estas categorías son las cepas enteropatógenas de *E. coli* (EPEC), las cepas enteropatógenas (ETEC), las enteroinvasivas (EIEC), las de adherencia difusa (DAEC) las enteroagregativas (EAaggEC) y las enterohemorrágicas (EHEC).

La carne de bovino mal cocida es la principal causa de infección intestinal por *E. coli* O157:H7, a diferencia de la mayoría de los patógenos transmitidos por alimentos, la *E. coli* O157:H7 es tolerante a medios ambientes ácidos y a la desecación, como las condiciones que se tienen durante el procesamiento de algunos embutidos fermentados.

Los niveles de calentamiento típicos para eliminar *Salmonella* pueden inactivar también a la *E. coli* O157:H7 por lo que es importante que los productos cárnicos alcancen temperaturas internas de por lo menos 68.3 °C para asegurar su inactivación.

Un porcentaje de ganado bovino que llega al matadero puede albergar en sus intestinos *E. coli* O157:H7, la evisceración y el degollado cuidadosos pueden limitar pero no prevenir por completo la contaminación de la canal con *E. coli* O157:H7, crece cuando el almacenamiento en refrigeración o condiciones de transporte de las canales son inadecuadas temperaturas mayores a 7 °C.

La carne picada mal cocinada contaminada con *E. coli* O157:H7, ha causado diversos brotes de colitis hemorrágica y del síndrome urémico hemolítico.

Clostridium botulinum es un bacilo Gram negativo anaeróbico y formador de esporas que producen durante su crecimiento diferentes neurotoxinas según el grupo serológico al que pertenecen estas neurotoxinas producen la enfermedad conocida como botulismo cuyo daño es directo al sistema nervioso central y que según el grado de infección se presenta desde síntomas como las náuseas y vómito hasta la parálisis de los músculos respiratorios y muerte por asfixia.

El control del crecimiento del *Clostridium botulinum* depende entre otros factores de la presencia de sal, pH, lactato, el tipo de carne, la intensidad del tratamiento térmico y número inicial de esporas. Las esporas de *Clostridium botulinum* son una de las mayores preocupaciones en la salud pública.

Staphylococcus aureus es responsable de la intoxicación estafilocócica que se encuentra dentro de las enfermedades transmitidas por los alimentos más importantes en el ámbito mundial de todos los brotes de intoxicación alimentaria que se presentan, en promedio, el 20% se debe al consumo de alimentos contaminados con enterotoxinas producidas por bacterias del género *Staphylococcus* y principalmente por la especie *Staphylococcus aureus*, es una bacteria de la familia *Micrococcaceae* y consiste en cocos Gram positivos, catalasa positivos que generalmente presentan metabolismo glucosa oxidativo y fermentativo.

Las células de *Staphylococcus* muestran un arreglo característico en racimos como consecuencia del modo de división y algunos producen pigmentos carotenoides de color amarillo dorado.

Las enterotoxinas son las responsables de los síntomas de la intoxicación estafilocócica y muchos tienen un papel importante en la patogenicidad de algunas otras enfermedades estafilocócicas. La intoxicación estafilocócica se caracteriza por náuseas, vómitos, calambres abdominales y ocasionalmente diarrea sin la presencia de fiebre, además se puede presentar malestar general y dolor de cabeza, esta intoxicación no es considerada como una enfermedad grave sin embargo se han llegado a presentar algunas muertes principalmente en ancianos y niños de corta edad, su grado de severidad depende de la cantidad de enterotoxina ingerida y del estado inmunológico del individuo que la consume.

En alimentos involucrados en brotes se ha determinado que la manipulación de alimentos es la principal fuente de contaminación, la mayoría de las carnes crudas se contaminan durante el sacrificio de los animales debido a que estas son ampliamente manipuladas, en condiciones normales el microorganismo no se desarrolla rápidamente y se destruye durante el proceso de cocción, se ha visto que los estafilococos presentes en la carne antes de ser procesada raramente se involucran en brotes por lo que generalmente la contaminación de productos cárnicos ocurre post proceso.

Las bacterias como microorganismos indicadores de higiene del proceso y calidad

Según la ICMSF-International Commission on Microbiological Specifications for Foods en su publicación sobre Microorganismos de los Alimentos – Uso de datos para evaluar el control del proceso y la aceptación del producto, indica que la carne tanto fresca (refrigerada y congelada) como elaborada, en una amplia variedad de productos fermentados, curados-desechados y ahumados, así como cocidos, representan una importante fuente de productos alimenticios a escala internacional. La carne cruda de los animales de abasto constituye una importante fuente de enfermedades entéricas en el hombre causadas por *Salmonellas*, *Campylobacter spp.* Termófilos, *E. coli* O157:H17 toxigénica y otras cepas de *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) y *Yersinia enterocolitica*. En general, las enfermedades alimentarias provocadas por estos patógenos se deben a una cocción o procesado insuficiente (por ej., carnes no adecuadamente fermentadas). Igualmente, los patógenos pueden transferirse desde las carnes frescas a alimentos listos para el consumo.

En carnes enfriadas lentamente o cocinadas de forma insuficiente, tanto en los establecimientos de comida como en el ambiente domiciliario, también pueden ocasionar un problema sanitario ya que pueden germinar las esporas supervivientes de *Clostridium perfringens*. Las carnes refrigeradas son altamente perecederas y al menos que se congelen se alteran incluso en las mejores condiciones de almacenamiento.

En muchas regiones del mundo la carne se conserva mediante la adición de sal y de otros ingredientes o bien aplicando distintos procesos tecnológicos (por ej., fermentación, desecación, tratamiento térmico, enlatado). No obstante, las condiciones de procesado y mantenimiento de estos productos cárnicos también ofrecen otros riesgos alimentarios.

Puesto que la carne fresca se compra con frecuencia como un ingrediente refrigerado o no congelado, los recuentos microbianos realizados sobre la

carne cruda es una medida ineficaz en el control de calidad. Sería preferible, en el acuerdo entre el proveedor y comprador, que se especifique el número de días que debe tener la carne desde el sacrificio (por ej., 3 a 10 días), la higiene del procesado y las condiciones del procesado y las condiciones de enfriamiento, almacenamiento y distribución (por ej., ≤ 5) para un mejor aseguramiento de la calidad microbiológica de la carne deben controlarse el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Así mientras no existan procedimientos estandarizados que especifiquen los acuerdos entre las partes de la cadena alimentaria, deben tenerse en cuenta consideraciones prácticas tales como el tiempo necesario para que se realice el despiezado de las canales y se refrigeren dichas piezas cárnicas y se transporten, incluyendo un margen de seguridad para los días no laborables (por ejemplo fines de semana y festivos). Aunque la temperatura de la carne puede variar con el método de enfriamiento y el tamaño de los cortes, los clientes la reciben generalmente en piezas cárnicas a una temperatura interna de ≤ 5 .

Muchas industrias y organismos gubernamentales han establecido indicadores de calidad o higiene del proceso (por ej., aerobios, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*) que pueden estar orientados para una o varias etapas de la cadena de producción desde el sacrificio hasta la venta al por menor.

Estas pruebas reflejan las condiciones de ejecución del sacrificio, enfriamiento y tiempo y temperatura de almacenamiento. Los valores obtenidos en esas pruebas no siempre son buenos indicadores de la prevalencia o concentración de patógenos entéricos en las carnes frescas. De la misma manera las muestras recogidas en estas etapas, no pueden utilizarse para estimar condiciones higiénicas durante el procesado o envasado ya que los microorganismo psicrotrofos se incrementan durante el almacenamiento, la distribución y la exposición de las piezas de venta al por menor.

Tabla 05. Pruebas analíticas relacionadas con la inocuidad y calidad microbiológica en productos cárnicos frescos refrigerados y congelados, excluyendo las carnes picadas

	Importancia relativa	Prueba útil
Ingredientes críticos	Baja	Las carnes frescas generalmente no contienen ingredientes añadidos
Durante el proceso	Media	Para comprobar el control higiénico del proceso y las condiciones que afectan a los recuentos en los productos que se obtengan (ISO 17604:2015 Microbiology of the food chain - Carcass sampling for microbiological analysis) puede ser de utilidad tomar las muestras de tejidos o con torundas y esponjas en las canales antes y después de entrar en las cámaras de refrigeración o muestras de tejido después del despiezado
Entorno del procesado	Media	Para verificar la eficacia de la limpieza y de la desinfección analizar muestras antes del comienzo del procesado.
Vida útil	Baja	No se recomienda el análisis de vida útil rutinario de la carne fresca refrigerada. El análisis de vida útil puede ser eficaz para validar las fechas programadas de nuevos productos al por menor o cuando se implanten nuevos sistemas de envasado.
Producto final	Media	Se puede utilizar guías microbiológicas realizadas internamente a partir del análisis de indicadores o de microorganismos de interés para el control del proceso o bien para partir de los recuentos encontrados en productos recientemente envasados

Fuente: ICMSF-International Commission on Microbiological Specifications for Foods Microorganismos de los Alimentos – Uso de datos para evaluar el control del proceso y la aceptación del producto

2.3.2 Los desinfectantes

Según el Código Sanitario para animales terrestres de la OIE-Organización Mundial de Sanidad Mundial (2022), en el Capítulo 4.14 sobre recomendaciones generales relativas a la desinfección, indica entre sus disposiciones generales, lo siguiente:

Las Autoridades Veterinarias deberán reglamentar en sus propios países el uso de desinfectantes e insecticidas inspirándose en los siguientes principios:

1. Los desinfectantes y los métodos de desinfección deberán elegirse en función de los agentes infecciosos considerados y la índole de los locales, los vehículos y los objetos que hay que someter a tratamiento.
2. Los desinfectantes e insecticidas autorizados no lo serán sino después de serias pruebas en las que se reproduzcan las condiciones de la práctica
3. Convendrá tener en cuenta que:
 - a) existen pocos desinfectantes universales.
 - b) aunque el hipoclorito, tan frecuentemente utilizado, puede considerarse desinfectante universal, su almacenamiento prolongado disminuye su eficacia y es preciso controlar su actividad antes de emplearlo; para una desinfección satisfactoria, se necesita una concentración al 0,5% de cloro activo.

Al escoger un desinfectante se debe tomar en cuenta lo siguiente:

- Debe tener alto poder bactericida.
- Ser de amplio espectro.
- Fácil de aplicar y no ser tóxico.
- Tener gran poder de penetración.
- Ser estable tras la disolución.
- No corroer y/o estropear la superficie desinfectada.
- Costo que se adecúe al beneficio y rentabilidad.

2.3.2.1 Desinfectante natural: Biosanit

En la presente investigación se ha usado el desinfectante comercial de la marca Biosanit que es un producto natural, compuesto por la combinación sinérgica de principios activos extraídos de vegetales que incluyen ácidos orgánicos naturales (cineol, ácido cítrico y ácido acético), complejos enzimáticos de bacterias y hongos obtenidos mediante procesos de biotecnología, alcaloides asociados, agentes estabilizantes y tensoactivos, aceites esenciales con acción: microbicida, viricida, bactericida, fungicida, reguladores de pH para lograr una mayor penetración y amplio efecto residual

Modo de acción de los ácidos orgánicos

Algunos ácidos orgánicos (acético, cítrico, láctico) son ácidos débiles, en solución una parte se encontrará disociada $[H^+]$ $[A^-]$ (separada) y otra no disociada $[HA]$ (juntos), el poder antimicrobiano se debe a su forma no disociada, la que depende del pH.

La forma disociada no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos, en cambio la forma no disociada, si atraviesa la membrana y afecta el pH intracelular microbiano (Bioservice, 2022)

Modo de acción de los aceites esenciales

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (ejm: eucalipto) se debe a los terpenoides. Los aceites esenciales deterioran la pared celular de los microorganismos, se adhieren a los lípidos de la membrana citoplasmática e inactivan los sistemas enzimáticos de las bacterias. (Bioservice, 2022).

Es un producto recomendado para su uso en la industria alimentaria y otros sectores relacionados a la salud pública por su amplio espectro con Bacterias (Gram+, Gram- y/o esporulados), mohos y levaduras, micobacterias y virus (encapsulados o no).

La composición del desinfectante se muestra en la tabla 6.

Tabla 6.- Composición del desinfectante Biosanit.

Compuestos	Cantidades	Porcentaje (%)
Aceites esenciales		
Cineol (Eucaliptol)	700 mg	0,7
Ácidos orgánicos		
Ácido cítrico	980 mg	0,98
Ácido acético natural	1.50 g	1.5
Vehículo C.S.P.	100 ml	100

Fuente: Bioservice (2022).

Mecanismo de acción

El Biosanit actúa a nivel de membrana celular, enzimas y ácidos nucleicos de los microorganismos, a su vez reacciona con grupos carboxilo, sulfihidrido y amino de las proteínas y ácidos nucleicos que son desnaturalizados, provocando la muerte de los microorganismos patógenos como las bacterias, virus y hongos.

Características

- Desinfectante 100% natural.
- Rápida acción (efecto inmediato en minutos)
- Prolongado efecto residual.
- Efectivo en amplios rangos de temperatura.
- Fácil manejo y dilución
- Alto grado de estabilidad.
- Excelente solubilidad, no forma precipitado.
- No requiere enjuague.
- No produce espuma.
- Biodegradable
- No corrosivo

Eficacia bactericida frente a microorganismos patógenos

Biosanit es eficaz contra los microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica ser. Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, entre muchos otros.

Es un eficaz fungicida contra: *Candida albicans*, *Aspergillus niger* entre otros hongos patogénicos, de acuerdo con ensayos de enfrentamiento microbiano.

También tiene eficacia viricida de acuerdo con los componentes, la combinación sinérgica de ácidos orgánicos y aceites esenciales incluidos en el Biosanit, diversas investigaciones y normas internacionales avalan su uso y efectividad contra SARCOV-CoV-2 que ocasiona el COVID-19, el producto se encuentra referenciado en la Lista N. Lista de desinfectantes utilizados en contra virus de SARS-CoV-2 - EPA United States Environmental Protection Agency.

Estudios de toxicidad

De acuerdo con los estudios de toxicidad de Biosanit y conforme a lo establecido en la Clasificación por su peligrosidad según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se clasifica en la Categoría Toxicológica III, siendo los resultados los siguientes:

- Toxicidad Oral Aguda: DL50 Oral en rango mayor de 2000 a 5000 mg de Biosanit/kg de peso.
- Toxicidad Inhalatoria Aguda: CL50 Oral mayor a 5,0 mg de Biosanit/litro de aire (4 horas de exposición continua).
- Toxicidad Dérmica Aguda: DL50 Dérmica mayor a 4000 mg de Biosanit/kg de peso corporal de rata

Indicaciones de uso

Biosanit puede ser utilizado con equipos por aspersión, inmersión, nebulización en frío, termonebulización. Puede ser utilizado como desinfectante en la industria cárnica, avícola, pesquera, láctea, vitivinícola, embotelladoras (cervezas, jugos y

gaseosas), dulces, confiterías, panificadoras, chocolatera, agroindustria de frutas, verduras y en la industria alimenticia en general.

