

# Universidad del Azuay Facultad de Ciencia y Tecnología

# Escuela de Ingeniería en Alimentos

Desarrollo de una mezcla antimicrobiana para la desinfección de canales de res y cerdo en la empresa ITALIMENTOS

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos

Autor:

Víctor Hugo Suquinagua Condo

Directora:

María Elena Cazar Ramírez

**Cuenca-Ecuador** 

2012

Suquinagua Condo ii

#### **DEDICATORIA**

Quiero dedicar este trabajo a Dios por brindarme salud y servir como guía para alcanzar mis metas y a mis padres por todo su apoyo incondicional a lo largo de estos años.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la doctora María Elena Cazar, quien con su sabiduría y amistad me ha brindado sus conocimientos y apoyo para culminar el presente trabajo.

A la Dra. Rosa Palacios y a la Ing. Adriana Parra por aportar con sus conocimientos para la realización de esta tesis.

A la Ing. María Fernanda Rosales y a todo el equipo de laboratorio por su apoyo y colaboración.

De igual manera a gradezco al Sr. Lautaro Jetón, Gerente General y Propietario de la Industria de "ITALIMENTOS CIA LTDA" por abrirme sus puertas, permitiéndome la realización de esta tesis y al Ing. Javier Moscoso, quien me orientó y brindo todo su conocimiento.

Finalmente agradezco a Dios por ser la luz en mi camino para cumplir mis sueños; a mis padres y mis hermas que me ha enseñado el valor que tiene la vida.



# DESARROLLO DE UNA MEZCLA ANTIMICROBIANA PARA LA DESINFECCIÓN DE CANALES DE RES Y CERDO EN LA EMPRESA ITALIMENTOS

#### RESUMEN

El presente trabajo se orienta a la evaluación de la carga microbiana en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS". Para esto se estudió las propiedades antimicrobianas del acido láctico, lactato de sodio y Tarisol fresh® mediante un diseño de mezclas simplex aumentado en carne fresca de res. Esta carne fue inoculada con *E. coli* y tratada con las diferentes mezclas. En el laboratorio de microbiología de la Universidad de Azuay se realizó un análisis de la carga microbiana de *E coli* y coliformes totales para determinar la reducción de la carga microbiana inicial de la carne de res con el inoculo aplicando las diferentes mezclas, con el fin de obtener la mezcla óptima; esta mezcla fue utilizada para la evaluación en las canales de res y cerdo de la empresa. Finalmente se realizó un análisis de riesgos de acuerdo a la reglamentación alimentaria vigente.

PALABRAS CLAVE: Carga microbiana, mezclas simplex, análisis de riesgos, ácidos

Dra. María Elena Cazar

Víctor Hugo Suquinagua Condo

DIRECTORA

**AUTOR** 

Dra. Diana Chalco Q.

an

Ing. Marcelo Calle C.

Ing. Fausto Parra P.

JUNTA ACADÉMICA

JUNTA ACADÉMICA

JUNTA ACADÉMICA

VOCAL

VOCAL

VOCAL



# ANTIMICROBIAL MIXTURE DEVELOPMENT FOR BEEF AND PORK PRODUCTS DISINFECTION AT ITALALIMENTOS ENTERPRISE.

#### **ABSTRACT**

The aim of the present work is to assess the microbial load in beef and pork at ITALALIMENTOS S.A. The antimicrobial properties of lactic acid, sodium lactate and Tarisol Fresh ® were studied through a simplex augmented mixture design. Fresh meat was inoculated with *E. coli* and treated with different mixtures. A quantification of the *E. coli* and total coliform load was performed at the Microbiology laboratory of Universidad del Azuay in order to establish the reduction of the microbial load and select the optimum mixture.

The optimal mixture was used to evaluate beef and pork processing at industrial conditions. Finally, a risk analysis was performed according to the current food regulations. Keywords: Load microbial, mixtures simplex, risk analysis, acids

María Elena Cazar, Ph.D.

Víctor Hugo Suquinagua Condo

**DIRECTORA** 

**AUTOR** 

Dra. Diana Chalco Q.

Ing. Marcelo Calle

Ing. Fausto Parra

JUNTA ACADÉMICA

JUNTA ACADÉMICA

JUNTA ACADÉMICA

VOCAL

**VOCAL** 

VOCAL

María Elena Cazar, Ph.D

Revisado 27/06/2012

### **ÍNDICE DE CONTENIDOS**

Dedicator	ria	İİ
Agradecir	mientos	iii
Resumen	1	. iv
Abstract.		٧
Índice de	contenidos	vi
Índice de	Tablas	хi
Índice de	figuras	xiii
Índice de	anexos	. xv
Introducc	ión	1
CAPITUL	O I: MICROBIOLOGIA DE LA CARNE	
Introducc	ión	3
1.1 Conce	epto y generalidades	3
1.2 Micro	organismos involucrados	4
1.2.1	Escherichia coli	5
1.2.2	Escherichia coli O157:H7	5
1.2.3	Salmonella	5
1.2.4	Staphylococcus	6
1.2.5	Clostridium perfringens	7
1.2.6	Listeria Monocytogenes	7
1.3 Meca	nismos de acción de los desinfectantes	7
1.4 Enferi	medades transmitidas por los alimentos (ETAs)	8
1.5 Anális	sis de riesgos	8
1.5.1	Evaluación del riesgo	9
	1.5.1.1 Determinación del peligro	10
	1.5.1.2 Caracterización del peligro	10
	1.5.1.3 Evaluación de la Exposición	10
	1.5.1.4 Caracterización del Riesgo	10
1.5.2	Gestión de riesgos	10
1.5.3	Comunicación del riesgo	11

CAI	PITULO	II: DISEÑO DE MEZCLAS Y SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS	
Intro	oducció	n	12
2.1	Diseño	de mezclas	12
	2.1.1	Diseño de mezclas simplex reticular aumentado	12
2.2	Ácidos	orgánicos	13
	2.2.1	Ácido láctico	14
	2.2.2	Ácido acético	14
	2.2.3	Lactato de sodio	14
	2.2.4	Tarisol Fresh®	15
		O III: MATERIALES Y MÉTODOS	16
		inación de la carga microbiana inicial	16
0.1	3.1.1	Equipos	16
	3.1.2	Materiales	16
	3.1.3	Reactivos	17
	3.1.4	Muestreo bacteriológico de las canales	17
	3.1.5	Lugares de toma de muestras para el análisis de las canales	18
	3.1.6	Procedimiento de toma de muestras	19
	3.1.7	Cuantificación de microorganismos	20
3.2	Diseño	de mezclas	21
	3.2.1	Desarrollo de las Mezclas Antimicrobiana	21
	3.2.2	Preparación de las mezclas antimicrobianas	22
		3.2.2.1 Materiales	22
		3.2.2.2 Reactivos	22
		3.2.2.3 Procedimiento	22
	3.2.3	Crecimiento de cultivo de Escherichia coli	23
		3.2.3.1 Equipos	23
		3.2.3.2 Materiales	23
		3.2.3.3 Reactivos	24
		3.2.3.4 Procedimiento	24
	3.2.4	Evaluación de la actividad antibacteriana	25
		3.2.4.1 Equipos	25
		3.2.4.2 Materiales	25
		3.2.4.3 Reactivos	26
		2.2.4.4 Procedimiento	26

3.3	Estudio	realizado en la Planta	28
	3.3.1	Equipos	28
	3.3.2	Materiales	28
	3.3.3	Reactivos	29
	3.3.4	Procedimiento	29
		3.3.4.1 Preparación de la mezcla óptima	29
		3.3.4.2 Evaluación en canales de res y cerdo	30
3.4	Elabora	ación de (POES)	32
	3.4.1	Lavado de canales de res y cerdo	32
	3.4.2	Desinfección de canales de res y cerdo	32
CVI	DITIII C	) IV: ANALISIS DE RIESGOS	
		n	34
		s de riesgos en canales de res y cerdo	34
		ción del riesgo	35
	4.2.1	Determinación del peligro	36
	4.2.2	Caracterización del peligro	38
	4.2.3	Evaluación de la exposición	39
	4.2.4	Caracterización del riesgo	40
4.3	Gestió	n de riesgos	41
	4.3.1	Manejo de riesgos basado en estimados cuantitativos	41
	4.3.2	Manejo del riesgo basado en enfoques preventivos	42
	4.3.3	Manejo del riesgo basado en estimaciones cualitativas	43
4.4	Comun	icación de los riesgos	44
	4.4.1	Objetivos de la comunicación de riesgos	44
	4.4.2	Partes interesadas	44
		4.4.2.1 Gobiernos	45
		4.4.2.2 Industria	45
		4.4.2.3 Consumidores y organizaciones de consumidores	45
		4.4.2.4 Universidades e instituciones de investigación	45
		4.4.2.5 Medios de comunicación	46
	4.4.3	Estrategias para la comunicación de riesgos	46
	444	Respuestas de las empresas ante una situación de crisis	46

#### **CAPITULO V: RESULTADOS**

Introducció	n	48
5.1 Determ	ninación de la carga microbiana inicial en canales de carne	48
5.1.1	Aerobios mesófilos en canales de res	48
5.1.2	Aerobios mesófilos en canales de cerdo	50
5.1.3	Coliformes totales en canales de res	51
5.1.4	Coliformes totales en canales de cerdo	52
5.1.5	E. coli en canales de res	53
5.1.6	E. coli en canales de cerdo	54
5.1.7	Staphylococcus aureus en canales de res	55
5.1.8	Staphylococcus aureus en canales de cerdo	56
5.1.9	Reducción porcentual de la carga microbiana inicial	
	en canales de res	57
5.1.10	Reducción porcentual de la carga microbiana inicial en canales	
	de cerdo	57
5.2 Diseño	de Mezclas	58
5.2.1	Evaluación en los cortes de carne fresca de res	59
5.3 Evalua	ción en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS"	62
5.3.1	Análisis de la carga microbiana en canales de res	62
5.3.2	Análisis de la carga microbiana en canales de cerdo	66
Capitulo V	I: DISCUSIÓN	
Introducció	on	70
6.1 Determ	inación de la carga microbiana inicial	70
6.1.1	Aerobios mesófilos en canales de res	70
6.1.2	Aerobios mesófilos en canales de cerdo	71
6.1.3	Coliformes totales en canales de res	. 71
6.1.4	Coliformes totales en canales de cerdo	71
6.1.5	E. coli en canales de res	72
6.1.6	E. coli en canales de cerdo	72
6.1.7	Staphylococcus aureus en canales de res	73
6.1.8	Staphylococcus aureus en canales de cerdo	73
6.2 Diseño	de Mezclas	73
6.2.1	Evaluación de las mezclas antimicrobianas	
	en los cortes de carne fresca de res	73
6.3 Evalua	ción en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS"	74

### Suquinagua Condo x

CONCLUSIONES	75
RECOMENDACIONES	76
BIBLIOGRAFIA	77
ANEXOS	82

# **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1: Diseno de Mezclas Simplex Aumentado	21
Tabla 2: Carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de res	49
Tabla 3: Carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de cerdo	50
Tabla 4: Carga microbiana de coliformes totales en canales de res	51
Tabla 5: Carga microbiana de coliformes totales en canales de cerdo	52
Tabla 6: Carga microbiana de Eschrichia coli en canales de res	53
Tabla 7: Carga microbiana de Eschrichia coli en canales de cerdo	54
Tabla 8: Carga microbiana de Staphylococcus aureus en canales	
de res	55
Tabla 9: Carga microbiana de Staphylococcus aureus en canales	
de cerdo	56
Tabla 10: Reducción de la carga microbiana inicial en canales	
de res después de 15 minutos de la desinfección	57
Tabla 11: Reducción de la carga microbiana inicial en canales	
de cerdo después de 15 minutos	58
Tabla 12: Control positivo de los tratamientos inoculados	
con Eschrichia coli	59
Tabla 13: Diseño de mezclas	59
Tabla 14: Carga de Escherichia coli y coliformes totales ufc/cm <sup>2</sup>	
en carne fresca de res inoculada con <i>E. coli</i> aplicada	
las mezclas de las sustancias antimicrobianas	60
Tabla 15: Carga de Escherichia coli y coliformes totales Log ufc/cm <sup>2</sup>	
en carne fresca de res inoculada con <i>E. coli</i> aplicada	
las mezclas de las sustancias antimicrobianas	60
Tabla 16: Reducción porcentual de la carga microbiana en carne fresca	
de res inoculada con <i>E. coli</i> aplicada las mezclas de las sustancias	
antimicrobianas	61
Tabla 17: Carga microbiana inicial en canales de res	62
Tabla 18: Log de carga microbiana inicial en canales de res	63
Cuadro 19: Carga microbiana después de una hora de la desinfección	
en canales de res	63
Tabla 20: Log de carga microbiana después de una hora	
de la desinfección en canales de res	63

Tabla 21: Reducción porcentual de la carga microbiana inicial	
aplicada la desinfección con la mezcla óptima de las sustancias	
antimicrobianas en canales de res	63
Tabla 22: Carga microbiana inicial en canales de cerdo	64
Tabla 23: Log de carga microbiana inicial en canales de cerdo	64
Tabla 24: Carga microbiana después de una hora de la desinfección	
en canales de cerdo	64
Tabla 25: Log de carga microbiana después de una hora de la	
desinfección en canales de cerdo	64
Tabla 26: Reducción porcentual de la carga microbiana inicial aplicada	
la desinfección con la mezcla óptima de las sustancias antimicrobianas	
en canales de cerdo	67

### **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1: Diseño de mezclas simplex reticular aumentado	13
Figura 2. Puntos de muestreo para análisis de carcasas bovinas	
y porcinas	19
Figura 3: Diluciones Escherichia coli genérica	24
Figura 4: Preparación de diluciones de los tratamientos	26
Figura 5: Lavado de canales de res	30
Figura 6: Desinfección de canales de cerdo	31
Figura 7: Toma de muestras	31
Figura 8: Log de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en	
canales deres	49
Figura 9: Log de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales	
de cerdo	50
Figura 10: Log de la carga microbiana de coliformes totales en	
canales de res	51
Figura 11: Log de la carga microbiana de coliformes totales en	
canales de cerdo	52
Figura 12: Log de la carga microbiana de <i>E. coli</i> en canales de res	53
Figura 13: Log de la carga microbiana de <i>E. coli</i> en canales de cerdo	54
Figura 14: Log de la carga microbiana de Staphylococcus aureus	
en canales de res	55
Figura 15: Log de la carga microbiana de Staphylococcus aureus	
en canales de cerdo	56
Figura 16: Reducción de la carga microbiana Escherichia coli	
en carne fresca de res inoculada con E. coli aplicada la mezcla	
de las sustancias antimicrobianas	61
Figura 17: Reducción de la carga microbiana coliformes totales	
en carne fresca de res inoculada con E. coli aplicada la mezcla	
de las sustancias antimicrobianas	62
Figura 18: Log de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en	
canales de res	64
Figura 19: Log de la carga microbiana de Coliformes totales en	
canales de res	64
Figura 20: Log de la carga microbiana de <i>E. coli</i> en canales de res	65

Figura 21: Log de la carga microbiana de Staphylococcus aureus	
en canales de res	65
Figura 22: Log de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en	
canales de cerdo	67
Figura 23: Log de la carga microbiana de Coliformes totales en canales	
de cerdo	68
Figura 24: Log de la carga microbiana de E. coli en canales de cerdo	68
Figura 25: Log de la carga microbiana de Staphylococcus aureus en canales de cerdo	69

### **ÍNDICE DE ANEXOS**

A-1. Proceso de recepción de canales de res	82
A-2. Proceso de recepción de canales de cerdo	83
<b>A-3.</b> NTE INEN 2 346: 2006	84
<b>A-4.</b> NTE INEN 2 346: 2010	85
A-5. Tabla de muestreo Military Standard	86
A-6. Ficha técnica del ácido láctico	88
A-7. Ficha técnica del lactato de sodio	90
A-8. Ficha técnica del Tarisol fresh®	92

Suquinagua Condo Víctor Hugo Trabajo de Graduación Cazar Ramírez María Elena Julio 2012.

## DESARROLLO DE UNA MEZCLA ANTIMICROBIANA PARA LA DESINFECCIÓN DE CANALES DE RES Y CERDO EN LA EMPRESA ITALIMENTOS

#### INTRODUCCION

La industria "ITALIMENTOS" tuvo su inicio en el año 1985 en el sector La Fátima, Cuenca. En la actualidad la planta se encuentra ubicada en el Parque Industrial de nuestra ciudad, y cuenta con maquinaria e infraestructura adecuada para la elaboración de una gran variedad de productos cárnicos. Además cuenta con un Sistema de Gestión de Calidad, implementación y certificación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para realizar la mejora continua de sus productos. La industria produce y comercializa productos cárnicos cocidos, productos cárnicos crudos y productos cárnicos ahumados, los cuales son muy reconocidos en el mercado local con expansión a nivel nacional. Se procesan 25 toneladas diarias de materia prima local e importada, lo cual hace necesario buscar alternativas para asegurar su calidad.

En la carne fresca los tejidos internos no presentan contaminación microbiana, gran parte de la contaminación de la carne proviene de las partes externas del animal y del medio ambiente durante el sacrificio. Para reducir la carga bacteriana inicial en canales de carne, la industria cárnica utiliza ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos son ampliamente usados para el tratamiento de desinfección de canales en concentraciones de 0,05 a 2,5%. El Departamento de Agricultura de Estados Unidos, USDA, aprueba su uso como agentes antimicrobianos en el enjuague final de las carcasas antes del enfriamiento en concentraciones máximas de 2.5% (FDA, 2003). Su utilización ayuda a controlar o disminuir la carga microbiana. Se emplean varios ácidos tales como: ácido acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico y peracético.

Debido a la importancia del estudio de la calidad microbiológica de la carne, se planteó el desarrollo del presente trabajo con los siguientes objetivos:

#### **OBJETIVO GENERAL**

 Desarrollar una mezcla bioactiva para disminuir la carga microbiana en canales de res y cerdo, en la industria "ITALIMENTOS"

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Formular, a partir de los productos a evaluar, una mezcla que mejore el potencial de los compuestos puros para controlar el crecimiento de microrganismos en canales de carne.
- Determinar la reducción de la carga microbiana de E. coli en carne fresca de res inoculada con E. coli cuando ha sido tratada con las diferentes mezclas de las sustancias antimicrobianas.
- Evaluar el potencial antimicrobiano de tres productos utilizados en desinfección de canales de res y cerdo ante los microorganismos de prueba.
- Realizar un análisis de riesgos para evaluar, gestionar y comunicar a los involucrados del proceso sobre el manejo adecuado de los peligros presentes en las carnes que se utilizan como materia prima.

#### **CAPITULO I**

#### MICROBIOLOGIA DE LA CARNE

#### Introducción

En este capitulo se revisará información referente a los microorganismos presentes en la carne, sus características microbiológicas, efectos en la contaminación de los productos cárnicos, estrategias de control. Además se revisará las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). Y finalmente el estudio de un Análisis de riegos en alimentos.

#### 1.1 Concepto y generalidades

La carne se define como todo tejido animal apto para el consumo humano, e incluye tejido muscular, conectivo y otras partes comestibles. La carne se clasifica en dos categorías o tipos, carne roja y carne blanca. Las carnes rojas son aquellas que provienen de bovinos, ovinos, caprinos y porcinos, mientras que las carnes blancas se refieren principalmente a carne de aves domésticas. (Eichenberger *et al.*, 2006).

