



Área de Nutrición y Bromatología  
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla

DISEÑO DE MODELOS DE INTERVENCIÓN EN EL  
CONTROL DE UN PROCESO ALIMENTARIO.  
APLICACIÓN A LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE AVE

**M<sup>a</sup> Luisa Escudero Gilete**

Sevilla, 2006



Área de Nutrición y Bromatología  
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla

**DISEÑO DE MODELOS DE INTERVENCIÓN EN EL  
CONTROL DE UN PROCESO ALIMENTARIO.  
APLICACIÓN A LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE AVE**

Memoria presentada por la Licenciada  
M<sup>a</sup> Luisa Escudero Gilete para optar al  
grado de Doctor en Farmacia.

Sevilla, 2006



La Tesis titulada *“DISEÑO DE MODELOS DE INTERVENCIÓN EN EL CONTROL DE UN PROCESO ALIMENTARIO. APLICACIÓN A LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE AVE”* presentada por la Licenciada en Farmacia **D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Luisa Escudero Gilete** para optar al grado de Doctor, ha sido realizada en el Área de Nutrición y Bromatología del Departamento de Bioquímica, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal (Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla), bajo la dirección de los Doctores D. Francisco José Heredia Mira, D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Lourdes González-Miret Martín y D. Ricardo Martínez-Aleson Sanz. Considerando que se han alcanzado los objetivos inicialmente previstos, y que el trabajo reúne los requisitos necesarios, autorizan su presentación.

En Sevilla, a 16 de Mayo de 2006

Francisco José Heredia Mira

M<sup>a</sup> Luisa Escudero Gilete

M<sup>a</sup> Lourdes González-Miret Martín

Ricardo Martínez-Alesón Sanz

Directores de la Tesis

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XI
GLOSARIO .....	XVII
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
EL CONTROL DE CALIDAD EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.....	3
- Legislación y seguridad alimentaria .....	12
- Análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP).....	19
- Sistemas continuos de control en la producción de alimentos (SCCP) .....	26
- La Empresa .....	27
FACTORES ASOCIADOS A LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LOS ALIMENTOS .....	29
- Microbiología alimentaria .....	29
- Evaluación de la calidad microbiológica de un alimento .....	37
- Factores que influyen en el crecimiento bacteriano.....	45
- Carne de ave. Microbiología y producción .....	49
LA ESTADÍSTICA APLICADA AL CONTROL DE CALIDAD .....	55
<b>II. OBJETIVOS .....</b>	<b>63</b>
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>67</b>
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y DEL PROCESO .....	69
- Canal y despieces de pollo .....	69
- Obtención de carne fresca de ave .....	72
MUESTRAS.....	111
- Matadero de Sevilla .....	111
- Matadero de Toledo .....	114

MÉTODOS .....	119
- Determinaciones microbiológicos .....	119
- Determinaciones físicas.....	128
- Parámetros de manipulación.....	129
- Métodos estadísticos .....	130

**IV. RESULTADOS .....** 141

PRODUCCIÓN DE CARNE FRESCA DE AVE. ESTUDIO DESCRIPTIVO.....	143
- Evolución de la carga microbiana en la superficie de canales enteras .....	144
- Evolución de la carga microbiana en productos de despiece .....	153
- Condiciones físico-químicas del producto y del proceso .....	157
- Condiciones físicas durante el proceso de despiece y conservación en cámara.....	160

PLANTEAMIENTO INVERSO DE UN SISTEMA DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE AVE .....	163
- Sistema de control: SCCP.....	163
- Procedimiento: sistema inverso .....	164
- Puntos de control y factores de intervención del proceso .....	169

SISTEMA CONCÉNTRICO DE CONTROL POR TÉCNICAS ESTADÍSTICAS MULTIVARIANTES. APLICACIÓN A LA LOCALIZACIÓN DE PELIGROS: <i>Listeria monocytogenes</i> .....	205
- Peligro: <i>Listeria</i> .....	205
- Procedimiento: sistema concéntrico .....	209
- Aplicación: localización de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	212

OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS POR TÉCNICAS MULTIVARIANTES. LAVADO CON AGUA A PRESIÓN.....	231
- Parte experimental.....	232

OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS POR TÉCNICAS MULTIVARIANTES. DESPIECE Y CONSERVACIÓN .....	245
- Parte experimental.....	246

V. CONCLUSIONES .....	259
VI. REFERENCIAS.....	263
VII. APÉNDICES .....	287
APÉNDICE 1. PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA .....	289
APÉNDICE 2. ....	291
- Tablas de datos .....	291
- Ecuaciones de regresión .....	337
VIII. PUBLICACIONES .....	361

## ÍNDICE DE TABLAS

### Página

7	Tabla 1.	Diferencias entre los Sistemas de Aseguramiento de la Calidad (QA) (GMP, HACCP, ISO y BRC) y Gestión de la Calidad Total (TQM) con respecto a características del sistema de calidad, resultado, perspectiva, exhaustividad, requerimientos, manejo de la calidad, método y sugerencias para su implementación ( <i>Van der Spiegel et al., 2003</i> ).
113	Tabla 2.	Puntos de muestreo: descripción, número y porcentaje de muestras en el matadero de Sevilla.
117	Tabla 3.	Puntos de muestreo: descripción, número y porcentaje de muestras de piel y carne en el matadero de Toledo.
126	Tabla 4.	Composición del contenido del cartucho del test Vidas LMO.
129	Tabla 5.	Variables de manipulación medidas en la cadena de producción. Descripción.
146	Tabla 6.	Valores estadísticos de las variables microbiológicas <i>Aerobios mesófilos</i> (Am), <i>Pseudomonas</i> (Ps), <i>Enterobacteriaceae</i> (Eb), <i>Staphylococcus aureus</i> (St) en cada uno de los puntos estudiados de la cadena de producción.
154	Tabla 7.	Valores estadísticos de las variables microbiológicas <i>Aerobios mesófilos</i> (Am), <i>Pseudomonas</i> (Ps) y <i>Enterobacteriaceae</i> (Eb) en cada uno de los puntos estudiados del proceso de despiece y conservación en cámara.
158	Tabla 8.	Valores estadísticos para las variables físico-químicas medidas en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.
161	Tabla 9.	Valores estadísticos para las variables físico-químicas medidas en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.
168	Tabla 10.	Puntos de muestreo y descripción de las muestras.
171	Tabla 11.	Log decimal de la media de los recuentos brutos de cada variable microbiológica en cada punto de muestreo y para cada etapa.

172	Tabla 12.	Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $ D_{max} $ ).
173	Tabla 13.	Nivel de significación (p) para grupos de muestras relacionadas [punto inicial]/[punto final] para las variables microbiológicas.
174	Tabla 14.	Resultados del análisis múltiple de la varianza con dos factores de medidas repetidas: lugar y variables microbiológicas, en cada una de las etapas estudiadas en la cadena de producción.
185	Tabla 15.	Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $ D_{max} $ ).
186	Tabla 16.	Niveles de significación (p) del test <i>t</i> -Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para las variables independiente descanso, guantes, cajón y engomillado.
189	Tabla 17.	Niveles de significación (p) de la Prueba U de Mann-Whitney para las variables independiente descanso y pollo español.
193	Tabla 18.	Niveles de significación (p) del test <i>t</i> -Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para la variable de manipulación pollo español (Pe).
196	Tabla 19.	Niveles de significación (p) de la Prueba U de Mann-Whitney y el test <i>t</i> -Student, en su caso, para las variables de manipulación pollo español (Pe).
200	Tabla 20.	Niveles de significación (p) del test <i>t</i> -Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para las variables independiente descanso, ducha en extractora, pollo acumulado, guantes y espalda/pechuga.
213	Tabla 21.	Punto de muestreo y descripción de la muestra. Primera fase.
214	Tabla 22.	Porcentaje de la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> y valor medio de los parámetros físicos medidos en los puntos estudiados en la primera fase.
216	Tabla 23.	Test Chi-cuadrado para los puntos estudiados en la primera fase.
217	Tabla 24.	Punto de muestreo y descripción de la muestra de producto. Segunda fase.
219	Tabla 25.	Segunda fase. Frecuencia y porcentaje de la presencia de <i>L. monocytogenes</i> , y valores medios de los parámetros físicos.
221	Tabla 26.	Test de la Chi-cuadrado para los puntos estudiados en la segunda fase.