Asimismo, Biosanit está indicado para ser usado en salud pública: consultorios, hospitales, consultorios dentales, postas, etc. y sus diferentes áreas, se puede utilizar a nivel doméstico para desinfección de frutas, hortalizas, carnes, ambientes, superficies y estructuras del hogar.

Dosificación / Recomendaciones de uso

Tabla 7.- Dosificación del Biosanit

Modo de empleo	Dosificación	Fuente
Desinfección de carnes en general y productos hidrobiológicos	1-2 ml Biosanit /litro de agua/inmersión de 1 a 3 minutos (sin enjuague)	Ficha Técnica del fabricante Bioservice
Desinfección general	5 ml Biosanit /litro de agua	Etiqueta del envase

Fuente: Bioservice (2022).

2.3.2.2 Desinfectante químico: Dióxido de Cloro

Es una solución de Dióxido de Cloro estabilizado. Posee la propiedad de ser el más efectivo agente antimicrobiano, bactericida, fungicida y virucida.

Es un producto, inodoro e insípido, no tóxico, no corrosivo y no inflamable. Desinfecta sin causar daño al medio ambiente. Tiene estabilidad al almacenamiento es efectivo y económico.

El desinfectante utilizado basa su composición química en la aprobación FDA capítulo 21 CFR 178.1010, y FDA sección 173.300 y 173.325 que permite su aplicación en el lavado de frutas y hortalizas, así como también su aplicación en la industria cárnica y de embutidos.

Control microbiológico

Regula el crecimiento microbiano su acción es prolongada, debido a su mecanismo automático de liberación. Este mecanismo dará completa protección contra los microorganismos mientras el Dióxido de Cloro esté presente.

El Dióxido de Cloro estabilizado tiene una acción selectiva o atractiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del Dióxido de Cloro, reduce al mínimo el crecimiento de microorganismos y bacterias. Mientras no haya crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar su liberación, permanecerá inerte. Este efecto residual actúa como inhibidor del crecimiento de microorganismos

El Dióxido de Cloro tiene una efectiva acción bactericida del 99.9% sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, levaduras y mohos

Ventajas

- De fácil manejo y aplicación.
- No es tóxico.
- No deja olor ni sabor.
- No irrita y no desprende gases.
- Es soluble en agua en todas las proporciones.
- Puede aplicarse por inmersión, rociado o directamente, según el caso.
- No es corrosivo en las cantidades recomendadas.

Estabilidad

El Dióxido de Cloro es estable hasta por un año en su envase original. El producto se debe conservar en un lugar fresco y protegido del sol.

Dosificación / Recomendaciones de uso

Tabla 8.- Dosificación del Dióxido de Cloro

Modo de empleo	Dosificación	Fuente
Carnes	Lavado continuo 5 ppm Asperjado 10 - 50 ppm	Ficha Técnica de Eco Clean Perú

Fuente: Eco Clean Perú (2022).

Características técnicas

Tabla 9.- Características del Dióxido de Cloro

Apariencia	Líquida
Color	Amarillo claro
Olor	Inodoro
Sabor	Insípido
Porcentaje de Dióxido de Cloro	5.40 % (± 0.3)
Solubilidad	Completa en agua
pH concentrado a 20°C	12.50 ± 0.5
Densidad (g/cm ³) a 20°C	1.10 ± 0.02

Fuente: Eco Clean Perú (2022)

2.4 Definición de términos básicos

2.4.1 Canal o carcasa

Cuerpo del animal después de haber sido faenado, en el caso de bovinos, sin piel ni menudencias. (Norma Técnica Peruana, NTP 201.055:2021).

2.4.2 Carne

Parte muscular de la canal o carcasa formado por el tejido blando que rodea el esqueleto, incluyendo su grasa, tendones, vasos, nervios y aponeurosis. (Norma Técnica Peruana, NTP 201.055:2021).

2.4.3 Bovino

Comprende a los animales pertenecientes al género *Bos* de las especies: *taurus e indicus* y *Bubalus bubalis* y sus híbridos. (Norma Técnica Peruana, NTP 201.055:2021)

2.4.4 Contaminación

Introducción o presencia de un contaminante en un alimento o en el entorno alimentario. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.5 Contaminante

Cualquier agente biológico, químico o físico, materia extraña u otras sustancias no añadidas intencionalmente a los alimentos que puedan comprometer la inocuidad o la idoneidad de los alimentos. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.6 Criterio microbiológico

Define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote. (R.M. N° 591-2008/MINSA)

2.4.7 Desinfección

Reducción por medio de agentes biológicos o químicos, o por métodos físicos, de la cantidad de microorganismos viables en las superficies, el agua o el aire hasta un nivel que no comprometa la inocuidad o la idoneidad del alimento. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.8 Faenamiento

Comprende las diferentes operaciones realizadas para la obtención de carnes o canales de animales de abasto para consumo humano. (Norma Técnica Peruana, NTP 201.055:2021).

2.4.9 Higiene de los alimentos

Todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la idoneidad de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.10 Inocuidad de los alimentos

Garantía de que los alimentos no causarán efectos adversos en la salud del consumidor cuando se preparen o se consuman de acuerdo con su uso previsto. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.11 Limpieza

Eliminación de tierra, residuos de alimentos, suciedad, grasa u otras materias objetables. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.12 Manipulador de alimentos

Toda persona que manipule directamente alimentos envasados o sin envasar, equipo y utensilios utilizados para los alimentos o superficies que entren en contacto con alimentos y que, por lo tanto, se espera que cumplan los requisitos de higiene de los alimentos. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.13 Medida de control

Toda medida o actividad que pueda aplicarse para prevenir o eliminar un peligro o para reducirlo a un nivel aceptable. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.14 Plan de muestreo

Procedimiento planificado que permite seleccionar o tomar muestras separadas de un lote para obtener la información necesaria, p. ej., una decisión sobre el grado de cumplimiento de las normas en un lote. Más concretamente, un plan de muestreo es un esquema en el que se determina el número de elementos que deben recogerse y el número de elementos no conformes que se requieren en una muestra para evaluar el grado de cumplimiento de las normas en un lote. (Codex Alimentarius. CAC/GL 50-2004)

2.4.15 Peligro

Agente biológico, químico o físico presente en el alimento que puede causar un efecto adverso para la salud. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.16 Punto crítico de control (PCC)

Fase en la que se aplica(n) una o varias medidas de control para un peligro significativo, en un sistema HACCP. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.17 Sistema HACCP

La elaboración de un plan HACCP y la aplicación de los procedimientos de acuerdo con dicho plan. (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

2.4.18 Validación

La obtención de pruebas que demuestren que una medida de control o combinación de medidas de control, si se aplica debidamente, es capaz de controlar el peligro con un resultado especificado. (Codex Alimentarius, CAC/GL 69-2008, Mod. 2013)

2.4.19 Verificación

La aplicación de métodos, procedimientos, pruebas y otras evaluaciones, además de la vigilancia, para determinar si una medida de control está o ha estado funcionando de la manera prevista. (Codex Alimentarius, CAC/GL 69-2008, Mod. 2013)

2.4.20 Vigilancia

El acto de ejecutar una secuencia planeada de observaciones o de mediciones de parámetros de control para evaluar si una medida de control se encuentra o no bajo control. (Codex Alimentarius, CAC/GL 69-2008, Mod. 2013).

2.5 Fundamentos teóricos que sustentan a la hipótesis

2.5.1 Validación del punto crítico de control (PCC)

De acuerdo al Codex Alimentarius, la validación es la obtención de pruebas que demuestran que una medida de control o combinación de medidas de control, si se aplican debidamente, es capaz de controlar el peligro con un resultado especificado.

Para demostrar que las medidas de control establecidas en el Plan HACCP son capaces de lograr de manera constante el nivel previsto de control del peligro, es posible utilizar varios enfoques: referencias de publicaciones científicas o técnicas, datos experimentales científicamente validados, obtención de datos durante las condiciones normales de funcionamiento, modelos matemáticos y encuestas.

La validación de la efectividad de los procedimientos de desinfección es un ejemplo del tercer enfoque: obtener datos durante las condiciones normales de funcionamiento. Para esto se pueden realizar análisis microbiológicos del producto desinfectado de forma rutinaria durante un tiempo determinado. Los resultados de estos análisis deben demostrar sistemáticamente que se cumple con criterios microbiológicos establecidos, logrando así la validación.

Antes de que un establecimiento alimentario valide medidas de control es importante completar ciertas tareas, de manera que la validación pueda lograrse efectiva y eficazmente.

Las siguientes tareas podrían realizarse ya sea independientemente o junto con el establecimiento de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH), el Sistema HACCP, etc. Las tareas previas a la validación incluyen:

- a) La identificación de los peligros que se pretenden controlar en el producto o el entorno en cuestión tomando en cuenta toda la información pertinente, incluida la proporcionada por una evaluación de riesgos si estuviera disponible.

- b) La identificación del resultado requerido en materia de inocuidad de los alimentos. El resultado relativo a la inocuidad de los alimentos puede determinarse de varias maneras. La industria debería determinar si existen resultados u objetivos de inocuidad de los alimentos, establecidos por las autoridades competentes, que se relacionen con el uso previsto del alimento. A falta de tales resultados u objetivos de inocuidad de los alimentos establecidos por las autoridades competentes, dichos objetivos deberían ser determinados por la industria según corresponda. La industria también puede establecer objetivos más rigurosos que los fijados por las autoridades competentes.

- c) La identificación de las medidas que han de validarse, tomando en cuenta la importancia de la medida de control para lograr el control del peligro con un resultado previsto.

Determinar si la medida de control ha sido previamente validada de manera que sea aplicable y apropiada a la empresa alimentaria (p. ej., una medida de control requerida por una autoridad competente, o validada por una autoridad competente u otra organización nacional o internacional) o si su eficacia está tan sólidamente confirmada para la aplicación sometida a examen que no es necesaria una nueva validación.

De cualquier manera, un empresario del sector alimentario debe asegurarse de que las condiciones (p. ej., las materias primas, los peligros pertinentes, las combinaciones de medidas de control, el uso previsto y los patrones de distribución y consumo) en la operación en cuestión no difieran de las condiciones en las que se validó previamente la medida de control.

Prioridad de la validación

Teniendo en cuenta que, a menudo, los resultados relativos a la inocuidad de los alimentos dependen de múltiples medidas de control, podría ser necesario determinar la prioridad de las actividades de validación y tomar en cuenta lo siguiente:

Efecto nocivo para la salud: Cuando más alta es la probabilidad de que un peligro determine un efecto nocivo para la salud, mayor atención se debe prestar a asegurarse que el grupo de medidas de control seleccionado sea eficaz. Deberían tenerse en cuenta el tamaño de la población y la edad y sexo de los grupos que corren mayor riesgo.

Experiencia histórica: Para muchas de las posibles situaciones de producción y procesamiento de los alimentos existe un historial extenso que muestra la eficacia de las medidas específicas utilizadas para controlar los peligros transmitidos por los alimentos. Si se tiene escasa o ninguna experiencia con respecto a la eficacia de una medida de control para controlar un peligro específico dentro de un contexto específico, es más importante aún que se realice la validación.

En algunos casos, estos datos históricos podrían soslayar la necesidad de realizar validaciones. No obstante, es importante que no se dé por supuesto que un sistema de producción o de procesamiento de alimentos es inocuo únicamente sobre la base de la experiencia histórica. Se debería estudiar toda la información actual relevante al evaluar la idoneidad de la información histórica, puesto que esta última podría haber perdido actualidad. Por ejemplo, los procedimientos de muestreo y ensayo utilizados para obtener los datos originales podrían ser insuficientes en el contexto de los procedimientos operativos actuales. Pueden existir nuevas cepas de patógenos microbianos que no se comporten de la misma manera que las cepas de patógenos o los microorganismos sustitutos utilizados en la determinación de los procesos de control alimentario de antaño. Nueva información epidemiológica y/o clínica

podría indicar que las medidas de control utilizadas en el pasado eran menos eficaces de lo que se creía.

Otros factores / limitaciones:

Capacidad para vigilar y verificar la medida de control: En la determinación de la prioridad de las medidas de control para validación, se debería prestar la debida consideración a la aptitud de la medida de control para ser objeto de vigilancia y/o verificación después de su aplicación.

Aquellas medidas de control que, por su propia naturaleza, no permiten determinar su efecto cuantitativo en peligros específicos, no siempre se considerarán prioritarias para la validación. Algunos ejemplos de ello son los cierres de aire para reducir al mínimo la contaminación cruzada, los procedimientos de lavado de manos y otras prácticas de higiene básicas descritas en los Principios Generales de Higiene de los Alimentos (Codex Alimentarius, CXC-1969. Rev. 2020)

Viabilidad científica y técnica: En la determinación de la prioridad de las medidas de control respecto de su validación se debería tener en la debida cuenta cualquier reto científico y/o técnico vinculado a la validación de la medida. Esto incluiría la consideración de la variabilidad asociada con la medida de control que se valida, el alimento que se examina y los peligros objeto de control.

Recursos: Las actividades de validación pueden requerir muchos recursos. Ciertas actividades particulares, tales como las pruebas experimentales, los estudios de la capacidad del proceso, las encuestas, la aplicación de modelos matemáticos, el muestreo ambiental o de productos y los ensayos analíticos requieren recursos considerables, especialmente cuando se realizan de manera estadísticamente adecuada. La medida en la que los recursos necesarios estén disponibles y en que puedan emprenderse tales actividades pondrá límites a la capacidad de elaborar y validar medidas de control de inocuidad de los alimentos. La asistencia necesaria (p. ej., elaboración de

directrices para la industria, capacitación y ayuda técnica) proporcionada por las organizaciones nacionales e internacionales, especialmente a las pequeñas empresas y empresas menos desarrolladas, podría contribuir a la validación de medidas de control para la inocuidad de los alimentos.

Según las Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos del Codex Alimentarius CAC/GL 69-2008 (Mod.2013), el control de los peligros que pueden asociarse a los alimentos supone habitualmente la aplicación de medidas para tal fin en la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta el procesamiento y el consumo. En el entorno actual de controles de inocuidad de los alimentos basados en sistemas que proporcionan flexibilidad respecto a la selección de las medidas de control, la validación de estas medidas adquiere una importancia mayor. Es precisamente por medio del proceso de validación que se puede demostrar que las medidas de control elegidas realmente son capaces de lograr, de una manera constante, el nivel previsto de control del peligro.

Es importante hacer una clara distinción entre el papel que desempeña, respectivamente, la industria y las autoridades competentes en la validación de las medidas de control.