La calidad de la carne incluye diversos factores:

- Características nutricionales (contenido de nutrientes)
- Componentes físicamente separables (relación músculo/grasa)
- Atributos de aceptabilidad (apariencia, terneza, sabor, jugosidad) por parte del consumidor.

Es importante establecer que la calidad de la carne no es sinónimo de inocuidad, ya que inocuidad se refiere a que la carne está libre de factores nocivos y es apta para el consumo humano. Se reconoce que los músculos provenientes de animales sanos se encuentran libres de microorganismos y la carga microbiana que adquieren proviene de la contaminación con microorganismos presentes en el tracto respiratorio y gastrointestinal del animal. (Chung *et al.*, 2002).

Una carne se considera deteriorada, dañada o no apropiada para el consumo humano cuando exhibe sabores u olores indeseables o porque el deterioro fue causado por la acción de microorganismos que, en muchos casos, pueden ser potencialmente patógenos. La carne puede adquirir los microorganismos durante los procedimientos de matanza y despiece inicial de las canales, así como el manejo sanitario inadecuado de los cortes durante el procesamiento posterior, lo que puede ser causante del deterioro rápido de la misma. (Forrest, 2006).

Se ha indicado que tanto los cortes de carne fresca o enternecida como la carne molida pueden contener patógenos provenientes de la contaminación fecal de la canal durante la matanza o debido a las prácticas higiénicas y de manejo inapropiadas de la carne durante el procesamiento. La preservación de la carne, así como de casi todos los alimentos perecederos, se lleva a cabo por una combinación de métodos de conservación (Bolling, 2002).

El hecho de que la mayoría de las carnes constituyan excelentes medios de cultivos con pH casi neutro, abundancia de humedad y nutrientes, unido a la circunstancia de que pueden encontrarse algunos organismos en los ganglios linfáticos, huesos y músculos hace que su conservación sea más difícil que la de la mayoría de los alimentos. A su vez, los cuchillos, paños, aire, e higiene del personal pueden actuar como intermediarios de contaminación en el procesamiento de los productos cárnicos. Durante la manipulación posterior de la carne puede haber nuevas contaminaciones a partir de los medios de transporte, cajas y recipientes, otras carnes contaminadas, condición de cuartos fríos, etc. (Bolling, 2002).

En la actualidad, la industria cárnica, cuenta con nuevas herramientas para luchar contra el crecimiento microbiano en los diferentes escalones de la cadena de producción. La implementación de planes de control como BMP, HACCP, POES permiten mejorar la calidad microbiológica de las canales y lograr de esta manera carne de mejor calidad y vida útil más prologada (Stopforth, 2003).

#### 1.2 Microorganismos involucrados

Los principales microorganismos presentes en la contaminación microbiológica de la carne son los siguientes:

#### 1.2.1 Escherichia coli

Es un bacilo catalasa-positivo, oxidasa-negativo, fermentador corto Gram-negativo, es un organismo mesófilo que crece a temperaturas desde 7-10°C hasta 50°C, con una temperatura óptima de 37°C y es capaz de resistir el almacenamiento en refrigeración o en congelación (Adams y Moss, 2005).

#### 1.2.2 Escherichia coli O157:H7

Su nombre se origina del antígeno somático [O] 157 identificado y el séptimo antígeno flagelar [H]. El patógeno se encuentra típicamente en el ganado vacuno saludable, lo que hace difícil el control de éste. Se ha demostrado que el 75% del ganado lechero y el 63% de ganado vacuno de engorde son positivo para *E. coli* O157:H7. También se observa un aumento en el manejo inapropiado de los alimentos, esto incluye: abuso de temperatura, contaminación cruzada y la cocción incompleta de productos cárnicos. El tiempo promedio en el cual este patógeno se mantiene en el sistema gastrointestinal de los rumiantes es de 30 días, aunque en algunos animales la bacteria puede estar presente hasta un año o más. Los factores que contribuyen a la presencia de la bacteria en rumiantes se desconocen, pero se discute la habilidad de la misma al colonizar una localización en particular en el sistema gastrointestinal (Adams y Moss, 2005).

Estudios han demostrado que el colon es el lugar en el sistema gastrointestinal donde principalmente se aloja el patógeno en rumiantes adultos y que crece en un amplio rango de temperatura. El mismo puede sobrevivir a temperaturas de congelación y rangos de pH desde 4.4 a 9. La temperatura óptima de crecimiento del patógeno es 37°C, aunque se ha observado crecimiento a temperaturas de 7°C a 44.5°C. El proceso de pasterización o cocción adecuada del alimento a 70°C por 2 minutos elimina este patógeno. Se ha demostrado que a temperaturas de 4°C a 5°C la población bacteriana no disminuye significativamente en un periodo de siete días (Adams y Moss, 2005).

#### 1.2.3 Salmonella

Se trata de bacilos que pertenecen a la familia de las Enterobacteriaceae. Son bacilos (típicamente de 0,5 µm por 1-3 µm) y generalmente son móviles con

flagelos perítricos. Se ha registrado el crecimiento desde temperaturas por debajo de 5°C hasta 47°C con un crecimiento óptimo a 37°C. Las salmonellas son huéspedes habituales del tracto gastrointestinal, son vehiculados por una gran variedad de animales de abasto, animales salvajes, animales de compañía, aves e insectos. Pueden ser diseminados por medio de las heces, el suelo, al agua, a los alimentos y piensos; y desde estos medios a otros animales (incluidas las personas). La mayoría de las Salmonellas infectan a varias especies animales pero ciertos serotipos están adoptados al hospedador, por ejemplo *S. enteritidis, S. pullorum y S. gallinarum* que infectan a las aves de corral y *S. cholerae-suis* que infecta a los cerdos. (Adams y Moss, 2005).

Las cepas de este género pueden desarrollarse en un amplio abanico de temperaturas que oscilan entre los 7°C y los 48°C y presentan un pH de crecimiento óptimo entre 4 - 8 y se desarrollan en ambientes con una actividad de agua de 0,93 (Adams y Moss, 2005).

#### 1.2.4 Staphylococcus

Los microorganismos pertenecientes al género *Staphylococcus* son cocos Grampositivos, no móviles, que no forman esporas, anaerobios facultativos, catalasapositivos, oxidasa-negativos. Estos microorganismos se acomodan como células simples, en pares y en cadenas cortas, pero aparecen en forma predominante en grupos como racimos. Una de las especies más difundida en las industrias de alimentos es *Staphylococcus aureus*. Esta bacteria es un mesófilo típico con un intervalo de temperatura de crecimiento entre 7 y 48°C y una temperatura óptima de 35-40°C. Su pH óptimo se encuentra entre 6 y 7 con límite mínimo y máximo de 4,0 y 9,8-10 respectivamente. Aunque la producción de toxina se realiza entre unos valores más limitados con escasa efectividad por encima de 8 y por debajo 6 (Adams y Moss, 2005).

Su habitad principal es la piel, glándulas y mucosas de los animales de sangre caliente. La existencia de pequeñas cantidades de organismos de *Staphylococcus aureus* en la superficie de los alimentos no es insólita, evidentemente existirá en las canales de aves y en otras carnes crudas como un componente frecuente de la microflora de la piel. La presencia de *Staphylococcus aureus* en las carnes crudas expone al alimento tratado a un riesgo de contaminación cruzada (Adams y Moss, 2005).

#### 1.2.5 Clostridium perfringens

Es un organismos Gram-negativo de forma bacilar que forma esporas ovales subterminales. A pesar de ser un organismo anaerobio catalasa-negativo sobrevive y crece en presencia de oxigeno. El crecimiento tiene lugar en la escala de temperatura de 12-50°C, aunque es muy lento a temperaturas menores inferiores a 20°C aproximadamente (Adams y Moss, 2005).

#### 1.2.6 Listeria Monocytogenes

Es un organismo Gram-positivo, anaerobio facultativo, catalasa-positivo, oxidasa; crece dentro de un amplio rango de temperatura desde 0°C a 42°C, con un crecimiento óptimo entre 30 y 35°C (Adams y Moss, 2005).

#### 1.3 Mecanismos de acción de los agentes desinfectantes

Para ejercer su acción antimicrobiana, los desinfectantes intervienen en algunas etapas de la vida microbiana. Los mecanismos de acción desinfectante son complejos y su acción puede ejercerse principalmente sobre una función comprometiéndose luego otra, algunas veces reversible y otras irreversibles. Dentro de los principales mecanismos de acción de los desinfectantes se encuentran:

- Daño de la pared celular, llevando a los microorganismos a la rotura de la membrana celular
- Alteración de la permeabilidad de la membrana citoplasmática, impidiendo el transporte selectivo de nutrientes al interior de la célula bacteriana coagulándola
- Inhibición de la acción enzimática
- Formación de antimetabolitos
- Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

Un desinfectante, idealmente, debe tener las siguientes características:

- Debe ser soluble en agua
- Amplio espectro de actividad

- Estable
- Tiempo prolongado de vida útil
- No debe reaccionar con materia orgánica ni inactivarse en presencia de ella
- Escasa o nula toxicidad para el ser humano
- Acción rápida
- Capacidad de penetración
- Compatible con todos los materiales
- Disponibilidad y buena relación costo-riesgo-beneficio
- No debe afectar al medio ambiente (Alonso et al., 2004).

#### 1.4 Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs)

Las enfermedades transmitidas por los alimentos han sido definidas de carácter infeccioso o tóxico causadas por el consumo de alimentos o el agua, la mayoría de las cuales son de origen microbiano, siendo el problema mas extendido del mundo y una causa de la reducida actividad económica (FAO Y OMS, 2004).

Los brotes de intoxicación alimentaria implican a un determinado grupo de personas, los alimentos que con mayor frecuencia están incriminados en las enfermedades transmitidas por alimentos en Europa y en América del Norte son de origen animal: la carne, leche, huevos y productos derivados. Esto es especialmente propio de las enfermedades causadas por Salmonella, E. coli y Clostridium perfringens (FAO y OMS, 2004).

#### 1.5 Análisis de riesgos

El análisis de riesgos es una dimensión estratégica centrada en la prevención de la ocurrencia de las ETAs; creando las condiciones adecuadas, dentro de la cadena alimentaria, para que éstas no se produzcan. El análisis de riesgos consta de tres

componentes: evaluación de riesgos, gestión de riesgos y comunicación de riesgos (Codex Alimentarius, 1997).

Su objetivo general aplicado a la inocuidad alimentaria es el asegurar la protección de la salud humana (Codex Alimentarius, 1997).

Peligro es un agente biológico, químico o físico en alimentos con el potencial de, o en condiciones de, causar un efecto adverso a la salud (Codex Alimetarius, 1997).

Riesgo es la probabilidad de un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos. Incluye dos factores:

- La probabilidad de que el efecto adverso ocurra (como el caso de una enfermedad específica)
- Las consecuencias de este efecto

El riesgo envuelve impactos en la salud pública y al medio ambiente; El riesgo no existe si la exposición a una substancia o situación peligrosa no ocurre. Y a su vez el peligro se determina si la substancia o situación en particular tiene el potencial de causar efectos adversos a la salud humana (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.1 Evaluación del riesgo

Es la caracterización sistemática y científica de los efectos potenciales adversos a la salud humana o al medio ambiente debido a agentes o actividades con riesgo; la evaluación del riesgo se utiliza para asegurar que todo alimento sea seguro y saludable, para facilitar el libre comercio internacional de alimentos y ayuda a utilizar los recursos en forma más efectiva.

- La evaluación de riesgos consta de las siguientes fases:
- Identificación o determinación del peligro
- Caracterización del peligro
- Evaluación de la exposición
- Caracterización del riesgo (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.1.1 Determinación del peligro

Es la determinación de los agentes biológicos, químicos y físicos que pueden causar efectos nocivos para la salud y que pueden estar presentes en un determinado alimento o grupo de alimentos (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.1.2 Caracterización del peligro

Evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la naturaleza de los efectos nocivos para la salud relacionados con agentes biológicos, químicos y físicos que puedan estar presentes en los alimentos. La caracterización del peligro combina la determinación de la presencia de un peligro relacionado a un alimento con la probabilidad de que ocurra (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.1.3 Evaluación de la Exposición

Es la evaluación cualitativa y/o cuantitativa del nivel de ingestión probable de agentes biológicos, químicos y físicos a través de los alimentos (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.1.4 Caracterización del Riesgo

Es la estimación cualitativa y/o cuantitativa de la probabilidad de que se produzca un efecto nocivo, conocido o potencial y de su gravedad para la salud de una determinada población, basada en la determinación del peligro, su caracterización y la evaluación de la exposición (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.2 Gestión de riesgos

Es el proceso de ponderación de las distintas opciones normativas a la luz de los resultados de la evaluación de riesgos y, si fuera necesario, de la selección y aplicación de las posibles medidas de control apropiadas, incluidas las medidas reglamentarias.

Las decisiones de manejo del riesgo pueden estar basadas en:

- Estimados cuantitativos de reducción del riesgo
- Estimados cualitativos de reducción del riesgo
- Enfoques preventivos (Codex Alimentarius, 1997).

#### 1.5.3 Comunicación del riesgo

Es el intercambio interactivo de información y opiniones sobre los riesgos, entre las personas encargadas del proceso del análisis de riesgos. Involucra múltiples mensajes sobre riesgos, que expresan preocupación, opinión o reacciones ante los mismos. Incluye la "traducción de la información" a la población general, potencialmente expuesta al riesgo determinado (Codex Alimentarius, 1997).

#### **CAPITULO II**

#### DISEÑO DE MEZCLAS Y SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS

#### Introducción

En este capitulo se revisará información referente a conceptos generales del diseño de mezclas y de las sustancias antimicrobianas en estudio para la reducción de la carga microbiana en canales de carne.

#### 2.1 Diseño de mezclas

Se usan diseños de mezclas para estudiar las características de los productos asociados con cambios en proporción a los componentes, condiciones del proceso, o la cantidad de la mezcla. Este procedimiento permite diseñar y crear un experimento para manejar situaciones donde los componentes se mezclan para formar una combinación química. Se puede utilizar el diseño "simplex-lattice" cuando los datos se encuentran distribuidos regularmente sobre una región de superficie de respuesta y el diseño "simplex-centroid" cuando los valores de los datos se distribuyen alrededor del centro de la región de superficie de respuesta. Todos los diseños incluyen estimaciones de modelos lineales, cuadráticas, cúbicas, cúbicas especiales y gran cantidad de gráficos para visualizar los resultados (Montgomery, 2003).

#### 2.1.1 Diseño de mezclas simplex reticular aumentado

Este diseño tiene diez puntos con cuatro de ellos en el interior del diseño simplex; la retícula simplex soporta el ajuste del modelo cubico completo, mientras la retícula del modelo aumentado no lo hará; sin embargo, la retícula simplex aumentada permitirá al experimentador ajustar al modelo cúbico especial o agregar al modelo cuadrático términos especiales de cuatro órdenes. La retícula simplex aumentada

es superior para estudiar la respuesta en mezclas en el sentido que puede detectarse y moldear la curvatura en el interior del triángulo (Montgomery, 2003)

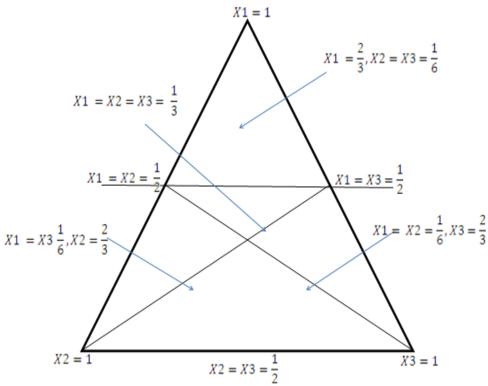


Figura 1: Diseño de mezclas simplex reticular aumentado (Montgomery, 2003)

#### 2.2 Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos (acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico, peracético y sus sales) son ampliamente usados para tratamiento de desinfección de canales de carne. Los ácidos orgánicos son más eficaces en forma molecular no disociadas, es decir que el valor de pH funcional debe ser ≤ 5,5. El efecto antimicrobiano de estos ácidos es más efectivo en superficies grasas que en las magras, pues éstas tienen una capacidad de amortiguación superior. También la materia orgánica como la sangre o el contenido intestinal tendera a reducir los efectos antimicrobianos (López y Casp, 2004).

#### 2.2.1 Ácido láctico

Acido 2-hidroxi propiónico (E 270), es un liquido incoloro o amarillento, de consistencia de jarabe, con sabor ácido, se obtiene por la fermentación láctica de azucares o se prepara sintéticamente. Aplicado por aspersión en carne de mamíferos no produce decoloración de la superficie cuando se utiliza en concentraciones eficaces de uso de aproximadamente 1% (pH=2,4), los olores y sabores anormales no aparecen hasta concentraciones del 2%. Estos tratamientos reducen significativamente tanto la población de enterobacteriáceas como de la flora alterante, no solo por efecto del bajo pH sino también por el ácido láctico no disociado (López y Casp, 2004).

#### 2.2.2 Ácido acético

Ácido metilencarboxílico o ácido etanóico (E 260), es un ácido de origen natural, presente en la mayoría de las frutas. Es producido a través de una fermentación bacteriana, y por consiguiente, está presente en todos los productos fermentados; comercialmente es elaborado por medio de la fermentación bacteriana del azúcar, las melazas o el alcohol, o por síntesis química del acetaldehído. Está autorizado en Estados Unidos para la descontaminación de canales de mamíferos. Se utilizan, tras un lavado con agua fría, soluciones al 1,5 % de ácido acético a 14,4°C o a 52°C, aplicadas por aspersión; en ambos casos se producen reducciones en los recuentos de *E. coli*, Enterobacteriáceas y bacterias aerobias, aunque el segundo es más eficaz. Cuando se aplica por inmersión se utiliza una solución al 1,5% a 55°C durante 10 segundos. Las bacterias Gram negativas son más susceptibles a los ácidos que las especies Gram positivas. El numero de colonias de *Salmonella* y *Campylobacter* disminuye bastante, pero este tratamiento posiblemente sea menos eficaz para *E. coli* O157: H7 (López y Casp, 2004).

#### 2.2.3 Lactato de sodio

Sal 2-hidroxipropionato de sodio (E 325). Es una sal sódica del ácido láctico producida naturalmente mediante la fermentación de azúcares procedentes del maíz o de la remolacha. Diversas han sido las sustancias que se han recomendado para su uso sobre la carne y otros productos, con la finalidad de reducir los niveles de contaminación microbiana superficial. Una de ellas es el lactato, que se aplica en

una gran variedad de elaborados cárnicos con y sin nitritos en todo el mundo. El lactato y otras sales pueden emplearse para el control de patógenos siempre que no afecten sus propiedades organolépticas. Los lactatos actúan como bacteriostáticos aumentando la fase de latencia de los microorganismos, es decir, el tiempo necesario para que los microorganismos comiencen a multiplicarse de forma exponencial, el espectro de acción del lactato es muy amplio: es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Además, el lactato también reduce la actividad del agua, ésta acción antimicrobiana inhibe el crecimiento por extensos períodos de tiempo aumentando la conservación y la seguridad intrínseca del producto (Rodríguez, 2005).

#### 2.2.4 Tarisol Fresh®

Es un conservante formulado a partir de ácidos orgánicos (láctico, cítrico, tartárico, acético y sus sales sódicas) y esencias especificas de especias con elevado poder antimicrobiano y antioxidante. Incluso aplicando dosis mínimas del orden de 0,1-0,5% (respecto a la masa total).

