

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la  
Producción.**

**“Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de  
microorganismos Aerobios mesófilos y, Coliformes Totales y  
Fecales en canales de bovinos”**

**INFORME DE TRABAJO PROFESIONAL**

Previo la obtención del Título de:

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

Presentado por:

Cynthia Patricia Ojeda Juanazo

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

Año: 2009

## **AGRADECIMIENTO**

A todas las personas que colaboraron en la realización de este trabajo y especialmente a la Ing. Grace Vásquez, Directora de Informe, por su invaluable ayuda.

## **DEDICATORIA**

A MIS PADRES

Y ESOSO.

## **TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

---

Ing. Francisco Andrade S.  
DECANO DE LA FIMCP  
PRESIDENTE

---

Ing. Grace Vásquez V.  
DIRECTORA DE TESIS

---

MSc. María Fernanda Morales R.  
VOCAL PRINCIPAL

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido de este Informe Profesional, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

---

Cynthia Patricia Ojeda Juanazo.

## RESUMEN

El presente informe reporta el comportamiento de la carga microbiana en canales bovinas, las cuales fueron sometidas a un proceso de desinfección con ácidos orgánicos, con el fin de reducir la población de bacterias patógenas, causantes del deterioro de la carne y .de enfermedades en los consumidores.

En la primera parte de este trabajo, se analizan las causas de deterioro de las canales bovinas y los microorganismos patógenos relacionados. Paralelamente se hace un diagnóstico a fin de determinar la carga inicial de microorganismos presentes en las canales y a su vez se identifica la presencia de E. coli en las mismas.

Posteriormente se describen los ensayos de desinfección, donde, con ayuda de un equipo de aspersion, se pone en contacto a las canales bovinas con las soluciones de ácido láctico y ácido peracético.

La efectividad de dichas soluciones se determinó a través del análisis microbiológico de recuento en placas de Aerobios mesófilos, y Coliformes totales y fecales, donde se determinó la tasa de supervivencia de los microorganismos.

Finalmente se concluye que ambos ácidos tienen un efecto significativo en el descenso de la carga microbiana sobre las canales de bovinos.

# INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
INDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
INDICE DE FIGURAS .....	V
INDICE DE TABLAS.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1	
1. ANTECEDENTES.....	2
1.1 Principales causas de deterioro en las canales de bovinos.....	4
1.2 Aplicación de ácidos orgánicos para desinfección de canales.....	7
1.2.1 Acido peracético.....	10
1.2.2 Acido láctico.....	11
1.3 Cuantificación de la carga microbiana en las canales de res y resultados esperados.....	12
CAPITULO 2	
2. PRUEBAS DE ENSAYO Y ANALISIS DE RESULTADOS	
2.1 Soluciones empleadas.....	14



2.2 Métodos analíticos	15
2.3 Técnica de aplicación	17
2.4 Análisis de resultados	18
2.4.1 Efecto en la reducción de Aerobios mesófilos	21
2.4.2 Efecto en la reducción de Coliformes totales y fecales	22

### CAPITULO 3

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
-----------------------------------	----

APÉNDICES	31
-----------	----

BIBLIOGRAFÍA	50
--------------	----

## ABREVIATURAS.

FDA	Administración de alimentos y drogas.
GRAS	Generalmente reconocido como seguro
E. coli	Escherichia coli
UFC/cm <sup>2</sup>	Unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado.
FSIS	Servicio de inocuidad e inspección de los alimentos (Food Safety and Inspection Service).
[H <sup>+</sup> ][A <sup>-</sup> ]	Concentración de ácido disociado.
[HA]	Concentración de ácido no disociado.
pH	Potencial de hidrógeno.
pKa	Constante de disociación.
Na <sup>+</sup>	Ión sodio.
K <sup>+</sup>	Ión potasio.
USDA	Departamento de agricultura de los Estados Unidos (United State Department of Agriculture).
v/v	Solución volumen/volumen.
CFR	Código de regulaciones federales (Code of Federal Regulations).
HACCP	Análisis de riesgo y puntos críticos de control (Hazard Analysis and Critical Control Point).
AOAC	Association of Official Analytic Chemists.
INEN	Instituto nacional ecuatoriano de normalización.
PSI	Libras por pulgada cuadrada.
ppm	Partes por millón.
C	Concentración del ácido en Mol / Litro.
$\alpha$	Fracción de ácido disociado.
g/Mol	Gramo/Mol

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1.1. Canal bovina.....	2
Figura 1.2. Proceso de sacrificio de ganado.....	4
Figura 2.1. Puntos de muestreo de carcasa bovinas.....	16
Figura 2.2. Efecto de la desinfección en Mesófilos aerobios.....	22
Figura 2.3. Efecto de la desinfección en Coliformes totales.....	23
Figura 2.4. Efecto de la desinfección en Escherichia coli.....	24

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1.	Calidad microbiológica de canales de res.....6
Tabla 2.	Factores y niveles estudiados para la selección de concentración de ácidos orgánicos.....15
Tabla 3.	Identificación de tratamientos aplicados.....18
Tabla 4.	Porcentaje de ácido no disociado de las soluciones desinfectantes .....20
Tabla 5.	Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de Mesófilos aerobios.....21
Tabla 6.	Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de los Coliformes totales.....23
Tabla 7.	Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de Escherichia coli.....24
Tabla 8.	Reducción porcentual de número de muestras fuera de límites, usando como indicador E. coli.....25

## INTRODUCCIÓN

La industria cárnica en el Ecuador en general se ha caracterizado, por falta de higiene en el manejo de las carcasas de res durante el faenamiento, esto genera un sin número de problemas de calidad y convierte a la carne en un potencial vector de epidemias de intoxicaciones alimentarias.

Al ser la carne un producto altamente perecedero, es necesario reducir los microorganismos patógenos de la superficie de la misma ayudados con métodos aprobados por la FDA.

Es así, que los ácidos orgánicos por ser sustancias GRAS son una alternativa viable, económica e inocua en la reducción de la población bacteriana causante de degradación de productos cárnicos, esta práctica conllevaría a una prolongación de la vida útil de los mismos.