La industria es responsable de la validación de las medidas de control, mientras que la autoridad competente se asegura de que la industria tenga sistemas eficaces para la validación y de que las medidas de control estén debidamente validadas. Los gobiernos pueden proporcionar orientación a la industria sobre cómo realizar los estudios de validación y sobre cómo podrían implementarse las medidas de control validadas. Los gobiernos o las organizaciones internacionales pueden también realizar estudios de validación en apoyo de las decisiones de la gestión de riesgos o proporcionar información sobre las medidas de control que se consideran validadas, especialmente cuando no haya recursos disponibles para la realización de estudios de tal índole (p. ej., en el caso de las pequeñas empresas y las empresas menos desarrolladas).

Se dispone de una gama de enfoques posibles para la validación. El enfoque preciso dependerá, entre otras cosas, de la naturaleza del peligro, la naturaleza de la materia prima y del producto, el tipo de medidas de control o de sistema de control de inocuidad de los alimentos seleccionado para controlar el peligro, y del rigor previsto de dicho control.

Los siguientes enfoques de validación de medidas de control pueden utilizarse individualmente o en combinación, según corresponda.

Referencias de publicaciones científicas o técnicas, estudios de validación previos, o conocimientos históricos sobre el funcionamiento de la medida de control. En muchos casos, puede que la información científica o técnica necesaria para validar las medidas de control esté disponible de muchas fuentes. Éstas incluyen la literatura científica, el asesoramiento de instituciones gubernamentales, las directrices sobre las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y las medidas de control del Sistema de HACCP con antecedentes conocidos de buen funcionamiento validado por autoridades competentes o por expertos científicos independientes, normas o directrices internacionales (p. ej., del Codex Alimentarius) y estudios de validación de la industria y/o los fabricantes de equipos. Sin embargo, si se depende de tales conocimientos, se debería tener cuidado en asegurar que las condiciones de aplicación en un sistema de control de inocuidad de los alimentos concuerden con las indicadas en la información científica en cuestión. Para ciertos procesos bien establecidos (p. ej., combinaciones específicas de tiempo y temperatura para la pasteurización de la leche) podría ser suficiente obtener solamente los datos sobre las condiciones o los atributos específicos de la operación en cuestión.

Datos experimentales científicamente válidos que demuestren la idoneidad de la medida de control. Los ensayos de laboratorio ideados para imitar las condiciones del proceso, así como las pruebas en plantas piloto de aspectos específicos de un sistema de procesamiento de alimentos, son técnicas de validación que se utilizan comúnmente, sobre todo para las operaciones de la unidad de procesamiento de alimentos. La demostración cuantitativa y la

documentación de la reducción logarítmica adecuada de un patógeno concreto mediante un proceso microbicida específico constituyen un ejemplo de la validación de una medida de control por medio de pruebas experimentales. Si el riesgo vinculado a un peligro está relacionado con la multiplicación del patógeno hasta niveles inaceptables, podría ser necesario validar y documentar las condiciones que impiden tal proliferación (relacionadas p. ej., con la formulación del producto, los parámetros del procesamiento, el envasado o las condiciones de almacenamiento y distribución) por medio de pruebas experimentales debidamente diseñadas. Por ejemplo, si debe controlarse la actividad acuosa en un producto para impedir la proliferación de *Staphylococcus aureus*, la validación puede lograrse demostrando que la actividad acuosa del producto en las condiciones previstas de almacenamiento y distribución será igual o menor que la actividad acuosa especificada.

La realización de pruebas experimentales a mayor escala en una planta piloto es útil para asegurar que las pruebas reflejen adecuadamente los parámetros y las condiciones reales del procesamiento. Sin embargo, esto casi siempre requiere la disponibilidad de microorganismos sustitutos inocuos adecuados, puesto que no deberían introducirse intencionalmente en las instalaciones de producción de alimentos microorganismos patógenos vivos. Cuando se utilicen microorganismos sustitutos, la validación debería abarcar la idoneidad de éstos. Puede que la validación tenga que limitarse a un laboratorio o planta piloto si no hay disponibilidad de microorganismos sustitutos adecuados que puedan utilizarse para obtener datos en las condiciones reales de producción.

Podrían requerirse márgenes de seguridad adicionales para tomar en cuenta la incertidumbre o la variabilidad de la medida de control, o combinación de éstas, para lograr el nivel deseado de control cuando se aplican a una operación en escala real.

Obtención de datos durante las condiciones normales de funcionamiento de la operación alimentaria. Cuando se utiliza este enfoque se obtienen datos biológicos, químicos o físicos relacionados con los peligros en cuestión por un período específico (p. ej., un período de 3 a 6 semanas de la producción a escala real) en condiciones de funcionamiento representativas de la operación alimentaria en su totalidad, incluidos los momentos en los que se aumenta la producción, tales como los períodos festivos. Por ejemplo, cuando el sistema de control de inocuidad de los alimentos dependa del uso de las buenas prácticas veterinarias o agrícolas en el campo o de las buenas prácticas de higiene en el establecimiento de elaboración, podría ser necesario validar estas medidas por medio del muestreo y la aplicación de pruebas al producto intermedio o terminado y/o al entorno de la elaboración. El muestreo debería basarse en el uso de técnicas de muestreo, planes de muestreo y metodologías de ensayo adecuadas. Los datos recogidos deberían ser suficientes para los análisis estadísticos requeridos.

Modelos matemáticos. Los modelos matemáticos son un medio para integrar matemáticamente los datos científicos sobre cómo los factores que afectan el funcionamiento de una medida de control o combinación de medidas de control influyen en su capacidad para lograr el resultado previsto de inocuidad de los alimentos. La industria utiliza mucho los modelos matemáticos, tales como modelos de multiplicación de patógenos, para evaluar las repercusiones que tienen los cambios en el pH y la actividad acuosa sobre el control de la multiplicación del patógeno, o bien modelos del valor Z para determinar condiciones alternativas de procesamiento térmico. Esto también puede incluir el uso de modelos basados en el riesgo que examinen las repercusiones de una medida de control o combinación de medidas de control en un punto posterior en la cadena alimentaria. El uso eficaz de modelos matemáticos requiere habitualmente que un modelo sea debidamente validado para una aplicación alimentaria específica. Esto podría entrañar la aplicación de pruebas adicionales. La validación basada en el uso de modelos matemáticos debería tomar en cuenta los límites de incertidumbre o variabilidad asociados con las predicciones de los modelos.

Encuestas. Las encuestas pueden utilizarse para validar las medidas de control, según corresponda, junto con otros enfoques con objeto de demostrar que puede lograrse el nivel previsto de control de los peligros. Por ejemplo, una evaluación del entendimiento por parte de los consumidores de la información que figura en la etiqueta, antes o durante el diseño de ésta, puede considerarse un enfoque de validación del etiquetado como una medida de control. Se debería prestar atención para asegurar que las encuestas estadísticamente válidas u otras actividades proporcionen datos que sean exactos y adecuados para que las utilicen los empresarios del sector alimentario o bien la autoridad competente.

Etapas del proceso de validación

Una vez terminadas las tareas necesarias antes de la validación, el proceso de la validación de medidas de control incluye las siguientes etapas:

- Decidir el enfoque o la combinación de enfoques que se aplicarán.
- Definir los parámetros y los criterios de decisión que demostrarán que una medida de control o combinación de medidas de control, si se aplica debidamente, es capaz de controlar constantemente el peligro con un resultado previsto.
- Reunir la información pertinente para la validación y, de ser necesario, realizar los estudios.
- Analizar los resultados.
- Documentar y revisar la validación

Los resultados de una validación demostrarán que una medida de control o combinación de medidas de control es capaz de controlar el peligro con el resultado previsto si se aplica debidamente y, por consiguiente, podría implementarse, o que no es capaz de controlar el peligro con el resultado previsto y, por consiguiente, no debería implementarse. Esto último podría llevar a reevaluar la formulación del producto, los parámetros del proceso u otras decisiones o medidas adecuadas.

La información obtenida en el proceso de validación podría ser útil en el diseño de los procedimientos de verificación y vigilancia. Por ejemplo, si una medida de control o combinación de medidas de control produce una disminución de un patógeno muy superior a la necesaria para el control del peligro, quizás sea posible disminuir la frecuencia de la verificación mediante ajustes tales como el mayor espaciamiento de las pruebas microbiológicas en el producto final.

2.6 Hipótesis

2.6.1 Hipótesis general

El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino a nivel local se valida a partir de un valor conocido de la concentración de un desinfectante que reduce la contaminación de microorganismos (*Escherichia coli*, coliformes totales y aerobios mesófilos totales).

2.6.2 Hipótesis específicas

H1. El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino se valida a partir de un valor conocido de la concentración del Dióxido de Cloro (desinfectante químico) que reduce la contaminación de microorganismos (*Escherichia coli*, coliformes totales y aerobios mesófilos totales).

H2. El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino se valida a partir de un valor conocido de la concentración del Biosanit (desinfectante natural) que reduce la contaminación de microorganismos (*Escherichia coli*, coliformes totales y aerobios mesófilos totales).

2.7 Variables

Los factores experimentales son:

- Concentración del Dióxido de Cloro (desinfectante químico) (2 niveles, 02 concentraciones: mínima y máxima)
- Concentración del Biosanit (desinfectante natural) (2 niveles, 02 concentraciones: mínima y máxima)
- Tiempo (2 niveles, 2 tiempos: 24 y 48 horas)

Operacionalización de variables:

En las siguientes tablas se indican las dimensiones, indicadores, ítems e índices de la variable independiente, variable dependiente

Teniendo en cuenta el objetivo del estudio se han definido:

Variable independiente (X): Efecto del Dióxido de Cloro y Biosanit. En la tabla 10 se muestran las dimensiones e indicadores.

Tabla 10.- Dimensiones e indicadores de la variable independiente (X)

Dimensiones	Indicadores	Ítems/Índices
Efecto del desinfectante Dióxido de Cloro	Concentración del desinfectante Dióxido de Cloro	mL de desinfectante/ 1000 mL de agua
Efecto del desinfectante Biosanit	Concentración del desinfectante Biosanit	mL de desinfectante/ 1000 mL de agua

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente (Y): Reducción de microorganismos *Escherichia coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales. En la tabla 11 se muestran las dimensiones e indicadores.

Tabla 11.- Dimensiones e indicadores de la variable independiente (Y)

Dimensiones	Indicadores	Ítems/ Índices
Reducción de microorganismos <i>Escherichia coli</i> , Coliformes totales y Aerobios Mesófilos Totales	Recuento de microorganismos <i>Escherichia coli</i> , Coliformes totales y Aerobios Mesófilos Totales	ufc/g

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo, método y diseño de la investigación

El tipo de investigación aplicada consistió en el método que se basa en el Diseño Bifactorial de 2x2 (desinfectantes x tiempo) con 03 repeticiones por cada combinación de niveles.

1er. Factor: Tipo de desinfectante a dos concentraciones cada uno.

Dióxido de Cloro: 50 ppm y 100 ppm

Biosanit: 250 ppm y 500 ppm

2do. Factor: Tiempo de observación con dos niveles.

24 horas

48 horas

3.2 Población y muestra

El estudio se realizó en cortes de carne provenientes de ganado bovino faenado en una planta de faenamiento (camal) de la ciudad de Lima, autorizada por el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria), autoridad nacional competente en Perú.

3.3 Diseño muestral

Los lotes de carne de donde se tomaron las muestras fueron tomados al azar durante un día de producción de la planta de faenamiento (camal) de la ciudad de Lima, autorizada por el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria), autoridad nacional competente en Perú.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se efectuaron 03 repeticiones por cada combinación de niveles.

Tabla 12.- Pruebas para el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) y para el Biosanit (desinfectante natural).

MUESTRA N°1	24 HORAS			48 HORAS		
N° de repeticiones	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	MAT	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	MAT
	DDC C1 (50 ppm)			DDC C1 (50 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	DDC C2 (100 ppm)			DDC C2 (100 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	BIOSANIT C1 (250 ppm)			BIOSANIT C1 (250 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	BIOSANIT C2 (500 ppm)			BIOSANIT C2 (500 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	CONTROL			CONTROL		
1						
2						
3						
X						

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

MAT : Microorganismos Aerobios Totales
 DDC : Dióxido de Cloro
 C1 : Concentración 1
 C2 : Concentración 2

3.4.1 Procedimientos para la recolección de datos

Cada lote de carne pesaba 7500 g, el cual era dividido en 6 unidades de muestras, numeradas en orden correlativo del 1 al 6, obteniéndose muestras de 1250 g de peso cada una. Cada muestra a su vez fue dividida en tres partes: una parte para ser desinfectada con el Dióxido de Cloro (peso de 500 g), otra parte para ser desinfectada con el Biosanit (peso de 500 g) y otra parte a la cual no se aplicó desinfectante y que sirvió como Control (peso de 250 g). En

la siguiente figura se muestra la distribución de las muestras de carne según las respectivas determinaciones: microorganismos, desinfectantes y tiempo.

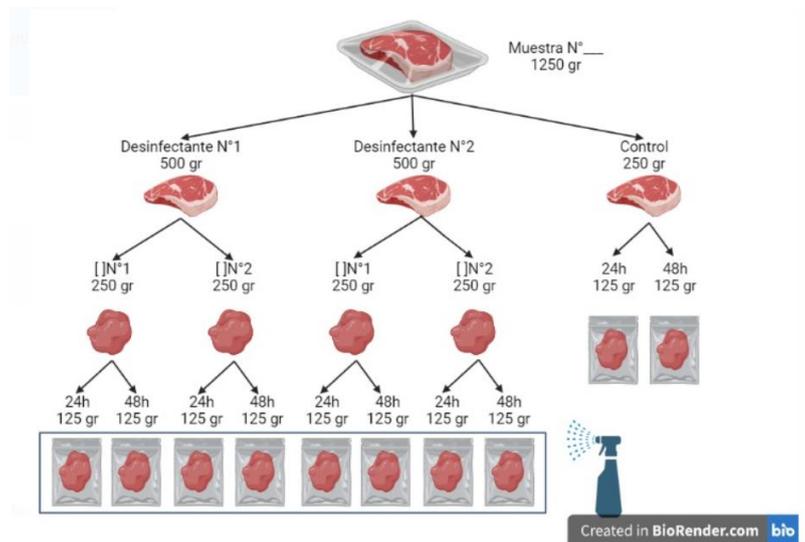


Figura N° 2. Distribución de las muestras de carne.

Fuente: Elaboración propia

3.4.2 Resultados de análisis microbiológicos.

Los resultados fueron consignados en una hoja de cálculo en Excel para su respectivo procesamiento por el programa estadístico.

3.5 Descripción del procedimiento de análisis

3.5.1 Procedimientos y análisis de datos

Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 28, que permite estudiar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación.

3.5.2 Materiales

Lugar de ejecución

Laboratorio de Parasitología (LA79) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma, ubicado en la Av. Benavides N° 5440 en el distrito de Santiago de Surco.