Este producto presenta las siguientes propiedades:

- Retiene un olor más fresco, atractivo y duradero del producto
- Mejora el sabor de salchichas frescas y cocidas
- Asegura un estable e intenso color de curado
- Mantiene el producto libre de bacterias
- Retarda la rancidez de los productos cárnicos (S/A, 2012)

#### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Introducción

En el siguiente capitulo se describirá la metodología experimental utilizada en el desarrollo del presente trabajo de investigación. Los métodos incluyen: Determinación de la carga microbiana inicial en canales de res y cerdo, desarrollo del diseño de mezclas para obtener la mezcla óptima en la reducción microbiana, evaluación de la mezcla óptima en canales de carne y desarrollo de un procedimiento estándar de sanitización (POES) para canales de res y cerdo.

3.1 Determinación de la carga microbiana inicial en canales de res y cerdo en la empresa de cárnicos "ITALIMENTOS"

#### 3.1.1 Equipos

- Nebulizador
- Estufa
- Contador de colonias
- Autoclave

#### 3.1.2 Materiales

- 130 Placas Petrifilm® para Coliformes totales y E. coli
- 200 Placas Petrifilm® para Aerobios mesófilos
- 65 Placas Petrifilm® para *Staphylococcus aureus*.

- 30 Tubos de ensayo de 20 mL con 10 mL de agua de peptona
- 200 Tubos de ensayo de 20 mL con 9 mL de agua de peptona
- Hisopos estériles de algodón
- Plantilla de 10 X 10 cm
- Guantes
- Mechero
- Pinzas
- Pipetas automáticas de 1mL
- Pipetas serológicas de 10 mL
- Puntas estériles de 1 mL
- Propipeta
- Vaso de precipitación de 50 mL.
- Pinzas

#### 3.1.3 Reactivos

- Mezcla de ácidos orgánicos de la empresa "ITALIMENTOS"
- Agua de peptona
- Alcohol
- Agua destilada

# 3.1.4 Muestreo bacteriológico de las canales bovinas y porcinas en la planta "ITALIMENTOS"

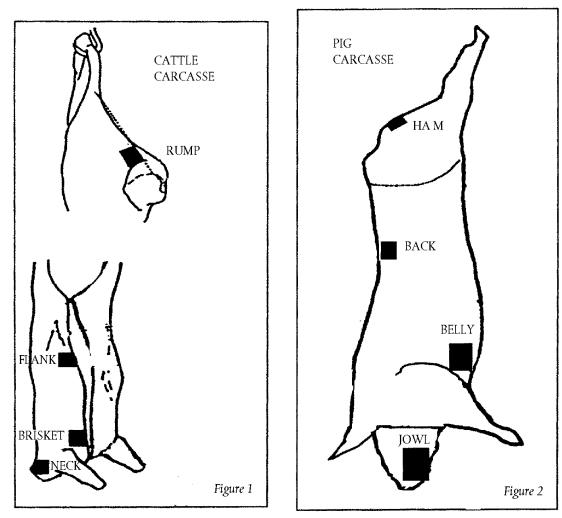
Las materias primas cárnicas que ingresan a la planta procesadora son de proveedores calificados. Estas materias primas siguen un proceso de recepción durante el cual son inspeccionadas y liberadas por el personal de calidad y personal

técnico. La empresa "ITALIMENTOS" adquiere entre 25 y 50 canales de res los días martes, miércoles, jueves y viernes. Además, recibe canales de cerdo, en un promedio estimado de 150 canales por semana, habitualmente los días lunes y jueves. Con estos antecedentes el muestreo de canales de res y cerdo se realizo según la tabla Military Estándar (1989), Nivel de inspección II, simple reducida, con AQL 4.0 (Anexo 5).

La frecuencia fue de dos muestreos por semana y de dos canales de carne por cada muestreo. Para obtener resultados satisfactorios se tomó las muestras durante cuatro semanas consecutivas. Los muestreos fueron realizados en días diferentes de la semana, con el fin de inspeccionar la calidad todos los días. Se recogió un total de 16 muestras de canales de res y 14 muestras de canales de cerdo.

# 3.1.5 Lugares de toma de muestras para el análisis de las canales bovinas y porcinas

Se tomó una muestra de cuatro localizaciones de cada canal (cadera, falda, pecho y cuello). Las muestras fueron colectadas en el momento de la recepción de la materia prima antes de la desinfección con ácidos orgánicos y después de quince minutos de terminar la desinfección con el método aplicado por la empresa "ITALIMENTOS". Se registraron la identificación, fecha y hora de toma de cada muestra.



**Figura 2:** Puntos de muestreo para análisis de carcasas bovinas y porcinas. Diario Oficial de las Comunidades Europeas notificada con el número C (2001) 1561; Fuentes: FSIS, 1996. Pathogen Reduction; HACCP Systems

#### 3.1.6 Procedimiento de toma de muestras

Las muestras obtenidas para cuantificar bacterias en canales de res y cerdo fueron colectadas mediante el método no destructivo. Se utilizaron hisopos humedecidos con una solución estéril de peptona al 0,1 %. El área que se friccionó permitió abarcar, al menos, 100 cm² por lugar de muestreo. El hisopo se humedeció durante 5 segundos en medio de transporte (agua de peptona) y se frotó primero verticalmente, luego horizontalmente y, por fin, diagonalmente durante un mínimo de 20 segundos por toda la superficie de la carne, delimitada con una plantilla estéril de acero inoxidable de 10 x 10 cm. Se aplicó la mayor presión posible. Para obtener resultados comparables se mantuvo invariable la coherencia y el rigor de la

técnica de unas muestras a otras, de unas canales a otras y de unos días a otros (Byrne, 2001).

Las muestras se colocaron asépticamente en un tubo de ensayo de 10 mL de agua de peptona, para transportar al Laboratorio de Microbiología de la Empresa "ITALIMENTOS".

#### 3.1.7 Cuantificación de microorganismos presentes en muestras de cárnicos

Las muestras obtenidas se almacenaron en refrigeración a 4°C hasta su examinación. El tiempo de almacenamiento no superó los 60 min. Los hisopos fueron agitados con fuerza en el medio de transporte con el fin de transferir el material microbiano al medio.

Se preparó una dilución seriada de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup> (v/v), en peptona al 0,1 %. La suspensión del hisopo constituye la solución madre del inóculo microbiano. El método AOAC 998.08 y 991.14 fue aplicado para el desarrollo de los recuentos. La cuantificación *E. coli* y coliformes totales se realizó en placas Petrifilm®. Para los recuentos de Aerobios mesófilos se utilizó el método oficial AOAC 990.12, mediante el uso de placas Petrifilm® para recuento de Aerobios mesófilos. La cuantificación de *Staphilococcus aureus* se realizó mediante el método oficial AOAC 2003.11, utilizando placas Petrifilm® para recuentos de *Staphilococcus aureus*. Los resultados obtenidos se expresaron en ufc/cm². (Unidades formadoras de colonias/centímetro cuadrado de la superficie de la canal de carne).

Se realiza el recuento de las colonias de acuerdo a las características de cada microorganismo:

- Aerobios mesófilos: se cuenta todas las colonias rojas sin tener en cuenta el tamaño o intensidad.
- Coliformes totales: se cuenta todas las colonias de color rojo y azul asociadas dentro del diámetro de la colonia con formación de una burbuja de gas.
- E. Coli: se cuenta todas las colonias de color azul, asociadas dentro del diámetro de la colonia con formación de una burbuja de gas.
- Staphylococcus aureus: se cuenta todas las colonias de color rojo violeta.

#### 3.2 Diseño de mezclas

#### 3.2.1 Desarrollo de las Mezclas Antimicrobiana a partir de sustancias puras

Para evaluar la actividad antibacteriana de las diferentes mezclas de ácido láctico, lactato de sodio y Tarisol® Fresh (producto preparado a base de ácidos orgánicos y mezclas de especias) se desarrolló un diseño de mezclas simplex aumentado. Para el desarrollo de éstas mezclas, se realizaron 10 experimentos con tres repeticiones cada uno con un total de 30 experimentos. Para obtener la respuesta experimental con el fin de determinar la mejor mezcla de los productos antimicrobianos se realizó un estudio en filetes de carne fresca de res inoculadas con *E. coli*. Como respuesta experimental se evaluó el crecimiento de coliformes totales y *E. coli* al estar en contacto con las diferentes mezclas. El desarrollo de este paso permitió seleccionar la mejor mezcla por su potencial antimicrobiano. La composición de las mezclas establecidas por herramientas de diseño experimental.

	COMPONENTES DE LA MEZCLA			RESPUESTA
EXPERIMENTO	TARISOL® FRESH	LACTATO DE SODIO	ACIDO LÁCTICO	Cuantif. E. coli
1	100%	0%	0.00%	
2	0%	100%	0.00%	
3	0%	0%	100.00%	
4	50%	50%	0.00%	
5	0%	50%	50.00%	
6	50%	0%	50.00%	
7	33.33%	33.33%	33.33%	
8	16.67%	16.67%	66.67%	
9	16.67%	66.67%	16.67%	
10	66.67%	16.67%	16.67%	

Tabla 1: Diseño de Mezclas Simplex Aumentado

# 3.2.2 Preparación de las mezclas antimicrobianas

#### 3.2.2.1 Materiales

- Tubos falcon de 50 mL
- 3 Balones de aforo de 100 mL
- Pipetas serológicas de 5 mL y 10 mL
- Pipetas Volumétricas de 5 mL; 10 mL; 25 mL
- Probetas de 100 mL y 500 mL
- Propipeta
- Vaso de precipitación de 50 mL y 1000 mL
- Guantes

#### 3.2.2.2 Reactivos

- Acido láctico 85%
- Lactato de sodio 60%
- Tarisol fresh®
- Agua destilada

#### 3.2.2.3 Procedimiento

Se procedió a diluir por separado el ácido láctico, lactato de sodio y Tarisol fresh® a una concentración de 2.5% (v/v) con agua destilada y se aforó a 1 litro de solución. Luego se precedió a realizar las diferentes mezclas en las concentraciones de cada solución respectiva del diseño de mezclas.

## 3.2.3 Crecimiento de cultivo de Escherichia coli

## **3.2.3.1 Equipos**

- Cabina de flujo laminar
- Estufa
- Balanza electrónica
- Contador de colonias
- Autoclave

#### 3.2.3.2 Materiales

- 10 tubos de ensayo de 20 mL con 10 mL de caldo Lauril sulfato
- 10 tubos de ensayo con campana Durham de 20 mL con 10 mL de caldo Lactosado verde brillante
- 10 tubos de ensayo de 20 mL con 10 mL de caldo EC
- 10 tubos de ensayo de 20 mL con agar EMB Y Verde brillante
- 5 tubos de 20 mL con 10 mL caldo nutritivo
- Probeta de 100 mL
- Pipetas serológicas de 10 mL
- Hisopos estériles de algodón
- Asa de inoculación
- 5 Placas Petrifilm® para el recuento de coliformes totales y E. coli
- Guantes
- Mechero
- Pinzas
- Propipeta

- Vaso de precipitación
- Pinzas
- Agitador

#### 3.2.3.3 Reactivos

- Cultivo de Escherichia coli, provisto por el Laboratorio de Microbiología (UDA).
- Agar EMB y Verde Brillante
- Extracto de Levadura
- Cloruro de sodio
- Peptona
- Alcohol
- Agua destilada

#### 3.2.3.4 Procedimiento

Un cultivo puro de *Escherichia coli* genérica del laboratorio de la Universidad del Azuay se utilizó como inóculo en los tratamientos de carne fresca de res. Una colonia aislada fue extraída y transferida en 100mL de agua de peptona al 1%. Luego de esta solución fue extraída 10ml y transferidos a caldo Lauril Sulfato en tubos de 10ml, las diluciones se realizaron como indica el siguiente gráfico.

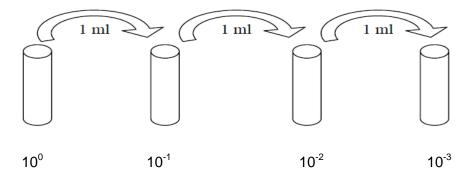


Figura 3: Diluciones Escherichia coli genérica

Se dejó incubar por 48 horas a 36°C ±1°C. Con un asa de siembra se cultivaron todos los tubos positivos, por la presencia de gas, a otros tubos que contenían caldo lactosado verde brillante con campana Durham. Se dejó incubar por 48 horas a 36°C ±1°C. Para su confirmación a partir de los tubos positivos se hicieron siembras con asa de inoculación a caldo EC. Se dejó incubar por 48 horas a 36°C ±1°C. Luego se pasó a agar EMB y a Verde Brillante. Se procedió a dejar incubar por 24 horas a 36°C ±1°C, del agar EMB los positivos, por la presencia de gas se pasó a agar nutritivo. Los tubos con agar nutritivo fueron incubados por 24 horas a 36°C ±1°C. La concentración del inoculo se estimó en 1x10<sup>6</sup> ufc/mL de *E. coli*.

#### 3.2.4 Evaluación de la actividad antibacteriana

#### 3.2.4.1 **Equipos**

- Cámara estéril
- Estufa
- Balanza electrónica
- Contador de colonias
- Autoclave

### 3.2.4.2 Materiales

- 120 placas Petrifilm® coliformes totales y E. coli
- 33 tubos de ensayo de 20 mL con 10 mL de agua de peptona
- 102 tubos de ensayo de 20 mL con 9 mL de agua de peptona
- 33 cajas Petri de vidrio
- Pipetas serológicas de 10 mL
- Puntas estériles de 1 mL
- Hisopos estériles de algodón
- Asa de inoculación

- Guantes
- Mechero
- Pinzas
- Propipeta
- Vaso de precipitación de 50 mL.
- Agitador

#### 3.2.4.3 Reactivos

- Mezclas de las sustancias de estudio
- Inoculo de Escherichia coli. 1x10<sup>6</sup>ufc / mL
- Agua de peptona.
- Alcohol
- Agua destilada
- Cortes de carne de res de 5 x 5 cm

#### 3.2.4.4 Procedimiento

Para la preparación y almacenado de los tratamientos se procedió a cortar asépticamente los filetes de carne de res de 5cm²; Los cortes carne fueron obtenidos de la empresa de industrias cárnicas "ITALIMENTOS" por el método destructivo, en éste método las muestras de tejido pueden obtenerse cortando de la carne una tira de 5 cm y de un espesor máximo de 5 mm (Directiva 64/433/CEE).

En total se hicieron 33 cortes de carne ubicados en su respectiva caja Petri que fue previamente identificada. Aproximadamente 1 mL de *E. Coli* a 1.0x106 Ufc/ml fue esparcido sobre cada uno de los cortes de carne fresca de res. Las muestras inoculadas se dejaron durante 10 minutos para permitir la adhesión bacteriana. Luego los tratamientos fueron realizados de acuerdo a las especificaciones de cada uno: el tratamiento sólo con el inóculo (control positivo) y el tratamiento con el

inóculo más las diferentes mezclas de las soluciones de acido láctico, lactato de sodio y Tarisol fresh® al 2.5% (v/v). Al tratamiento sólo con el inóculo E. coli (control positivo) se procedió a colocar a una temperatura de 37°C por un tiempo de 24 horas. Se hicieron tres repeticiones. A los siguientes cortes con el inoculo con *E coli* se procedió a colocar 5ml de cada uno de las diez respectivas mezclas de las sustancias antimicrobianas y se procedió a colocar a una temperatura de 37°C por un tiempo de 24 horas. Se hicieron tres repeticiones para cada tratamiento con la respectiva mezcla.

Para la preparación de platos y siembra de tratamientos, los tratamientos se retiraron de la estufa; con la ayuda de un bisturí y una pinza se procedió a cortar 1 cm² de cada tratamiento, para luego colocarlos en un tubo de ensayo con 10 mL de agua peptona al 1%. Luego se prepararon las diferentes disoluciones en agua de peptona como se indica a continuación.

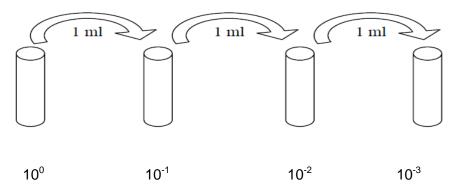


Figura 4: Preparación de diluciones de los tratamientos

Luego de haber realizado las diluciones e identificado los tubos, se prosiguió hacer la siembra por triplicado de cada tratamiento. Para realizar los recuentos de bacterias Coliformes totales y fecales ( $E.\ coli$ ) se realizó por medio del método AOAC 998.08 y 991.14, mediante el uso de Placas Petrifilm®  $E.\ coli\ y\ coliformes$  totales. Por ultimo se incubaron las placas durante 24 horas a 37  $\pm$  1°C

Pasadas las 24 horas de incubación se procedió a contar las colonias de acuerdo a las características de cada microorganismo y se registró los datos obtenidos para su posterior análisis.

# 3.3 Estudio realizado en la Planta de "ITALIMENTOS" en canales de res y cerdo

La mezcla que presentó la mejor efectividad en laboratorio de la Universidad del Azuay mediante el diseño de mezclas fue aprobada en condiciones de planta para desinfectar canales de res y cerdo. Se controló la carga microbiana (Aerobios mesófilos, *coliformes totales*, *E. coli* y *Staphilococus aureus*) antes y después de la aplicación de la mezcla. El resultado fue la evaluación de la reducción de la carga bacteria (ufc/cm²).

## 3.3.1 Equipos

- Balanza electrónica
- Nebulizador
- Estufa
- Contador de colonias
- Autoclave

#### 3.3.2 Materiales

- 15 Placas Petrifilm® para coliformes totales y E. coli
- 20 Placas Petrifilm® para Aerobios mesófilos
- 10 Placas Petrifilm® para Staphylococcus aureus
- 10 tubos de ensayo de 20 mL con 10mL de agua de peptona
- Hisopos estériles de algodón
- Plantilla de 10 X 10 cm
- Guantes
- Mechero
- Pinzas

- Pipetas serológicas de 10 mL
- Balones de afora de 1000 mL
- Puntas estériles de 1 mL
- Propipetas
- Vaso de precipitación
- Pinzas

#### 3.3.3 Reactivos

- Acido láctico 85%
- Lactato de sodio 60%
- Tarisol fresh®
- Agua de peptona
- Alcohol
- Agua destilada

## 3.3.4 Procedimiento

## 3.3.4.1 Preparación de la mezcla óptima

Se preparó de la mezcla que resultó la más eficiente como agente bactericida en los diferentes tratamientos mediante el diseño de mezclas. Para esto se procedió a preparar 5 litros de: Acido láctico, Lactato de sodio y Tarisol fresh® en concentraciones del 2.5% v/v. Se preparó 10 litros de la mezcla (Nº 8) del diseño de mezclas: 16 .67% v/v de la de Tarisol fresh® (2.5% v/v); 16.67% v/v de Lactato de sodio (2.5% v/v) y 66.67% v/v de Acido láctico (2.5%v/v).

## 3.3.4.2 Evaluación en canales de res y cerdo

Para la evaluación en la planta de carnes "ITALIMENTOS" se utilizaron cuartos de canales de res y canales de cerdo. Para el tratamiento en canales de res se utilizaron tres faldas de res y para el tratamiento en canales de cerdo se utilizaron tres canales enteras de cerdo.