---

222	Tabla 27.	Regresión logística. Matriz de clasificación de las muestras.
222	Tabla 28.	Variables introducidas en la ecuación por el modelo de regresión logística.
224	Tabla 29.	Punto de muestreo y descripción de la muestra de producto. Sala despiece.
226	Tabla 30.	Frecuencia y porcentaje de la presencia de <i>L. monocytogenes</i> en cada punto muestreado en la sala de despiece y el lugar en el que se ubica ese punto.
228	Tabla 31.	Media de los factores físicos medidos para cada punto (muestra y lugar) estudiado.
228	Tabla 32.	Test exacto de Fisher para los puntos estudiados en la sala de despiece.
234	Tabla 33.	Descripción de grupos de muestras.
235	Tabla 34.	Logaritmo de la media de las variables microbiológicas antes y después de la etapa de lavado ([G]/[L]), para todas las muestras y por grupos de muestras (A/B/C).
237	Tabla 35.	Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $ D_{max} $ ).
238	Tabla 36.	Nivel de significación ( $p$ ) para grupos de muestras relacionadas [G]/[L] para las variables microbiológicas estudiadas (Log Am, Log Ps, Log Eb, Log St).
239	Tabla 37.	Nivel de significación ( $p$ -level) para grupos de muestras relacionadas (A), (B) y (C) para las variables microbiológicas (Log Am, Log Ps, Log Eb, Log St). Comparación [G] frente a [L].
239	Tabla 38.	Resultados del análisis de la varianza con dos factores de medidas repetidas: lugar y variables microbiológicas.
241	Tabla 39.	Resultados del MANOVA con dos factores de medidas repetidas: punto de muestreo y variables microbiológicas, en los tres grupos de muestras estudiados (A), (B) y (C).
241	Tabla 40.	Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $ D_{max} $ ).
242	Tabla 41.	Test de Kruskal-Wallis. Tres categorías: (A)/(B)/(C).
242	Tabla 42.	Prueba U de Mann-Whitney para la variables dependiente $\Delta Ps$ .
243	Tabla 43.	Resultados del Análisis Discriminante por pasos.
247	Tabla 44.	Clasificación de las muestras.

249	Tabla 45a.	Ensayos de comparación por momento de despiece (el mismo día del sacrificio o un día después).
249	Tabla 45b.	Ensayos de comparación por modo de conservación (a granel o embanquetado).
249	Tabla 46.	Ensayos de comparación por tiempos de conservación en cada grupo de muestras.
251	Tabla 47.	Log de los valores medios de contaminación de los distintos grupos de muestras (0G/0E/1G/1E), a las 0, 24 y 48h, para los microorganismos Am, Ps y Eb.
251	Tabla 48.	Test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $ D_{max} $ )
253	Tabla 49.	Nivel de significación (p) de los 9 ensayos realizados.
255	Tabla 50.	Nivel de significación (p) de los ensayos realizados para grupos de muestras relacionadas.
256	Tabla 51.	Resultados del análisis discriminante por pasos para los distintos estudios realizados con las variables independientes Log Am, Log Ps y Log Eb.
291	Tabla A2.1.	Datos microbiológicos. Planta de Sevilla.
309	Tabla A2.2.	Datos físicos y de manipulación. Planta de Sevilla.
328	Tabla A2.3.	Datos microbiológicos y físicos. Planta de Toledo.
337	Tabla A2.4.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de embarquetado.
338	Tabla A2.5.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de embarquetado.
339	Tabla A2.6.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de embarquetado.
340	Tabla A2.7.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de embarquetado.
341	Tabla A2.8.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de clasificado.
342	Tabla A2.9.	Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de clasificado.

- 343 Tabla A2.10. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de clasificado.
- 344 Tabla A2.11. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de clasificado.
- 345 Tabla A2.12. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de refrigerado en túnel.
- 346 Tabla A2.13. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de refrigerado en túnel.
- 347 Tabla A2.14. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de refrigerado en túnel.
- 348 Tabla A2.15. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de refrigerado en túnel.
- 349 Tabla A2.16. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de lavado en ducha.
- 350 Tabla A2.17. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de lavado en ducha.
- 351 Tabla A2.18. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de lavado en ducha.
- 352 Tabla A2.19. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de lavado en ducha.
- 353 Tabla A2.20. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de eviscerado.
- 354 Tabla A2.21. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de eviscerado.
- 355 Tabla A2.22. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de eviscerado.
- 356 Tabla A2.23. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de eviscerado.
- 357 Tabla A2.24. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de desplumado.
- 358 Tabla A2.25. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de desplumado.

- 359 Tabla A2.26. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de desplumado.
- 360 Tabla A2.27. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de desplumado.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

- 22 **Figura 1.** Árbol de decisiones. Determinación de PCC en la línea de producción.
- 69 **Figura 2.** Partes de la canal de pollo.
- 70 **Figura 3.** a) trasero, b) muslo, c) contramuslo, d) jamoncito.
- 71 **Figura 4.** a) ala, b) blanqueta, c) mediana y punta.
- 71 **Figura 5.** a) pechuga, b) filete de pechuga.
- 72 **Figura 6.** Secuencia de etapas en la producción de carne de ave para consumo humano.
- 73 **Figura 7.** Granjas recria.
- 74 **Figura 8.** Granjas reproductoras.
- 75 **Figura 9.** Incubadora.
- 77 **Figura 10.** Pollos recién nacidos para su engorde.
- 79 **Figura 11.** Secuencia de etapas en un matadero de aves.
- 80 **Figura 12.** Transporte de las aves al matadero.
- 80 **Figura 13.** Zona de espera.
- 81 **Figura 14.** Descarga y colgado de animales en la línea de producción.
- 81 **Figura 15.** Sistema de lavado de carros.
- 82 **Figura 16.** Baño de aturdido.
- 83 **Figura 17.** a) Sacrificio automático; b) sacrificio manual.
- 84 **Figura 18.** Tanques de escaldado.
- 84 **Figura 19.** Tanque de escaldado en el matadero de Toledo.
- 85 **Figura 20.** a) Entrada de la peladora; b) salida de la peladora; c) peladora del matadero de Toledo.
- 86 **Figura 21.** Máquina rajadora y cortadora de cloaca.
- 86 **Figura 22.** Líneas de producción: a) tradicional; b) europea.

- 87 **Figura 23.** Eviscerado manual de la línea tradicional.
- 88 **Figura 24.** Ducha de pollo español.
- 88 **Figura 25.** Decapitador.
- 89 **Figura 26.** a) Cortapatatas; b) Operario repasando a la salida de corte de patas.
- 89 **Figura 27.** a) Eviscerado automático; b) separación de hígados y mollejas.
- 90 **Figura 28.** Envasado de hígado y corazón.
- 91 **Figura 29.** Máquina verificadora.
- 91 **Figura 30.** a) y b) Descolgado de línea de eviscerado; c) colgado manual.
- 92 **Figura 31.** Ducha tras el eviscerado.
- 93 **Figura 32.** a) Imagen parcial del túnel de oreo dinámico (Sevilla); b) Túnel de oreo estático (Toledo).
- 94 **Figura 33.** Sala de pesaje y clasificado de canales.
- 94 **Figura 34.** a) Etiquetado y marchamo; b) peso y asignación de código.
- 95 **Figura 35.** Clasificado manual de canales (Toledo).
- 95 **Figura 36.** Cámara de refrigerado.
- 97 **Figura 37.** Despiece automático. a) colgado manual de las canales en despiece automático; b) obtención de alas; c) línea de despiece automática; d) línea de conos (semiautomático).
- 100 **Figura 38.** Máquina envasadora y etiquetadora.
- 100 **Figura 39.** Muelle de descarga.
- 101 **Figura 40.** Sistema de lavado de cajas.
- 102 **Figura 41.** Producción global (Sevilla).
- 103 **Figura 42.** Sacrificio, eviscerado y ducha (Sevilla).
- 104 **Figura 43.** Túnel oreo, clasificado, refrigerado y expedición (Sevilla).
- 105 **Figura 44.** Despiece y embarquetado (Sevilla).
- 106 **Figura 45.** Producción global (Toledo).
- 107 **Figura 46.** Sala escaldado y desplumado (Toledo).
- 108 **Figura 47.** Eviscerado, clasificado y oreo (Toledo).
- 109 **Figura 48.** Sala despiece (Toledo).