Material biológico

Carne de bovino proveniente de ganado (*Bos taurus* y *Bos indicus*), obtenida de una planta faenadora (camal) autorizada por el SENASA ubicada en el distrito de Chorrillos en la ciudad de Lima.

Material químico/natural - sustancias desinfectantes

- Desinfectante de origen químico: Dióxido de Cloro (ClO_2)
- Desinfectante de origen natural: Biosanit (Ácidos orgánicos: cineol, ácido cítrico, ácido acético).

Recolección de las muestras de carne

Las muestras biológicas (carne de bovino) provienen de una planta faenadora (camal) autorizada por el SENASA ubicada en el distrito de Chorrillos en la ciudad de Lima.

Las muestras de carne han sido obtenidas de los cortes de carne más expuestos del cuarto superior de la carcasa, envasadas al vacío y refrigeradas para preservar tanto la carga microbiana como las características organolépticas de la carne hasta su ingreso al laboratorio.

Preparación de las soluciones desinfectantes

Dióxido de Cloro (Desinfectante químico)

Se preparó dos concentraciones de soluciones de Dióxido de Cloro (DDC), la primera de 50 ppm, donde se midió 0.5 mL del DDC, se añadió en un frasco y se completó con 1L de agua destilada. Para la segunda de 100

ppm, donde se midió 1 mL del DDC, se añadió en un frasco y se completó con 1L de agua destilada de acuerdo con las recomendaciones de uso del fabricante (Eco Clean Perú).

Biosanit (Desinfectante natural)

Se preparó dos concentraciones de soluciones de Biosanit, para la primera solución de 250 ppm, se midió 2.5 mL de Biosanit, se añadió en un frasco y se completó con 1L de agua destilada. Para la segunda solución de 500 ppm, se midió 5 mL de Biosanit, se añadió en un frasco y se completó con 1L de agua destilada de acuerdo con las recomendaciones de uso del fabricante (Bioservice).



Figura N° 3: Preparación de soluciones desinfectantes-Laboratorio Parasitología-URP

Fuente: Material fotográfico propio

Preparación de las diluciones

Se preparó el medio de agua peptonada marca Merck, para ello se disolvió 25 gramos del producto por un litro de agua destilada. Se calentó a 45°C y se ajustó el pH a 7,2. Después se dispensó 90 mL en frascos de vidrio y 9 mL en tubos para ser esterilizados a 121°C durante 15 minutos.

Preparación de las muestras de carne y aplicación de los desinfectantes

Las muestras de los cortes de carne fresca refrigeradas a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ se le aplicaron por aspersión las concentraciones de desinfectantes Biosanit a 250 ppm y 500 ppm y Dióxido de Cloro a 50 ppm y 100 ppm, se guardó en refrigeración a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para su análisis microbiológico a las 24 y 48 horas para observar la reducción de la carga microbiana de *E. coli*, Coliformes Totales y Mesófilos Aerobios Totales.



Figura N° 4: Desinfección de la carne por pulverización-Lab. de Parasitología-URP

Fuente: Material fotográfico propio

3.5.3 Método para el recuento de microorganismos

El método utilizado ha sido mediante las Placas Petrifilm para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales. Los métodos se encuentran validados por la Association of Official Agricultural Chemists - AOAC, para *E. coli* y Coliformes es la AOAC Método Oficial 998.08 y para aerobios mesófilos totales es la AOAC Método Oficial 990.12.

3.5.3.1 Recuento de *E. coli*/Coliformes - AOAC Método Oficial 998.08

Procedimiento:

- Se preparó la dilución con la muestra de carne fresca pesando 10 gramos y colocándolo en un frasco con 90 mL de agua peptonada estéril, se homogenizó por agitación manual durante 25 segundos para obtener una dilución de 1 en 10 ó 10^{-1} .
- Después, se colocó la placa Petrifilm en la mesa de trabajo de superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior y con la ayuda de una micropipeta se añadió 1mL de la dilución de la muestra en el centro de la placa. Se deslizó la película superior hacia abajo con mucho cuidado para evitar la formación de burbujas (figura 5, 6 y 8).
- Luego, se aplicó una ligera presión con ayuda del disco esparcidor de plástico para distribuir el inóculo sobre el área circular del disco antes de que se gelifique. Luego de esparcirlo se esperó un minuto para la formación del gel. Se levantó suavemente el disco esparcidor para no deslizarlo (figura 9).
- Después, se incubó las placas Petrifilm cara arriba, en columnas de no más de 20 placas. Se colocó un recipiente de agua estéril en la incubadora para mantener la humedad interna del ambiente de la estufa a una temperatura de 37°C (figura 10).
- Si no hay crecimiento después de 24 horas, el recuento será cero y se considerará prueba terminada. Si aparecen colonias rojo violeta, serán contabilizadas como Coliformes totales y si son colonias de color azul o rojo-azules, con formación de gas atrapado en la placa Petrifilm se contabilizan con *E. coli*.

3.5.3.3 Recuento de Aerobios Mesófilos Totales - AOAC método oficial 990.12.

Procedimiento:

- Se preparó la dilución de la muestra de carne fresca pesando 10 gramos y colocándolo en un frasco con 90 mL de agua peptonada alcalina estéril, se homogenizó por agitación manual durante 25 segundos para obtener una dilución de 1 en 10 o 10^{-1} .
- Después, se colocó la placa Petrifilm en la mesa de trabajo de superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior y con la ayuda de una micropipeta se añadió 1mL de la dilución de la muestra en el centro de la placa. Se deslizó la película superior hacia abajo con mucho cuidado para evitar la formación de burbujas (figura 5, 6 y 8).
- Luego, se aplicó una ligera presión con ayuda del disco esparcidor de plástico para distribuir el inóculo sobre el área circular del disco antes de que se gelifique. Luego de esparcirlo se esperó un minuto para la formación del gel. Se levantó suavemente el disco esparcidor para no deslizarlo (figura 9).
- Después, se incubó las placas Petrifilm cara arriba, en columnas de no más de 20 placas. Se colocó un recipiente de agua estéril en la incubadora para mantener la humedad interna del ambiente de la estufa a una temperatura de 37°C. (figura 10).
- Lectura: Si no se observa crecimiento después de 24 horas, el recuento es cero y se considera la prueba terminada. Si aparecen colonias de color rojo, son contabilizadas como Mesófilos Aerobios Totales.

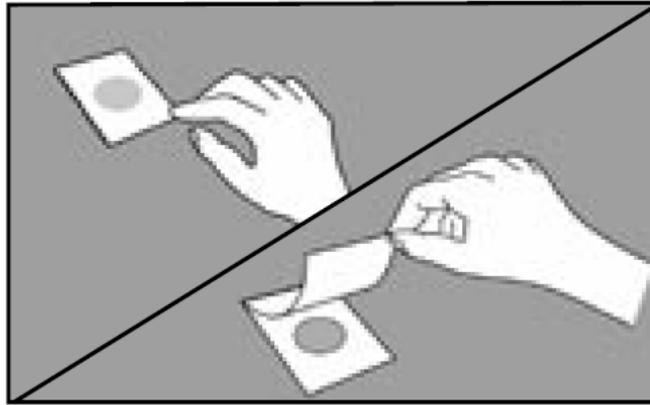


Figura 5: Colocación de la placa Petrifilm antes de la inoculación
Fuente: Guía de interpretación 3M

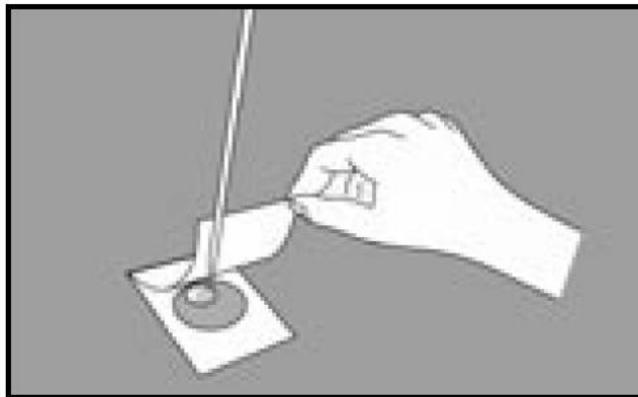


Figura 6: Inoculación de la muestra en la placa Petrifilm
Fuente: Guía de interpretación 3M



Figura 7: Inoculación de la muestra en la placa Petrifilm-Lab.Parasitología-URP
Fuente: Material fotográfico propio

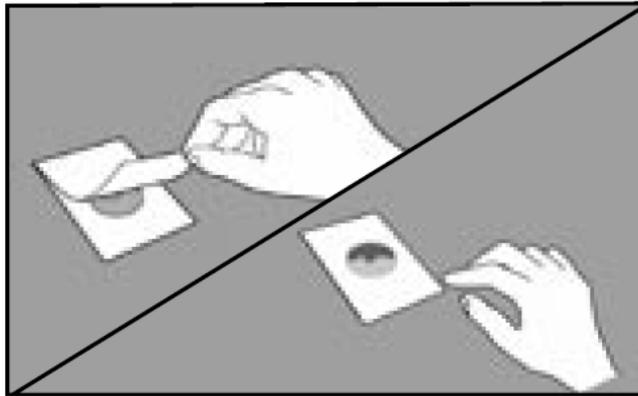


Figura 8: Tratamiento de la placa Petrifilm después de inocular la muestra

Fuente: Guía de interpretación 3M

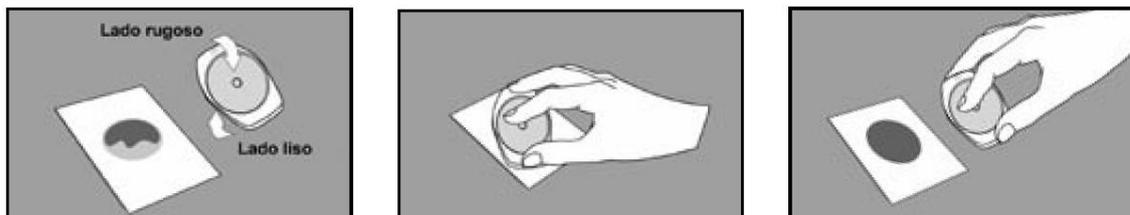


Figura 9: Uso del dispensador sobre la placa Petrifilm después de inocular la muestra

Fuente: Guía de interpretación 3M

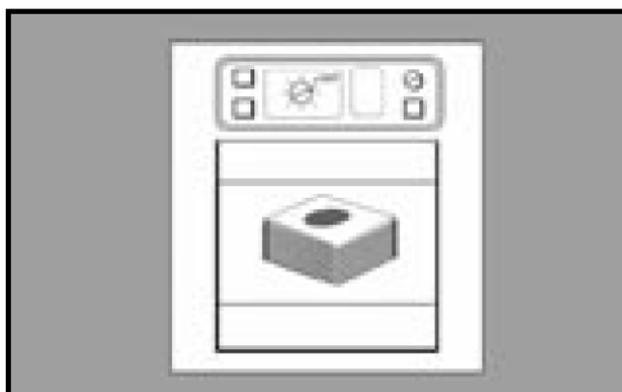


Figura 10: Incubación de las muestras

Fuente: Guía de interpretación 3M

3.5.4 Interpretación

Después de la incubación se procedió al conteo directo de las colonias.

- Para las placas de E. coli/Coliformes Totales: El conteo de colonias se realizó de manera directa. Se contabilizó todas las colonias de color azul con gas.

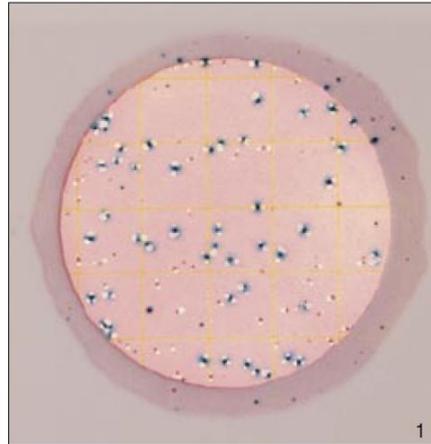


Figura 11: Placa Petrifilm con colonias de *E. coli*/Coliformes

Fuente: Guía de interpretación 3M

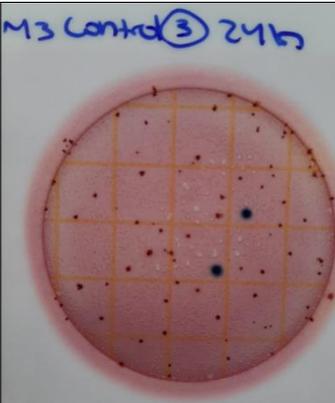
		
Placa Petrifilm con colonias de <i>E. coli</i> /Coliformes Desinfectante Dióxido de Cloro	Placa Petrifilm con colonias de <i>E. coli</i> /Coliformes Desinfectante Biosanit	Placa Petrifilm con colonias de <i>E. coli</i> /Coliformes Control (sin desinfectante)

Figura 12: Placa Petrifilm con colonias de *E. coli*/Coliformes-Lab. Parasitología - URP

Fuente: Material fotográfico propio

- Para las placas de Aerobios Mesófilos: El conteo de colonias se realizó de manera directa. Se contabilizó todas las colonias de color rojo, sin importar su tamaño o intensidad de la tonalidad roja.

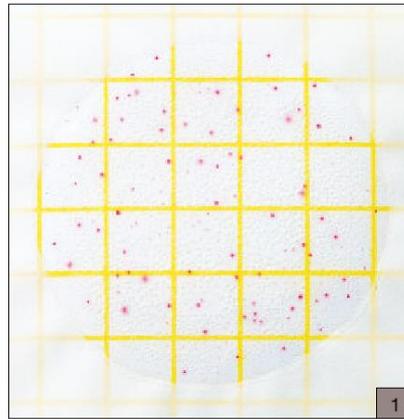


Figura 13: Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos

Fuente: Guía de interpretación 3M

<p>Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos Desinfectante Dióxido de Cloro</p>	<p>Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos Desinfectante Biosanit</p>

Figura 14: Placa Petrifilm con colonias de Aerobios Mesófilos-Lab.Parasitología-URP

Fuente: Material fotográfico propio

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Resultados

De la lectura directa de las placas Petrifilm, se obtuvieron 2700 resultados (datos), correspondientes a las muestras procesadas, según el diseño experimental.

Los datos obtenidos fueron consignados en una hoja de cálculo en Excel y para realizar el análisis estadístico previamente se verificó los supuestos del análisis de varianza (ANOVA) tales como la normalidad de los residuos y homogeneidad de varianzas. Producto de la verificación se determinó la aplicación de las pruebas estadísticas no paramétricas: Kruskal Wallis cuando se trata de más de dos tratamientos y Mann-Whitney para dos tratamientos independientes respectivamente. Los datos se transformaron en logaritmos para facilidad del trabajo estadístico.