Para canales de res se procedió a lavar con agua a presión y se tomo la muestra antes de desinfectar. Se esperó aproximadamente cinco minutos para que el agua se deslice y no haya una dilución del desinfectante; se procedió a desinfectar con la mezcla anteriormente descrita. La cantidad utilizada fue de 500 mL por falda. Después estas canales fueron identificadas y guardadas en la cámara de refrigeración; para luego de una hora tomar las siguientes muestras después del desinfectado.



Figura 5: Lavado de canales de res

Para la evaluación en canales de cerdo se selecciono tres canales de cerdo; y se procedió de igual manera que en las canales de res. Para desinfectar las canales de cerdo se utilizó 500 mL por canal de la mezcla.



Figura 6: Desinfección de canales de cerdo

La toma de las muestras, el examen y el recuento se realizó con el mismo método como en el caso de la determinación de la carga microbiana inicial en canales de res y cerdo descrito anteriormente con la diferencia que el muestreo después de la desinfección se tomó después de una hora de aplicar la mezcla de las sustancias antimicrobianas; a demás se realizo un control del proceso de sanitización de canales (POES).



Figura 7: Toma de muestras

## 3.4 Elaboración del Procedimiento Operacional Estándar de Sanidad (POES)

Se realizó un POES para el proceso de lavado y desinfección de canales de res y cerdo basando en los procedimientos de la Planta de ITALIMENTOS y describiendo detalladamente los pasos a seguir para asegurar que los procesos sean efectivos.

# 3.4.1 Lavado de canales de res y cerdo

Para el lavado de canales de carne se utiliza agua potable a presión con la ayuda de una Hidrolavadora KARCHER®. El operario debe colocarse en un estante de tal forma que el lavado se haga desde arriba hacia abajo y no viceversa; esto facilitará que el agua arrastre los materiales extraños al piso. El lavado se realiza de canal en canal para que se pueda lavar toda la superficie sin ser obstaculizada por las otras. Para esto es necesario separar por lo menos un metro la canal que se va a proceder a lavar de las otras. El Inspector de calidad realiza el control del tiempo necesario de lavado para que las canales estén libres de materiales extraños (eses, pelos, hematomas, polvo entre otros) caso contrario se repetirá el proceso (Anexo 1 y 2).

#### 3.4.2 Desinfección de canales de res y cerdo

Para proceder a realizar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos. Se debe esperar que el agua se deslice por la superficie hacia el piso; de esta forma, evitaremos que el desinféctate se diluya y la concentración sea efectiva como bactericida. El tiempo necesario será mínimo de cinco minutos después del lavado. Se procede a desinfectar con la ayuda de un nebulizador desde la parte superior hacia la inferior, poniendo énfasis en las partes de mayor riesgo de contaminación superficial.

La cantidad de desinfectante a utilizar es, aproximadamente 500 mL por falda y 250 mL por pecho en las canales de res. En caso de los cerdos la cantidad a utilizar será aproximadamente de 500 mL por canal y 250 mL por media canal. Esta es la cantidad necesaria para cubrir toda la superficie de la canal con mayor énfasis en las zonas que tienden a ser contaminadas con mayor facilidad. Se desinfectara canal por canal y la canal a desinfectar deberá estar separada por lo menos un metro de las otras para que el proceso sea eficiente. El inspector de calidad controla que el desinfectante cubra toda la superficie de la canal y que

todas las canales sean desinfectadas y se asegurará de que la concentración de las mezclas de las sustancias antimicrobianas sea la correcta mediante la revisión de registros de elaboración de la mezcla, la verificación del pH (3). El muestreo para la verificación de la carga microbiana después de la desinfección se realizará de acuerdo al plan de muestreo de recepción de materia prima cárnica de canales de res y cerdo de la empresa.

#### **CAPITULO IV**

## **ANÁLISIS DE RIESGOS**

#### Introducción

En este capítulo se describirá la metodología de un análisis de riesgos enfocada a la evaluación de los riesgos, gestión de riesgos y comunicación de riesgos de los alimentos.

## 4.1 Análisis de riesgos en canales de res y cerdo

Los alimentos se pueden contaminar por un inadecuado control de higiene en el cualquier etapa del proceso, provocando una contaminación cruzada; entendiéndose por contaminación cruzada, el acto de introducir por corrientes de aire, traslados de materiales, alimentos o circulación del personal, un agente biológico, químico, bacteriológico o físico u otras sustancias, no intencionalmente adicionadas al alimento, que pueda comprometer la inocuidad o estabilidad del alimento (Codex Alimentarius1997).

La empresa "ITALIMENTOS" da la importancia necesaria al asegurar la calidad de los productos siguiendo la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta el consumo final. Todo esto basado en la implementación y certificación de las Buenas Practicas de Manufactura y en el uso de las normas y criterios vigentes que permiten que el producto final cumpla con las exigencias tanto de la empresa, como del consumidor final. Siendo las Buenas Prácticas de Manufactura la base para la aplicación de su sistema de aseguramiento de la calidad; y los principios básicos y practicas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, incluido su distribución transporte y comercialización de sus productos, con el objeto de garantizar que éstos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inertes a la producción (Codex Alimentarius, 1997).

Es importante que la empresa implemente un programa de Análisis de Peligros Y puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en ingles). Siendo éste un proceso de siete etapas que se aplica para identificar, eliminar o reducir a un nivel aceptable cualquier peligro físico, químico o microbiológico identificado en los ingredientes, procesos o productos en elaboración. El HACCP está basado en la evaluación de riesgos e identifica los puntos del proceso donde se puedan monitorear los controles de peligros identificados. (Codex Alimentarius; 1997).

En alimentos como los productos a base de carnes, el mantener la inocuidad de los productos es sumamente importante para evitar contaminaciones que puedan afectar al consumidor. Cuando se genera una alerta, como presencia de enfermedades causadas por alimentos contaminados, inmediatamente se debe recurrir a realizar un análisis de riesgos del producto en cuestión.

En la empresa "ITALIMENTOS" todos los productos están bien identificados de tal manera que facilita su trazabilidad y que sea posible su recuperación del primer nivel de distribución. La empresa posee un comité de retiro de producto que funciona cuando se presenta un problema con un producto que involucra un riesgo para el consumidor y su retiro del primer nivel de distribución. El comité de retiro se reúne para realizar una evaluación del riesgo, trazabilidad del producto, identificación del riesgo, autorización del retiro del producto, estrategia de retiro, notificación del retiro, análisis del producto elaborado y cierre del incidente. El incidente se declara cerrado si el comité concluye que la recuperación del producto es de tal magnitud que ya no represente un peligro para la salud del consumidor.

Con el tema de Análisis de riesgos, se pretende en ésta tesis, dejar una recomendación para que la empresa mejore en el control de la inocuidad aplicando un sistema que le permita saber cuando un producto esta en riesgo de contaminación.

## 4.2 Evaluación del riesgo

La evaluación de riesgos consta de las siguientes fases:

- Identificación o determinación del peligro
- Caracterización del peligro
- Evaluación de la exposición

Caracterización del riesgo (CAC-GL 30)

## 4.2.1 Determinación del peligro

La contaminación bacteriana de los productos cárnicos se puede producir en cualquier etapa de la cadena, desde la producción primaria hasta la preparación para su consumo final y de ahí la necesidad de analizar cada problemática con una visión integral. Siendo los fenómenos de contaminación cruzada un factor clave en el riesgo alimentario, al igual que su impacto sobre la Gestión del Riesgo. La carne ha sido vista tradicionalmente como la responsable de una proporción significativa de enfermedades humanas de origen alimentario. Aunque el espectro de enfermedades de origen cárnico de importancia en salud pública ha cambiado junto con la mejora continua en los sistemas de producción y procesamiento de las industrias cárnicas, en años recientes, estudios de vigilancia humana de patógenos específicos de origen cárnico, tales como Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp, Campylobacter spp y Yersinia enterocolitica, han demostrado que el problema continúa. Al igual que los peligros biológicos, químicos y físicos existentes (FAO y OMS 2004).

Para entender mejor los riesgos que existen, tenemos que diferenciar que los peligros microbiológicos, son los padecimientos causados por bacterias, virus y parásitos. Estos padecimientos usualmente son agudos; Algunos de los más importantes son por ejemplo, *Clostridium botulinum*: Sus cepas presentan una diversidad de características fisiológicas y bioquímicas; la característica más importante de las cepas de esta especie es la producción de neurotóxicas responsables del Botulismo. El botulismo es un ejemplo de intoxicación alimentaria en un sentido estricto, es consecuencia de la ingestión de una exotoxina producida por organismos de *Clostridium botulinum* que crecen en los alimentos (Adams y Moss, 2005).

Salmonella sp: Las salmonellas son huéspedes habituales del tracto gastrointestinal, son vehiculadas por una gran variedad de animales de abasto, aves e insectos; los principales alimentos que se encuentran involucrados con esta bacteria son: Leche cruda, productos lácteos, carnes de aves, carne de bovino, vegetales, pescado, huevo, agua, moluscos insuficientemente cocidos. Estas bacterias son las responsables de producir la enfermedad conocida como fiebre tifoidea y su severidad es alta (Adams y Moss, 2005).

Escherichia coli: Hay cuatro clases principales de *E. coli* productor de diarrea basadas en diferentes propiedades de virulencia: *E. coli* enterotoxigenico (ETEC): La enfermedad causada por (ETEC) se suele producir transcurrida entre (12 y 36 horas) después de la ingestión del organismo. Los síntomas pueden variar desde una ligera diarrea hasta un síndrome grave parecido al cólera. *E. coli* enteroinvasor (EIEC): La infección por EIEC origina los síntomas clásicos de una disentería bacilar invasora normalmente asociada con *Shiguella* (Adams y Moss, 2005).

Los signos recurrentes de la enfermedad son: fiebre, dolores abdominales intensos, malestar y con frecuencia una diarrea acuosa. *E. coli* enteropatógeno (EPEC): Los síntomas de la infección por (EPEC) son malestar, vomito y diarrea; aparece después de 12- 36 horas de la ingestión del organismo; y la más importante de las clases es la *E. coli* enterohemorrágico (EHEC): Son capaces de producir diarrea varios serotipos pero el serotipo O157:H7 es el que con mayor frecuencia se aísla en las personas; es capaz de producir enfermedades que amenazan la vida como son la colitis hemorrágica, el síndrome urémico hemolítico y la purpura trombótica trombocitopénica. La contaminación fecal de las redes de abastecimiento del agua y los manipuladores de los alimentos contaminados, han sido implicados muy frecuentemente en los brote de enfermedades causados por las distintas clases de *E coli*. Los brotes causados por el serotipo O157:H7 han implicado principalmente a carne picada insuficientemente cocida y a la leche fresca (Adams y Moss, 2005).

Staphylococcus aureus: este organismo evidentemente existirá en canales de carnes como un componente frecuente de la microflora de la piel. Además, la presencia de Staphilococcus aureus en las carnes crudas expone al alimento tratado a un riesgo de contaminación cruzada; puesto que existe un elevado numero de personas portadoras en sus fosas nasales, garganta y la piel por lo que el alimento también se puede contaminar a partir de lesiones cutáneas infectadas y al toser o estornudar (Adams y Moss, 2005).

Los peligros químicos, que pueden entran a la cadena productiva de procesamiento de cárnicos a nivel de la producción primaria incluyen: residuos de medicamentos veterinarios, de pesticidas, contaminantes ambientales e industriales, y promotores de crecimiento prohibidos. Los alimentos pueden contener substancias químicas tóxicas, que pueden afectar directa o indirectamente la habilidad del organismo para sobrevivir o incrementar la susceptibilidad a las

enfermedades, al interrumpir las funciones de reproducción causando mutaciones que reducen la viabilidad de la descendencia (FAO y OMS 2004).

Los peligros físicos son los objetos como: vidrios, metales o madera, que cuando están presentes en los alimentos representan un peligro físico para el consumidor. Estos objetos duros y filosos pueden lacerar la boca, garganta o causar daño en los dientes o encías; existen información epidemiológica en los EEUU de casos en que han llegado a lacerar o perforar los intestinos. Por otra parte los restos de insectos, pájaros o roedores representan otro peligro físico, ya que se reconoce desde hace tiempo que los mayores vectores para los microrganismos patógenos son las moscas, las cucarachas, los pájaros y los roedores (FAO y OMS 2004).

#### 4.2.2 Caracterización del peligro

Las investigaciones recientes revelan que la dosis infecciosa media para los diferentes patógenos de origen cárnico puede variar desde algunas células, por ejemplo, *E. coli* O157:H7, hasta muchos millones de células, por ejemplo, para *Salmonella spp*. El Comité Científico de la Comisión Europea sobre Medidas Veterinarias relacionadas a la Salud Pública estima que la dosis para enfermedades infecciosas varía desde 10<sup>1</sup> a 10<sup>11</sup> unidades formadoras de colonias (ufc). Esto tiene implicaciones obvias para la implementación de medidas de inocuidad alimentaria por la industria cárnica. La dosis por ingestión de *Clostridium perfringes* necesaria para provocar enfermedad ha sido calculada entre 10<sup>6</sup> -10<sup>8</sup> ufc. En el caso del Clostridium botulinum, las toxinas botulínicas son las más toxicas conocidas, con una dosis letal para una persona adulta del orden de 10<sup>-8</sup> g. Para la salmonella la dosis infecciosa es elevada del orden de 10<sup>6</sup> células aunque ésta variará de acuerdo a una serie de factores tales como la virulencia del serotipo, la sensibilidad del individuo y la vinculación con el alimento (Adams Y Moos, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), son los organismos encargados de establecer los límites máximos permitidos de contaminantes, lo que se conoce como la Ingesta Diaria Aceptable (ADI). Sin embargo, cada país puede establecer los niveles máximos permitidos de contaminantes en los distintos alimentos (FAO y OMS, 2004)

La caracterización del riesgo químico implica, en parte, establecer límites máximos de residuos, por ejemplo, para medicamentos veterinarios, asegurar el

cumplimiento del ADI. Los límites máximos para residuos químicos en alimentos son determinados usualmente para que el consumo teórico diario sea menor que el permitido por el ADI. Sin embargo, su determinación puede ser independiente del proceso de fijación de ADI y puede involucrar un número de factores cualitativos del manejo del riesgo. En algunos casos, la caracterización del riesgo incluye consideración de diferentes tipos de peligros. Un parámetro de extrema importancia en este sentido será el establecimiento y cumplimiento de los límites máximos de residuos de los tóxicos naturales, aditivos y contaminantes químicos en los alimentos, los cuales son las cantidades máximas permisibles expresadas en mg del tóxico/kg de alimento basadas en las normas del Codex Alimentarius (Codex Alimentarius, 1997).

## 4.2.3 Evaluación de la exposición

La industria cárnica proporciona información importante en la evaluación de exposición modelando todos los pasos en la cadena de producción del alimento desde la producción hasta el consumo. Para peligros microbiológicos, los datos de la industria son a menudo la única fuente de información detallada de los niveles peligro en cada paso durante el procesado de la carne. Los escenarios pueden ser construidos para predecir el rango de posibles exposiciones.

Cualitativamente los alimentos pueden ser categorizados de acuerdo a la probabilidad de que puedan estar contaminados desde su fuente de procedencia; En este caso la materia prima cárnica proviene directamente del camal, la industria al no contar con su propio camal no puede tener el alcance de aplicar un control estricto de higiene en el faenamiento de los animales, tanto de las reses y de los cerdos, estos escenarios dificultan el control de la carga microbiana inicial de las canales de carne que llegan a la industria. En efecto, la industria ha tenido la necesidad de aplicar procesos que mejoren la calidad de la carne, disminuyendo la carga microbiana inicial con el lavado y desinfección utilizando ácidos orgánicos.

Con el control de lavado y desinfección se ha demostrado que la carga microbiana de las canales de carne se encuentra dentro de los parámetros de calidad exigidos por las normas establecidas. La industria produce una gran cantidad de productos cárnicos cocidos, crudos y ahumados, por lo que es necesario el control de la contaminación bacteriana inicial de la materia prima para evitar la contaminación a lo largo de la cadena de producción; a demás de un nivel de sanitización,

procesos de control, métodos de procesamiento, envasado, almacenamiento y distribución de sus productos lo más eficaz posible para disminuir el riego para el consumidor (FAO Y OMS, 1997).

# 4.2.4 Caracterización del riesgo

En la industria de "ITALIMENTOS" no se conoce que sus productos hayan sido la causa de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). Sin embargo; junto con la información cualitativa-cuantitativa de la caracterización del peligro y el análisis de la exposición, la determinación del riesgo provee una estimación del mismo para una población dada. Esta estimación puede ser medida por comparación con datos epidemiológicos independientes que relacionan la exposición a un alimento potencialmente peligroso y la prevalencia de enfermedad (ETA). La incertidumbre está asociada con los datos propiamente dichos e incluye aquellas que puedan surgir en la evaluación y extrapolación de la información obtenida de estudios epidemiológicos, microbiológicos y en animales de laboratorio (FAO y OMS, 2004).

Un tipo común de análisis de sensibilidad es el usado por el escenario "¿qué pasaría si...?". Los alimentos que con mayor frecuencia están incriminados en la enfermedad trasmitida por alimentos son los de origen animal: la carne, la carne de aves de corral, la leche, los huevos y los productos derivados de todos ellos. Esto es especialmente de las enfermedades causadas por *Clostridium perfringes* y *Salmonella*. En 1982, el serotipo O157:H7 de *E coli* que ha sido identificado como la causa de algunos brotes de colitis hemorrágica y del síndrome urémico hemolítico, especialmente en América del Norte, en los que ha sido implicados alimentos tales como la carne picada insuficientemente cocida y la leche fresca. Y en 1993 en América del norte seiscientas personas enfermaron y cuatro niños murieron en un brote importante causado por comer hamburguesas insuficientemente cocidas. Este brote causó un importante clamor público sobre la higiene de la carne y motivó la implantación de normas nuevas sobre el etiquetado de la carne (FAO y OMS, 2004).

#### 4.3 Gestión de riesgos

Las decisiones de manejo del riesgo pueden estar basadas en:

- Estimados cuantitativos de reducción del riesgo.
- Estimados cualitativos de reducción del riesgo.
- Enfoques preventivos.

El resultado práctico de los impactos en la industria cárnica de la carne puede ser:

- Aceptar los controles actuales de higiene.
- Fijar un límite regulatorio basado en el riesgo para cada combinación peligro/producto cárnico para lograr un nivel particular de protección
- Prescribir una medida regulatoria adicional al límite regulatorio que proporciona un cierto nivel de protección.
- Quitar una medida regulatoria que ha tenido un impacto despreciable en minimizar el riesgo y poner una medida regulatoria provisional que refleje un enfoque preventivo.
- Implementar por parte de la industria medidas basadas en el riesgo como parte de su propio programa de higiene de la carne

#### 4.3.1 Manejo de riesgos basado en estimados cuantitativos

Para establecer el manejo de riesgos basado en estimados cuantitativos, se especifican los peligros químicos y biológicos que pueden presentarse en industrias cárnicas.

Para los peligros químicos, las medidas de manejo del riesgo para peligros químicos al nivel de producción primaria incluyen la autorización de mercados, la legislación de entrega, emisión de medicamentos veterinarios y agroquímicos, y la vigilancia o los planes de control para animales y carne. En la empresa "ITALIMENTOS" se exige que todo los animales para ser faenados sean revisados por un medico veterinario y que éste emita un certificado de control.