- 111 **Figura 49.** Tipos de muestras analizadas en el matadero de Sevilla.
- 112 **Figura 50.** Productos para las muestras de a) piel; b) carne.
- 112 **Figura 51.** Porcentaje de muestras en cada punto de muestreo, en el matadero de Sevilla.
- 114 **Figura 52.** Tipo de muestras analizadas en el matadero de Toledo.
- 115 **Figura 53.** Composición de las muestras analizadas en el matadero de Toledo.
- 115 **Figura 54.** Productos para las muestras de a) canal; b) cuarto trasero; c) pechuga.
- 116 **Figura 55.** Toma de muestras de superficies a) sala de eviscerado; b) cinta transportadora de clasificado; c) rampa de recogida de canales descolgadas.
- 118 **Figura 56.** Porcentaje de muestras en cada punto de muestreo, en el matadero de Toledo.
- 121 **Figura 57.** Representación esquemática del protocolo de análisis microbiológico.
- 124 **Figura 58.** Analizador mini-VIDA.
- 127 **Figura 59.** Proceso de análisis en el equipo miniVidas.
- 144 **Figura 60.** Puntos de muestreo de la cadena de producción del matadero de Sevilla.
- 145 **Figura 61.** Diagramas de barras para *Aerobios mesófilos* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.
- 148 **Figura 62.** Diagramas de barras para *Pseudomonas* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.
- 150 **Figura 63.** Diagramas de barras para *Enterobacteriaceae* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.
- 151 **Figura 64.** Diagramas de barras para *Staphylococcus aureus* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.
- 155 **Figura 65.** Diagramas de barras para *Aerobios mesófilos* en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.
- 155 **Figura 66.** Diagramas de barras para *Pseudomonas* en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.

- 156 **Figura 67.** Diagramas de barras para *Enterobacteriaceae* en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.
- 160 **Figura 68.** Gráficos de caja para las variables físicas Ta, Tp, Hm, pH y t en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción de canales.
- 162 **Figura 69.** Gráficos de caja para las variables físicas Ta, Tp, Hm, pH y t en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción de despieces.
- 166 **Figura 70.** Esquema de la secuencia de estudio inicial propuesta por el sistema inverso.
- 166 **Figura 71.** Esquema de la secuencia de estudio de variables del proceso.
- 175 **Figura 72.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de embanquetado.
- 176 **Figura 73.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de clasificado.
- 177 **Figura 74.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en lada etapa de refrigerado en túnel.
- 178 **Figura 75.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de lavado.
- 179 **Figura 76.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de eviscerado.
- 180 **Figura 77.** Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de desplumado.
- 213 **Figura 78.** Esquema de los puntos de muestreo de la primera fase.
- 215 **Figura 79.** Presencia de *L. monocytogenes* los días de muestreo de la primera fase.
- 218 **Figura 80.** Esquema de los puntos de muestreo de producto de la segunda fase.
- 220 **Figura 81.** a) Verificadora; b) Canalón de recogida de canales descolgadas.
- 225 **Figura 82.** Esquema de los puntos de muestreo de producto en la sala de despiece.
- 227 **Figura 83.** a) Presencia de Lm según la zona muestreada. Sala de despiece; b) Presencia de Lm a lo largo de la jornada laboral.
- 233 **Figura 84.** Etapa de lavado con ducha de agua a presión.



- 237 **Figura 85.** Diferencias de contaminación microbiológica para los grupos de muestras estudiados.
- 246 **Figura 86.** Esquema de la secuencia de procesos y grupos de muestras estudiados.

## GLOSARIO

- Am: Aerobios mesófilos  
Ps: *Pseudomonas*  
Eb: *Enterobacteriaceae*  
St: *Staphylococcus aureus*  
Lm: *Listeria monocytogenes*
- Ta: Temperatura ambiental  
Tp: Temperatura del producto  
Hm: Humedad ambiental  
TH<sub>2</sub>O: Temperatura del agua  
t: Tiempo
- Ds: Descanso  
Pe: Pollo español  
Gu: Guantes  
Eg: Engolillado  
Cj: Cajón  
De: Ducha de extractora de buches  
Pa: Pollo acumulado en cinta transportadora  
Ep: Manipulación de la canal por la espalda o por la pechuga
- [S]: A la salida del tanque de escaldado, antes de entrar en la máquina peladora  
[P]: A la salida de la máquina peladora  
[G]: Al terminar el eviscerado, antes de entrar en la ducha  
[L]: A la salida del lavado con la ducha  
[T]: A la salida del túnel de oreo  
[C]: Tras el proceso de clasificado  
[E]: Tras el proceso de embarquetado  
[D]: Tras el proceso de despiece  
[B]: Cámara de conservación de productos de despiece  
[CC]: A la salida de la máquina que corta las cabezas  
[DC]: A la salida de la rajadora y dobla cuello  
[HM]: Tras la separación de hígados y mollejas  
[VR]: A la salida de la máquina verificadora  
[CJ]: En las cajas antes de colgar las canales en la cadena de despiece  
[CO]: Tras el corte del obispillo  
[SP]: Tras la separación de traseros de pechugas y obtención de alas  
[FP]: A la salida de la línea de conos. Tras la obtención de filetes de pechugas  
[FC]: A la salida de la máquina calibradora de filetes de pechuga  
[CT]: Tras la obtención de carne de contramuslo sin piel y deshuesado  
[CR]: A la salida del repaso de la carne de contramuslo

## EL CONTROL DE CALIDAD EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Según el Diccionario de la Real Academia Española, Calidad es la “propiedad o conjunto de propiedades inherentes a algo, que permiten juzgar su valor”.

Por otro lado, en la Norma ISO-8402, donde se reúne el Glosario Terminológico de Calidad Industrial, se define Calidad como “totalidad de las propiedades y características de un producto o servicio que le confiere su aptitud para satisfacer las necesidades establecidas o implícitas”.

Así, la calidad de un producto puede definirse como su medida frente a un estándar considerado excelente, a un precio dado, satisfactorio para el productor y el consumidor. La calidad puede medirse en términos sensoriales u organolépticos, en términos de composición química, de propiedades físicas y de contaminación microbiana, tanto cualitativa como cuantitativamente (*Forsythe y Hayes, 2002*).

Hasta llegar al concepto actual, los sistemas de control de calidad han sufrido una importante evolución, tanto en objetivos como en su aplicación. A lo largo de la historia, el control de calidad ha pasado por diferentes etapas, que van desde la inspección de la totalidad de los artículos fabricados, hasta los avanzados sistemas de calidad total actuales, cuyo objetivo principal es la satisfacción del cliente.

A principios del siglo XX, surge la figura del Inspector como responsable de comprobar que lo realizado por los operarios se ajusta a las especificaciones de producción. Así, el control de calidad se llevaba a cabo por parte de la administración, mediante la inspección de alimentos en las empresas. Este control ha estado destinado a:

- Comprobar el cumplimiento con la legislación:
  - Reglamentaciones Técnico Sanitarias (R.T.S.), que definen las condiciones que han de cumplir las empresas según el producto que se va a elaborar. Su objetivo es fijar los mínimos técnico-sanitarios que garantizaran la salubridad e inocuidad de los productos.
  - Las normas de calidad de los alimentos, que fijan diferentes niveles de calidad dentro de un producto-tipo, recogiendo los parámetros que permiten clasificar los alimentos en distintas categorías.

Existen normas de carácter vertical para categorías de productos (cárnico, lácteo, frutas,...), dirigidas a un sector concreto, y normas de carácter horizontal que afectan a la todos los productos alimenticios (principios generales, normas de higiene, enzimas, aditivos, colorantes, edulcorantes y aromas, etiquetado, envase y embalaje, trazabilidad).

- Tomar muestras de productos terminados y enviarlas a laboratorios oficiales para su análisis microbiológico y/o físico-químico.

Durante muchos años, el control de calidad de los alimentos se ha basado, principalmente, en el análisis del producto final, pero se comprobó que sólo analizando el cien por cien de los productos se podría certificar que éstos eran seguros. En los años 40 y 50 se establece un control estadístico (*Bertrand, 1980*) que, a través de gráficos, permite monitorizar la estabilidad o la calidad de un proceso de forma que se detecte, cuanto antes, cualquier situación inadecuada. La utilización de métodos estadísticos en la planificación, recogida y análisis de datos da lugar a decisiones que no se sustentan en meras conjeturas. Con ello se conseguía evitar la necesidad de realizar inspecciones demasiado exhaustivas de la producción, lo que supuso un gran ahorro en los costes de inspección a la vez que ofrecía la misma fiabilidad en los resultados.

Fue en los años 50 cuando se propuso el concepto de *Gestión de la Calidad Total* (Total Quality Management, TQM), que se define como una actividad continuada, aplicada por la gerencia, en la que cada uno reconoce su responsabilidad personal en la seguridad y en la calidad. Esto requiere que la empresa, como un todo, consiga la uniformidad y calidad de sus productos y consecuentemente mantenga su seguridad (*Forsythe y Hayes, 2002*). Consigue la mejora de la calidad con un bajo coste y cubre el sistema de calidad completo. Debido a esto, en la década de los 60 se tiende a realizar un control total de la calidad, lo que significó un gran avance respecto a la etapa anterior ya que, por primera vez, se dedican esfuerzos para atender de una forma más precisa al diseño de los productos. Las técnicas de calidad empleadas en la fabricación se extienden a las áreas de diseño y comercial, lográndose un Sistema Integral de Calidad.