Al comparar los lotes, se observa que no hay diferencia significativa en el comportamiento de la carga microbiológica de los lotes de carne por lo que se puede concluir que hay similitud entre los lotes ($p > 0.05$). Así mismo no hay presencia de valores atípicos (cargas microbiológicas muy pequeñas o grandes) y la variabilidad es homogénea.

Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 28.

Resultados obtenidos del procesamiento de los datos:

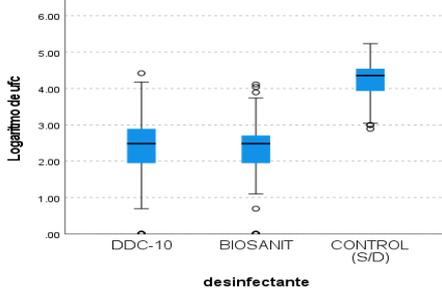
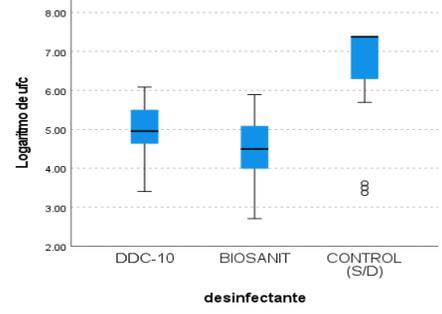
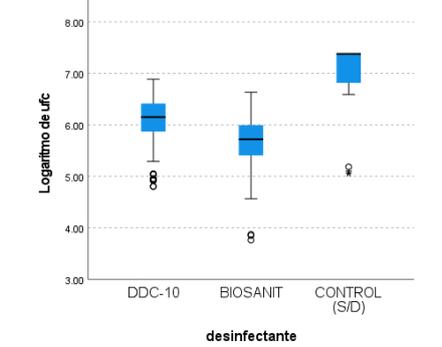
4.1.1.- Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 24 horas para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales

4.1.2.- Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 48 horas para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales

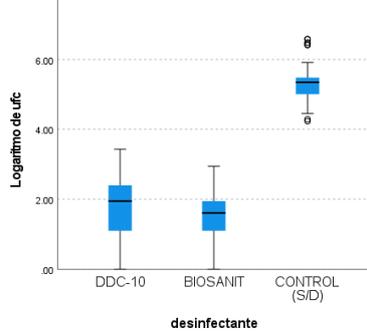
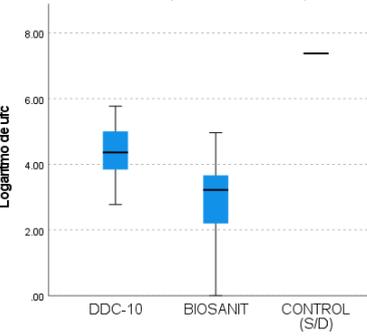
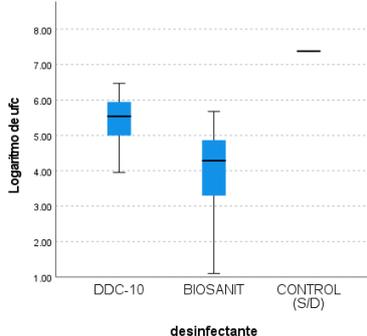
4.1.3.- Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales

4.1.4.- Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

4.1.1 Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 24 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

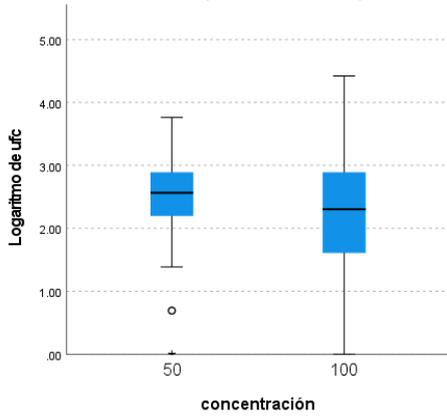
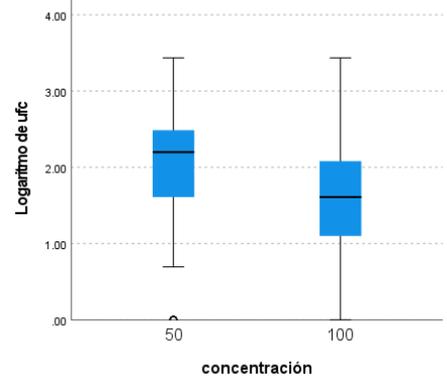
Figuras	Interpretación
<p data-bbox="375 398 817 421">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="279 784 914 846">Figura 15: Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>E. coli</i></p>	<p data-bbox="938 376 1391 734">Se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$). Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias significativas. Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbiológica en <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)</p>
<p data-bbox="375 940 817 963">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="279 1317 914 1379">Figura 16. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales</p>	<p data-bbox="938 884 1375 1243">Se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$). Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias significativas. Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbiológica en Coliformes Totales</p>
<p data-bbox="375 1478 817 1500">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="279 1892 914 1995">Figura 17. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales.</p>	<p data-bbox="938 1422 1391 1780">Se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$). Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias significativas. Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbiológica en Aerobios Mesófilos Totales.</p>

4.1.2 Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

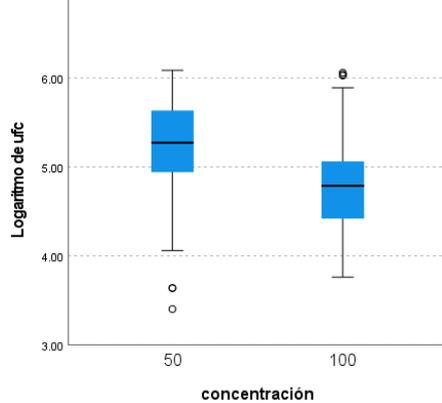
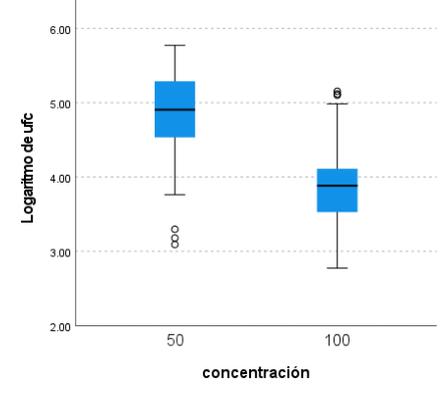
Figuras	Interpretación
<p data-bbox="411 427 778 450">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 819 912 887">Figura 18. Boxplot de la comparación de carga microbológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p data-bbox="938 398 1391 506">Se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$).</p> <p data-bbox="938 510 1391 618">Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias significativas</p> <p data-bbox="938 622 1391 763">Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbológica en <i>E. coli</i> a las 48 horas</p>
<p data-bbox="411 947 778 969">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 1368 912 1435">Figura 19. Boxplot de la comparación de carga microbológica en logaritmos de Coliformes Totales.</p>	<p data-bbox="938 918 1391 1025">Se observa que existen diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$)</p> <p data-bbox="938 1030 1391 1137">Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias altamente significativas</p> <p data-bbox="938 1142 1391 1317">Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbológica en Coliformes Totales a las 48 horas</p>
<p data-bbox="411 1498 778 1520">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 1895 912 2002">Figura 20. Boxplot de la comparación de carga microbológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales</p>	<p data-bbox="938 1469 1391 1576">Se observa que existen diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$)</p> <p data-bbox="938 1581 1391 1688">Al comparar los desinfectantes Biosanit y DDC muestran diferencias altamente significativas</p> <p data-bbox="938 1693 1391 1912">Con el Biosanit (desinfectante natural) se obtiene menor carga microbológica en Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas</p>

4.1.3 Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

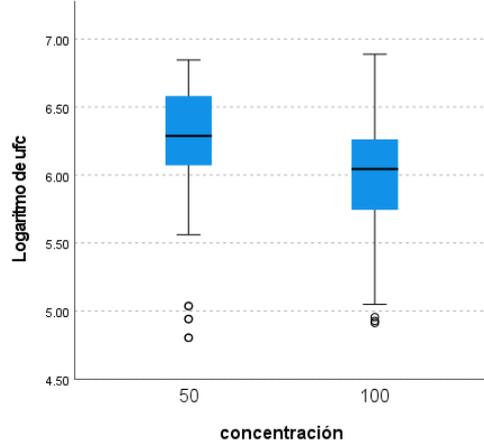
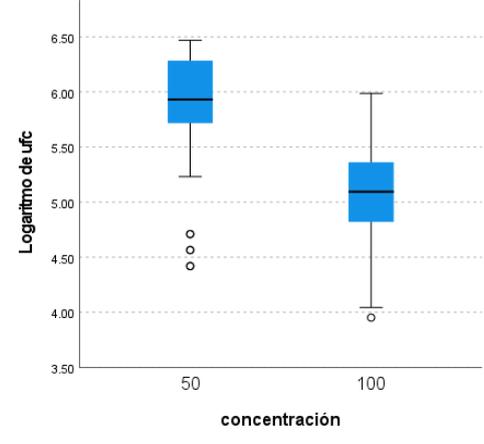
a) Para *E. coli*

Figuras	Interpretación
<p data-bbox="373 488 820 510">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 969 916 1037">Figura 21. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 24 horas.</p>	<p data-bbox="940 488 1394 779">Se observa que no existe diferencias significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de <i>E.coli</i> con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 24 horas ($p > 0.05$).</p>
<p data-bbox="373 1108 820 1131">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 1608 916 1675">Figura 22. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>E. Coli</i> a las 48 horas</p>	<p data-bbox="940 1108 1394 1400">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de <i>E.coli</i> con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 48 horas ($p < 0.05$).</p>

b) Para Coliformes Totales

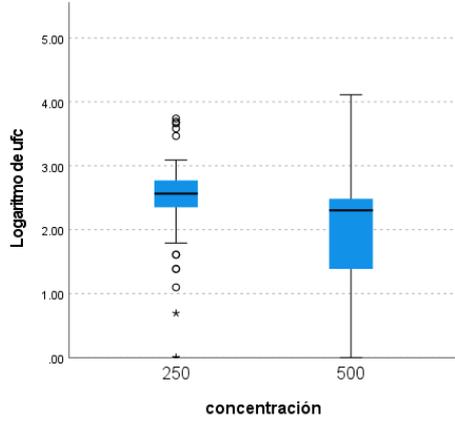
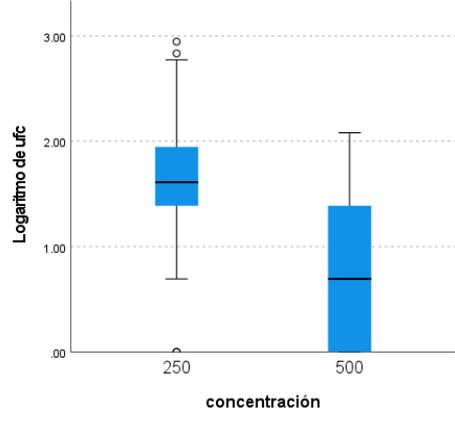
Figuras	Interpretación
<p data-bbox="373 383 815 405">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 853 914 965">Figura 23. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 24 horas</p>	<p data-bbox="938 344 1391 636">Se observa que existe diferencias significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Coliformes Totales con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 24 horas ($p < 0.05$).</p>
<p data-bbox="373 1043 815 1066">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 1536 914 1648">Figura 24. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 48 horas</p>	<p data-bbox="938 1008 1391 1299">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Coliformes Totales con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 48 horas ($p < 0.05$).</p>

c) Para Aerobios Mesófilos Totales

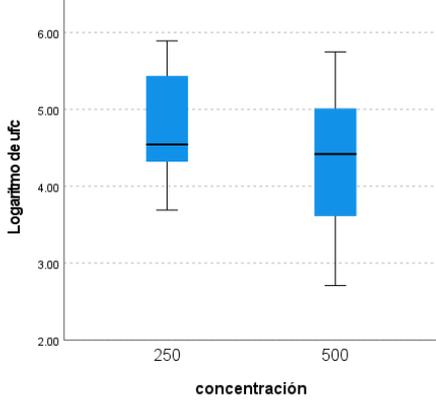
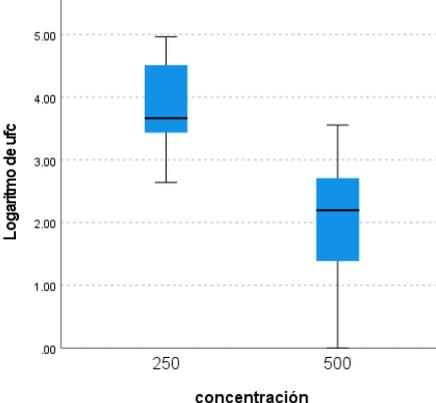
Figuras	Interpretación
<p data-bbox="352 383 836 409">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 943 916 1043">Figura 25. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas.</p>	<p data-bbox="938 383 1394 674">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Aerobios Mesófilos Totales con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 24 horas ($p < 0.05$).</p>
<p data-bbox="352 1126 836 1153">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 1637 916 1738">Figura 26. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas.</p>	<p data-bbox="938 1126 1394 1417">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Aerobios Mesófilos Totales con el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) a las 48 horas ($p < 0.05$).</p>

4.1.4 Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

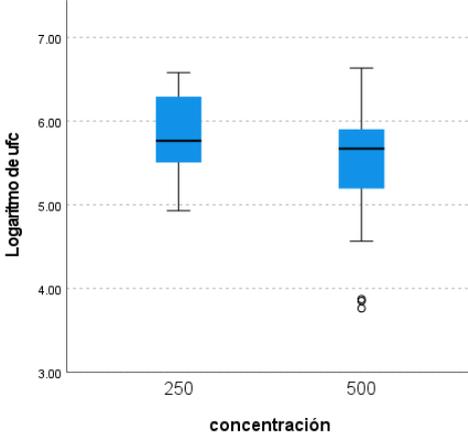
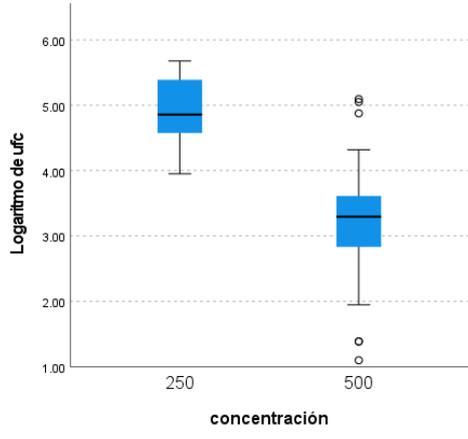
a) Para *E. coli*

Figuras	Interpretación
<p data-bbox="368 521 823 544">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 1048 914 1151">Figura 27. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>E.coli</i> del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>	<p data-bbox="940 521 1393 775">Se observa que existe diferencias significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de <i>E. coli</i> con el Biosanit (desinfectante natural) a las 24 horas ($p < 0.05$)</p>
<p data-bbox="368 1234 823 1256">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="277 1753 914 1856">Figura 28. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>E.coli</i> del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>	<p data-bbox="940 1234 1393 1487">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de <i>E.coli</i> con el Biosanit (desinfectante natural) a las 48 horas ($p < 0.05$)</p>

b) Para Coliformes Totales

Figuras	Interpretación
<p data-bbox="379 383 815 405">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 887 912 992">Figura 29. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>	<p data-bbox="940 383 1390 674">Se observa que existe diferencias significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Coliformes Totales con el Biosanit (desinfectante natural) a las 24 horas ($p < 0.05$).</p>
<p data-bbox="379 1111 815 1133">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 1659 912 1765">Figura 30. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>	<p data-bbox="940 1111 1390 1402">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Coliformes Totales con el Biosanit (desinfectante natural) a las 48 horas ($p < 0.05$).</p>

c) Para Aerobios Mesófilos Totales

Figuras	Interpretación
<p data-bbox="363 331 831 353">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 880 912 1016">Figura 31. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>	<p data-bbox="940 331 1390 613">Se observa que existe diferencias significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Aerobios Mesófilos Totales con el Biosanit (desinfectante natural) a las 24 horas ($p < 0.05$).</p>
<p data-bbox="363 1061 831 1084">Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p data-bbox="280 1565 912 1702">Figura 32. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>	<p data-bbox="940 1061 1390 1344">Se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones máxima y mínima en el control de la carga microbiológica de Aerobios Mesófilos Totales con el Biosanit (desinfectante natural) a las 48 horas ($p < 0.05$).</p>

En el anexo 4 se puede ver en detalle las tablas conteniendo los valores de estadísticos de las pruebas efectuadas para todas las concentraciones del Dióxido de Cloro y el Biosanit para reducir la carga microbiológica de *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales.