Para los peligros biológicos, la evaluación de riesgo FAO/OMS de Salmonella en pollos broiler estimó que el cambio porcentual en contaminación de pollos al final

del procesamiento resultaría en el mismo cambio porcentual del riesgo a los consumidores. Cualquier intervención que redujera significativa y sosteniblemente los niveles de contaminación por *Salmonella* antes del final del proceso, se esperaría fuera una medida efectiva de manejo del riesgo (FAO, 2002).

En la evaluación de riesgo FAO/OMS de *Campylobacter spp* en pollos broiler, se estimaron las reducciones relativas en riesgo como resultado de diferentes intervenciones de manejo durante el proceso (FAO y OMS, 2004).

En la empresa "ITALIMENTOS" se estima que un control eficiente del lavado y desinfectado con ácidos orgánicos en canales de carne de res y cerdo resulte con menores riesgos para el consumidor comparado con los generados de la materia prima cárnica que no hayan sido aplicadas estos procesos ya que la carga microbiana de las canales de carne cumple con los requisitos microbiológicos según la norma: NTE INEN: 2346:2006.

Tres estrategias hipotéticas de intervención fueron evaluadas en un modelo de *E. coli* O157:H7 para hamburguesas. Una reducción simulada en temperatura durante el almacenamiento durante la venta resultó en 80 por ciento de reducción del riesgo y fue mucho más efectivo que una medida de manejo dirigida educar a los consumidores a cocinar sus hamburguesas más tiempo (reducción del 16 %) (FAO y OMS, 1997).

El modelo de manejo de riesgo para *E. coli* O157:H7 en empanadas de carne indica que reduciendo la contaminación cruzada durante el control del proceso se tendrá un impacto significativo en reducir el riesgo a los consumidores (FAO y OMS, 1997).

#### 4.3.2 Manejo del riesgo basado en enfoques preventivos

En la industria de productos cárnicos muchos aspectos de la gestión de riesgos durante el control del proceso facilitan el enfoque basado en el riesgo para higiene de la carne. Los más importantes incluyen: Medidas de higiene que minimizan la contaminación cruzada de las canales durante el sacrificio, transporte y los procesos subsecuentes; planes HACCP para control de peligros específicos; identificación de producto y rastreabilidad; flujo integrado de información sobre peligros a otros segmentos de la cadena de producción de sus productos (FAO y OMS, 1997).

### 4.3.3 Manejo del riesgo basado en estimaciones cualitativas

Los aspectos que facilitan un enfoque basado en riesgo para la higiene de la carne en casa incluyen:

Educación del consumidor en las costumbres de manejo de alimentos inocuos en el hogar; evitar la contaminación cruzada y un correcto etiquetado de los productos (Codex Alimentarius, 1997).

Para minimizar el riesgo debido a *Salmonella y E. coli* O 157:H7) en la industria cárnica se debe enfocar en las intervenciones en el control de proceso que minimizan la contaminación de las canales de carne y de los productos elaborados. Al dar énfasis por un enfoque producción a consumo, las intervenciones de manejo del riesgo se deben basar principalmente en los procesos de higiene y en los métodos de intervención que evitan la contaminación de canales de res y cerdo durante el faenamiento, transporte, recepción y en los procesos posteriores. Cero tolerancia en la materia prima cárnica para la contaminación fecal visible es un requisito regulatorio que debe cumplir la industria por medio de un control eficiente en el lavado de canales de carne, y se recomienda que las instalaciones incluyan al menos una intervención basada en HACCP dirigida específicamente a reducir el riesgo debido a *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 (FAO Y OMS, 2004).

Se alientan el control eficiente de las opciones innovadoras como el lavado y la desinfección con ácidos orgánicos de las canales de carne. (FSIS USDA, 2002) Dado que los modelos de riesgo han demostrado significativas correlaciones entre los niveles de contaminación de canales de carne y los riesgos subsecuentes a consumidores se debe iniciar procedimientos operacionales estándares de sanitización de canales de res y cerdo en la empresa para prevenir o minimizar la contaminación durante el control de proceso. Y es interesante notar que las intervenciones de manejo de riesgo como la desinfección con ácidos orgánicos de las canales de carne pueden ser aceptables por los consumidores ya que son considerados como seguros para la salud (FAO Y OMS, 2004).

## 4.4 Comunicación de los riesgos

La comunicación eficaz de la información y opinión de los riesgos asociados con los peligros reales o percibidos de los alimentos es un componente esencial e integrante del proceso de análisis de riesgos. La comunicación de los riesgos puede proceder de fuentes oficiales de alcance internacional, nacional o local. Puede tener también su origen en otras fuentes, como la industria, el comercio, los consumidores y otras partes interesadas. En este contexto del informe, entre las partes interesadas se pueden incluir los organismos gubernamentales, los representantes de la industria, los medios de comunicación, los científicos, las sociedades profesionales, las organizaciones de consumidores y otros grupos de interés públicos y particulares interesados (FAO y OMS; 1998).

## 4.4.1 Objetivos de la comunicación de riesgos

- Ofrecer información significativa, pertinente y precisa en términos claros y comprensibles destinados a un público concreto.
- Generar también decisiones de gestión de riesgos más ampliamente comprendidas y aceptadas.
- Facilitar un más alto grado de consenso y apoyo de todas las partes interesadas con respecto a la medida de gestión que se proponga.

#### 4.4.2 Partes interesadas

Las partes interesadas que más competen en la comunicación de riesgos son:

- Gobierno
- Industrias
- Medios de comunicación
- Consumidores
- Universidades

#### 4.4.2.1 Gobiernos

Los gobiernos tienen una responsabilidad fundamental en la comunicación de riesgos que pueden afectar a la salud pública. La gestión de riesgos va acompañada de la responsabilidad de comunicar la información correspondiente a todas las partes interesadas con un nivel aceptable de comprensión, la obligación de garantizar la comunicación eficaz con las partes interesadas, cuando realicen análisis científicos y técnicos que de impliquen debidamente al público y a otras partes interesadas en el proceso de análisis de riesgos (FAO y OMS 1998).

#### 4.4.2.2 Industria

La industria es responsable de la calidad e inocuidad de los alimentos que produce, teniendo la responsabilidad de comunicar a los consumidores involucrados de los posibles riesgos existentes. Su participación en todos los aspectos del análisis de riesgos es fundamental para una toma de decisiones eficaz y que pueden constituir una fuente importante de información para la evaluación y gestión de riesgos. Las etiquetas de los alimentos se han utilizado sistemáticamente para comunicar información sobre los ingredientes e instrucciones sobre la manipulación sin que los alimentos tengan para el consumo, es decir que la etiqueta se convierte en dispositivo de comunicación de gestión de riesgos (FAO y OMS 1998).

#### 4.4.2.3 Consumidores y organizaciones de consumidores

El público suele considerar una participación amplia y abierta en el análisis de riesgos como elemento esencial de lo que constituye una protección adecuada de la salud pública. La participación del público en el proceso de análisis de riesgos puede ayudar a garantizar que se tengan en cuenta las preocupaciones de los consumidores (FAO y OMS 1998).

## 4.4.2.4 Universidades e instituciones de investigación

Las universidades y las instituciones de investigación desempeñan un papel importante en el análisis de riesgos aportando sus conocimientos científicos sobre la salud y la inocuidad de los alimentos; ayudando a identificar los peligros. Tienen

un alto nivel de credibilidad ante el público y los medios de comunicación y pueden servir como fuentes independientes de información (FAO y OMS 1998).

#### 4.4.2.5 Medios de comunicación

Los medios de divulgación desempeñan un papel fundamental en la comunicación de riesgos; ya que gran parte de la información que recibe el público sobre los riesgos para la salud relacionados con los alimentos les llega por medio de éstos. Los medios de comunicación pueden limitarse a transmitir un mensaje, o pueden llegar a crearlo o a interpretarlo. No se limitan a las fuentes oficiales de información y sus mensajes muchas veces reflejan las preocupaciones del público y de otros sectores de la sociedad (FAO y OMS 1998).

# 4.4.3 Estrategias para la comunicación de riesgos

La crisis de inocuidad de los alimentos es aquella en que se descubren organismos portadores de enfermedades en un alimento de amplio consumo. No obstante, las estrategias propuestas serán también válidas para otras situaciones de crisis relacionadas con casos de contaminación química o adulteración física de los alimentos (FAO y OMS 1998).

#### 4.4.4 Respuestas de las empresas ante una situación de crisis

Cuando se presenta o se confirma una crisis, las empresas implicadas deberían comprobar que las autoridades públicas conocen perfectamente la causa potencial y alcance del problema y la eficiencia de la posible retirada de productos alimenticios que se encuentran en el mercado. Teniendo en cuenta que lo primero es la seguridad del consumidor antes que las perdidas económicas.

Una empresa debería tomar las siguientes medidas:

 Evaluar el problema poniéndose en el lugar del consumidor. Asumir la responsabilidad de encontrar una solución al problema y proteger y avisar a todos los clientes facilitando al público información en forma clara y razonable.

- Comprobar que las declaraciones de la empresa se canalizan a través de una sola fuente.
- Elegir un líder que esté bien preparado y capacitado para relacionarse con los medios de comunicación. El líder debe tener en cuenta al público, no sólo a la empresa.
- Mantener una comunicación relevante con los medios, teniendo presente que los mensajes deben ser coherentes y actualizarse en el momento en que se reciba nueva información.
- Comunicarse rápidamente y con frecuencia; colaborar con los medios de comunicación; comunicarse con el personal de dentro y de fuera de la empresa que esté ocupándose del problema, en particular los organismos gubernamentales.
- Informar a los empleados de las compañías, sobre todo a los que ocupan cargos de ventas y comercialización, acerca de la evolución de los acontecimientos, de lo que se está haciendo para resolver los problemas y de los mensajes de riesgo que se están transmitiendo.
- Incorporar un mecanismo para poder obtener la opinión de los consumidores, por ejemplo, líneas telefónicas gratuitas para recibir las llamadas de los consumidores.
- Establecer estrategias de retiro del producto "problema" del mercado si fuese necesario hasta el punto que no comprometa la salud del consumidor (FAO y OMS, 1998).

#### **CAPITULO V**

#### **RESULTADOS**

#### Introducción

En el siguiente capitulo se describirán los resultados obtenidos en la determinación de la carga microbiana de canales de res y cerdo, la evaluación de la reducción de la carga microbiana de *E coli y coliformes totales* tratadas con las mezclas de ácidos orgánicos en carne fresca de res inoculada con *E. coli*, mediante un diseño de mezclas y la evaluación de la carga microbiana de la mezcla óptima en canales de res y cerdo de la empresa de "ITALIMENTOS".

## 5.1 Determinación de la carga microbiana inicial en canales de res y cerdo

Se analizó la carga microbiana inicial de: Aerobios mesófilos, *Coliformes totales*, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* de canales de res y cerdo de la empresa "ITALIMENTOS" según la norma NTE INEN 2 346:2006 y NTE INEN 2346:2010. Conjuntamente con la reducción de la carga microbiana inicial aplicando la desinfección con la mezcla ácidos orgánicos formulada por la empresa.

#### 5.1.1 Aerobios mesófilos en canales de res

Se realizó un recuento de Aerobios mesófilos antes y otro después de quince minutos de la desinfección en canales de res.

Crecimiento Aerobios mesófilos (ufc/cm2) en canales de res			Crecimiento mesófilos Log( canales	(ufc/cm2) en	
Muestra	<b>A</b> 1	A2	<b>A</b> 1	A2	
1	3000	600	3,48	2,78	
2	30000	9000	4,48	3,95	
3	1000000	16300	6,00	4,21	
4	4500	2600	3,65	3,41	
5	45000	700	4,65	2,85	
6	170000	8000	5,23	3,90	
7	8000	2400	3,90	3,38	
8	35000	3300	4,54	3,52	
9	140000	53000	5,15	4,72	
10	3000000	10000	6,48	4,00	
11	3700000	38000	6,57	4,58	
12	4500000	7000	6,65	3,85	
13	60000	1000	4,78	3,00	
14	30000	1300	4,48	3,11	
15	630000	8000	5,80	3,90	
16	1000000	31000	6,00	4,49	
A1: Carga	A1: Carga microbiana inicial				
A2: Carga	A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección				

Tabla 2: Carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de res

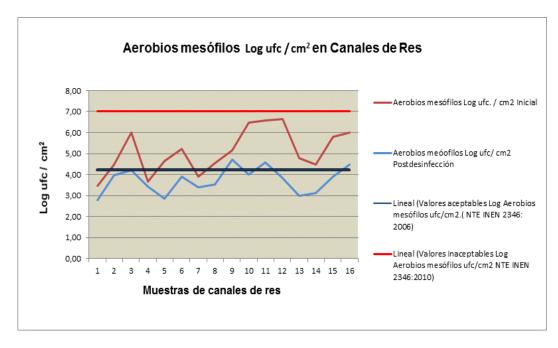


Figura 8: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de res

## 5.1.2 Aerobios mesófilos en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) Aerobios mesófilos en canales de cerdo			Crecimiento Log (ufc/cm²) Aerobios mesófilos en canales de cerdo			
Muestra	<b>A1</b>	A2	<b>A</b> 1	A2		
1	6000	100	3,78	2,00		
2	100	50	2,00	1,70		
3	250000	32000	5,40	4,51		
4	18000	8500	4,26	3,93		
5	1000	500	3,00	2,70		
6	3000	1000	3,48	3,00		
7	4000	100	3,60	2,00		
8	84000	700	4,92	2,85		
9	6000	4000	3,78	3,60		
10	60000	2000	4,78	3,30		
11	320000	20000	5,51	4,30		
12	450000	30000	5,65	4,58		
13	10000	2000	4,00	3,30		
14	30000	3000	4,48	3,48		
A1: Carga microbiana inicial						
A2: Carga	A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

Tabla 3: Carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de cerdo

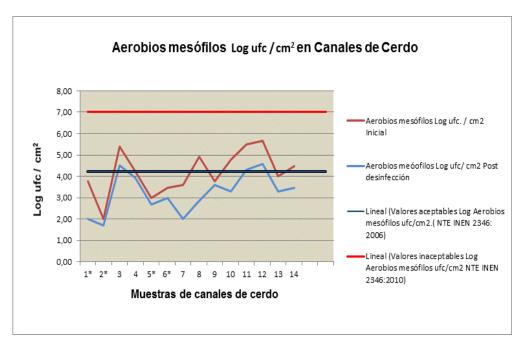


Figura 9: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de cerdo

# 5.1.3 Coliformes totales en canales de res

	o <i>coliformes</i> en canales d	Crecimiento Log (ufc/cm²) coliformes totales en canales de res			
Muestra	<b>A</b> 1	A2	<b>A</b> 1	A2	
1	10	7	1,00	0,85	
2	79	36	1,90	1,56	
3	1000	200	3,00	2,30	
4	520	90	2,72	1,95	
5	300	180	2,48	2,26	
6	270	170	2,43	2,23	
7	610	250	2,79	2,40	
8	480	220	2,68	2,34	
9	1100	99	3,04	2,00	
10	900	70	2,95	1,85	
11	5500	1880	3,74	3,27	
12	410	210	2,61	2,32	
13	510	50	2,71	1,70	
14	5500	760	3,74	2,88	
15	1080	850	3,03	2,93	
16	300	100	2,48	2,00	
A1: Carga microbiana inicial					
A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

Cuadro 4: Carga microbiana de coliformes totales en canales de res

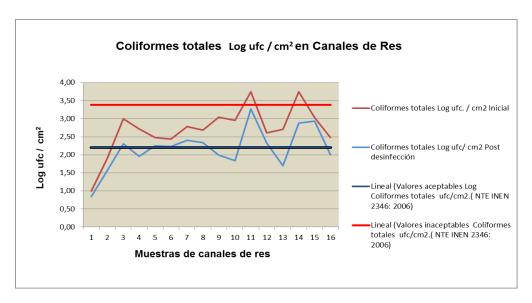


Figura 10: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de coliformes totales en canales de res

## 5.1.4 Coliformes totales en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) coliformes totales en Canales de cerdo			Crecimiento Log (ufc/cm²) coliformes totales en Canales de cerdo			
Muestra	<b>A</b> 1	A2	<b>A</b> 1	A2		
1	0	0	0,00	0,00		
2	0	0	0,00	0,00		
3	820	73	2,91	1,86		
4	109	0	2,04	0,00		
5	100	60	2,00	1,78		
6	80	50	1,90	1,70		
7	180	12	2,26	1,08		
8	210	5,4	2,32	0,73		
9	60	20	1,78	1,30		
10	130	67	2,11	1,83		
11	1000	700	3,00	2,85		
12	2500	1000	3,40	3,00		
13	600	240	2,78	2,38		
14	250	200	2,40	2,30		
A1: Carga microbiana inicial						
A2: Carga	A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

Tabla 5: Carga microbiana de coliformes totales en canales de cerdo

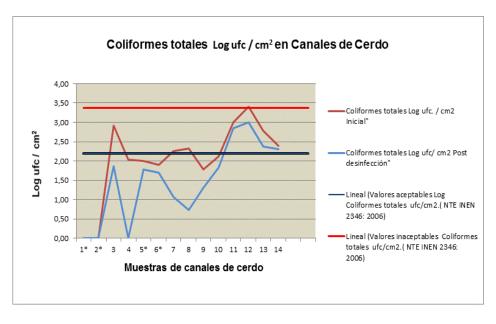


Figura 11: Logaritmo (log) de la carga microbiana de *coliformes totales* en canales de cerdo

## 5.1.5 Eschrichia coli en canales de res

Crecimiento (ufc/cm²) E. coli en canales de res			Crecimiento Log (ufc/cm²) E. coli en canales de res		
Muestra	<b>A</b> 1	A2	<b>A</b> 1	A2	
1	4	3	0,60	0,48	
2	48	10	1,68	1,00	
3	100	25	2,00	1,40	
4	180	46	2,26	1,66	
5	200	76	2,30	1,88	
6	170	13	2,23	1,11	
7	280	120	2,45	2,08	
8	370	130	2,57	2,11	
9	700	58	2,85	1,76	
10	300	60	2,48	1,78	
11	3000	850	3,48	2,93	
12	280	150	2,45	2,18	
13	110	16	2,04	1,20	
14	3200	400	3,51	2,60	
15	470	24	2,67	1,38	
16	140	10	2,15	1,00	
A1: Carga microbiana inicial					
A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

Tabla 6: Carga microbiana de Eschrichia coli en canales de res

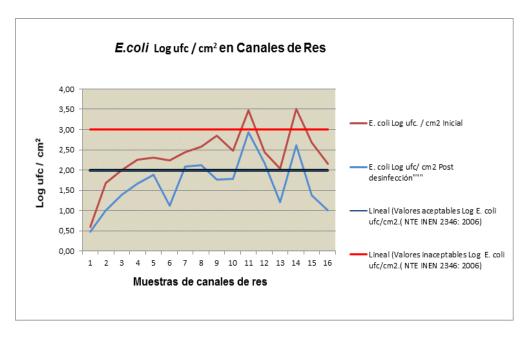


Figura 12: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de E. coli en canales de res

## 5.1.6 Eschrichia coli en canales de cerdo

	o (ufc/cm²) nales de cero		Crecimiento Log (ufc/cm²) <i>E. coli</i> en Canales de cerdo			
Muestra	A1	A2	A1	A2		
1	0	0	0,00	0,00		
2	0	0	0,00	0,00		
3	325	15	2,51	1,18		
4	41	0	1,61	0,00		
5	50	5	1,70	0,70		
6	30	6	1,48	0,78		
7	180	5	2,26	0,70		
8	210	3,7	2,32	0,57		
9	70	8	1,85	0,90		
10	80	13	1,90	1,11		
11	400	250	2,60	2,40		
12	800	280	2,90	2,45		
13	410	130	2,61	2,11		
14	150	100	2,18	2,00		
A1: Carga m	A1: Carga microbiana inicial					
A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección						