Antes, bajo el término de "Control de Calidad" se incluían todos los factores controlables que determinaban la calidad del producto hasta que llegaba a las manos del consumidor. En 1970 aparece el concepto de "*Aseguramiento de la Calidad*", con el que se trata la cadena de elaboración como un todo, desde el

suministrador de materias primas hasta el último elaborador y distribuidor. Así, el control de calidad se ocupa de:

- el control del procesado de alimento,
- las materias primas y los productos finales para asegurar que cumplen las normas o estándares establecidos,
- la higiene de la línea de procesado.

Mientras que el aseguramiento de la calidad trata de aspectos más generales como:

- la evaluación de las materias primas y los estándares del producto final,
- el diseño de la factoría,
- la disposición de la línea de procesado,
- el diseño de la maquinaria,
- el envasado, almacenado y distribución.

En la industria alimentaria, están disponibles varios sistemas de Aseguramiento de la Calidad (Quality Assurance, QA) tales como GMP (Good Manufacturing Practice), HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points), ISO (International Organization for Standardization) y el estándar técnico internacional de BRC (British Retail Consortium) (*Van der Spiegel et al., 2003*).

La implantación generalizada de sistemas de calidad motivó la necesidad de establecer unos modelos de validez internacional. Así surgen los Modelos de Aseguramiento de la Calidad, entendidos como modelos organizativos y de gestión, que establecen unos requisitos que aseguren a todos sus destinatarios la válida implantación y ejecución de la calidad. Los sistemas de aseguramiento de la calidad cubren diferentes aspectos de los sistemas de calidad total:

GMP: principios, procedimientos y medidas necesarias para diseñar un ambiente idóneo para la producción de alimentos de aceptable calidad. Sus reglamentaciones se dividen en cuatro subpartes: normas generales (referentes al personal); edificios y dependencias (limpieza y necesidades mínimas de agua); equipo (diseño adecuado para evitar contaminaciones); producción y controles de proceso.

HACCP: Es un sistema basado en la prevención (*Mortimore y Wallace, 1996*). Se centra en los procesos primarios y su objetivo es asegurar la producción de alimentos seguros mediante la identificación y el control de etapas del proceso que van a suponer un efecto perjudicial sobre la calidad del producto final y ejercer sobre las mismas un sistema de vigilancia, con el

fin de minimizar o eliminar, si es posible, los riesgos.

ISO: Son reglamentaciones sobre estándares emitidos por un organismo internacional (ISO) que contienen especificaciones técnicas u otros criterios precisos para ser usados como reglas, guías o definiciones de características asegurando que los materiales, productos, procesos y servicios cumplan con su propósito. Requiere el establecimiento de todas las actividades en procedimientos, lo cual obliga a una clara asignación de responsabilidades. Estas normas fueron adaptadas a la Unión Europea, Normas CEN, las cuales son de obligada transposición en los países miembros. En el caso de España las normas CEN son traducidas por AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación) y se publican como Normas UNE.

- Serie ISO 9000:1994. Aseguran al cliente que los productos satisfacen las especificaciones exigidas.
- Serie ISO 9001:2000. Se proponen alcanzar la satisfacción del cliente por el conocimiento de los requisitos, para poder mejorar los sistemas continuamente y prevenir las "no conformidades".
- Serie ISO 14001. Sistema de gestión ambiental. ISO 14001:2004 recoge especificaciones para el Sistema de Gestión Ambiental, y es la única normativa de requisito en la serie ISO 14000. Es en la integración de ISO 9001 e ISO 14001 donde calidad y ambiente es responsabilidad integral de "todos" dentro de una organización.
- Serie ISO 22000. Es el sistema de gestión en materia de seguridad alimentaria aplicable a la cadena de abastecimientos de alimentos. La norma constituye, la elevación del HACCP a un sistema de gestión próximo a la ISO 9001.

BRC: también desarrollado para el aseguramiento de la calidad del producto y la seguridad alimentaria, especialmente para la venta al por menor. Es una lista de comprobación que combina HACCP con partes específicas de GMP e ISO.

La Gestión de la Calidad Total (TQM) no es un sistema de aseguramiento de la calidad pero sí un concepto para mejorar continuamente los productos, satisfacer a los clientes, conseguir la calidad de los productos y ahorrar costes por hacer las cosas bien desde el principio (*Barendsz, 1998*).

Tabla 1. Diferencias entre los Sistemas de Aseguramiento de la Calidad (QA) (GMP, HACCP, ISO y BRC) y Gestión de la Calidad Total (TQM) (*Van der Spiegel et al., 2003*).

Herramientas	GMP	HACCP	ISO 9001:1994	BRC	ISO 9001:2000	TQM
<b>Características del sistema de calidad</b>						
Estructura organizacional			X	X	X	X
Responsabilidades			X	X	X	X
Procesos		X		X	X	X
Procedimientos	X		X	X	X	X
Fuentes	X			X		X
<b>Resultado</b>						
Seguridad Alimentaria	X	X		X		X
Calidad del producto	X	X	X	X	X	X
Calidad de organización			X	X	X	X
Calidad total						X
<b>Perspectiva</b>						
Tecnología	X	X		X		
Gestión			X	X	X	X
<b>Exhaustividad</b>						
Más detallado	X	X	X		X	
<b>Requerimientos</b>						
Legislación		X				
Voluntario	X		X	X	X	X
<b>Gestión de la calidad</b>						
Control de calidad	X	X	X	X	X	X
Aseguramiento de la calidad		X	X	X	X	X
Mejora de la calidad					X	X
<b>Método</b>						
Plan de pasos ó etapas		X				
Checklist			X	X	X	
Pautas o guías	X					
Autoevaluación						X
<b>Sugerencias para la implantación</b>						
Descriptiva	X		X	X	X	X
Normativa		X				

En la Tabla 1 se detallan las diferencias que existen entre los distintos sistemas antes mencionados con respecto a: características del sistema de calidad, resultados, perspectivas, exhaustividad, requerimientos, manejo de la calidad, métodos y sugerencias para su implementación (*Van der Spiegel et al., 2003*). GMP y HACCP se desarrollan especialmente para asegurar la seguridad alimentaria. BRC se ocupa, al igual que el sistema HACCP, de la seguridad alimentaria y la calidad del producto, pero evalúa además aspectos de gestión (igual que el sistema ISO) y condiciones de las instalaciones (como el sistema GMP). Los objetivos de TQM son

mejorar la calidad total. ISO y TQM se centran más en aspectos de gestión, mientras que GMP y HACCP se centran en aspectos de tecnología.

El sistema HACCP es de obligado cumplimiento por la legislación española (*R.D. 2207/1995*), mientras que los otros sistemas son aplicados en la industria alimentaria de forma voluntaria. El sistema HACCP es el único sistema de aseguramiento de la calidad que consiste en un plan de "pasos", frente a las "checklist" o cuestionarios de comprobación de los sistemas ISO y BRC. GMP incluye guías y TQM utiliza autoevaluaciones (*Van der Spiegel et al., 2003*). Los objetivos de la TQM son más amplios que los del HACCP ya que incluyen la calidad y la satisfacción de los consumidores.

Debido a las diferencias antes descritas entre los sistemas de aseguramiento de la calidad, sus combinaciones se aplican para asegurar más aún los aspectos de la calidad alimentaria. Por ejemplo, HACCP e ISO se combinan para incluir tanto las medidas tecnológicas como las de gestión en el aseguramiento de la calidad de los alimentos y de la seguridad alimentaria (*Barendsz, 1998*). En este sentido, la nueva norma ISO 22000, con requisitos para la seguridad alimentaria, podría ser muy útil para la aplicación de los sistemas HACCP. Ambos sistemas necesitan la implicación de todos los empleados de la empresa, utilizan un enfoque muy estructurado y requieren establecer y especificar de modo muy preciso los aspectos clave. Ambos son Sistemas de Control de la Calidad diseñados para obtener la máxima confianza en que el nivel especificado como aceptable de seguridad/calidad se alcanza de manera económica. Las técnicas de Control de Calidad, así como las inspecciones validadas estadísticamente y los análisis, son partes vitales del Sistema para vigilar que los puntos de control, la calidad y seguridad se cumplan. El sistema ISO es importante para el HACCP y muchas veces es vital que el HACCP se apoye en sus procedimientos. Por ejemplo, el HACCP sólo será eficaz si: se utiliza un equipo debidamente calibrado, el personal tiene la formación necesaria, se controla la documentación, se verifica el sistema por medio de auditorías, etc. (*Motimore y Wallace, 1996*).