4.2 Análisis de los resultados

4.2 Análisis de los resultados

El presente estudio tiene como objetivo validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino, a partir de una concentración conocida de desinfectante que demuestre su efectividad en la reducción de microorganismos, para ello se han planteado hipótesis específicas para cada uno de los desinfectantes: Dióxido de Cloro (desinfectante químico) y Biosanit (desinfectante natural) y que de acuerdo al desarrollo de las pruebas y al procesamiento de los datos obtenidos serán confirmadas.

La validación se sustenta en la recolección y la evaluación de información científica, técnica y de observación, para el estudio se ha planteado un diseño muestral que permite la obtención de datos sobre la eficacia en la reducción de microorganismos que normalmente se encuentran en la carne de bovino como la *E. coli*, los Coliformes Totales y los Aerobios Mesófilos, aplicando desinfectantes, en concentraciones mínimas y máximas recomendadas por el fabricante, y así determinar si las medidas de control, que sería la desinfección (punto crítico de control), es capaz o no de lograr su propósito específico en función del control de peligros, según se define en el Sistema HACCP.

Los resultados de las pruebas efectuadas deben demostrar sistemáticamente que se los desinfectantes reducen la carga microbiológica, permitiendo su control, logrando así la validación.

A continuación se realiza el análisis de los resultados obtenidos por cada grupo de pruebas efectuadas:

4.2.1 Para las concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 24 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

Se comparó el comportamiento de los dos desinfectantes materia del estudio, tanto para las concentraciones mínimas como máximas recomendadas por el proveedor

de los desinfectantes, en la reducción de carga microbiológica para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas de la aplicación de los desinfectantes en la carne de bovino.

Para cada una de las pruebas efectuadas se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$), Dióxido de Cloro y Biosanit, respecto a la muestra control (sin desinfectante), sin embargo, con el Biosanit, se obtiene menor carga microbiológica en *Escherichia coli* (*E. coli*), Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas de la aplicación de los desinfectantes en la carne de bovino.

4.2.2.- Concentraciones (mínimas y máximas) de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

Se comparó el comportamiento de los dos desinfectantes materia del estudio, tanto para las concentraciones mínimas como máximas recomendadas por el proveedor de los desinfectantes, en la reducción de carga microbiológica para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas de la aplicación de los desinfectantes en la carne de bovino.

Para las pruebas efectuadas para la reducción de *Escherichia coli* (*E. coli*), se observa que existe diferencias significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$), Dióxido de Cloro y Biosanit, respecto a la muestra control (sin desinfectante), sin embargo, con el Biosanit, se obtiene menor carga microbiológica a las 48 horas de la aplicación de los desinfectantes en la carne de bovino.

Para las pruebas efectuadas para la reducción de Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales se observa que existe diferencias altamente significativas entre los desinfectantes ($p < 0.05$), Dióxido de Cloro y Biosanit, respecto a la muestra control (sin desinfectante), sin embargo, con el Biosanit, se obtiene menor carga microbiológica a las 48 horas de la aplicación de los desinfectantes en la carne de bovino.

4.1.3 Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

Se comparó el comportamiento del Dióxido de Cloro, tanto para las concentraciones mínimas como máximas, en la reducción de carga microbiológica de *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales tanto a las 24 como a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino.

Para *E. coli*

En las pruebas efectuadas para la reducción de *E. coli*, se observó que no existe diferencias significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Dióxido de Cloro para el control de la carga microbiológica a las 24 horas ($p > 0.05$), mientras que en las pruebas efectuadas a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino, se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima en el control de la carga microbiológica ($p < 0.05$).

Para Coliformes Totales

En las pruebas efectuadas para la reducción de Coliformes Totales, se observó que existe diferencias significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Dióxido de Cloro para el control de la carga microbiológica a las 24 horas ($p < 0.05$), mientras que en las pruebas efectuadas a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino, se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima en el control de la carga microbiológica ($p < 0.05$).

Para Aerobios Mesófilos Totales

En las pruebas efectuadas para la reducción de Aerobios Mesófilos Totales, se observó que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Dióxido de Cloro para el control de la carga microbiológica tanto a las 24 como a las 48 horas ($p < 0.05$).

4.1.4 Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes y Aerobios Mesófilos Totales

Se comparó el comportamiento del Biosanit, tanto para las concentraciones mínimas como máximas, en la reducción de carga microbiológica de *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales tanto a las 24 como a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino.

Para *E. coli*

En las pruebas efectuadas para la reducción de *E. coli*, se observó que existe diferencias significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Biosanit para el control de la carga microbiológica a las 24 horas ($p < 0.05$), mientras que en las pruebas efectuadas a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino, se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima en el control de la carga microbiológica ($p < 0.05$).

Para Coliformes Totales

En las pruebas efectuadas para la reducción de Coliformes Totales se observó que existe diferencias significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Biosanit para el control de la carga microbiológica a las 24 horas ($p < 0.05$), mientras que en las pruebas efectuadas a las 48 horas de la aplicación del desinfectante en la carne de bovino, se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima en el control de la carga microbiológica ($p < 0.05$).

Para Aerobios Mesófilos Totales

En las pruebas efectuadas para la reducción de Aerobios Mesófilos Totales, se observó que existe diferencias significativas entre las concentraciones mínima y máxima del Biosanit para el control de la carga microbiológica a las 24 horas ($p < 0.05$) mientras que para las 48 horas se observa que existe diferencias altamente significativas entre las concentraciones mínima y máxima del desinfectante ($p < 0.05$).

Los resultados obtenidos son los resultados esperados, toda vez que tanto el Dióxido de Cloro como el Biosanit son desinfectantes usados ampliamente en la industria alimentaria, principalmente por sus características antimicrobianas.

En el caso del Dióxido de Cloro, es conocido por su efecto antimicrobiano de amplio espectro, es un producto inodoro e insípido, no tóxico, no corrosivo y no inflamable, soluble en agua en todas las proporciones, de fácil aplicación, puede aplicarse por inmersión, rociado o directamente, tiene estabilidad al almacenamiento.

El Dióxido de Cloro estabilizado tiene una acción selectiva o atractiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del Dióxido de Cloro, reduciendo el crecimiento de microorganismos, debido a su mecanismo automático de liberación. Este mecanismo da completa protección contra los microorganismos mientras el Dióxido de Cloro esté presente, su efecto antimicrobiano es de acción prolongada.

El Biosanit es conocido por su poder bactericida de amplio espectro, tiene gran poder de penetración, es estable tras la disolución, fácil de aplicar, no es tóxico, no corroe ni estropea la superficie desinfectada.

El Biosanit esta compuesto por ácidos orgánicos y aceites esenciales, quienes actúan de forma sinérgica. Los ácidos orgánicos como el acético, cítrico, láctico, son ácidos débiles, en solución una parte se encontrará disociada $[H^+]$ $[A^-]$ (separada) y otra no disociada $[HA]$ (juntos), sin embargo, el poder antimicrobiano se debe a su forma no disociada, la que depende del pH. La forma disociada no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos, en cambio la forma no disociada, si atraviesa la membrana y afecta el pH intracelular microbiano. En cuanto a los aceites esenciales (ejm: eucalipto), la actividad antimicrobiana se debe a los terpenoides. Los aceites esenciales deterioran la pared celular de los microrganismos, se adhieren a los lípidos de la membrana citoplasmática e inactivan los sistemas enzimáticos de las bacterias.

Es un producto recomendado para su uso en la industria alimentaria y otros sectores relacionados a la salud pública por su amplio espectro con bacterias (Gram+, Gram- y/o esporulados), mohos y levaduras, micobacterias y virus (encapsulados o no).

El Biosanit actúa a nivel de membrana celular, enzimas y ácidos nucleicos de los microorganismos, a su vez reacciona con grupos carboxilo, sulfhidrilo y amino de las proteínas y ácidos nucleicos que son desnaturalizados, provocando la muerte de los microorganismos patógenos como las bacterias, virus y hongos.

De lo antes mencionado, se puede mencionar lo siguiente:

El Dióxido de Cloro (desinfectante químico) demostró tener mayor eficacia en la reducción de los microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales) a una concentración de 1 mL/L ó 100 ppm (concentración máxima recomendada por el fabricante) y por tanto, esta concentración puede ser tomada como referencia para validar el punto crítico de control (PCC) del Sistema HACCP para la desinfección de la carne de bovino.

El Biosanit demostró tener mayor eficacia en la reducción de los microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales) a una concentración de 5 ml/L ó 500 ppm (concentración máxima recomendada por el fabricante) y por tanto, esta concentración puede ser tomada como referencia para validar el punto crítico de control (PCC) del Sistema HACCP para la desinfección de la carne de bovino.

Finalmente, se puede indicar que el punto crítico de control (PCC) de desinfección de la carne de bovino se puede validar usando tanto el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) como el Biosanit (desinfectante natural), sin embargo, se debe tomar en cuenta que de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, el Biosanit ha demostrado tener mayor eficacia en la reducción de la carga microbiológica para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales, por tanto, para obtener mejores resultados en el control de la inocuidad se debería tomar en cuenta además de los resultados respecto a la eficacia, las ventajas que podría presentar el uso de sustancias naturales versus el uso de sustancias de origen químico.

CONCLUSIONES / RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. La desinfección se considera como un Punto crítico de control (PCC), porque es la fase en la que al aplicarse un control, éste es esencial para prevenir o eliminar los peligros biológicos (contaminación microbiológica) relacionados con la inocuidad de los alimentos o para reducirlos a un nivel aceptable.
2. En general los resultados obtenidos demuestran que la aplicación de los desinfectantes utilizados en el presente estudio, ya sea de naturaleza química u orgánica, reducen la contaminación microbiana en la carne.
3. El Biosanit (desinfectante natural) demostró tener mayor eficacia en la reducción de los microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales) versus el Dióxido de Cloro (desinfectante químico).
4. El Biosanit demostró tener mayor eficacia en la reducción de los microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales) a una concentración de 5 mL/L ó 500 ppm (concentración máxima recomendada por el fabricante) y por tanto, esta concentración puede ser tomada como referencia para validar el punto crítico de control (PCC) del Sistema HACCP para la desinfección de la carne de bovino.
5. El Dióxido de Cloro (desinfectante químico) demostró tener mayor eficacia en la reducción de los microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales) a una concentración de 1 mL/L ó 100 ppm (concentración máxima recomendada por el fabricante) y por tanto, esta concentración puede ser tomada como referencia para validar el punto crítico de control (PCC) del Sistema HACCP para la desinfección de la carne de bovino.

6. Finalmente, se puede concluir que el punto crítico de control (PCC) de desinfección de la carne de bovino se puede validar usando tanto el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) como el Biosanit (desinfectante natural), sin embargo, se debe tomar en cuenta que de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, el Biosanit ha demostrado tener mayor eficacia en la reducción de la carga microbiana para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales, por tanto, para obtener mejores resultados en el control de la inocuidad se debería tomar en cuenta además de los resultados respecto a la eficacia, las ventajas que podría presentar el uso de sustancias naturales versus el uso de sustancias de origen químico.

RECOMENDACIONES

A partir del presente trabajo de tesis donde se ha determinado que tanto con la dosis mínima como máxima del Dióxido de Cloro como el Biosanit son eficaces para la reducción de la carga microbiana de *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos, se pueden efectuar otros estudios más específicos o más amplios, como por ejemplo, con los mismos desinfectantes determinar la eficacia con otras concentraciones, aplicar para otros tipos de carnes, para otros microorganismos, como la Salmonella y así seguir contribuyendo a mejorar la inocuidad de la carne y productos cárnicos en nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bioservice. (2022). Hoja Técnica del Biosanit. Desinfectante natural. (p.1-3).

Carvajal, A. (2007). Tesis sobre la Evaluación de la efectividad de un agente desinfectante utilizado en plantas procesadoras de carne” para la obtención del grado de licenciamiento en Microbiología y Química Clínica. Universidad de Costa Rica. Facultad de Microbiología. Costa Rica (p. 9, 150)
<http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/1043>

Codex Alimentarius. CXC 1-1969 (Revisión 2020). Código Internacional de Prácticas Recomendado - Principios Generales de Higiene de los Alimentos. (p. 1-24).
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B1-1969%252FCXC_001s.pdf

Codex Alimentarius. CAC/RCP 58-2005 (2005). Código de Prácticas de Higiene para la Carne. (p. 25-38).
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf

Codex Alimentarius CAC/GL 69-2008 (2013). Directrices para la validación de medidas de control de la inocuidad de los alimentos. (p. 2 - 8)
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf

Codex Alimentarius. CAC/GL 50-2004. (2004) Directrices generales sobre muestreo. (p. 10-11)
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXG%2B50-2004%252FCXG_050s.pdf

Decreto Legislativo N° 1062, Ley de Inocuidad de los alimentos – Título III De las Autoridades Competentes – (28/06/2008). Perú.