Adicionalmente, estos ácidos son amigables con el medio ambiente, ya que se descomponen en sustancias no tóxicas, a más de no consumir energía, pues se pueden utilizar a temperatura ambiente.

# CAPITULO 1

## 1. ANTECEDENTES

Durante el proceso de sacrificio, la contaminación de las canales de res, ver Fig. 1.1, con microorganismos patógenos como: Salmonella, Campylobacter, E. coli O157:H7, Listeria monocytogenes; representan el mayor peligro para la salud pública.



Fig. 1.1 Canal Bovina  
Fuente: La calidad de carne bovina.

Esta contaminación se puede producir por contacto directo con la piel y tracto digestivo del animal, además de los utensilios usados en el proceso, originando el deterioro de la carne, y convirtiéndola en un vector de toxiinfecciones alimentarias.

La bacteria *Escherichia coli*, presenta ciertos serotipos patogénicos, que pueden producir infecciones gastrointestinales acompañadas de diarrea y vómito; estos serotipos se clasifican de acuerdo con sus mecanismos de virulencia, entre las cuales se incluyen las *E. coli* enterotoxigénicas, enterohemorrágicas, enteroinvasivas, enteropatogénicas, enteroadherentes y enteroagregativas, Vásquez y Cabral, [2001].

La sola presencia de este patógeno pone en riesgo de que exista la cepa O157:H7, serotipo que está mayormente asociada a los alimentos cárnicos, y es productor de una potente toxina que causa en niños y pacientes inmunodeficientes, el Síndrome Urémico Hemolítico, caracterizado por una disfunción renal aguda en la cual se destruyen las células sanguíneas y otras complicaciones como alta presión, convulsiones, ceguera o parálisis.

El presente estudio fue realizado en una empresa dedicada al faenamiento de ganado bovino ubicada en la ciudad de Guayaquil.

### 1.1. Principales causas de deterioro en las canales de bovinos.

En el proceso de sacrificio del ganado, ver Fig. 1.2, las etapas de sangría, desuelle, eviscerado y despiece de las canales, ayudan a que ocurra contaminación por medio del contacto de las canales con materia fecal, tierra, pelos, piel, etc.; la intensidad con que se origina este tipo de contaminación va a depender de las prácticas de manipulación que se cumplan en cada planta de sacrificio.

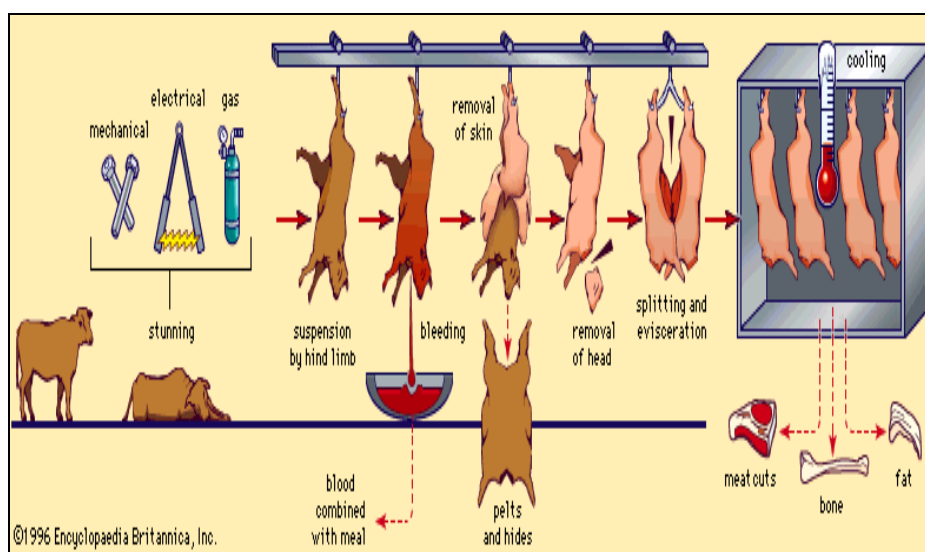


Fig. 1.2 Proceso de sacrificio de Ganado  
Fuente: Enciclopedia Británica Inc. [1996].



Es por ello que la estabilidad de este tipo de productos depende de los factores anteriormente citados; cuando la proliferación bacteriana en la superficie de las canales ha sido intensa, Recuento total de Aerobios entre  $10^6$ -  $10^8$  UFC/cm<sup>2</sup>, pueden ocurrir señales de deterioro tales como: olores anormales, acompañados por la formación de una capa viscosa “limo” producido por bacterias, principalmente Pseudomonas, además pueden producirse cambios de color y rancidez.

Estas alteraciones se deben a los cambios bioquímicos de los aminoácidos libres, nucleótidos y peptonas de la sangre que los microorganismos metabolizan, produciendo: amoniaco, indol, gas sulfhídrico y aminas.

Se han evidenciado algunas investigaciones que indican que un mal almacenamiento conlleva a alteraciones por mohos de los géneros Cladosporium y Penicillium, causantes del moteado negro y verde respectivamente. También puede haber presencia de levaduras Candida y Rhodotorula.

Una de las principales determinaciones de calidad que se suele aplicar para determinar la calidad microbiológica de las canales

es el Recuento de Aerobios mesófilos, el cual estima la microflora total presente, refleja la calidad sanitaria del alimento y las condiciones de manipulación. Un recuento elevado  $>10^6$ UFC/cm<sup>2</sup>, indica una excesiva contaminación del alimento, manipulación ineficiente durante el proceso y provoca alteraciones del producto durante el almacenamiento, tales como: formación de limo superficial, cambios de color y olor.

Para evaluar el desempeño de buenas prácticas de higiene en el proceso de faenado, se suele determinar la presencia de *Escherichia coli*, como microorganismo indicador de contaminación fecal. En la Tabla 1, se indican algunos de los parámetros microbiológicos empleados por la FSIS, para evaluar la calidad microbiológica de las canales de bovinos:

**TABLA 1**

**CALIDAD MICROBIOLOGICA DE CANALES DE RES**

<b>Indicador</b>	<b>Especificación</b>	<b>Valor</b>
E. coli	Aceptable	Ausencia
	Cuestionable	$\leq 10^2$ UFC/cm <sup>2</sup>
	Rechazable	$> 10^2$ UFC/cm <sup>2</sup>

Autor: Ojeda [2008].