La Calidad Total es una estrategia empresarial cuyo objetivo central es la satisfacción del cliente: alcanzar las máximas ventajas para el usuario, que se traducirán en los máximos beneficios empresariales.



En definitiva, hay dos tipos de razones que justifican la introducción de sistemas de calidad en una empresa:

1. Razones de Mercado. La empresa consigue:
  - Asegurar la viabilidad del proyecto empresarial
  - Lograr su supervivencia
  - Obtener rentabilidad en las inversiones
  - Conseguir un crecimiento y desarrollo sostenido
  - Llegar a ser líder en el sector
2. Razones Legales: ciertos productos están obligados por ley a ser sometidos a un sistema de calidad.

La finalidad de la calidad a largo plazo lograr alcanzar los objetivos corporativos de la empresa. Mediante la implantación de los sistemas de calidad en una industria se consigue evitar rechazos del mercado, reclamaciones de clientes, devoluciones, despilfarro de recursos y, por tanto, pérdidas económicas.

En el caso de las industrias alimentarias, los intereses generales sobre crecimiento y desarrollo empresarial y rentabilidad de las inversiones se dirigen, además, hacia conseguir y garantizar la calidad higiénico-sanitaria del alimento hacia el consumidor. La protección de los alimentos mediante la **prevención de riesgos o peligros** es el principal objetivo de la normativa alimentaria. Un peligro es cualquier factor que pueda estar presente en el producto y convertirlo en no apto para el consumo humano. Los peligros que pueden entrañar los alimentos son principalmente biológicos, químicos y físicos:

- Los *peligros biológicos* son los más importantes y más variados y ofrecen el máximo riesgo inmediato para el consumidor, debido a su capacidad para producir toxiinfecciones alimentarias (*Mortimore y Wallace, 1996*). Los peligros biológicos pueden ser macro y microbiológicos. Los microbiológicos (ej., insectos) no suelen suponer un riesgo directo para la seguridad del producto, sin embargo, pueden existir riesgos indirectos si son portadores de microorganismos patógenos y los introducen en el producto. Los microbiológicos proceden, esencialmente, de tres fuentes principales de contaminación en los alimentos: materias primas, entorno (aire, agua y equipo) y personal (*Forsythe y Hayes, 2002*). Entre los microorganismos (bacterias, virus, hongos, parásitos y protozoos) que pueden estar presentes en un alimento hay que destacar los que producen la alteración del producto y los que transmiten enfermedades al hombre.

- Los *peligros químicos* suelen proceder de residuos de pesticidas, productos de limpieza, productos del metabolismo celular, tóxicos naturales, aditivos químicos utilizados en el proceso (conservantes, colorantes, saborizantes, etc.), residuos veterinarios, metales tóxicos, nitratos, nitritos y nitrosaminas, bifenilos policlorados, plastificantes y migraciones a partir de los envases. La contaminación química de los alimentos puede ocurrir en cualquier momento de su fabricación, desde la producción de materias primas hasta el consumo del producto final.
- Los *peligros físicos* se deben a una gran variedad de contaminantes de esta naturaleza que pueden aparecer en los alimentos como sustancias extrañas. Los peligros físicos son partículas no correctamente retiradas del alimento (por ejemplo, restos de huesos) o que llegan a ellos en el procesado (restos de plagas (insectos), suciedad, pequeños trozos de metal, vidrio, madera, piedras, plástico). Por ello, las Buenas Prácticas de Fabricación deben garantizar que se tienen en cuenta estos factores como integrantes del medio ambiente industrial y, deben evitar que cualquier peligro físico sea introducido en el área de producción por los empleados.

Estos factores, que son causantes de alteraciones en la calidad de los productos alimentarios, se encuentran distribuidos a lo largo de toda la cadena: producción, recolección/sacrificio, transformación, distribución, almacenamiento y empleo final. Los alimentos pueden entrar en contacto con una amplia variedad de superficies, personal y equipos, desde el momento de ser obtenidos hasta su consumo, por lo que todos estos factores deben ser considerados de manera especial a la hora de diseñar una industria alimentaria y su sistema de control de calidad, que debe aplicarse a todas las fases de la cadena de producción, tratando de identificar y valorar todos los riesgos asociados con el alimento y con su manipulación.

También es importante el **diseño de la fábrica y equipos**. La fábrica de alimentos debe estar diseñada de forma que sus distintos servicios (calefacción, luz, ventilación o eliminación de desechos) operen eficazmente, y deben ajustarse a unas altas exigencias higiénicas (*Forsythe y Hayes, 2002*). En el diseño de la fábrica se deben tener en cuenta factores tales como:

- El *lugar de fabricación*. Con aporte de agua potable y no potable, accesibilidad, seguridad del entorno y riesgo de contaminación atmosférica, o por roedores e insectos, etc., y con posibilidad de ampliación.

- La *construcción de los techos, paredes y suelos*. Evitar condensaciones, cúmulo de suciedad, crecimiento de mohos, etc. Las superficies deben ser lisas, sin grietas ni rugosidades, resistentes a los agentes químicos y biológicos e impermeables a la grasa y el agua. Ángulos de paredes y esquinas redondeados para facilitar la limpieza, y sistemas de drenaje en el suelo.
- *Ventilación*. Minimizar la producción de vapores y olores mediante el control de la temperatura y la humedad. Evitar la entrada de contaminantes aéreos, pájaros, insectos y roedores.
- *Equipos* de procesado. Seleccionados en función del coste, facilidad y fiabilidad de funcionamiento, seguridad para los operarios, características de mantenimiento y de fácil limpieza y desinfección (*Lelieveld, 1994*).
- *Flujo de los alimentos*, desde su recepción hasta su expedición, con la menor manipulación posible, con el mínimo de cruces y retrocesos. Las materias crudas deben estar separadas de las procesadas.

Los manipuladores, como personal que en alguna de las etapas de la producción entra en contacto con los alimentos, también pueden ser fuente de contaminación microbiana, bien sea por transmisión de microorganismos patógenos de los que son portadores, bien como vehículo de la contaminación cruzada entre alimentos. Los datos epidemiológicos demuestran que hasta un 20% de los brotes de infecciones alimentarias son causados por los manipuladores de alimentos (*Bryan, 1978; Roberts, 1980; Davey, 1985*). Por este motivo es de gran importancia el control de las condiciones en las que se realizan las operaciones en la cadena de producción y la capacidad del personal para llevarlas a cabo, así como, la vigilancia sobre la salud de los trabajadores, su higiene personal y su formación, para llevar a cabo una manipulación higiénica de los alimentos (*Valls, 1994; Camps y Pujol, 1997*).

En un trabajo previo, *González-Miret et al. (2001b)*, estudiaron el efecto que ejerce la manipulación sobre la calidad final de diferentes productos de despiece de pollo (alas y carne de pechuga), y confirmaron la importancia de mantener un estricto control sobre las condiciones higiénicas en el manipulado, especialmente de pechuga, para garantizar una calidad máxima en el producto final.

## LEGISLACIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

La legislación alimentaria es el conjunto de disposiciones y normativas legales, reglamentarias y administrativas que afectan a los alimentos. Puede ser aplicable en toda la Comunidad Europea o, a nivel nacional. Además, se refiere a los alimentos en general, y a la seguridad de los alimentos en particular. Se aplica a cualquiera de las etapas de la producción, la transformación y la distribución de los alimentos, así como a piensos producidos para alimentar a los animales destinados a la producción de alimentos o suministrados a dichos animales (*Reglamento 178/2002*). Esta legislación tiene los siguientes objetivos:

- proteger la salud de las personas y los intereses de los consumidores, teniendo en cuenta la protección de la salud y el bienestar de los animales, así como la salud de las plantas y del medio ambiente,
- la realización de la libre circulación de alimentos y piensos en la Comunidad,
- el cumplimiento de las normas internacionales existentes o en fase de preparación.