<https://www.leyes.congreso.gob.pe/Documentos/DecretosLegislativos/01062.pdf>

D.S N° 004-2011-AG. Reglamento de inocuidad agroalimentaria. Capítulo III - Alimentos agropecuarios primarios y piensos. Artículo 14°.- Producción y Procesamiento Primario – (27/04/2011). Perú

<https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2015/07/DS.004-2011-AG-Rgto.-Inocuidad-Agroalimentaria.pdf>

Eco Clean Peru (2022). Hoja Técnica. Dióxido de Cloro. Desinfectante. (p.1-3)

F.A.O. (2007). Manual de Buenas Prácticas para la Industria de la Carne. (p. 24-30)

<https://www.fao.org/3/y5454s/y5454s.pdf>

Hui, Y.H. ; Guerrero, I.; Rosmini, M. (2016). Ciencia y Tecnología de Carnes. Limusa. Mexico. (p. 322-365)

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1999). Microorganismos de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Acribia. España. (p. 119-120)

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2016). Microorganismos de los alimentos 8. Uso de datos para evaluar el control del proceso y la aceptación del producto. Acribia. España. (p. 93-99)

INACAL. (2021). Norma Técnica Peruana - NTP 201.055:2021 CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. Definiciones, clasificación y requisitos de carcasas y carne de bovinos. (p. 2-5)

Jay, James M. (1994). Microbiología Moderna de los Alimentos. Acribia. España. (p. 804)

MIDAGRI. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (2020). Dirección General de Estadística, Seguimiento y Evaluación. Anuario Estadístico de la Producción Ganadera y Avícola 2020.

<http://midagri.gob.pe>

Motarjemi, Y. & Lelieveld, H. (2014) Fundamentals in Management of Food Safety in the Industrial Setting: Challenges and Outlook of the 21st Century / Food Safety Management Consultant, Nyon, Switzerland, Global Harmonization Initiative, Bilthoven, The Netherlands) (p. 2)

<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0.00001-9>

Murano. (1997). Microbiología de la Carne. Cursillo teórico - práctico de tecnología cárnica. Memorias del V Cursillo Teórico Práctico de Tecnología Cárnica. Ames, Iowa: Iowa State University. United States of América (p. 17-19)

OIE-Organización Mundial de Sanidad Mundial (2022). Código Sanitario para animales terrestres. Capítulo 4.14 Recomendaciones generales relativas a la desinfección y desinfección (p. 15 – 17)

<https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/>

Ojeda, C. & Vásquez, G. (2008). Estudio sobre la “Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de microorganismos Aerobios mesófilos y, Coliformes Totales y Fecales en canales de bovinos” de la Escuela Superior Politécnica del Litoral - Centro de Investigación Científica y Tecnológica. Revista Tecnológica ESPOL. Ecuador (p. 1-8)

<http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/210/1/350.pdf> (2009).

<http://Downloads/Cynthia%20Patricia%20Ojeda%20Juanazo%20GUAYAQUIL%20%E2%80%93%20ECUADOR.pdf>

Price, J.; Schweigert, B. (1994). Ciencia de la Carne y de los productos cárnicos. 6 Microbiología y parasitología de la carne. Acribia. España. (p. 35-39).

R.M. N° 591-2008/MINSA que aprueba la NTS 071-MINSA/DIGESA-V.01 Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas para consumo humano.

<https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/247682-591-2008-minsa>

Restrepo, D.; Arango, C.; Amezquita, A.; Restrepo, R.; (2001). Industria de carnes. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Colombia. (p.1-5)

<https://docplayer.es/16514427-Industria-de-carnes-diego-alonso-restrepo-molina-claudia-maria-arango-mejia-alejandro-amezquita-campuzano-renato-arturo-restrepo-digiammarco.html>

Sánchez, R. (2011). Tesis sobre el “Efecto de desinfectantes químicos y extractos de plantas sobre la carga bacteriana en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*), para la obtención del Título de Magister en Calidad e Inocuidad de la Industria Alimentaria. Universidad Particular Ricardo Palma. Lima. Perú.

Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Vol.26 N°2. Lima abr. 2015

<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i2.11013>

SENASA. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. (2022). Guía de Buenas Prácticas de Faenado de Animales de Abasto. Lima – Perú. (p. 16 -21)

<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2002708/Faenado%20animales%20abasto.pdf.pdf>

SENASA. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. (2022). Sistema Integrado de Gestión de Insumos Agropecuarios – SIGIA. 2022.

https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/ino_consultasmatadero.html

ANEXOS

ANEXO A: DECLARACION DE AUTENTICIDAD



**Universidad
Ricardo Palma**

Escuela de Posgrado

DECLARACION DE AUTENTICIDAD Y NO PLAGIO

DECLARACION DEL GRADUANDO

Por el presente, el graduando:

Cerna Zeta, Rosa María

En condición de egresada del Programa de Posgrado:

Maestría en Sistemas de Gestión de la Calidad e Inocuidad en la Industria
Alimentaria

Deja constancia que ha elaborado la tesis titulada

Sistema HACCP para carne de bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*):
Validación del punto crítico de control de desinfección

Declara que el presente trabajo de tesis ha sido elaborado por el mismo y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por cualquier persona natural o jurídica ante cualquier institución académica, de investigación, profesional o similar.

Deja constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no ha asumido como suyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o de la internet.

Asimismo, ratifica que es plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asume la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento y es consciente de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, el graduando se somete a lo dispuesto en las normas de la Universidad Ricardo Palma y los dispositivos legales vigentes.

07 de Setiembre de 2022

Firma del graduando
Rosa María Cerna Zeta
DNI 08330919

Fecha

ANEXO B: AUTORIZACION DE CONSENTIMIENTO PARA REALIZAR LA INCESTIGACION



**Universidad
Ricardo Palma**

Escuela de Posgrado

AUTORIZACION PARA REALIZAR LA INVESTIGACION

**DECLARACION DEL RESPONSABLE DEL AREA O DEPENDENCIA
DONDE SE REALIZARA LA INVESTIGACION**

Dejo constancia que el área o dependencia que dirijo, ha tomado conocimiento del Proyecto de tesis titulado:

Sistema HACCP para carne de bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*):
Validación del punto crítico de control de desinfección

El mismo que es realizado por la Sra.:

Cerna Zeta, Rosa María

en su condición de Bachiller – Investigador del Programa de:

Maestro en Sistemas de Gestión de la Calidad e Inocuidad en la Industria Alimentaria

Asimismo, señalamos que según nuestra normativa interna procederemos con el apoyo al desarrollo del proyecto de investigación, dando las facilidades del caso para la aplicación de los instrumentos de recolección de datos.

En razón de lo expresado doy mi consentimiento para el uso de la información y/o la aplicación de los instrumentos de recolección de datos.

Laboratorio LA-79 Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma	Autorización para el uso del nombre de la Empresa en el informe final	SI
---	---	-----------

Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña	Jefe del Laboratorio LA-79 de Parasitología
-------------------------------	---

Teléfono fijo y/o celular: 997400652	Correo electrónico de la empresa: Juan.ramos@urp.edu.pe
--------------------------------------	---

Firma

07/09/2022

Fecha

ANEXO N° C: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Nombre de la tesis:

Sistema HACCP para carne de bovino (*Bos taurus* y *Bos indicus*): Validación del punto crítico de control (PCC) de desinfección

Tesista: Bachiller Rosa María Cerna Zeta

Asesor: Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña

DISEÑO TEORICO			
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE(S)
¿Cuáles son los valores de la concentración de desinfectante para validar el PCC de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino?	<p>Objetivo general: Validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino, a partir de la concentración conocida de un desinfectante que puede ser de origen químico u natural, que demuestre su efectividad en la reducción de la contaminación por microorganismos</p>	El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino a nivel local se valida a partir de un valor conocido de la concentración del desinfectante que reduce la contaminación de <i>Escherichia coli</i> , Coliformes totales y Aerobios Mesófilos Totales.	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración del Dióxido de Cloro (2 niveles) • Concentración del Biosanit (2 niveles) • Tiempo (2 niveles: 24 y 48 horas)
	<p>Objetivos específicos</p>		
	<p>OE 1 Determinar los valores de la concentración del Dióxido de Cloro que reducen la contaminación de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales para validar el punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino.</p>	<p>H1. El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino se valida a partir de un valor conocido de la concentración del Dióxido de Cloro (desinfectante químico) que reduce la contaminación de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes totales y Aerobios Mesófilos Totales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Variable independiente (X): Efecto del Dióxido de Cloro <p>Variable dependiente (Y): Reducción de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes totales y Aerobios Mesófilos Totales.</p> <ul style="list-style-type: none"> •
<p>OE2 Determinar los valores de la concentración del desinfectante Biosanit que reducen la contaminación de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales para validar el punto crítico de control (PCC) desinfección del Sistema HACCP para la carne de bovino.</p>	<p>H2. El punto crítico de control (PCC) de desinfección del Sistema HACCP de la carne de bovino se valida a partir de un valor conocido de la concentración del Biosanit (desinfectante natural) que reduce la contaminación de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Variable independiente (X): Efecto del desinfectante Biosanit. <ul style="list-style-type: none"> • Variable dependiente (Y): Reducción de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales. 	

**ANEXO D: PROTOCOLOS O INSTRUMENTOS UTILIZADOS.
FORMATO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Tabla .- Pruebas para el Dióxido de Cloro (desinfectante químico) y para el Biosanit (desinfectante natural).

MUESTRA N°1	24 HORAS			48 HORAS		
N° de repeticiones	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	MAT	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	MAT
	DDC C1 (50 ppm)			DDC C1 (50 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	DDC C2 (100 ppm)			DDC C2 (100 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	BIOSANIT C1 (250 ppm)			BIOSANIT C1 (250 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	BIOSANIT C2 (500 ppm)			BIOSANIT C2 (500 ppm)		
1						
2						
3						
X						
	CONTROL			CONTROL		
1						
2						
3						
X						

Fuente: Elaboración propia

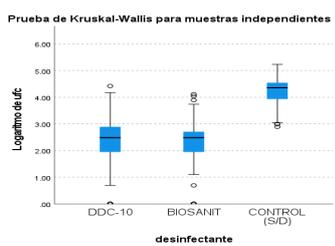
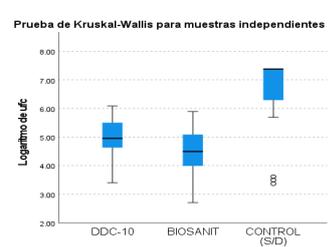
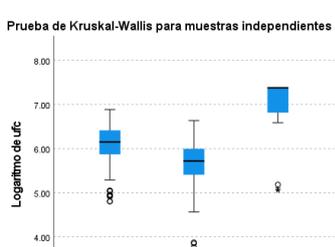
Leyenda:

MAT : Microorganismos Aerobios Totales
 DDC : Dióxido de Cloro
 C1 : Concentración 1
 C2 : Concentración 2

ANEXO E: TABLAS CONFIABILIDAD Y VALIDEZ

RESULTADOS DEL PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

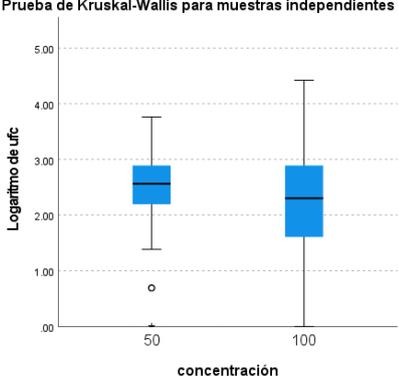
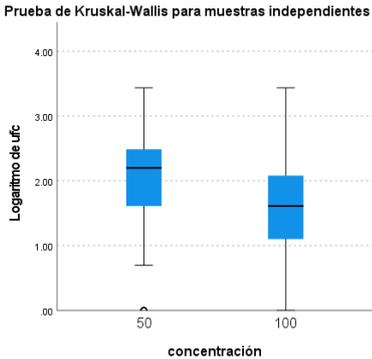
1.- Para todas las concentraciones de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 24 horas para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales

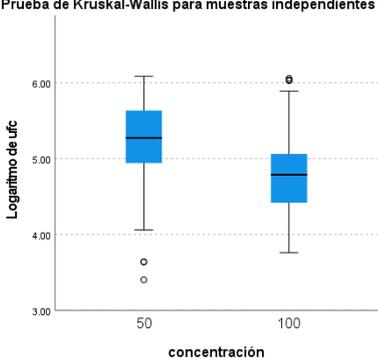
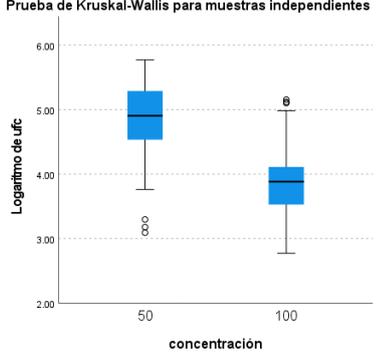
Concentraciones de los desinfectantes Dióxido de Cloro y Biosanit	Figuras																								
<p><i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) Tabla 1: Comparación de la carga microbiológica mediana en logaritmos de <i>E. coli</i> con los desinfectantes.</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="text-align: center;">N total</td><td style="text-align: center;">320</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Estadístico de prueba</td><td style="text-align: center;">154.455^a</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Grado de libertad</td><td style="text-align: center;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Sig. asintótica (prueba bilateral)</td><td style="text-align: center;">0.000</td></tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 2: Comparación múltiple de la carga microbiológica en logaritmos con los desinfectantes. <i>E. coli</i></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Sample 1-Sample 2</th> <th style="text-align: center;">Error estándar</th> <th style="text-align: center;">Sig.</th> <th style="text-align: center;">Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT - DDC-10</td> <td style="text-align: center;">11.952</td> <td style="text-align: center;">0.460</td> <td style="text-align: center;">1.000</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">14.007</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">13.215</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> </tbody> </table>	N total	320	Estadístico de prueba	154.455 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT - DDC-10	11.952	0.460	1.000	BIOSANIT-CONTROL (S/D)	14.007	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	13.215	0.000	0.000	 <p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p> <p>Logaritmo de UFC</p> <p>desinfectante</p> <p>Figura 1: Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)</p>
N total	320																								
Estadístico de prueba	154.455 ^a																								
Grado de libertad	2																								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																								
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																						
BIOSANIT - DDC-10	11.952	0.460	1.000																						
BIOSANIT-CONTROL (S/D)	14.007	0.000	0.000																						
DDC-10-CONTROL (S/D)	13.215	0.000	0.000																						
<p>Coliformes Totales Tabla 3: Comparación de la carga microbiológica mediana en logaritmos en Coliformes Totales con los desinfectantes</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="text-align: center;">N total</td><td style="text-align: center;">450</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Estadístico de prueba</td><td style="text-align: center;">206.313^a</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Grado de libertad</td><td style="text-align: center;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Sig. asintótica (prueba bilateral)</td><td style="text-align: center;">0.000</td></tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 4: Comparación múltiple de la carga microbiológica en logaritmos con los desinfectantes en Coliformes Totales</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Sample 1-Sample 2</th> <th style="text-align: center;">Error estándar</th> <th style="text-align: center;">Sig.</th> <th style="text-align: center;">Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT-DDC-10</td> <td style="text-align: center;">13.686</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">16.762</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">16.762</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> </tbody> </table>	N total	450	Estadístico de prueba	206.313 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT-DDC-10	13.686	0.000	0.000	BIOSANIT-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000	 <p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p> <p>Logaritmo de UFC</p> <p>desinfectante</p> <p>Figura 2. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales</p>
N total	450																								
Estadístico de prueba	206.313 ^a																								
Grado de libertad	2																								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																								
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																						
BIOSANIT-DDC-10	13.686	0.000	0.000																						
BIOSANIT-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000																						
DDC-10-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000																						
<p>Aerobios Mesófilos Totales Tabla 5: Comparación de la carga microbiológica mediana en logaritmos en Aerobios Mesófilos Totales con los desinfectantes</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="text-align: center;">N total</td><td style="text-align: center;">450</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Estadístico de prueba</td><td style="text-align: center;">217.208^a</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Grado de libertad</td><td style="text-align: center;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">Sig. asintótica (prueba bilateral)</td><td style="text-align: center;">0.000</td></tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 6: Comparación múltiple de la carga microbiológica en logaritmos con los desinfectantes en Aerobios Mesófilos Totales.</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Sample 1-Sample 2</th> <th style="text-align: center;">Error estándar</th> <th style="text-align: center;">Sig.</th> <th style="text-align: center;">Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT-DDC-10</td> <td style="text-align: center;">13.687</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">16.762</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td style="text-align: center;">16.762</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> <td style="text-align: center;">0.000</td> </tr> </tbody> </table>	N total	450	Estadístico de prueba	217.208 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT-DDC-10	13.687	0.000	0.000	BIOSANIT-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000	 <p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p> <p>Logaritmo de UFC</p> <p>desinfectante</p> <p>Figura 3. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales.</p>
N total	450																								
Estadístico de prueba	217.208 ^a																								
Grado de libertad	2																								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																								
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																						
BIOSANIT-DDC-10	13.687	0.000	0.000																						
BIOSANIT-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000																						
DDC-10-CONTROL (S/D)	16.762	0.000	0.000																						