Fuente: FSIS, 1996. Pathogen Reduction, HACCP Systems. Federal Register 61(No. 144): 38933.

## **1.2. Aplicación de ácidos orgánicos para desinfección de canales.**

Los ácidos orgánicos (acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico, peracético) son ampliamente usados para tratamiento de desinfección de canales en concentraciones de 0,05 a 2,5%, cabe recalcar que la aplicación de estos ácidos no van a reemplazar a las Buenas Prácticas durante el sacrificio, pero si ayudan a controlar o disminuir la carga microbiana.

Algunos ácidos orgánicos (láctico, acético, cítrico, peracético) son ácidos débiles, en solución una parte de ellos se encuentra disociada  $[H^+][A^-]$  y otra no  $[HA]$ . En equilibrio, la relación entre la parte disociada y la no disociada se expresa mediante una constante de disociación  $pK_a$ ; si se conoce la concentración del ácido, su pH y  $pK_a$ , se puede determinar la concentración del ácido no disociado presente en una solución.

El poder antimicrobiano de los ácidos orgánicos se debe a su forma no disociada, la cual depende del pH, y tiene más importancia que la disminución del pH extracelular que estos produzcan.

La forma disociada al ser un anión, es altamente polar y por lo tanto no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos; por el contrario su forma no disociada, sí atraviesa la membrana. Una vez en el interior de la bacteria, el ácido puede disociarse y entonces afecta directamente al pH intracelular microbiano, Östling y Lindgren [1993]. Esto puede alterar gravemente a su metabolismo, ya que afecta al gradiente de protones y de carga con el exterior, e interfiere con los sistemas de transporte de aminoácidos y fosfatos. Además, muchas enzimas esenciales para el metabolismo microbiano se inactivan a pHs ácidos, Bearson [1997].

También ocasionan un aumento del turgor celular, al producirse la disociación del ácido en el interior de la célula, la concentración interna de aniones va aumentar, esto desencadena un mecanismo de compensación de la carga eléctrica que obliga a la bacteria a aumentar los niveles de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , lo que lleva a un aumento mayor de la fuerza iónica intracelular y del turgor, originando un gran aumento de la presión mecánica sobre la pared del microorganismo, lo que hace que eventualmente estalle, Foster [1999].

Estos aditivos son reconocidos generalmente como seguros (GRAS), no presentan residuales tóxicos (Apéndice A), por lo cual no necesitan ser declarados en la etiqueta de las canales tratadas o de los productos elaborados a partir de las mismas. La Asociación americana de procesadores de carne, recomienda aplicar un lavado de las canales previo a la desinfección con ácidos orgánicos, lo cual ayudará a la eliminación de materia orgánica como pelos, heces, sangre.

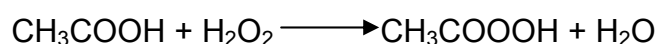
La aplicación de los ácidos orgánicos puede ser antes o después del enfriamiento de las canales, sin embargo se recomienda aplicar lo más pronto posible para evitar que los microorganismos de la superficie de las canales logren ingresar en el interior de las carnes. La USDA aprueba su uso como agentes antimicrobianos en el enjuague final de las carcasas antes del enfriamiento (21 CFR 101.100 (a) (3): FDA 2003), en concentraciones máximas de 2.5% (USDA/FSIS Notice 41-94).

Sensorialmente la aplicación de ácidos puede ocasionar decoloración de los tejidos, sin embargo la mayoría de las veces estos cambios desaparecen o se hacen menos evidentes después del enfriamiento.

### 1.2.1. Acido peracético.

El ácido peracético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>) es un líquido incoloro, que presenta un poder oxidante mayor que el cloro o el dióxido de cloro; tiene un fuerte olor pungente de ácido acético, en solución al 1% su pH es 3 aproximadamente, se lo puede conseguir comercialmente en concentraciones entre 5-15% (v/v).

Se deriva del ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) y del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), según la siguiente reacción:



Es bactericida, esporicida, fungicida e incluso virucida, atraviesa la membrana citoplasmática de las células, oxidando sus componentes y destruyendo su sistema enzimático. Su impacto en el ambiente no es significativo pues se reduce a ácido acético, agua y oxígeno.

Es considerado un aditivo alimenticio secundario según la norma 21CFR 173.370, FDA 2003; la cual permite su uso para la desinfección de canales, cortes y vísceras bovinas en concentraciones no mayores a 220 ppm. La USDA

permite su uso sin declaración en la etiqueta. También se lo puede utilizar para desinfectar superficies de contacto directo con alimentos, según la norma de la FDA 21CFR 178.1010. La ficha técnica del ácido peracético se adjunta en un anexo (Apéndice B).

### **1.2.2. Acido láctico.**

El ácido láctico o ácido 2hidroxipropanoico ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ), es un líquido incoloro o ligeramente café; parecido a un jarabe, obtenido a partir de la fermentación del azúcar, también se encuentra como componente natural de las carnes producido por la glucólisis post-mortem.

Está incluido en la lista de los ingredientes GRAS (reconocidos generalmente como seguros) de la FDA (Administración de Alimentos y Drogas).

Es ampliamente utilizado como acidulante en alimentos y bebidas, y en las industrias cárnicas como conservante en elaboración de embutidos y desinfectante de carcasas.

La Food Safety and Inspection Service (FSIS) Notice 49-94, permite el uso de ácido láctico como agente antimicrobiano en el lavado de canales bovinas antes del enfriamiento en concentraciones de 2,5 %, y la utilización de soluciones al 5% a temperaturas que no excedan los 55°C, que pueden ser aplicadas antes o después de la etapa de enfriamiento de las canales. La ficha técnica del ácido láctico se adjunta en un anexo (Apéndice C).

### **1.3. Cuantificación de la carga microbiana en las canales de res y resultados esperados.**

En la compañía donde se realizó este estudio se evaluó la calidad microbiológica de las canales por medio de la cuantificación de *Escherichia coli*, como microorganismo indicador de mala manipulación. Se observó que aproximadamente el 50% de las muestras se encontraban fuera de los límites permitidos  $>10^2$ UFC/cm<sup>2</sup>, estos recuentos pueden ir en aumento durante las etapas de procesamiento, almacenamiento, distribución y comercialización, lo que conllevaría a un potencial riesgo para la salud de los consumidores.