La legislación europea adopta las siguientes formas (*Forsythe y Hayes, 2002*):

Reglamentos:	Constituyen la legislación más rigurosa de la CEE. Son legalmente obligatorios en todas sus partes, en todos los Estados Miembros; su implementación no requiere la alteración de las leyes nacionales
Directivas:	También son de cumplimiento obligatorio en los Estados Miembros que deben adaptar su legislación en vigor a las correspondientes Directivas en una fecha límite debidamente establecida. Definen el resultado perseguido pero la forma de conseguirlo debe establecerla el Estado Miembro.
Decisiones:	Reglas específicas dirigidas a los Estados Miembros, compañías o individuos: son de obligado cumplimiento en todas sus partes
Recomendaciones y opiniones:	No son obligatorias en los Estados Miembros pero señalan las opiniones de la Comunidad sobre buenas prácticas

Los requisitos generales de la legislación alimentaria son los siguientes (*Reglamento 178/2002*):

- No se debe comercializar ningún alimento si es peligroso, es decir, si es perjudicial para la salud o no es apto para el consumo.
- Cuando un pienso se considera peligroso, no se debe comercializar ni darse a animales destinados a la producción de alimentos.
- En todas las etapas de la cadena alimentaria, los productores deben velar por que los alimentos o los piensos cumplan los requisitos de la legislación alimentaria.
- La trazabilidad de los alimentos, los piensos, los animales destinados a la producción de alimentos, y cualquier otra sustancia que se incorpore a los alimentos debe estar establecida en todas las etapas de la producción, transformación y distribución.
- Si un productor considera que un pienso o alimento es nocivo para la salud humana o animal, debe iniciar inmediatamente los procedimientos de retirada del mercado e informar de ello a las autoridades competentes y a los usuarios.

La seguridad alimentaria se consolida como un objetivo que debe ser integrado en la totalidad de las políticas comunitarias. Afecta de una forma más directa a una serie de competencias fundamentales de la Unión Europea: la política agrícola común, el mercado interior, la protección de los consumidores, la salud pública y las acciones en defensa del medio ambiente.

La política agrícola común (PAC) entró en vigor en 1962 y su primer objetivo consistió en garantizar la autosuficiencia alimentaria de los ciudadanos europeos. A lo largo de los años setenta, la Comunidad cumplió dicho objetivo y se fue introduciendo poco a poco la política de protección de los consumidores, reconocida por el Consejo Europeo de París de 1972. Por otro lado, la Asamblea General de las Naciones Unidas, mediante la *Resolución 39/248 (1985)*, aprobó una serie de directrices para la protección de los consumidores.

La legislación comunitaria en materia de alimentación tiende a garantizar la seguridad y la salubridad de los productos alimenticios destinados al consumo interno de un estado miembro y al comercio intracomunitario. Con este fin se elaboró la *Directiva 89/397/CEE*, en la que se establecen los principios generales para la realización de la inspección, toma de muestras y análisis de productos alimenticios destinados al consumo humano.

A lo largo de los años noventa, debido a las crisis alimentarias ocurridas, se puso de manifiesto la necesidad de elaborar una serie de normas de seguridad más estrictas en relación con la cadena alimentaria. Una de las directivas de la Comunidad Europea más importante para la industria alimentaria fue la *Directiva 93/43/CEE* sobre higiene alimentaria. Dicha directiva trata de las reglas generales de higiene de los alimentos que deben respetarse en sus fases de preparación, fabricación, transformación, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, manipulación y venta o suministro al consumidor y, de los procedimientos para comprobar su cumplimiento. Por "higiene alimentaria" se entiende todas las medidas necesarias para el aseguramiento de la seguridad y salubridad de los alimentos (alimentos aptos para el consumo humano). Se complementa, así, la *Directiva 89/397/CEE* con normas encaminadas a mejorar el nivel de higiene de los productos alimenticios, garantizando una mayor protección de la salud humana.

Con vistas a refundir la legislación, la Comisión Europea publicó, en 1997, el *Libro Verde* sobre los principios generales de la legislación alimentaria de la Unión Europea, punto de partida de una profunda reflexión sobre la legislación vigente y los posibles modos de mejorarla. El *Libro Verde* es un documento destinado especialmente a organismos y particulares invitados a participar en el proceso de consulta y debate.

El debate público suscitado desembocó en la publicación, el 12 de enero de 2000, del *Libro Blanco* sobre seguridad alimentaria, el cual pone en marcha una política más preventiva de cara a posibles riesgos alimentarios, mejora la capacidad de reacción rápida en caso de que se pruebe la existencia de algún tipo de riesgo y propone el uso de un sistema dinámico, coherente y comprensivo para asegurar un alto nivel de salud humana y protección del consumidor (*Snijders y Van Knapen, 2002*). La legislación debe tener en cuenta todos los aspectos de la cadena de producción alimentaria: producción, transformación, transporte, distribución y suministro de los alimentos, para adoptar un enfoque global e integrado "de la granja a la mesa". Prevé la creación de una Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA), que llegará a ser un referente científico para toda la Unión Europea, contribuirá a la protección de la salud pública, y ayudará a recuperar y mantener la confianza de los consumidores, mediante la participación de todas las partes interesadas: el público en general, las organizaciones no gubernamentales, las asociaciones profesionales, los socios comerciales y las organizaciones del comercio internacional.

El *Reglamento (CE) 178/2002*, es el texto fundador de la nueva legislación en materia de seguridad alimentaria. Se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA) que evalúa los riesgos existentes en la cadena alimentaria e informa al público en general de los riesgos reales y emergentes. También se crea un Comité Permanente de la Cadena Alimentaria y de Sanidad Animal que sustituye a los comités científicos permanentes que existían hasta la fecha. Este reglamento está modificado por el *Reglamento (CE) 1642/2003*.

El *Reglamento (CE) 178/2002* establece cinco principios generales que prevalecen sobre lo dispuesto en los restantes textos de este ámbito:

- Se reafirma el carácter global de la cadena alimentaria
- El análisis del riesgo es un elemento esencial de la política de seguridad alimentaria
- Desde ese momento todos los explotadores de empresas alimentarias asumen la responsabilidad que les corresponde
- Se debe asegurar la trazabilidad de los productos en todas las etapas de la cadena alimentaria
- Los ciudadanos tienen derecho a recibir una información clara y precisa por parte de las autoridades

La Unión Europea es miembro de la Organización Mundial del Comercio y vigila que las normas del comercio internacional contribuyan a conservar altos índices de seguridad y de calidad. Además, la Unión Europea o los Estados que la componen también son miembros de otras organizaciones internacionales que se dedican a la promoción de la salud animal o de la seguridad alimentaria a través de los intercambios internacionales. Entre las de mayor relevancia, se encuentra la Comisión del Codex Alimentarius (CCA).

La CCA fue creada en 1963 por la FAO (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud). Su misión era desarrollar normas alimentarias, reglamentos y otros textos relacionados tales como códigos de prácticas bajo el Programa conjunto FAO/OMS de Normas Alimentarias, para salvaguardar la salud de los consumidores y estimular las buenas prácticas comerciales en general (*Forsythe y Hayes, 2002*). El Codex Alimentarius fija normas de seguridad alimentarias de referencia para el comercio internacional de productos alimenticios, y sus principales objetivos son la protección de la salud de los consumidores, asegurar unas prácticas de comercio claras y promocionar la coordinación de todas las normas alimentarias acordadas

por las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales. Actualmente las normas del Codex se refieren principalmente a la composición y calidad de alimentos, a los aditivos, residuos de plaguicidas y etiquetado. La Comunidad Europea, miembro de la FAO desde 1991, se adhiere a la CCA tras publicarse el *Libro Blanco (2001)* sobre seguridad alimentaria, donde se reafirmaba el interés de tal adhesión.

Las medidas adoptadas por la Unión Europea en materia de seguridad alimentaria y productos alimenticios remiten frecuentemente al Codex para justificar sus prescripciones. Tal es el caso, en particular, de los principios HACCP, que están aceptados internacionalmente y publicados en detalle por la CCA al comienzo de los años noventa (*FAO/OMS, 1993*). Estos principios, prescriben una serie de etapas que deben seguirse durante todo el ciclo de producción, para permitir, mediante el análisis de los peligros, establecer los puntos críticos cuyo control resulta indispensable para garantizar la seguridad alimentaria.

Hasta la incorporación de España en la Unión Europea, el pilar básico de la legislación alimentaria fue el Código Alimentario Español (CAE), aprobado a través del *Decreto 2484/1967*, junto con el conjunto de disposiciones que lo desarrollan: Reglamentaciones Técnico-Sanitarias y Normas de Calidad. Sin embargo, a partir de los noventa comienzan a aparecer una serie de normativas comunitarias, algunas de aplicación directa y otras que, sucesivamente, han ido trasponiéndose al ordenamiento jurídico nacional. Es el caso de directivas tales como la *Directiva 89/397/CEE*, que se incorporó al ordenamiento jurídico español a través del *R.D. 50/1993*, y que regula el control oficial de los productos alimenticios, completando al *R.D. 1945/1983*, sobre las infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agroalimentaria; o la *Directiva 93/43/CEE* sobre higiene alimentaria, que se adopta en la legislación española a través del *R.D. 2207/1995*. Este Real Decreto especifica que las industrias del sector alimentario deben realizar técnicas de autocontrol destinadas a eliminar, o al menos minimizar, los riesgos que se deriven de las diferentes fases de la cadena productiva, y garantizar la higiene de sus productos. Este requisito se lleva a cabo mediante la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), basado en la localización de prácticas, procedimientos o procesos de la producción, denominados Puntos Críticos de Control (PCC), que supongan un mayor peligro para la calidad higiénico-sanitaria, y realizar sobre ellas las medidas de control necesarias para la reducción del riesgo (*ICMSF, 1991*).