Tabla 7: Carga microbiana de Eschrichia coli en canales de cerdo

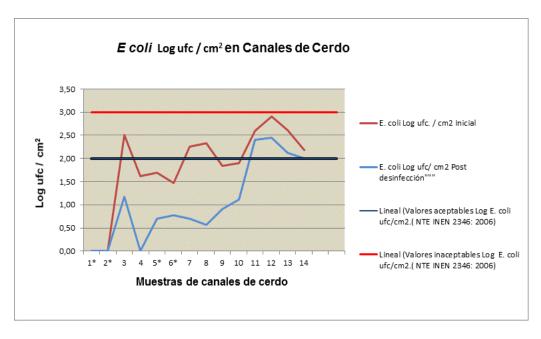


Figura 13: Log de la carga microbiana de E. coli en canales de cerdo

# 5.1.7 Staphylococcus aureus en canales de res

Crecimiento (ufc/cm²)  Staphylococcus aureus en canales de res			Crecimiento Log (ufc/cm²)  Staphylococcus aureus en  canales de res		
Muestra	A1	A2	A1	A2	
1	0,3	0	-0,52	0,00	
2	0	0	0,00	0,00	
3	0	0	0,00	0,00	
4	0,1	0	-1,00	0,00	
5	0,3	0,1	-0,52	-1,00	
6	0,4	0,1	-0,40	-1,00	
7	0,7	0,3	-0,15	-0,52	
8	0,3	0	-0,52	0,00	
9	0,8	0,4	-0,10	-0,40	
10	3,2	0,5	0,51	-0,30	
11	2,7	0,4	0,43	-0,40	
12	3,5	0,9	0,54	-0,05	
13	0,1	0	-1,00	0,00	
14	0,2	0	-0,70	0,00	
15	10,6	0,8	1,03	-0,10	
16	1,3	0	0,11	0,00	
A1: Carga microbiana inicial A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

 Tabla 8: Carga microbiana de Staphylococcus aureus en canales de res

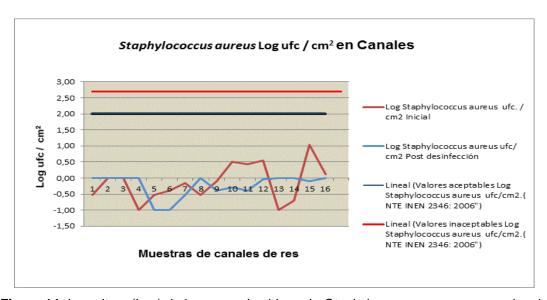


Figura 14: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* en canales de res

# 5.1.8 Staphylococcus aureus en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) Staphylococcus. aureus en canales de cerdo			Crecimiento Log (ufc/cm² Staphylococcus. aureus en canales de cerdo		
Muestra	<b>A</b> 1	A2	<b>A</b> 1	A2	
1	0,2	0	-0,70	0,00	
2	0	0	0,00	0,00	
3	0	0	0,00	0,00	
4	0,5	0,1	-0,30	-1,00	
5	0	0	0,00	0,00	
6	0	0	0,00	0,00	
7	0,2	0,1	-0,70	-1,00	
8	0,2	0	-0,70	0,00	
9	0	0	0,00	0,00	
10	0	0	0,00	0,00	
11	0,5	0,2	-0,30	-0,70	
12	2	0,5	0,30	-0,30	
13	8,4	4,3	0,92	0,63	
14	65	25	1,81	1,40	
A1: Carga microbiana inicial					
A2: Carga microbiana después de 15 minutos de la desinfección					

Tabla 9: Carga microbiana de Staphylococcus aureus en canales de cerdo

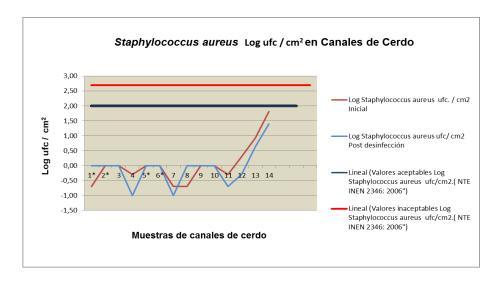


Figura 15: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* en canales de cerdo

# 5.1.9 Reducción porcentual de la carga microbiana inicial después de la desinfección con ácidos orgánicos en canales de res

Después de la desinfección con ácidos orgánicos de la empresa se obtuvo una reducción promedio de la carga microbiana inicial en canales de res de: 87,2% de Aerobios mesófilos; 62,47% de *Coliformes totales*; 73,78% de *E. coli* y el 86.57% de *Staphylococcus aureus* (Tabla 11).

Reducción (ufc/cm²) en Canales de res							
% Reducción de la carga microbiana en canales de res después de la desinfección							
Muestra	Aerobios coliformes Staphylococcus ra Mesófilos totales E. coli aureus						
1	80%	30%	25%	100%			
2	70%	54%	79%	100%			
3	98%	80%	75%	100%			
4	42%	83%	74%	100%			
5	98%	40%	62%	67%			
6	95%	37%	92%	75%			
7	70%	59%	57%	57%			
8	91%	54%	65%	100%			
9	62%	91%	92%	50%			
10	100%	92%	80%	84%			
11	99%	66%	72%	85%			
12	100%	49%	46%	74%			
13	98%	90%	85%	100%			
14	96%	86%	88%	100%			
15	99%	21%	95%	92%			
16	97%	67%	93%	100%			
Promedio	87,20%	62,47%	73,78%	86,57%			

**Tabla 10**: Reducción de la carga microbiana inicial en canales de res después de 15 minutos de la desinfección

# 5.1.10 Reducción porcentual de la carga microbiana inicial después de la desinfección con ácidos orgánicos en canales de cerdo

Después de la desinfección con ácidos orgánicos de la empresa se obtuvo una reducción promedio de la carga microbiana inicial en canales de cerdo de: 77,64%

de Aerobios mesófilos; 67,46% de Coliformes totales; 81,24% de *E. coli* y el 87.52% de *Staphylococcus aureus*.

Reducción (ufc/cm²) en Canales de cerdo							
% Reducción de la carga microbiana en canales de cerdo después de la desinfección							
Muestra	Aerobios mesófilos	Coliformes totales	E. coli	Staphylococcus. Aureus			
1	98%	100%	100%	100%			
2	50%	100%	100%	100%			
3	87%	91%	95%	100%			
4	53%	100%	100%	80%			
5	50%	40%	90%	100%			
6	67%	38%	80%	100%			
7	98%	93%	97%	100%			
8	99%	97%	98%	100%			
9	33%	67%	89%	100%			
10	97%	48%	84%	100%			
11	94%	30%	38%	60%			
12	92%	60%	65%	75%			
13	80%	60%	68%	49%			
14	90%	20%	33%	62%			
Promedio	77,64%	67,46%	81,24%	87,52%			

**Tabla 11**: Reducción de la carga microbiana inicial en canales de cerdo después de 15 minutos

#### 5.2 Diseño de Mezclas

Se realizaron tres ensayos, tanto de los tratamientos positivos (Cuadro, 12), como de los tratamientos aplicados las diferentes mezclas de las sustancias antimicrobianas (Tabla. 13).

Del diseño de mezclas de las sustancias antimicrobianas evaluadas, la mezcla del ácido láctico al 66.7% v/v, lactato de sodio al 16.7% v/v y Tarisol fresh® al 16.7% v/v logró una reducción más significativa en la carga microbiana que las otras mezclas en estudio (Tabla. 15).

#### 5.2.1 Evaluación en los cortes de carne fresca de res

Se realizó el control positivo con el inoculo de *E. coli* (Cuadro 13) y los tratamientos aplicando las diferentes mezclas de las sustancias antimicrobianas (Tabla. 15).

Tratamientos	sin aplicar los	Tratamientos sin aplicar			
orgánicos (uf/	cm <sup>2)</sup>		los ácidos log (ufc/cm²)		
	Coliformes		Coliformes		
Tratamientos	totales	E. Cola	totales	E. cola	
T1	5400000	4100000	6,73	6,61	
T2	4600000	3800000	6,66	6,58	
T3	6300000	5200000	6,80	6,72	
PROMEDIO	5433333,333	4366666,667	6,73	6,64	

Tabla 12: Control positivo de los tratamientos inoculados con Eschrichia coli

MEZCLAS	LACTATO DE SODIO	TARISOL FRESH®	AC. LÁCTICO
1	100%	0	0
2	0	100%	0
3	0	0	100%
4	50%	50%	0
5	0%	50%	50%
6	50%	0%	50%
7	33%	33%	33%
8	16,60%	16,60%	66,60%
9	16,60%	66,60%	16,66%
10	66,60%	16,60%	16,60%

Tabla 13: Diseño de mezclas

E	nsayo 1 UFC	/ cm <sup>2</sup>	Ensayo 2	UFC/ cm <sup>2</sup>	Ensayo 3	UFC/ cm <sup>2</sup>
	Coliformes -		Doliformes-		Doliformes-	
MEZCLAS	totales	E coli	totales	E. cola	totales	E. cola
1	2400000	1500000	2800000	1000000	3000000	2200000
2	2200000	1300000	1800000	1100000	2600000	1900000
3	850000	400000	1200000	900000	850000	200000
4	2800000	1800000	2200000	1400000	2800000	1800000
5	600000	510000	850000	350000	800000	450000
6	2850000	1500000	1500000	700000	950000	350000
7	650000	410000	480000	330000	750000	400000
8	580000	390000	450000	300000	670000	320000
9	2400000	1800000	3200000	1800000	2000000	1200000
10	3000000	1500000	2300000	1700000	3200000	1800000

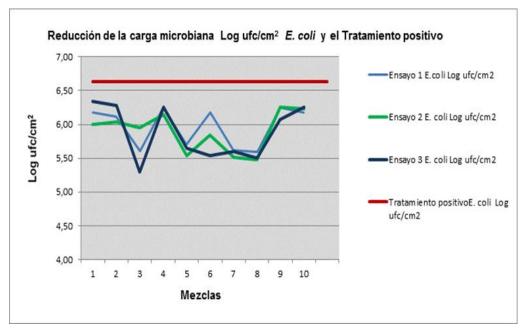
**Tabla 14**: Carga de *Escherichia coli* y *coliformes totales* ufc/cm<sup>2</sup> en carne fresca de res inoculada con *E. coli* aplicada las mezclas de las sustancias antimicrobianas

	ENSAYO 1 Log ufc/		ENSAYO 2 Log ufc/		ENSAYO 3 Log ufc/	
	cm <sup>2</sup>		cm <sup>2</sup>		cm <sup>2</sup>	
						E.
MEZCLAS	Coliformes t.	E. cola	Coliformes t.	E. cola	Coliformes t.	cola
1	6,38	6,18	6,45	6,00	6,48	6,34
2	6,34	6,11	6,26	6,04	6,41	6,28
3	5,93	5,60	6,08	5,95	5,93	5,30
4	6,45	6,26	6,34	6,15	6,45	6,26
5	5,78	5,71	5,93	5,54	5,90	5,65
6	6,45	6,18	6,18	5,85	5,98	5,54
7	5,81	5,61	5,68	5,52	5,88	5,60
8	5,76	5,59	5,65	5,48	5,83	5,51
9	6,38	6,26	6,51	6,26	6,30	6,08
10	6,48	6,18	6,36	6,23	6,51	6,26

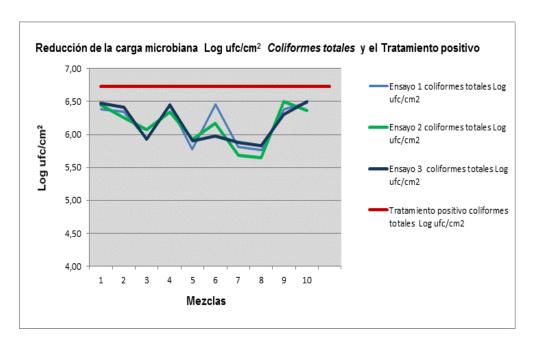
**Tabla 15:** Carga de *Escherichia coli* y Coliformes totales Log ufc/cm<sup>2</sup> en carne fresca de res inoculada con *E. coli* aplicada las mezclas de las sustancias antimicrobianas

Re	Reducción porcentual de la carga microbiana de las diferente mezclas							
	Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3		Promedio	
		%		%		%		
	%	E.	%	E.	%	E.	%	% E.
MEZCLAS	Coliformes	coli	Coliformes	cola	Coliformes	coli	Coliformes	cola
1	55,8	72,4	48,5	77,1	44,8	49,6	49,7	66,4
2	59,5	76,1	66,9	74,8	52,1	56,5	59,5	69,1
3	84,4	92,6	77,9	79,4	84,4	95,4	82,2	89,1
4	48,5	66,9	59,5	67,9	48,5	58,8	52,1	64,5
5	89,0	90,6	84,4	92,0	85,3	89,7	86,2	90,8
6	47,5	72,4	72,4	84,0	82,5	92,0	67,5	82,8
7	88,0	92,5	91,2	92,4	86,2	90,8	88,5	91,9
8	89,3	92,8	91,7	93,1	87,7	92,7	89,6	92,9
9	55,8	66,9	41,1	58,8	63,2	72,5	53,4	66,1
10	44,8	72,4	57,7	61,1	41,1	58,8	47,9	64,1

**Tabla 16:** Reducción porcentual de la carga microbiana en carne fresca de res inoculada con *E. coli* aplicada las mezclas de las sustancias antimicrobianas



**Figura 16:** Reducción de la carga microbiana *Escherichia coli* en carne fresca de res inoculada con *E. coli* aplicada las mezclas de las sustancias antimicrobianas



**Figura 17**: Reducción de la carga microbiana *coliformes totales* en carne fresca de res inoculada con *E. coli* aplicada las mezclas de las sustancias antimicrobianas

#### 5.3 Evaluación en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS"

Se realizó el análisis de la carga microbiana de: Aerobios mesófilos, *Coliformes totales*, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* según la norma NTE INEN 2 346:2006 y NTE INEN 2346:2010, de canales de res y cerdo, con tres repeticiones de cada una, de la empresa "ITALIMENTOS" aplicando la mezcla que resultó la mas eficiente en la reducción de la carga microbiana en el diseño de mezclas (Tabla 16).

#### 5.3.1 Análisis de la carga microbiana en canales de res

Se realizó el recuento de la carga microbiana de canales de res antes y después de la desinfección con la mezcla de los ácidos orgánicos con tres repeticiones de cada una.

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de res							
	Aerobios	coliformes		Staphylococcus			
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	aureus.			
1	12000	600	310	3			
2	6000	350	160	0			
3	29000	120	80	0,6			

Tabla 17: Carga microbiana inicial en canales de res

Crecimiento (Log ufc/cm²) en Canales de res							
	Aerobios	coliformes		Staphylococcus.			
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	Aureus			
1	4,08	2,78	2,49	0,48			
2	3,78	2,54	2,20	0,00			
3	4,46	2,08	1,90	-0,22			

Tabla 18: Log de carga microbiana inicial en canales de res

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de res						
	Aerobios	coliformes			Staphylococcus.	
Muestra	mesófilos	totales	E. cola	7	Aureus	
1	1000	80	)	55	0,1	
2	500	6	5	31	0	
3	600	20	)	10	0	

Tabla 19: Carga microbiana después de una hora de la desinfección en canales de res

Crecimiento Log (ufc/cm²) en Canales de res						
	Aerobios	Coliformes		Staphiloccocus.		
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	aureus		
1	3,00	1,90	1,74	-1,00		
2	2,70	1,81	1,49	0,00		
3	2,78	1,30	1,00	0,00		

Tabla 20: Log de carga microbiana después de una hora de la desinfección en canales de res

Reducción porcentual (ufc/cm²) en Canales de res							
	Aerobios	Coliformes		Staphylococcus.			
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	Aureus			
1	91,67%	86,67%	82,26%	96,67%			
2	91,67%	81,43%	80,63%	100,00%			
3	97,93%	83,33%	87,50%	100,00%			
Promedio	93,75%	83,81%	83,46%	98,89%			

**Tabla 21:** Reducción porcentual de la carga microbiana inicial aplicada la desinfección con la mezcla óptima de las sustancias antimicrobianas en canales de res

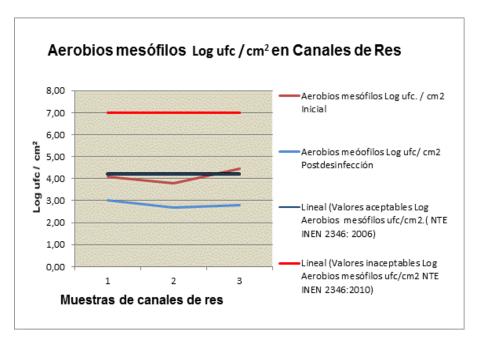


Figura 18: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de res

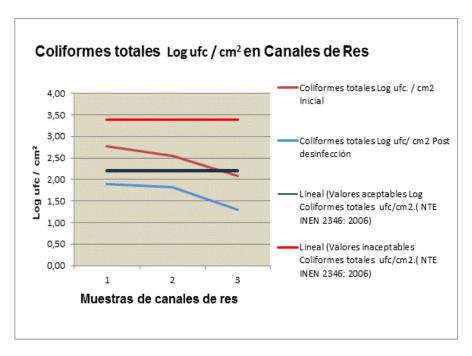


Figura 19: Log de la carga microbiana de coliformes totales en canales de res

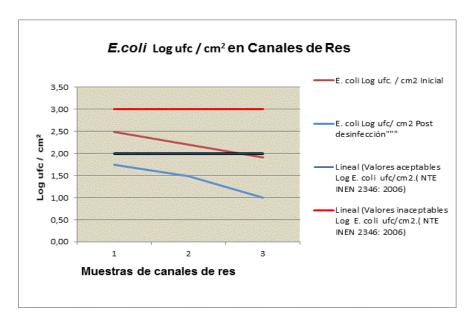
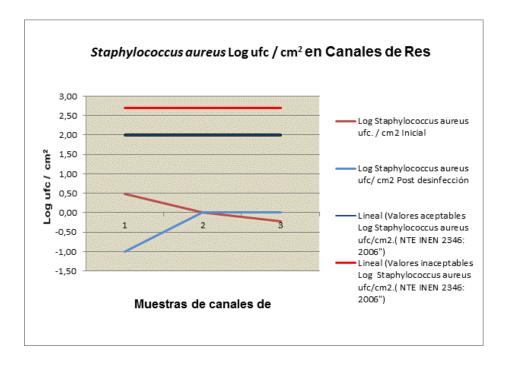


Figura 20: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de E. coli en canales de res



**Figura 21:** Logaritmo (Log) de la carga microbiana *de Staphylococcus aureus* en canales de res

#### 5.3.2 Análisis de la carga microbiana en canales de cerdo

Se realizó el recuento de la carga microbiana de canales de cerdo antes y después de la desinfección con la mezcla de los ácidos orgánicos con tres repeticiones de cada una.