Con el fin de poder disminuir la incidencia de este problema de contaminación microbiana, se procedió a estudiar la aplicación directa de ácidos orgánicos: peracético y láctico en diferentes concentraciones sobre la superficie externa de las canales, antes de almacenarlas en las cámaras de frío. La concentración del ácido que logre la mayor reducción en la carga microbiana, tanto para Aerobios como para Coliformes totales y E. coli, será escogido como el mejor tratamiento.

## **CAPITULO 2**

### **2. PRUEBAS DE ENSAYO Y ANALISIS DE RESULTADO.**

#### **2.1. Soluciones empleadas.**

En este ensayo se utilizaron dos ácidos orgánicos: ácido peracético al 15% y ácido láctico grado alimenticio al 88%, se escogieron estos dos ácidos debido a su poder antimicrobiano, son GRAS y de fácil adquisición.

El ácido láctico se usó en concentraciones de 1,5 y 2% y el ácido peracético se utilizó en concentraciones de 150 y 200ppm.

Para la selección de estas concentraciones, se empleó un diseño de experimento de dos factores, con dos niveles, los cuales se detallan en la Tabla 2.

TABLA 2

**Factores y niveles estudiados para la selección de concentración de ácidos orgánicos.**

FACTORES			
NIVELES	TIPO DE ACIDO	CONCENTRACION	
	PERACÉTICO	150 ppm	200 ppm
	LÁCTICO	1,5 %	2 %

Autor: Ojeda [2008].

## 2.2. Métodos analíticos.

Para los análisis microbiológicos se muestrearon al azar 10 medias canales por cada concentración de producto, y 10 medias canales se usaron como control. Para el muestreo de las canales se usó la técnica no destructiva de hisopado, según el procedimiento de la FSIS, 1996. Pathogen Reduction, HACCP Systems. Federal Register 61(No. 144).

Las muestras fueron tomadas antes de la entrada a las cámaras de frío, con un hisopo (gasa estéril) previamente humedecido con 10 ml de agua de peptona tamponada estéril, se frotaron 3 muestras de 100 cm<sup>2</sup> (10cmx10cm) cada una por canal,

comenzando por la cadera, falda y pecho, como se muestra en la Figura 2.1.

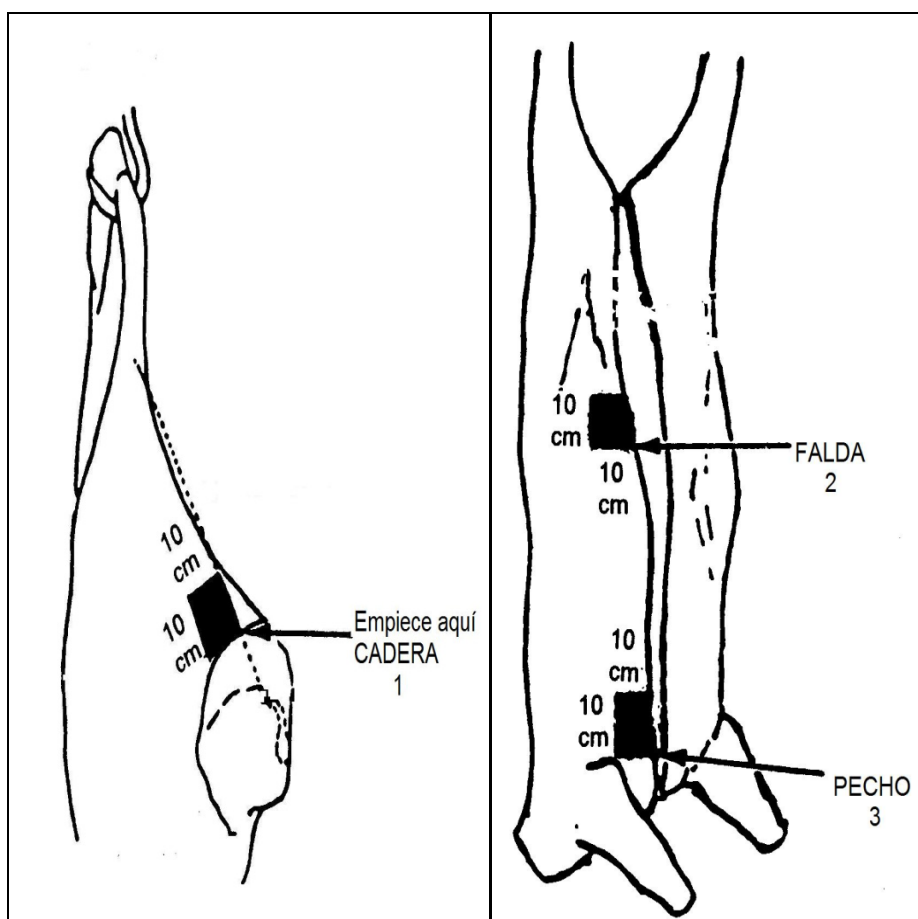


Figura 2.1 Puntos de muestreo para análisis de carcasas bovinas. Ojeda [2008].

Fuente: FSIS, 1996. Pathogen Reduction; HACCP Systems. Federal Register 61(No. 144): 38936.

Cada una de estas zonas se deben frotar enérgicamente en sentido vertical y en sentido horizontal (10 veces cada una), la superficie total hisopada debe ser 300 cm<sup>2</sup>; los 3 puntos fueron

muestreados con el mismo hisopo, el cual fue colocado inmediatamente en una bolsa estéril y llevado al laboratorio, en donde se le adicionaron 90 ml de agua de peptona tamponada, para formar la solución  $10^0$ , a partir de la cual se hicieron las diluciones correspondientes para realizar los recuentos de bacterias Coliformes totales y fecales (*E. coli*), por medio del Método oficial AOAC 991.14 o 998.08: Placas petrifilm de *E. coli* y Coliformes, y recuento de Aerobios mesófilos por siembra en agar de recuento estándar, según la norma INEN 1529-5.