2.- Para todas las concentraciones de los desinfectantes (Dióxido de Cloro y Biosanit), a las 48 horas para E. coli, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales:

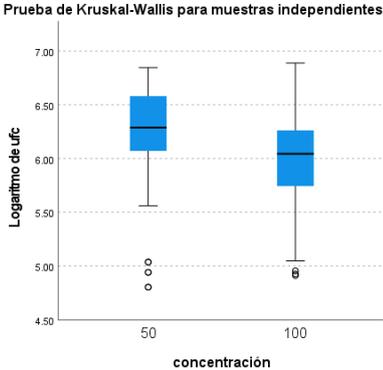
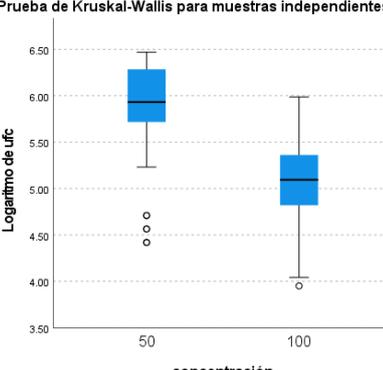
Concentraciones de los desinfectantes Dióxido de Cloro y Biosanit		Figuras:																									
<p>Escherichia coli (E.coli) Tabla 7: Comparación de la carga microbiológica en logaritmos en E.coli con los desinfectantes a las 48 horas</p> <table border="1"> <tr> <td>N total</td> <td>277</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>169.349^a</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 8: Comparación múltiple de la carga microbiológica en logaritmos con los desinfectantes para E.coli.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Sample 1-Sample 2</th> <th>Error estándar</th> <th>Sig.</th> <th>Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT-DDC-10</td> <td>11.753</td> <td>0.020</td> <td>0.059</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL(S/D)</td> <td>13.200</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td>11.601</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table>		N total	277	Estadístico de prueba	169.349 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT-DDC-10	11.753	0.020	0.059	BIOSANIT-CONTROL(S/D)	13.200	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	11.601	0.000	0.000	<p>Figura 4. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Escherichia coli.</p>	
N total	277																										
Estadístico de prueba	169.349 ^a																										
Grado de libertad	2																										
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																										
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																								
BIOSANIT-DDC-10	11.753	0.020	0.059																								
BIOSANIT-CONTROL(S/D)	13.200	0.000	0.000																								
DDC-10-CONTROL (S/D)	11.601	0.000	0.000																								
<p>Coliformes Totales Tabla 9: Comparación de la carga microbiológica en logaritmos en Coliformes Totales con los desinfectantes a las 48 horas.</p> <table border="1"> <tr> <td>N total</td> <td>450</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>299.656^a</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 10: Comparación de la carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales con los desinfectantes a las 48 horas</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Sample 1-Sample 2</th> <th>Error estándar</th> <th>Sig.</th> <th>Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT-DDC-10</td> <td>13.653</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL(S/D)</td> <td>16.721</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td>16.721</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table>		N total	450	Estadístico de prueba	299.656 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT-DDC-10	13.653	0.000	0.000	BIOSANIT-CONTROL(S/D)	16.721	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	16.721	0.000	0.000	<p>Figura 5. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales.</p>	
N total	450																										
Estadístico de prueba	299.656 ^a																										
Grado de libertad	2																										
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																										
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																								
BIOSANIT-DDC-10	13.653	0.000	0.000																								
BIOSANIT-CONTROL(S/D)	16.721	0.000	0.000																								
DDC-10-CONTROL (S/D)	16.721	0.000	0.000																								
<p>Aerobios Mesófilos Totales Tabla 11: Comparación de la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales con los desinfectantes.</p> <table border="1"> <tr> <td>N total</td> <td>450</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>316.736^a</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>Tabla 12: Comparación de la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales con los desinfectantes a las 48 horas</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Sample 1-Sample 2</th> <th>Error estándar</th> <th>Sig.</th> <th>Sig. ajust.^a</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BIOSANIT-DDC-10</td> <td>13.653</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td>BIOSANIT-CONTROL(S/D)</td> <td>16.722</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td>DDC-10-CONTROL (S/D)</td> <td>16.722</td> <td>0.000</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table>		N total	450	Estadístico de prueba	316.736 ^a	Grado de libertad	2	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a	BIOSANIT-DDC-10	13.653	0.000	0.000	BIOSANIT-CONTROL(S/D)	16.722	0.000	0.000	DDC-10-CONTROL (S/D)	16.722	0.000	0.000	<p>Figura 6. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales</p>	
N total	450																										
Estadístico de prueba	316.736 ^a																										
Grado de libertad	2																										
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000																										
Sample 1-Sample 2	Error estándar	Sig.	Sig. ajust. ^a																								
BIOSANIT-DDC-10	13.653	0.000	0.000																								
BIOSANIT-CONTROL(S/D)	16.722	0.000	0.000																								
DDC-10-CONTROL (S/D)	16.722	0.000	0.000																								

3.- Para las concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro, a las 24 y 48 horas para E. Coli, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales:

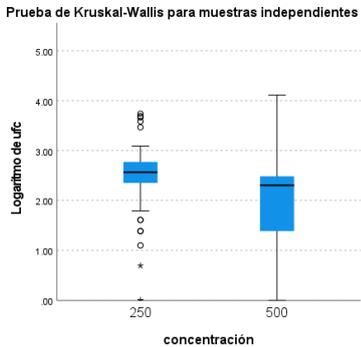
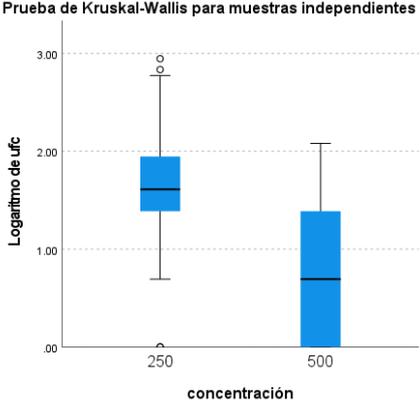
Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro	Figuras								
<p><i>Escherichia coli (E.coli) a las 24 horas</i></p> <p>Tabla 13: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="284 593 842 734"> <tr> <td>N total</td> <td>141</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>2.899^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.089</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.</p>	N total	141	Estadístico de prueba	2.899 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.089	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 7. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 24 horas.</p>
N total	141								
Estadístico de prueba	2.899 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.089								
<p><i>Escherichia coli (E.coli) a las 48 horas</i></p> <p>Tabla 14: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 48 horas .</p> <table border="1" data-bbox="284 1209 842 1350"> <tr> <td>N total</td> <td>130</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>15.328^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	130	Estadístico de prueba	15.328 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 8. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de <i>E. Coli</i> a las 48 horas</p>
N total	130								
Estadístico de prueba	15.328 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000								

Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro	Figuras												
<p>Coliformes Totales a las 24 horas</p> <p>Tabla 15: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 495 847 786"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>30.526^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td colspan="2">a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</td> </tr> <tr> <td colspan="2">b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</td> </tr> </table>	N total	180	Estadístico de prueba	30.526 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.		b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.		<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 9. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 24 horas</p>
N total	180												
Estadístico de prueba	30.526 ^{a,b}												
Grado de libertad	1												
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000												
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.													
b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.													
<p>Coliformes Totales a las 48 horas</p> <p>Tabla 16. Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 48 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 1088 847 1368"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>83.670^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> <tr> <td colspan="2">a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</td> </tr> <tr> <td colspan="2">b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</td> </tr> </table>	N total	180	Estadístico de prueba	83.670 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.		b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.		<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 10. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 48 horas</p>
N total	180												
Estadístico de prueba	83.670 ^{a,b}												
Grado de libertad	1												
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000												
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.													
b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.													

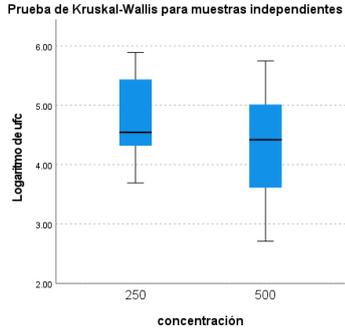
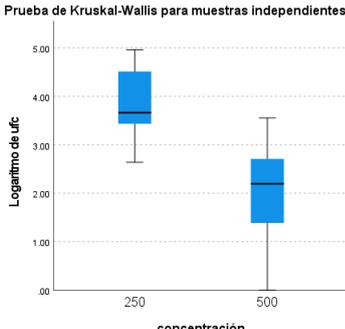
Para Aerobios Mesófilos Totales (AMT)

Concentraciones (mínimas y máximas) del Dióxido de Cloro	Gráficos								
<p>Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas</p> <p>Tabla 17: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 555 847 696"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>17.246^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	17.246 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 11. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas.</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	17.246 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000								
<p>Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas</p> <p>Tabla 18: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Dióxido de Cloro para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas.</p> <table border="1" data-bbox="280 1245 847 1386"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>81.710^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	81.710 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 12. Boxplot de la comparación de carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas.</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	81.710 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000								

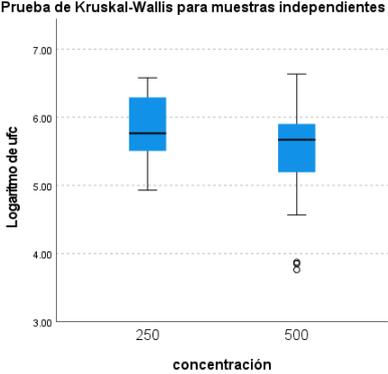
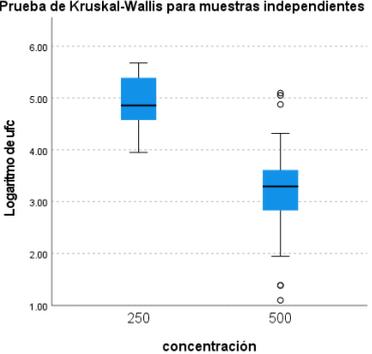
4.- Para las concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit, a las 24 y 48 horas para *E. coli*, Coliformes Totales y Aerobios Mesófilos Totales:

Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit	Figuras								
<p><i>Escherichia coli (E.coli) a las 24 horas</i></p> <p>Tabla 19: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 562 847 703"> <tr> <td>N total</td> <td>104</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>10.741^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.001</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	104	Estadístico de prueba	10.741 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001	 <p>Figura 13. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>E.coli</i> del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>
N total	104								
Estadístico de prueba	10.741 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001								
<p><i>Escherichia coli (E.coli) a las 48 horas</i></p> <p>Tabla 20: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de <i>E.coli</i> a las 48 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 1189 847 1346"> <tr> <td>N total</td> <td>72</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>11.010^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.001</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	72	Estadístico de prueba	11.010 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001	 <p>Figura 14. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de <i>E.coli</i> del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>
N total	72								
Estadístico de prueba	11.010 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001								

Para Coliformes

Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit	Figuras								
<p>Coliformes Totales a las 24 horas</p> <p>Tabla 21: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 562 866 689"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>11.197^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.001</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	11.197 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001	 <p>Figura 15. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	11.197 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.001								
<p>Coliformes Totales a las 48 horas</p> <p>Tabla 22: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Coliformes Totales a las 48 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 1133 866 1261"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>117.998^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	117.998 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	 <p>Figura 16. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Coliformes Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	117.998 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000								

Para Aerobios Mesófilos Totales (AMT)

Concentraciones (mínimas y máximas) del Biosanit	Figuras								
<p>Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas</p> <p>Tabla 23: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 24 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 589 829 741"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>5.998^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.014</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	5.998 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.014	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 17. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 24 horas</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	5.998 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.014								
<p>Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas</p> <p>Tabla 24: Comparación de las concentraciones máxima y mínima del desinfectante Biosanit para reducir la carga microbiológica en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales a las 48 horas</p> <table border="1" data-bbox="280 1191 829 1321"> <tr> <td>N total</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>Estadístico de prueba</td> <td>120.617^{a,b}</td> </tr> <tr> <td>Grado de libertad</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>Sig. asintótica (prueba bilateral)</td> <td>0.000</td> </tr> </table> <p>a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.</p> <p>b. No se realizan múltiples comparaciones porque hay menos de tres campos.</p>	N total	180	Estadístico de prueba	120.617 ^{a,b}	Grado de libertad	1	Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000	<p>Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes</p>  <p>Figura 18. Boxplot de las concentraciones máxima y mínima en logaritmos de Aerobios Mesófilos Totales del desinfectante Biosanit a las 48 horas</p>
N total	180								
Estadístico de prueba	120.617 ^{a,b}								
Grado de libertad	1								
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0.000								