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de cerdo						
	Aerobios	Coliformes		Staphylococcus.		
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	Aureus		
1	33000	260	180	0,1		
2	95000	700	320	0,2		
3	37000	400	150	0,5		

Tabla 22: Carga microbiana inicial en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de cerdo					
	Aerobios	Coliformes		Staphylococcus.	
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	Aureus	
1	4,52	2,41	2,26	-1,00	
2	4,98	2,85	2,51	-0,70	
3	4,57	2,60	2,18	-0,30	

Tabla 23: Logaritmo (Log) de carga microbiana inicial en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de cerdo					
Aerobios Coliformes Staphiloccocus.					
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	aureus	
1	2300	39	25	0	
2	4800	95	43	0	
3	3600	50	15	0,2	

Tabla 24: Carga microbiana después de una hora de la desinfección en canales de cerdo

Crecimiento (ufc/cm²) en Canales de cerdo					
	Aerobios	coliformes		Staphylococcus.	
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	Aureus	
1	3,36	1,59	1,40	0,00	
2	3,68	1,98	1,63	0,00	
3	3,56	1,70	1,18	-0,70	

**Tabla 25:** Log de carga microbiana después de una hora de la desinfección en canales de cerdo

Reducción (ufc/cm²) en Canales de cerdo						
	Aerobios	Coliformes		Staphiloccocus.		
Muestra	mesófilos	totales	E. coli	aureus		
1	93,03%	85,00%	86,11%	100,00%		
2 94,95%		86,43%	86,56%	100,00%		
3	90,27%	87,50%	90,00%	60,00%		
Promedio	92,75%	86,31%	87,56%	86,67%		

**Tabla 26:** Reducción porcentual de la carga microbiana inicial aplicada la desinfección con la mezcla óptima de las sustancias antimicrobianas en canales de cerdo

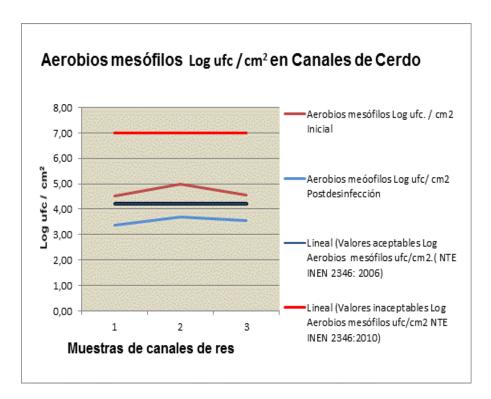


Figura 22: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de Aerobios mesófilos en canales de cerdo

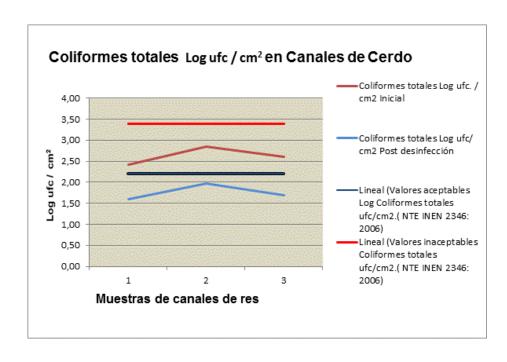


Figura 23: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de coliformes totales en canales de cerdo

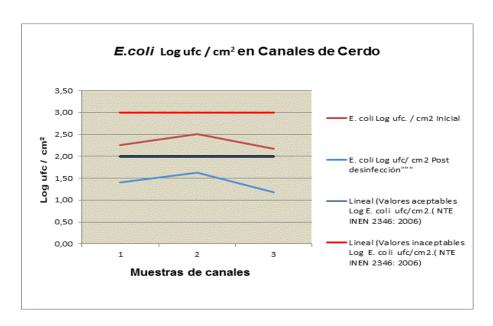
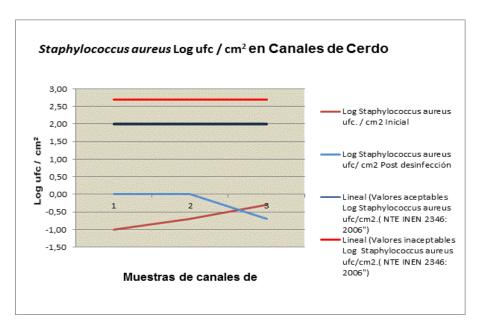


Figura 24: Logaritmo (Log) de la carga microbiana de E. coli en canales de cerdo



**Figura 25:** Logaritmo (Log) de la carga microbiana *de Staphylococcus aureus* en canales de cerdo

\_

#### **CAPITULO VI**

#### DISCUSIÓN

#### Introducción

En este capitulo se discutirá los términos de mayor importancia, referente a este trabajo de investigación.

# 6.1 Determinación de la carga microbiana inicial en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS"

Después de la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos formulados por la empresa "ITALIMENTOS" en canales de res se obtuvo una reducción promedio de la carga microbiana inicial de: 87,2% de Aerobios mesófilos; 62,47% de Coliformes totales; 73,78% de *E. coli* y el 86.57% de *Staphylococcus aureus* (Tabla, 10). De igual manera la reducción promedio de la carga microbiana inicial en canales de cerdo fue de: 77,64% de Aerobios mesófilos; 67,46% de Coliformes totales; 81,24% de *E. coli* y el 87.52% de *Staphylococcus aureus* (Tabla, 11). La reducción de la carga microbiana no fue lo suficiente en el caso de Aerobios mésofilos, *coliformes totales* y *E. coli* por lo que se realizó la optimización de la mezcla antimicrobiana y del proceso de lavado y desinfección de canales de res y cerdo de la empresa "ITALIMENTOS".

#### 6.1.1 Aerobios mesófilos en canales de res

Las muestras de canales de res analizadas no excedieron al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de aerobios mesófilos según la norma: NTE INEN 2346:2010 que presenta un valor 1,0 X 10<sup>7</sup> ufc/cm<sup>2</sup> o en efecto log 7 es decir que no llegan a tener un criterio de rechazo. Sin embargo, el 81% de las muestras presentaron valores superiores al establecido como aceptables según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor de 1,63 X 10<sup>4</sup> ufc/cm<sup>2</sup> o en

efecto log 4,21; por lo que hace necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos, el 75% de las muestra analizadas estuvieron dentro de los valores considerados como aceptables, como se puede observar en la (Figura. 8).

#### 6.1.2 Aerobios mesófilos en canales de cerdo

Las muestras de canales de cerdo al igual que las de res no excedieron al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de aerobios mesófilos según la norma: NTE INEN 2346:2010. Sin embargo, el 50% de las muestras presentaron valores superiores a los establecidos como aceptables según la norma: NTE INEN 2346:2006 por lo que; de igual manera, hace necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos, el 78% de las muestra analizadas estuvieron dentro de los valores considerados como aceptables, como se puede observar en la (Figura. 9).

#### 6.1.3 Coliformes totales en canales de res

El 14% de las muestras de canales de res analizadas presentaron valores superiores al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de *coliformes totales* según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor 2,4 X 10³ ufc/cm² o en efecto log 3,38 y el 71% de las muestras presentaron valores superiores al establecido como aceptable según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor de 1,6 X 10² ufc/cm² o en efecto log 2,2; por lo que es sumamente necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; las muestras analizadas no presentaron valores superiores al valor considerado como nivel de rechazo; sin embargo el 64% de la muestras excedieron al valor considerado como aceptable, como se puede observar en la (Figura. 10).

#### 6.1.4 Coliformes totales en canales de cerdo

El 7% de las muestras de canales de cerdo analizadas presentaron valores superiores al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial

de *coliformes totales* según la norma: NTE INEN 2346:2006 y el 50% presentaron valores superiores al establecido como aceptable según esta norma por lo que; de igual manera, es sumamente necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; las muestras analizadas no presentaron valores superiores al valor considerado como nivel de rechazo; sin embargo el 28% de la muestras excedieron a valores considerados como aceptables, como se puede observar en la (Figura. 11).

#### 6.1.5 Eschirichia coli en canales de res

El 14% de las muestras de canales de res analizadas presentaron valores superiores al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de *E. coli* según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor 1,0 X 10<sup>3</sup> ufc/cm² o en efecto log 3 y el 71% de las muestras presentaron valores superiores al establecido como aceptable según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor de 1,0 X 10² ufc/cm² o en efecto log 2; en consecuencia, es similar a la carga microbiana de *coliformes totales*; y de igual madera, es sumamente necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; las muestras analizadas no presentaron valores superiores al valor establecido como nivel de rechazo; sin embargo el 35% de la muestras excedieron al valor considerado como aceptable, como se puede observar en el (Figura. 12).

#### 6.1.6 Escherichia coli en cales de cerdo

Las muestras de canales de cerdo analizadas no excedieron al valor considerado como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de *E. coli* según la norma: NTE INEN 2346:2006; sin embargo, el 50% presentaron valores superiores al establecido como aceptable según esta norma por lo que; de igual manera, hace necesario disminuir la carga microbiana. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; el 28% de la muestras excedieron al valor considerado como aceptable, como se puede observar en la (Figura. 13).

#### 6.1.7 Staphylococcus aureus en cales de res

Las muestras de canales de res analizadas no excedieron al valor establecido como nivel de rechazo de la carga microbiana inicial de *Staphylococcus aureus* según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor de 5,0 X 10<sup>2</sup> ufc/cm<sup>2</sup> o en efecto log 2,7; tampoco presentaron valores superiores a los establecidos como aceptables según la norma: NTE INEN 2346:2006 que tiene un valor de 1,0 X 10<sup>2</sup> ufc/cm<sup>2</sup> o en efecto log 2. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; las muestras analizadas presentaron valores menores a la carga microbiana inicial; y algunas muestras analizadas presentaron valores de cero (Figura. 14).

#### 6.1.8 Staphylococcus aureus en cales de cerdo

De igual manera que en las muestras de canales de res, las muestras analizadas de canales de cerdo no presentaron valores superiores al criterio de rechazo de la carga microbiana inicial de *Staphylococcus aureus* según la norma: NTE INEN 2346:2006 y tampoco presentaron valores superiores al establecido como aceptables según esta norma. Después de quince minutos de aplicar la desinfección con la mezcla de ácidos orgánicos; del mismo modo las muestras analizadas presentaron valores menores a la carga microbiana inicial y algunas muestras analizadas presentaron valor de cero (Figura. 15).

#### 6.2 Diseño de Mezclas

## 6.2.1 Evaluación de las mezclas antimicrobianas en los cortes de carne fresca de res

Los tratamientos positivos inoculados con *E. coli* en cortes de carne de res fueron significativamente diferentes, ya que presentaron una carga microbiana de *E. coli* y a su vez de *coliformes totales* mayor con respecto a los tratamientos que contenían las mezclas de las sustancias antimicrobianas (Tabla. 11)

Los tratamientos con las diferentes mezclas tuvieron una clara diferencia (Figura. 15; 16). Con el control positivo; ya que, hubo un efecto inmediato en la reducción de

la carga microbiana. Resultando la mezcla Nº 8 (Cuadro. 13) la que tuvo una mayor eficiencia en la reducción bacteriana con un porcentaje de reducción frente a los tratamientos positivos de: 89.6% de Coliformes totales y 92% de *E coli* (Tabla. 16).

#### 6.3 Evaluación en canales de res y cerdo en la empresa "ITALIMENTOS"

Después de la desinfección con la mezcla optimizada de ácidos orgánicos en canales de res se obtuvo una reducción promedio de la carga microbiana inicial de: 93.75% de Aerobios mesófilos; 83.81% de Coliformes totales; 83.46% de E. coli y el 98.89% de Staphylococcus aureus (Tabla 21). De igual manera la reducción promedio de la carga microbiana inicial en canales de cerdo fue de: 92.75% de Aerobios mesófilos; 86.31% de Coliformes totales; 87.56% de E. coli y el 86.67% de Staphylococcus aureus (Tabla 26). La reducción de la carga microbiana tanto en canales de res y cerdo fue mucho mayor a la realizada con la mezcla utilizada por la empresa. La carga microbiana inicial de Aerobios mésofilos, Coliformes totales y E. coli fue mucho menor que la analizada anteriormente, debido al control del proceso de Lavado y Desinfección de canales (POES). Estas no presentaron valores que exceden a los considerados como nivel de rechazo y después de la desinfección con la nueva mezcla antimicrobiana la carga microbiana presentó valores que están dentro de los valores considerados como aceptables según la NTE INEN 2346:2010 y la norma: NTE INEN 2346:2006. norma:

#### **CONCLUSIONES**

El desarrollo del presente trabajo condujo a las siguientes conclusiones:

- La carga microbiana inicial de las canales de carne de res y cerdo fue elevada según la norma NTE INEN 2346:2006, NTE INEN 2346:2010, por lo que hizo necesario la optimización de la desinfección con las sustancias antimicrobianas.
- La mezcla de las sustancias antimicrobianas al 2.5% v/v: Ácido láctico 66,5% v/v; Tarisol fresh® 16.6% v/v y Lactato de sodio 16.6% v/v logró la mayor reducción de la carga microbiana con respecto al control positivo en la carne fresca de res inoculada con *E. coli*.
- La carga microbiana: Aerobios mésofilos, coliformes totales, E. coli y Staphylococcus aureus de canales de res y cerdo aplicadas la desinfección con la mezcla optimizada y mejorando el control del proceso estándar de sanitización (POES) presentó valores considerados como aceptables según la norma NTE INEN 2346:2006 y NTE INEN 2346:2010. A demás, utilizando esta mezcla no se observó variación en el color de la superficie de las canales de carne.
- En la empresa "ITALIMENTOS" se estima que el proceso de desinfección con ácidos orgánicos de las canales de carne de res y cerdo, que son utilizadas como materia prima en la elaboración de productos cárnicos; disminuye los riesgos para el consumidor, ya que la carga microbiana de esta materia prima cumple con los requisitos microbiológicos según la norma: NTE INEN: 2346:2006 y NTE INEN 2346:2010.

#### **RECOMENDACIONES**

- Buscar una forma de automatizar el proceso de lavado y desinfección de canales de carne de res y cerdo.
- Evaluar el efecto de la mezcla antimicrobiana utilizada en la desinfección en la textura de la superficie de las canales de res y cerdo.
- Realizar un análisis sensorial a las canales tratadas con la mezcla antimicrobiana.
- Implementar un programa de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en ingles). Para identificar, eliminar o reducir a un nivel aceptable cualquier peligro físico, químico o microbiológico identificado en los ingredientes, procesos o productos en elaboración.

#### **BIBLIOGRAFIA**

#### Referencia bibliográfica

- ADAMS, M. y M.O. Moss, (2005), Microbiología de los alimentos, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). Pág. 195-276.
- BADUI, S. (2006). Química de los Alimentos, 2da Edición. Editorial Pearson Addison Wesley: México. Pág. 150-165
- BOLLING, B.W., SCHMIDT, D.J. Y INGHAM, S.C. (2002), Development of a Simple Method for Detecting Presumptive Escherichia coli on Fresh Retail Beef. Journal of Food Science, 67: 258–261.
- BYRNE, D. (2001) Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 21.6.2001,
   Muestreo Bacteriológico de las Canales (bovinas, porcinas, ovinas, caprinas y equinas) en los mataderos. Bruselas, 8 de junio 2001, 165: 49-53
- CAC/GL 62 (2007). Principios Prácticos sobre el Análisis de Riegos para la inocuidad de los Alimentos Aplicables por los Gobiernos.
- Cazar, M.E. (2006). Fungicidas y Bactericidas de Microorganismos de Suelo. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias, Mención Investigación y Desarrollo de Productos Naturales. Universidad de Talca, Chile.
- CARRASCO, MARÍA. (2009). Evaluación de Desinfectantes para Materia
   Prima Cárnica y para superficies en la empresa de "Embutidos La Italiana".

Tesis para obtener el Grado de Bioquímico Farmacéutico; Universidad de Cuenca; Facultad de Ciencias Químicas; Ecuador.

- CHUNG, M.S., J.H. LEE y D.B. MIN. (2002). Effects of Pseudomonas putrefaciens and *Acinetobacter spp*. on the flavor quality of raw ground beef.
   Journal of Food Science; 67:77-83.
- FAO/OMS. (2007). Análisis de riesgos relativos ala inocuidad de los Alimentos. Estudio FAO Alimentación y nutrición 87.
- FAO, (2009). Núcleo de capacitaciones de Políticas Publicas; Curso de Manipulación higiénica de los Alimentos; Abril – Junio 2009.
- LÓPEZ, R. Y A. CASP, (2004). Tecnología de Mataderos. Editorial Mundi-Prensa S.A. México. Pág. 362- 365
- MONTGOMERY, D. (2003). Diseño y Análisis de Experimentos; Universidad Estatal de Arizona; Editorial Limusa; S.A. Pág. 65-75
- PASCUAL, D. Y CALDERÓN, V. (2000). Microbiología Alimentaria, Metodología para Alimentos Y Bebidas. Editorial Díaz Santos; S.A. Pág. 125-135
- STOPFORTH J; SAMELIS, J; SOFOS, J; KEMDALL, P; SMITH, G. 2003.
   Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monoytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in beef carcass wash water and other model equipment surfaces. Journal of food microbiology. 20: 651-660.

#### Referncias electrónicas

- ALONSO A; CAICEDO H; MOJICA B Y RODRÍGUEZ C. Uso de Desinfectantes; Secretaría Distrital de Salud de Bogotá; Primera Edición; Colombia, disponible en: <a href="www.saludcapital.gov.com">www.saludcapital.gov.com</a> Consulta: septiembre 2011
- Codex Alimentarius; (1997). Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas
   Alimentarias; Décima Edición disponible en
   http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s00.htm Consulta: Abril 2012.
- EICHENBERGER, C., K. HOOVER, A. JOHNSEN Y J. MENK. 2006. Sheep Processing Start to Finish. University of Purdue, Animal Sciences Department; disponible en:

http://ag.ansc.purdue.edu/sheep/ansc442/Semprojs/2004/process/index.htm.

Consulta: Septiembre 2011

- FAO; OMS (1998) Aplicación de la comunicación de riesgos de las normas alimentarias y a las cuestiones relacionadas con la de los alimentos. disponible en <a href="mailto:ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/x1271s/x1271s00.pdf">ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/x1271s/x1271s00.pdf</a> Consulta: Marzo 2012
- FAO/OMS. 1999. Recommended international code of practice: general principles of food hygiene. CAC/RCP.1. Rome; disponible en: http://www.fao.org/codex/standard/en/CXP\_001e.pdf Consulta: Abril 2012

 FAO/OMS. (2001). Codex Alimentarius Commission - Procedural manual -12th Edition. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome; disponible:

http://www.fao.org/DOCREP/005/Y2200E/y2200e00.htm#Contents.

Consulta: Abril 2012.

 FAO/OMS. 2004. Draft code of hygienic practice for meat. In Report of the 10th Session of the Codex Committee on Meat Hygiene. Alinorm 04/27/16. Rome; disponible en: <a href="http://www.fao.org/codex/Alinorm04/AL04\_16e.pdf">http://www.fao.org/codex/Alinorm04/AL04\_16e.pdf</a>

Consulta: Abril 2012.