Concluidos los tiempos de incubación se procedió al recuento manual de las colonias. Los recuentos microbianos se expresaron en UFC/cm<sup>2</sup>, y luego se convirtieron a Log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> para poder realizar el respectivo análisis estadístico.

El método de titulación usado para verificar la concentración de la solución del ácido peracético, se adjunta en un anexo (Apéndice D).

### **2.3. Técnica de aplicación.**

Se utilizó un equipo que cuenta con un tanque presurizado de 60 litros de capacidad, que trabaja en un rango de 40-50 PSI, el

cual impulsa la solución a través de una boquilla de aspersión sobre la superficie de las canales. La cantidad de solución desinfectante utilizada por cada canal fue aproximadamente 2 litros.

#### 2.4. Análisis de resultados.

Se analizará el efecto de los tratamientos aplicados en la desinfección de las canales sobre la tasa de supervivencia de microorganismos: *Mesófilos aerobios*, *Coliformes totales* y *Escherichia coli*; se escogerá como el mejor tratamiento aquel que presente la mayor reducción logarítmica. La identificación, los valores de acidez y pH de cada uno de los tratamientos se indican en la Tabla 3.

**TABLA 3**

#### **Identificación de los tratamientos aplicados**

<b>Tratamiento</b>	<b>Solución</b>	<b>Concentración</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez</b>
A	Acido peracético	200 ppm	3,01	0,4
B	Acido peracético	150 ppm	3,07	0,3
C	Acido láctico	2 %	2,06	1,7
D	Acido láctico	1,5 %	2,09	1,3

Autor: Ojeda [2008].

Con los valores de pH y acidez de las soluciones de la Tabla 3, y conociendo que la constante de disociación pKa del ácido láctico es 3,41 y del ácido peracético es 8,2; se determinó la concentración de ácido no disociado, lo cual permite evaluar el efecto de los 4 tratamientos en la inhibición microbiana, aplicando las siguientes ecuaciones:

$$pKa = - \log Ka \quad (1)$$

$$Ka = \frac{c\alpha * C\alpha}{c(c-\alpha)} \quad (2)$$

Donde:

C: Concentración del ácido en Mol / Litro.

$\alpha$ : Fracción de ácido disociado.

Peso molecular del ácido láctico: 90 g / Mol.

Peso molecular del ácido peracético: 76.05 g / Mol.

Para encontrar la fracción de ácido disociado se deben encontrar las raíces de la ecuación:  $\alpha^2 C^2 + \alpha C Ka - C^2 Ka = 0$

Utilizando la fórmula cuadrática:

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

Donde una raíz es falsa y la otra verdadera; la diferencia es la fracción de ácido no disociado:

**TABLA 4**

**Porcentaje de ácido no disociado de las soluciones desinfectantes**

<b>Tratamiento</b>	<b>Solución</b>	<b>% Ácido no disociado</b>
A	Acido Peracético 200 ppm	99%
B	Acido Peracético 150 ppm	99 %
C	Acido Láctico 2 % v/v	97,4 %
D	Acido Láctico 1,5 % v/v	97,55 %

Autor: Ojeda [2008]

Con los datos obtenidos en la tabla 4, no se encuentra una diferencia significativa en el porcentaje no disociado entre las muestras, por tanto un mayor efecto microbicida, está en relación a una mayor concentración de los ácidos estudiados.



### 2.4.1. Efecto en la reducción de Aerobios mesófilos.

En la Tabla 5, se observa que el tratamiento A (Acido peracético 200 ppm), logró la mayor reducción logarítmica de 1,82; mientras que el tratamiento D (Acido láctico 1,5%), obtuvo la menor reducción. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Reynolds [2005], quien obtuvo mayor reducción de Aerobios, al utilizar una solución de 200 ppm de ácido peracético, que al utilizar ácido láctico al 2%.

Los recuentos de Aerobios mesófilos de los 4 tratamientos, se adjuntan en un anexo (Apéndice E).

**TABLA 5**

**Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de Mesófilos aerobios**

Tratamiento	Observaciones	Promedio	Varianza
A	10	1,85	0,027
B	10	1,39	0,005
C	10	1,45	0,012
D	10	1,1	0,005

Autor: Ojeda [2008]

En la Figura 2.2, se muestra el comportamiento de cada uno de los tratamientos.

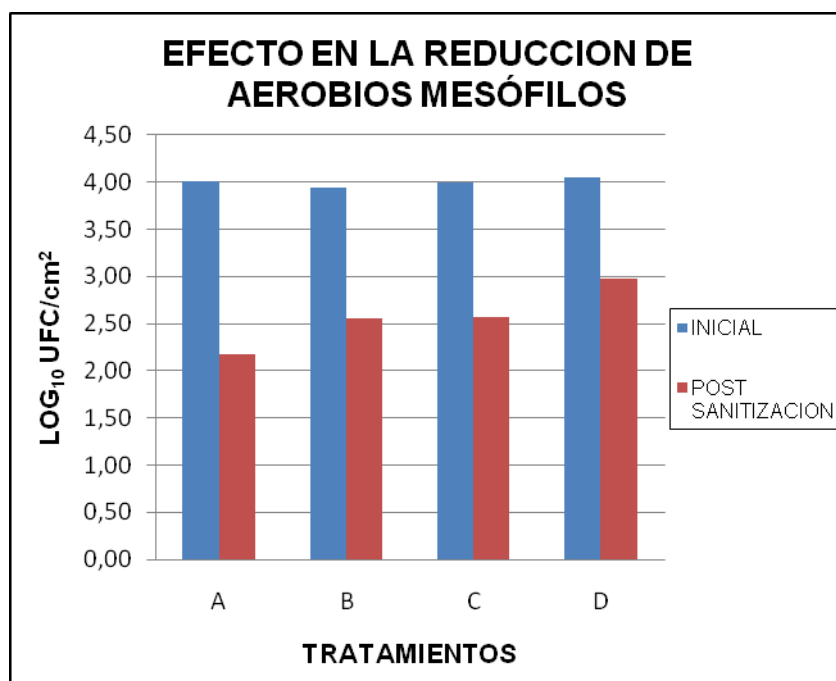


Fig. 2.2 Efecto de la desinfección en Mesófilos aerobios. Ojeda [2008].