En cuanto a la reglamentación específica relacionada con la carne fresca de aves, en una primera fase el *R.D. 644/1989*, por el que se aprueba: 1) la Reglamentación técnico-sanitaria en materia de intercambios de carnes frescas de aves para el comercio intracomunitario e importación de las mismas de terceros países, y 2) las normas que hacen relación a los mataderos, salas de despiece y almacenes frigoríficos autorizados para dicho comercio, incorporó al Derecho Español el contenido de las *Directivas del consejo 71/118/CEE, 80/216/CEE, 85/324/CEE* y la *Directiva de la Comisión 80/879/CEE* y sus correspondientes modificaciones.

Con la puesta en práctica del Mercado Interior de la Comunidad Europea y, teniendo en cuenta la supresión de los controles en frontera para el comercio intracomunitario, dado el refuerzo de las garantías en origen, no se pueden hacer diferencias entre las carnes frescas de aves de corral destinadas al mercado del territorio nacional y las destinadas al mercado de otro Estado Miembro. Esto ha dado lugar a la publicación de la *Directiva del Consejo 92/116/CEE* por la que se modifica y actualiza la *Directiva 71/118/CEE*, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca de aves de corral. Asimismo, fija la lista de terceros países a partir de los cuales se autoriza la importación de carnes frescas de aves de corral, mediante la *Decisión de la Comisión 94/85/CE*.

Por todo ello se procedió, mediante la publicación del *R.D. 2087/1994*, a la actualización y refundición de los textos legales relativos a las condiciones técnico-sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas de aves de corral. Este Real Decreto, al regular el ámbito intracomunitario, debe considerarse normativa básica en materia de sanidad, si bien contiene disposiciones para intercambios con terceros países que deben considerarse de aplicación plena por incidir en el comercio y sanidad exteriores. Según este Real Decreto, los Estados Miembros deben asegurar que las aves se sacrifiquen y procesen higiénicamente en mataderos autorizados, así todo establecimiento autorizado tendrá asignado un Número de Registro General Sanitario de Alimentos, según lo establecido en el *R.D. 1712/1991*. El aturdimiento y la degollación, deben realizarse en un lugar diferente al escaldado y desplumado, y a su vez éstos en un lugar separado del eviscerado. Se requiere un estricto control de la temperatura de las canales y carne de aves, que se almacenarán y transportarán a 4 °C o menos. La empresa, o su representante legal, dispondrá que se proceda a un control regular de la higiene general referido a los útiles, instalaciones y máquinas en todas las fases de la

producción y, si fuere necesario, a los productos. La empresa también deberá establecer un programa de formación del personal para que estos puedan cumplir las condiciones de producción higiénica adaptadas a la estructura de producción. El veterinario oficial responsable del establecimiento deberá intervenir en la elaboración, la concepción y la puesta en práctica de dicho programa.

En un matadero de aves, el seguimiento y control oficial de las condiciones sanitarias de producción de las carnes frescas de aves de corral es competencia del Inspector Veterinario, a través de las inspecciones sanitarias ante-mortem y post-mortem, según se especifica en el *R.D. 2087/1994*. Sin embargo, con la publicación del *R.D. 2207/1995*, en el que se establecen las normas generales de higiene que han de seguirse en la preparación, fabricación, transformación, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, manipulación y venta de los productos alimenticios y suministro al consumidor y los procedimientos para comprobar que se cumplen estas normas, las empresas del sector alimentario son las responsables de la higiene en sus establecimientos mediante la aplicación de sistemas de autocontrol, tales como el HACCP.

En el año 2001 se publica la *Decisión de la Comisión 2001/471/CE* por la que se establecen las normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos, de conformidad con la *Directiva 64/433/CEE*, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca, y con la *Directiva 71/118/CEE*, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral.

Además, existe otra normativa de aplicación en la industria alimentaria, concerniente a la industria objeto de estudio en el presente trabajo de investigación:

- *R.D. 1904/1993*, por el que se establecen las condiciones de producción y comercialización de productos cárnicos y otros productos de origen animal.
- *R.D. 1138/1990* que publica la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo público. Sustituido por el *R.D. 140/2003* que recoge los Criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- Referente a los manipuladores de alimentos, el *RD 202/2000* publica las normas relativas a su formación.
- En cuanto a las condiciones de los mataderos de aves, el *R.D. 2087/1994* establece las condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes fresca de ave de corral.

- La exigencia de indicar el lote del producto está regulado por el *R.D. 1334/1999*, que establece la norma general de etiquetado, presentación y publicidad de productos alimenticios, modificado por el *R.D. 2220/2004*.
- *Recomendación 2004/24/CE*, para que los estados miembros efectúen inspecciones y controles para evaluar la seguridad bacteriológica de carne de ave. Dichos programas están concebidos para mejorar la aplicación armonizada de los controles oficiales por parte de los estados miembros.

## ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL (HACCP)

En los años 60, debido a la necesidad de implantar un sistema basado en la prevención para obtener alimentos seguros, se iniciaron los sistemas HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points). Estos sistemas de control de calidad surgieron de dos acontecimientos importantes: en primer lugar los novedosos aportes hechos por Deming y colaboradores en los años 50, desarrollaron los sistemas de la calidad integral o total (GCT), que consistían en la aplicación de una metodología a todo el sistema de fabricación para mejorar calidad y bajar costos (*Colomer, 1997*); y el segundo avance importante fue el desarrollo del HACCP como sistema de control de la seguridad microbiológica por la Compañía Pillsbury conjuntamente con la NASA y los laboratorios del ejército de los EE.UU. en Natick, para garantizar alimentos seguros para los astronautas (*Mortimore y Wallace, 1996; Forsythe y Hayes, 2002*). Su desarrollo se basó en el sistema de ingeniería Análisis de Fallos, Modos y Efectos (FMEA, Failure, Mode, and Effect Análisis), el cual observa en cada etapa del proceso lo que puede ir mal, las posibles causas y los efectos y luego establece los mecanismos de control. Al igual que el FMEA, el HACCP busca los peligros relacionados con la seguridad alimentaria.

El concepto de HACCP fue presentado por primera vez de forma concisa en la National Conference for Food Protection en 1971 (*APHA, 1972*). Ofrece un planteamiento racional para el control de riesgos microbiológicos en los alimentos, evitando los problemas inherentes a la inspección y los inconvenientes del análisis microbiológico de producto final.

El HACCP trata de identificar las etapas del proceso que van a suponer un efecto perjudicial sobre la calidad del producto final y ejerce sobre las mismas un sistema de vigilancia, con el fin de minimizar o eliminar, si es posible, los riesgos. La nueva filosofía del control de calidad está basada en una estrategia preventiva:

si se controla toda la cadena de producción disminuye drásticamente la probabilidad de obtener un producto final defectuoso, lo que, además, permite planificar las actuaciones frente a la aparición de posibles riesgos y reducir la frecuencia de los mismos. El HACCP se basa en la prevención, en vez de en la inspección y la comprobación del producto final (FAO, 2002).

La introducción del sistema HACCP en la industria alimentaria fue avanzando hasta 1985, año en que la National Academy of Science de los Estados Unidos recomendó que los principios HACCP fuesen aplicados en los establecimientos donde se procesaran alimentos, para garantizar la seguridad de los mismos.

Desde 1986, el Comité del Codex Alimentarius recomienda a las empresas del sector alimentario la aplicación de sistemas de control que aseguren la calidad de sus productos. Con la llegada del Mercado Único y la libre circulación de mercancías, se hace necesaria la unificación de criterios en cuanto a los sistemas de calidad alimentaria. Desde entonces, la velocidad de su introducción se ha acelerado debido a los siguientes motivos:

- Desde los años sesenta han surgido nuevos microorganismos peligrosos relacionados con los alimentos, no conocidos o inexistentes anteriormente, tales como *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli verotoxigénico* y nuevas cepas de *Salmonella enteritidis*. Estos microorganismos han provocado la demanda de leyes que mejoren la protección de los consumidores.