 Forrest, J. (2006). Meat Spoilage, Meat Safety and Quality. University of Purdue, Animal Sciences Department, disponible en:

http://ag.ansc.purdue.edu/meat\_quality/spoiled\_meat.html Consulta: Octubre 2011

- GONZÁLEZ L.; MARTÍNEZ F., ROSSI L., TORNESE M. y ALCIDES T. Enfermedades transmitidas por los alimentos: Análisis del riesgo microbiológico; Universidad de Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <a href="http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182010000700004&script=sci\_a">http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182010000700004&script=sci\_a</a>
   rttext Consulta: Marzo 2012
- JUTZI, Samuel, (2004); Aplicaciones de los Análisis de riegos en el sector cárnico; disponible en <a href="ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/y5454s/y5454s00.pdf">ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/y5454s/y5454s00.pdf</a>
   Consulta: Marzo 2012
- OJEDA, Cyntia. (2009). Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de Microorganismos Aerobios mesófilos, Coliformes Totales y Fecales en canales de bovinos". Tesis para obtener el título de grado en Ingeniera en Alimentos. Escuela superior politécnica del Litoral; Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la producción. Ecuador; disponible en:

http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10312/1/D-42164.pdf

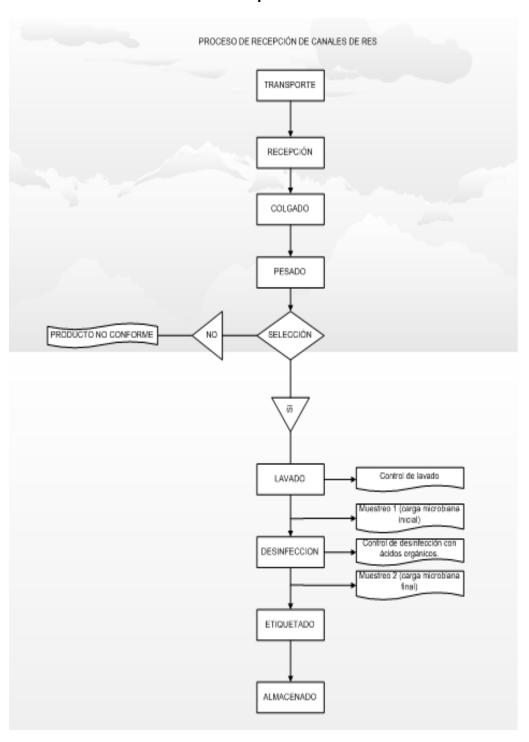
Consulta: Octubre 2011

 RODRÍGUEZ, J. (2005). El uso de lactatos en el control de productos cárnicos. Eroski Consumer. España. Disponible en <a href="http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/ciencia-y-tecnologia/2005/09/07/19918.php">http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/ciencia-y-tecnologia/2005/09/07/19918.php</a> Consulta: Agosto 2011

#### **ANEXOS**

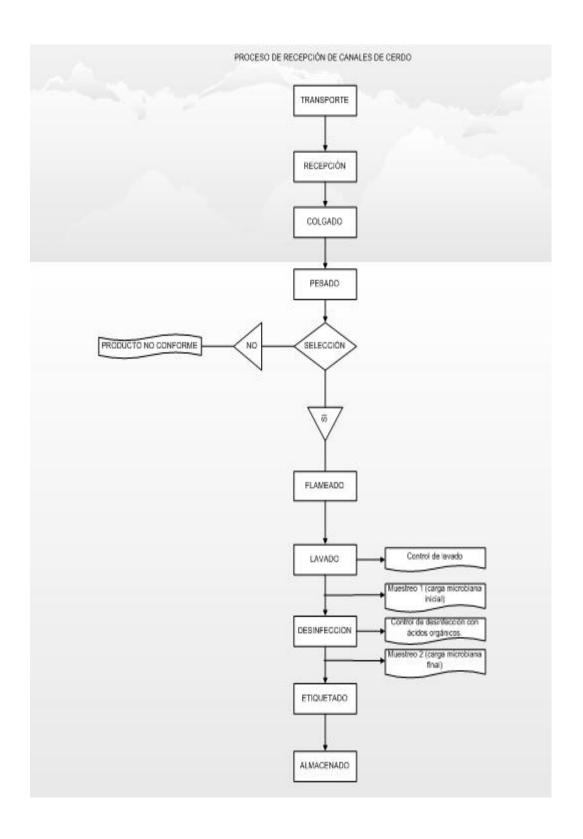
Anexo A-1

Proceso de recepción de canales de res



Anexo A-2

Proceso de recepción de canales de cerdo



# NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 346:2006 CARNE FRESCA Y MENUDENCIAS COMESTIBLES FRESCAS. REQUSITOS

#### Requisitos microbiológicos para la carne fresca

	N	С	М	М	Método
Aerobios mesófilos					
ufc/*	5	0	1,63 x 10 <sup>4</sup>		NTE INEN 1529-5
Coliformes totales NPM	5	0	1,6 x 10 <sup>2</sup>	$2,4 \times 10^3$	NTE INEN 1529-6
Escherichia coli					
ufc/*	5	2	1,0 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>	NTE INEN 1529-8
Stapilococcus aureus					
ufc/*	5	1	1,0 x 10 <sup>2</sup>	5,0 x 10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-14
Clostridium sulfito reductor					
ufc/ *	5	1	3,0 x 10 <sup>1</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-18
Salmonella /25*	5	0	ausencia		NTE INEN 1529-15
* Carne:		ufc/g		NMP/g	
Aves:		ufc/cm <sup>3</sup>		NMP/cm <sup>3</sup>	
Carne analizada en el matadero:		ufc/cm <sup>2</sup>		NMP/cm <sup>2</sup>	

#### NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 346:2010

### CARNE Y MENUDENCIAS COMESTIBLES DE ANIMALES DE ABASTO. REQUSITOS

### Requisitos microbiológicos para la carne, aves y sus menudencias comestibles

	n	С	М	М	Método
Aerobios mesófilos					
ufc/g	5	3	1,0 x 10 <sup>6</sup>	$1.0 \times 10^7$	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli					
ufc/g	5	2	1,0 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>	NTE INEN 1529-8
Stapilococcus aureus					
ufc/g	5	1	$1.0 \times 10^{2}$	$5.0 \times 10^2$	NTE INEN 1529-14
Clostridium sulfito redactor					
ufc/g	5	1	$3.0 \times 10^3$	1,0 x 10 <sup>2</sup>	NTE INEN 1529-18
Salmonella /25g	5	0	ausencia		NTE INEN 1529-15

#### Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

#### Muestreo

El muestreo a nivel de plantas de faenamiento (mataderos) de realizarse en canales, con el método del hisopado, en un área mínima de 100 cm², en tres puntos.

Anexo A-5
MLITERY STANDARD

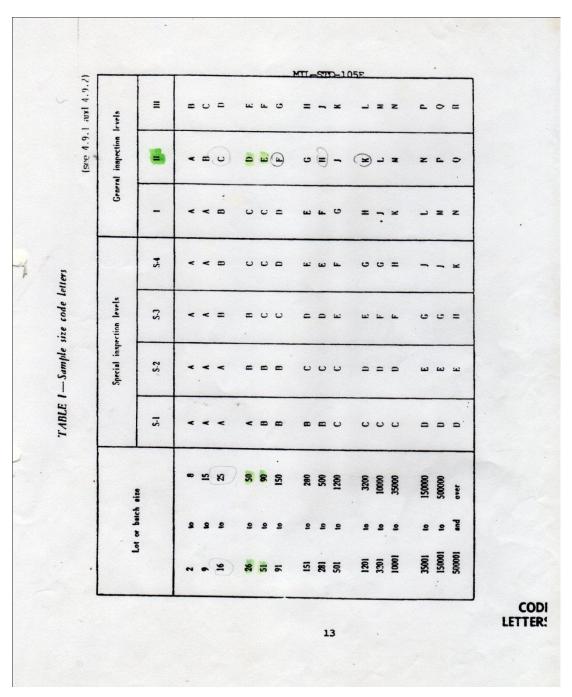


TABLE 11-C—Single sampling plans for reduced inspection (Master table) (see 4.9.3 and 4.9.4)	MII—SID—105E  MI
SINGLE	] # # E

#### Ficha técnica del ácido láctico



Especificación Técnica PGQ-26 Revisión 3-2 EPF-03 05/12/03

#### PURAC® FCC 85

Descripción PURAC\* FCC 85 es el Ácido Láctico Natural L(+), que es producido por fermentación

del azúcar de caña. Tiene un sabor suave y es largamente utilizado como acidificante

en la industria alimenticia.

Especificación Producto Ácido Láctico

Presentación Liquido siruposo, limpido y libre de

material en suspensión máx. 50

Color Fresca (APHA) Color después 06 méses (APHA) máx. 50 Pureza Estereoquímica L(+) min. 95% Concentración 84,5-85,5% Peso espec5ifico a 20°C 1,19-1,21 g/ml Sabor

Acido y característico Característico y agradable Olor Cenizas Sulfatadas máx. 0,1% máx. 10 ppm máx. 10 ppm Metales Pesados Totales

Hierro Arsénico máx. 1 ppm máx. 20 ppm máx. 10 ppm Calclo Cloruro Sulfato máx. 20 ppm Azúcares reductores Pasa teste FCC

FCC, JSFA, EUSFA ( no para Cumple con

concentración)

23/00 del ANVISA

Propiedades

físicas y químicas Fórmula Molecular сн,снонсоон

Peso Molecular 90.08

Nomenclatura ácido-2-hidroxi propanóico

Registros

Embalaje

Ministerio Brasileño de la Salud exento en conformidad con resolución

EEC - aditivo alimentario E270 Mercosur – aditivo alimentario INS 270 CAS-Nr. 79-33-4 EC-Nr. 201-196-2 Ministerio Brasileño de la Agricultura / AUP 2389/2002

DIPOA

Bidones de polietileno de 60 Kg líquido.

Tambores de polletileno de 255 Kg liquido.



Especificación Técnica PGQ-26 Revisión 3-2 EPF-03 05/12/035

Fecha de validez

2 аñоs

Seguridad y Manejo

Toxicidad

Adecuado para consumo humano, considerado por el FDA (Food and Drug Administration -USA) como producto GRAS (Generally Recognized as Safe).

Almacenaje

Producto estable bajo condiciones normales de almacenaje. Almacenar en contenedor de acero inoxidable 316, acero revestido, fibra de vidrio o poliefileno. Si es almacenado por un periodo de tiempo prolongado en su forma

concentrada puede ocurrir aumento del color.

Manejo

El operador debe observar las normas usuales de seguridad.

Seguridad

La solución concentrada del ácido láctico es poco corrosiva, pero irritante y puede causar quemaduras. Evitar contacto con ropa, plei y ojos. En caso de contacto con la piel, lavar el área afectada con agua. En caso de contacto con los ojos, lavarios con agua abundante por un minimo de 15 minutos y buscar

asistencia médica en caso de que la irritación permanezca.

Principales aplicaciones

Como acidificante, regulador del pH y potencializador de sabores en los rubros de carameios, vinos, coolers, jugos y gaseosas, cervezas, carnes y embutidos, bizcochos, quesería en general, margarinas, salsas, mayonesa, dulces, productos de frutas, helados y postres, yogures, pastas y rellenos de pastas frescas. Como agente conservante y para desinfección en productos cárnicos, embutidos, pescado, conservas vegetales y conservas de huevos de

codorniz.

Otras aplicaciones

Cosméticos, protección de superficies, tabacaleras, curtiembres, resinas, refinación de aceite de soja, textiles, e intermediario químico en la producción de

derivados del ácido láctico.

Observación

El producto, en su forma comercial, no es recomendable para aplicaciones en

soluciones invectables farmacéuticas.

#### Ficha técnica del Lactato de sodio



Especificación Técnica POC-26 Revisión: 0 EPF-24 22/03/2004

#### PURASAL Opti.Form SD 4

Descripción PURASAL Opti.Form SD 4 es basado en lactato de sodio, el sal sódico

del ácido L(+) láctico, o cual é producido via fermentación del azúcar de cana. Tiene sabor salino suave, buenas propiedades anti microbianas y pH neutro. PURASAL Opti. Form SD 4 es una formulación de L-lactato de

sodio, acetato de sodio e ácido acético grado alimenticio.

Especificación Producto L-Lactato de sodlo, acetato de sodlo e ácido acético

 Aspecto
 Liquido viscoso

 Color
 Máx. 50 apha

 Contenido de sodio
 11,3 – 13,0%

 Concentración de lactato de sodio
 54,5 – 57,5 (% p/p)

 Concentración de acetato de sodio
 4,3 – 5,0 (% p/p)

pH (directo) 6,0-8,0 pH (16,7g do producto + 83,3g de agua) 5,0-7,0 Calcio Máx. 20 ppm

| Cloruro | Máx. 20 ppm | Máx. 50 ppm | Hierro | Máx. 10 ppm | Metales pesados totales | Máx. 10 ppm | Méx. 10 ppm

Propiedades Fórmula molecular CH3CHOHCOONa (lactato de

sodio)

físicas y químicas CH3COONa (acetato de

sodio) CH<sub>3</sub>COOH (ácido acético)

Nomenciatura 2 hidroxi-propionato de sodio

( lactato de sodio)

Etanoato de sodio (acetato de

sodio)

Acido etanoico ( acido

acético)

Registros Ministerio Brasileño de la Salud exento en conformidad con resolución 23/00 del ANVISA

EEC – aditivo alimenticio E 325 – lactato de sodio E 262(I) – acetato de sodio E 260 – âcido acético CAS – Nr. 867-56-1 – lactato de sodio

127-09-3 – acetato de sodio 64-19-7 – ácido acético

Mercosul – aditivo alimenticio INS 325 – lactato de sodio

INS 262(I) – acetato de sodio INS 260 – ácido acético



Especificación Técnica PGQ-26 Revisión: 0 EPF-24 22/03/2004

Ministerio Brasileño de la Agricultura AUP 933/2003 Registros

Embalaje

Bidones del polletileno de 25 Kg liquido Tambores del polietileno de 275 Kg líquido

Fecha de validez

2 años

Seguridad y Manejo

Toxicidad Propio para consumo humano, considerado pela FDA (Food and Drug

Administration -USA) como producto GRAS (Generally Recognized as

Safe).

Almacenaje Producto estable bajo condiciones normales, habiendo aumento de cor

cuándo es almacenado por períodos prolongados. Debe ser almacenado

en recipientes de acero inoxidable 316, polletileno o fibra de vidrio.

Manejo O Operador debe observar as normas usuales de seguridad.

Seguridad O producto pode causar irritación e por tanto evitar contacto con ropa,

piel y ojos. En caso de contacto con la piel, lavar el área afectada con agua. En caso de contacto con los ojos, lavarlos con agua abundante por un mínimo 15 minutos y buscar asistencia médica en caso de que la

irritación permanezca.

Principales El PURASAL Opti. Form es utilizado como regulador de la acidez, aplicaciones

antioxidante, y humectante en productos cárnicos y pescados que requieren aumento de la vida de almacenaje y aumento de seguridad microbiológica, especialmente con relación a los patógenos. El producto tiene una óptima capacidad para controlar e bajar la carga microbiana, mostrando de forma blen acentuada, bastante activo para evitar la

temeridad del Listeria monocitogenes

Otras aplicaciones Utilizado en alimentos perecibles de forma general que requieren un

aumento en la vida de almacenaje.

Anexo A- 8
Ficha técnica Tarisol fresh®

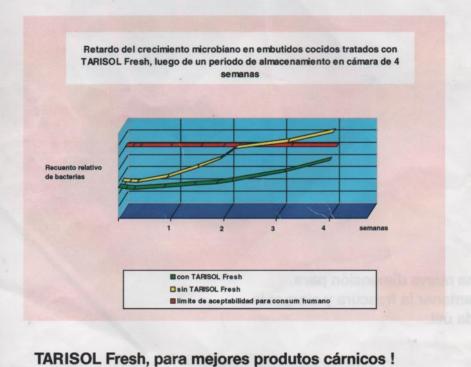




### Retarda el crecimiento microbiano en embutidos cocidos después de un periodo de almacenamiento de 4 semanas

En una serie de pruebas realizadas con embutidos cocidos tratados con TARISOL Fresh, se comprobó que mantenían su aptitud y apariencia fresca después de 4 semanas de almacenamiento, mientras que los embutidos sin tratamiento excedian el límite de aceptabilidad para el consumo humano después de 2 semanas.

El crecimiento de bacterias patógenas ( Salmonella, E. Coli, Listeria ) también se retardó en los embutidos tratados con TARISOL Fresh.





### Aspectos microbiológicos y riesgos de higiene durante la fabricación de productos cárnicos

La calidad final de un producto cárnico depende de varios aspectos: la calidad de la materia prima, la tecnología de procesamiento adecuada y la utilización de los ingredientes correctos.

La calidad higiénica de la carne juega un papel fundamental sobre la retención del aspecto apetitoso, el sabor y la frescura de los productos cárnicos sometidos a tiempos de almacenamiento de varias semanas.

Si las condiciones de higiene, procesamiento y conservación no son la más adecuadas (tratamiento térmico,condiciones de enfriamiento, cadena de frío durante el transporte y almacenamiento), se produce un rápido desarrollo de bacterias provocando la descomposición del producto cárnico en corto tiempo.

Este problema se agrava considerando que entre las bacterias que se desarrollan, también pueden estar presentes aquellas que son causantes de toxi-infecciones tales como Salmonella, E. Coli, Staphylococos y Listeria, con el consiguiente riesgo para el consumidor.

Las grandes cadenas de distribución exigen cada vez más que los productos cárnicos tengan fechas de vencimiento lo más dilatadas posibles, siempre y cuando se garantice el mantenimiento de las propiedades específicas del producto: frescura, color y sabor

El transporte a larga distancia también requiere de periodos de aptitud más largos. A menudo éste requerimiento solo se puede lograr a costa de grandes inversiones y extremas medidas de higiene.

TARI ofrece ahora una nueva dimensión en cuanto a la retención del sabor fresco y la prolongación de la vida útil.

#### TARISOL Fresh

#### El camino natural hacia la mejora de los productos cárnicos

TARISOL Fresh es una especialidad recientemente desarrollada para la adición directa a toda la clase de embutidos. TARISOL Fresh es una combinación armoniosa de ácidos alimenticios y esencias específicas de especias con un elevado poder antibacteriano y antioxidante.

Incluso aplicando dosis mínimas del orden de 0,1 - 0,5 % (respecto a la masa total).

#### TARISOL Fresh:

- mantiene por más tiempo el aroma atractivo y fresco y mejora el sabor de los embutidos tanto frescos como cocidos;
- asegura un color de curado intenso y estable;
- alarga la vida útil de los embutidos gracias a la mejora de las condiciones higiénicas y al retardar el crecimiento microbiano;
- retarda el enranciamiento de las grasas presentes en los productos cárnicos

ITALIMENTOS CIA LTDA RUC 0190340449001 VIA PATAMARCA CUENCA Ecuador



Página 1 / 1

#### Certificate of Conformity

Producto

TARISOL

FRESH

Tipo No. de lote Especificación

1-16396-56 C03559 - 16

Fecha de fabricación Cantidad

06/2011 4.200,000 KG

No. de orden Entrega Ref. del cliente 870550 / 1000 20945924 / 900001

XBE/BRD/G Descripcion soluble en agua Solubilidad 10,5 Total acidity (as acetic acid) max. 2 ppm Arsenico (As) Lead (Pb) max. 2 ppm max. 1 ppm Mercury (Hg) (Cd) max. 1 ppm Cadmium Heavy metals (as Pb) pH-value (20 deg.C) 1,7

Los aditivos alimentarios cumplen con los estándares/criterios de pureza para los aditivos alimentarios definidos por el JECFA emitidos por la FAO/OMS, direvctivas de la CEE y FCC.

Fecha de caducidad 06/2013

Ludwigshafen/Ladenburg

17.06.2011 Control de Calidad Sabine Krause

The certificate is generated by EDP and is valid without signature.