#### 2.4.2. Efecto en la reducción de Coliformes totales y fecales.

En la reducción de Coliformes totales, los tratamientos A (Acido peracético 200 ppm) y C (Acido láctico 2% v/v) lograron la mayor reducción logarítmica, tal como se puede observar en la Tabla 6. Los recuentos de Coliformes totales y E. coli de los 4 tratamientos se adjuntan en un anexo (Apéndice F).

TABLA 6

**Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de los Coliformes totales**

Tratamientos	Observaciones	Promedio	Varianza
A	10	1,39	0,016
B	10	1,04	0,007
C	10	1,36	0,004
D	10	1,02	0,007

Autor: Ojeda, [2008].

En la Figura 2.3, se muestra el comportamiento de cada uno de los tratamientos.

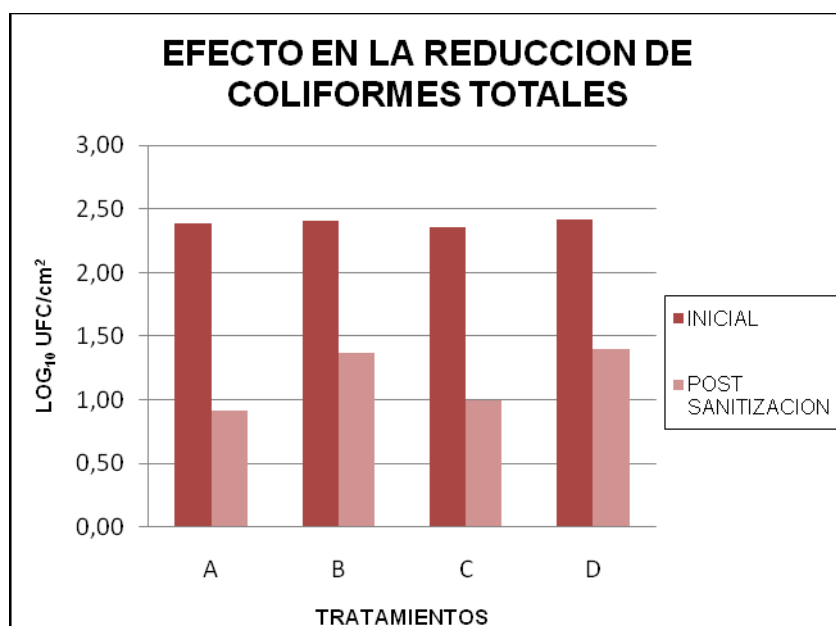


Fig. 2.3 Efecto de la desinfección en Coliformes totales. Ojeda [2008].

En la reducción de Coliformes fecales: *Escherichia coli*, los tratamientos A (Acido peracético 200 ppm) y C (Acido láctico 2% v/v) lograron la mayor reducción logarítmica, como se muestra en la Tabla 7.

**TABLA 7**

**Promedio y varianza de las Reducciones Logarítmicas de *Escherichia coli***

Tratamientos	Observaciones	Promedio	Varianza
A	10	1,29	0,011
B	10	0,95	0,007
C	10	1,31	0,002
D	10	0,97	0,013

Autor: Ojeda [2008].

En la Figura 2.4, se muestra el comportamiento de cada uno de los tratamientos.

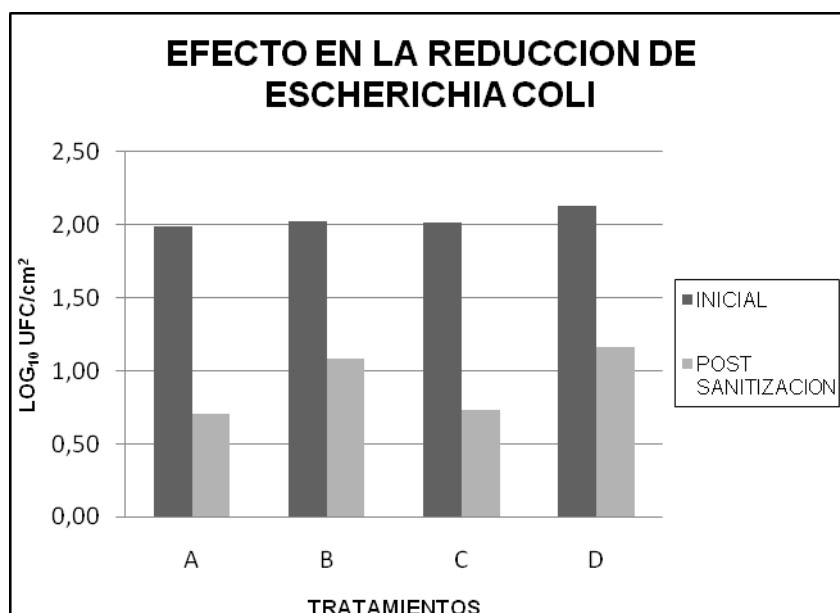


Fig. 2.4 Efecto de la desinfección en *Escherichia coli*. Ojeda [2008].

Utilizando los recuentos de E. coli (Apéndice F) del tratamiento A y C, se puede concluir que estos dos tratamientos reducen el porcentaje de muestras fuera de límites permitidos (E. coli >100 UFC/cm<sup>2</sup>) del 50 % a 0%.

**TABLA 8**

**Reducción porcentual de número de muestras fuera de límites, usando como indicador E. coli**

Tratamiento	Número de muestras	Promedio E. coli (UFC/cm <sup>2</sup> )		% de muestras fuera de límites (E. coli >100 UFC/cm <sup>2</sup> )	
		Inicial	Post sanitización	Inicial	Post sanitización
A	10	95	5	50%	0%
C	10	105	6	50%	0%

Autor: Ojeda [2008].

En general de los tres grupos de microorganismos analizados, se obtuvieron menores tasas de supervivencia con los tratamientos A y C,

La acción bactericida del ácido láctico sobre las bacterias Gram negativas, especialmente el grupo de las Enterobacterias, se debe a que produce una desorganización de la capa de lipopolisacáridos presentes en la superficie de la membrana externa, los cuales se

encargan de la permeabilidad de barrera de la misma, Roth y Keenan, [1971]. Al ser hidrosoluble, el ácido láctico tiene acceso al periplasma bacteriano a través de las proteínas “porinas” de la membrana exterior, Nikaido [1996]. Su forma no disociada penetra la membrana citoplasmática, produciendo disminución del pH intracelular y ruptura de la fuerza protón motriz transmembrana.

Por otra parte el ácido peracético actúa tanto sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, su mecanismo de acción se basa en su fuerte poder oxidante que desnaturaliza las proteínas y los lípidos de los microorganismos, lo que origina la desorganización de la permeabilidad de la membrana celular, penetrando la pared de la células bacterianas para interrumpir la síntesis de proteínas por medio de reacciones con los grupos sulfhidrilos contenidos en aminoácidos y nucleótidos, Ecolab [2001].

Produce la formación de radicales hidroxilos que oxidan los grupos tiol de proteínas y enzimas, Turner [1983]. Los

grupos tiol son vitales para la actividad de muchas enzimas, produciendo la inhibición o inactivación celular.

Además conlleva a la producción y acumulación de radicales libres, debido al desequilibrio metabólico y al daño de la homeostasis iónico, lo cual puede causar autólisis celular, Dodd [1997].

Hay que recalcar que la aplicación de estos tratamientos provocaron cambios en el color de las canales, El tratamiento C (ácido láctico 2%) originó oscurecimiento de la carne, esto se debe a la desnaturalización de las proteínas, producto de un descenso del pH por debajo del punto isoelectrico de las proteínas ( $\text{pH} < 5$ ), Vásquez [2007]. Se produce una oxidación del pigmento mioglobina (color rojo) al pigmento metamioglobina (color café), la oxidación ocurre cuando la forma ferrosa de la porción hemo se oxida a férrica; este oscurecimiento no disminuyó después del enfriamiento de las canales, lo cual podría afectar la comercialización posterior de las mismas.

Mientras que el tratamiento A (ácido peracético 200 ppm) provocó una ligera decoloración blanquecina debido al poder oxidante del ácido peracético, el color rojo de la mioglobina puede reaparecer después de haberse afectado al mantener las canales en temperaturas de refrigeración, debido a que la decoloración involucra sólo tejidos celulares cercanos a la superficie de la canal tratada, al transcurrir el tiempo, la hemoglobina intacta que está en las células subyacentes pueden reequilibrarse con la hemoglobina de la superficie celular, desplazar o diluir el pigmento de metamioglobina, por lo cual esta decoloración fue imperceptible.



## CAPITULO 3

### 3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. Experimentalmente se comprobó, que tanto las soluciones de ácido peracético a 200 ppm, como de ácido láctico al 2 %, mostraron un descenso de la carga microbiana en las canales de res. Se obtuvieron en promedio reducciones de: Mesófilos en 1,65 log, Coliformes totales en 1,38 log y Escherichia coli en 1,30 log. Esto se debe a que el porcentaje de ácido no disociado de las dos soluciones fue superior al 90%, logrando un efecto letal sobre los microorganismos ensayados.
2. También se pudo observar un cambio sensorial en el color de las canales, debido a la oxidación de la mioglobina a metamioglobina, por acción de los ácidos. En el caso del ácido láctico se observó un mayor oscurecimiento, resultando más conveniente la aplicación del ácido peracético por este sentido.

3. Aplicando la metodología descrita en este estudio, se obtuvieron un 100% de muestras aceptables, lo que significa un mejor manejo de los recursos de la empresa, ya que al mejorar las condiciones microbiológicas de las canales se aumenta el tiempo de vida útil de las mismas y de los productos que se elaboran a partir de éstas.
  
4. Se debe tener mucha precaución con la manipulación y uso del ácido peracético, debido a que al ser un producto oxidante, puede causar problemas de salud en los operarios al manejarlo sin los implementos de protección personal que se indica en la ficha de seguridad del producto.
  
5. Para mejorar los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda instalar un sistema de desinfección automatizado en la línea de procesamiento, a fin de aumentar la productividad de la línea y evitar errores que se puedan dar durante la aplicación manual de la solución desinfectante.

## APENDICE E.

### RECUENTOS MICROBIOLÓGICOS DE AEROBIOS MESÓFILOS

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 200 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>AEROBIOS MESÓFILOS (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	4,00	2,15	1,85
2	3,48	1,62	1,86
3	5,70	3,60	2,10
4	4,30	2,51	1,79
5	3,03	1,00	2,03
6	3,00	1,00	2,00
7	4,40	2,51	1,89
8	5,04	3,40	1,64
9	4,00	2,30	1,70
10	3,22	1,60	1,62

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 150 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>AEROBIOS MESÓFILOS (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	4,34	3,00	1,34
2	3,20	1,80	1,40
3	4,41	3,04	1,37
4	4,79	3,46	1,33
5	3,60	2,20	1,40
6	5,00	3,60	1,40
7	3,15	1,70	1,45
8	3,56	2,30	1,26
9	3,00	1,48	1,52
10	4,38	3,00	1,38

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 2%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>AEROBIOS MESÓFILOS (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	4,65	3,30	1,35
2	3,03	1,40	1,63
3	4,00	2,60	1,40
4	5,40	4,00	1,40
5	3,10	1,40	1,70
6	4,52	3,00	1,52
7	3,70	2,20	1,50
8	4,30	2,82	1,48
9	3,54	2,00	1,54
10	3,24	1,82	1,42

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 1,5%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>AEROBIOS MESÓFILOS (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	4,51	3,30	1,21
2	4,30	3,12	1,18
3	3,00	1,90	1,10
4	3,70	2,62	1,08
5	4,44	3,40	1,04
6	4,00	2,88	1,12
7	5,00	4,00	1,00
8	3,60	2,40	1,20
9	3,15	2,00	1,15
10	4,82	3,82	1,00

Fuente: Ojeda [2008].

**APENDICE F.**

**RECUENTOS DE COLIFORMES TOTALES Y E. COLI**

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 200 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>COLIFORMES TOTALES (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,00	0,60	1,40
2	2,30	1,00	1,30
3	3,60	2,30	1,30
4	2,70	1,30	1,40
5	1,85	0,40	1,45
6	2,00	0,00	1,30
7	2,48	1,00	1,48
8	3,00	1,70	1,30
9	2,20	0,90	1,30
10	1,70	0,00	1,70

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 150 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>COLIFORMES TOTALES (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,52	1,49	1,03
2	2,10	1,00	1,10
3	2,70	1,70	1,00
4	2,85	1,82	1,03
5	2,00	1,00	1,00
6	3,30	2,40	0,90
7	1,90	0,70	1,20
8	2,12	1,04	1,08
9	2,00	0,90	1,10
10	2,60	1,60	1,00

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 2%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>COLIFORMES TOTALES (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	3,00	1,70	1,30
2	2,00	0,70	1,30
3	2,60	1,22	1,38
4	3,41	2,03	1,38
5	1,30	0,00	1,30
6	2,70	1,30	1,40
7	1,72	0,22	1,50
8	2,80	1,44	1,36
9	2,00	0,70	1,30
10	2,00	0,62	1,38

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 1,5%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>COLIFORMES TOTALES (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,90	1,90	1,00
2	2,40	1,40	1,00
3	1,00	0,00	1,00
4	2,20	1,22	0,98
5	2,70	1,70	1,00
6	2,40	1,40	1,00
7	3,20	2,30	0,90
8	2,40	1,20	1,20
9	2,00	0,86	1,14
10	3,00	2,00	1,00

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 200 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	1,40	0,00	1,40
2	2,24	1,00	1,24
3	3,30	2,00	1,30
4	2,60	1,40	1,20
5	1,30	0,00	1,30
6	1,40	0,00	1,40
7	2,20	1,00	1,20
8	2,60	1,40	1,20
9	1,40	0,00	1,40
10	1,30	0,00	1,30

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO PERACETICO 150 ppm</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,26	1,30	0,96
2	1,90	0,90	1,00
3	2,20	1,40	0,80
4	2,40	1,40	1,00
5	1,40	0,40	1,00
6	3,00	2,20	0,80
7	1,40	0,40	1,00
8	1,70	0,70	1,00
9	1,70	0,70	1,00
10	2,30	1,40	0,90

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 2%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,58	1,30	1,28
2	1,30	0,00	1,30
3	2,23	0,88	1,35
4	3,20	2,00	1,20
5	1,30	0,00	1,30
6	2,70	1,30	1,40
7	1,40	0,00	1,40
8	2,30	1,00	1,30
9	1,88	0,62	1,26
10	1,30	0,00	1,30

Fuente: Ojeda [2008].

<b>ENSAYO ACIDO LACTICO 1,5%</b>			
<b>Número de muestra</b>	<b>ESCHERICHIA COLI (Log<sub>10</sub>UFC/cm<sup>2</sup>)</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Post Sanitización</b>	<b>Reducción Log</b>
1	2,52	1,40	1,12
2	2,20	1,20	1,00
3	1,00	0,00	1,00
4	1,85	1,00	0,85
5	2,40	1,40	1,00
6	2,00	1,00	1,00
7	3,00	2,30	0,70
8	1,90	0,90	1,00
9	1,70	0,70	1,00
10	2,70	1,70	1,00

Fuente: Ojeda [2008].



## BIBLIOGRAFÍA

1. ALAKOMI H., SKYTТА E., SAARELA M., MATTILA T., LATVA-KALA K., Y HELANDER I. Lactic Acid Permeabilizes Gram-Negative Bacteria by Disrupting the Outer Membrane. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66, págs. 2001-2005, 2000.
2. BELL K., CUTTER C., SUMMER S. Reduction of foodborne microorganism on beef carcass tissue using acetic acid, sodium bicarbonate, and hydrogen peroxide spray washes. *Food Microbiology*. 14, págs. 439-448, 1997.
3. CLIVER D. Microbial decontamination, food safety, and antimicrobial interventions, 2007.
4. ICMSF. Ecología Microbiana de los alimentos: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos, Volumen I. Editorial Acribia, Zaragoza- España, págs. 97-101, 1980.

5. ICMSF. Ecología Microbiana de los alimentos: Productos Alimenticios, Volumen II. Editorial Acribia, Zaragoza- España, págs. 133-134, 1980.
6. FSIS-USDA, Pathogen Reduction; HACCP Systems. Federal Register 61(No. 144): 38929-38936, 1996.
7. JAY, JAMES. Microbiología moderna de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza-España, págs. 235-240, 1994.
8. MAILLARD, J. Bacterial target sites for biocide action. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement 92, 16S-27S, 2002.
9. NICKERSON J., SINKSEY A. Microbiología de los alimentos y sus procesos de elaboración. Editorial Acribia, Zaragoza-España, págs. 130-136, 1974.
10. OQUENDO, MELISSA. "Incidencia de Escherichia coli serotipo O157:H7 en carne proveniente de ganado bovino de mataderos de Puerto Rico". Tesis Universidad de Puerto, 2006.

11. Organic Acid. [www.meatupdate.csiro.au/new/organic%acids.pdf](http://www.meatupdate.csiro.au/new/organic%acids.pdf)
12. REYNOLDS, E. Utilization of spray wash with organic acids (peroxyacetic acid and lactic acid) and chlorinated wash in combination, utilizing direct application methods, for pathogen reduction on pork and beef carcasses in small and very small meat processing plants. University of Georgia Food Science Extension Outreach Program, Georgia, 2005.
13. RODRIGUEZ P. Los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos. Universidad Politécnica de Madrid, España.
14. US FDA/CFSAN: EAFUS LIST. [www.cfsan.fda.gov/~dms/eafus.html](http://www.cfsan.fda.gov/~dms/eafus.html).
15. VARMAN A., SUTHERLAND J. Carne y Productos cárnicos. Tecnología, Química y Microbiología. Editorial Acribia, Zaragoza-España, págs. 94-102, 1995.
16. VASQUEZ, GRACE. Estudio del efecto de la reducción de la actividad de agua, pH y adición de ácido orgánicos en el

crecimiento de *Escherichia coli* en filetes de res almacenados a temperatura ambiente. ESPOL, 2007.