- El gran aumento de la distribución de productos en todo el mundo ha hecho necesaria la cooperación de los gobiernos a nivel internacional para garantizar la seguridad de los alimentos

El HACCP es un método eficaz que permite evitar los problemas antes de que ocurran y ayuda a producir alimentos seguros, de este modo reduce el riesgo de producir alimentos peligrosos. Actualmente es un requisito legal en España (R.D. 2207/1995, por el que se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios) y en muchos países y para su implantación es necesario implicar al personal de todos los sectores de la producción en la empresa. Hace responsable a las empresas del sector alimentario de la higiene en sus establecimientos, para lo cual deben realizar actividades de autocontrol del tipo HACCP, y desarrollar guías de prácticas correctas de higiene.

Para que el sistema HACCP sea eficaz debe ser sencillo de manejar y desarrollado por un equipo multidisciplinar y no por una sola persona. Una vez implantado, hay que prestar especial atención a los cambios que se vayan produciendo en la producción. Además el HACCP es compatible con otros sistemas de gestión de la calidad ya existentes, pero se debe comprobar y dar siempre prioridad a la seguridad del producto.

El HACCP es un sistema que puede ser implantado en un comercio ambulante o en una multinacional alimentaria. Se puede aplicar en cualquier establecimiento, industria, fábrica, etc. del sector alimentario.

El sistema HACCP consta de siete principios publicados por la Comisión del Codex Alimentarius (*FAO/OMS, 1993*) y por el National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (*NACMCF, 1992; 1998*):

**Principio 1.** Realizar un análisis de peligros. Estudiar el proceso en profundidad y elaborar una lista de etapas del proceso en las que puedan aparecer peligros significativos, describiendo las medidas preventivas.

Se comienza con la elaboración de un diagrama de flujo del proceso en el que se detallan todas las etapas, a continuación se identifican y definen los peligros de cada una de las etapas y por último se describen las medidas preventivas necesarias para el control de estos peligros.

**Principio 2.** Identificar los puntos críticos de control del proceso (PCC). Determinar qué puntos, procedimientos, fases o pasos pueden ser controlados con el fin de eliminar los peligros o, en su defecto, reducir al mínimo la posibilidad de que ocurran. Esta identificación puede realizarse mediante una herramienta denominada "árbol de decisiones" que, mediante una secuencia de preguntas (Figura 1), puede ayudar a determinar qué fase, proceso o punto puede representar un PCC y cual no. Estas preguntas se deben responder sucesivamente, en el orden indicado, en cada una de las etapas y para cada riesgo o peligro identificado.

**Principio 3.** Establecer los límites críticos. Establecer los criterios que deben cumplirse para asegurar que los PCC estén bajo control. Estos límites establecen la diferencia entre un producto seguro y uno peligroso. Deben ser siempre claros, nunca ambiguos y se deben establecer para cada punto crítico.

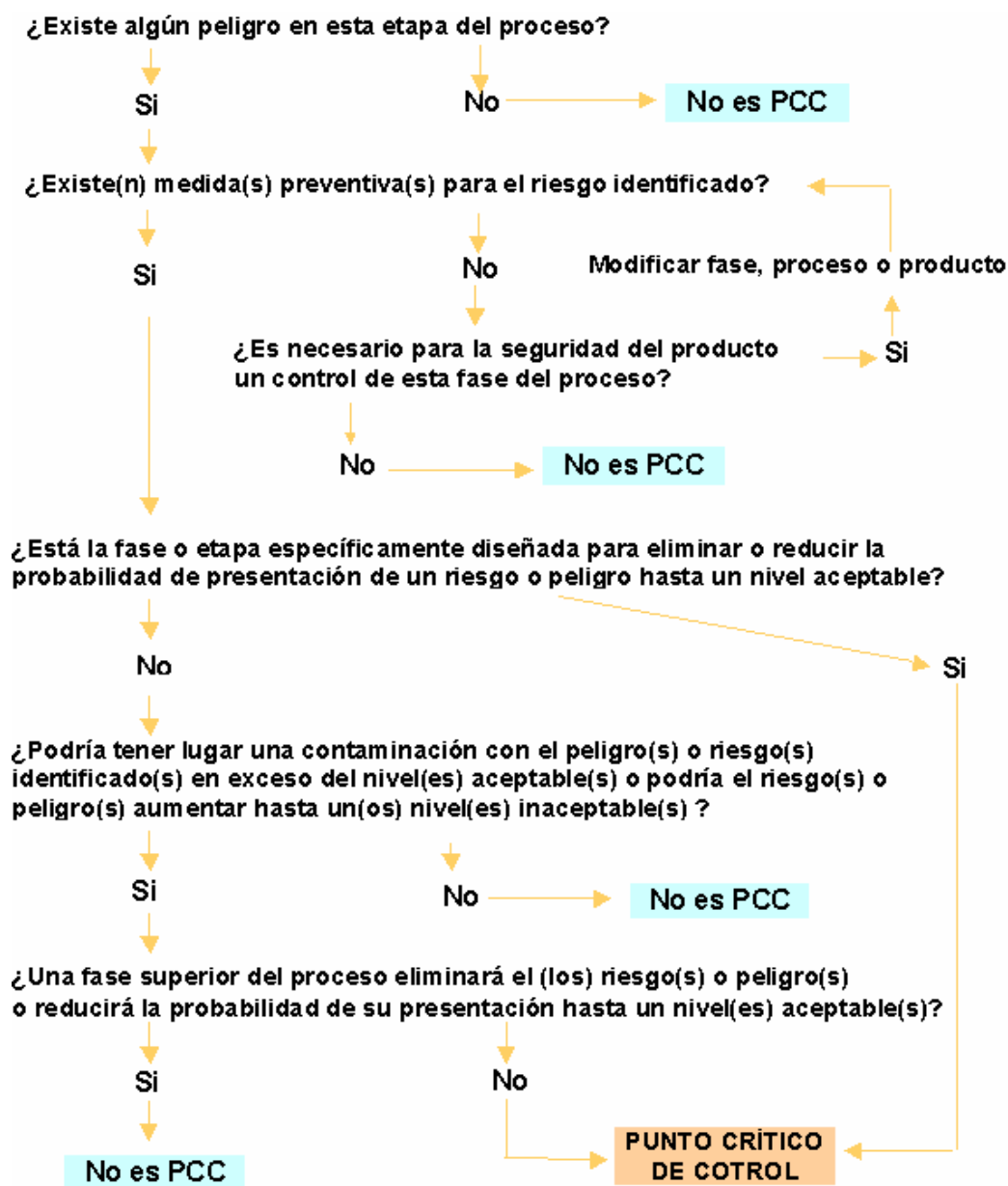


Figura 1. Árbol de decisiones. Determinación de PCC en la línea de producción

**Principio 4.** Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC. La vigilancia debe estar basada en pruebas u observaciones programadas. En todo momento se debe conocer cómo realizar la vigilancia, qué persona debe realizarla, en qué momento y con qué frecuencia, y dónde registrar los datos. A partir de los resultados de la vigilancia se debe establecer el procedimiento para ajustar el proceso y mantener el control.

**Principio 5.** Establecer las medidas correctoras a realizar cuando los resultados de la vigilancia en los PCC indiquen pérdida en el control del proceso y así poner el proceso de nuevo bajo control. Establecer los responsables de llevar a cabo estas medidas correctoras, cómo llevarlas a cabo, qué hacer con el producto afectado, cómo evitar que se produzca una nueva pérdida del control y dónde registrar las medidas correctoras aplicadas.

**Principio 6.** Establecer los procedimientos de verificación y comprobación (mediante pruebas y procedimientos) para confirmar el eficaz funcionamiento del sistema HACCP. Puede considerarse una auditoría interna. Debe establecerse la persona responsable de la verificación del sistema, qué se debe verificar, en qué momento, cómo hacerlo (manual de procedimiento)

**Principio 7.** Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación. Los registros de datos deben ser guardados para demostrar que el sistema funciona correctamente, demostrándose así la fabricación de alimentos seguros.

El sistema HACCP es un sistema dinámico y, por tanto, sometido a las variaciones y modificaciones necesarias por parte de la industria. El sistema deberá aplicarse por separado a cada operación concreta y cuando se introduzca alguna modificación en el producto, proceso o fase, será necesario examinar la aplicación del sistema HACCP y realizar los cambios oportunos. La aplicación de los sistemas HACCP consta de las siguientes fases (*FAO, 2002*):

- Formación de un equipo HACCP. Aunque todo el personal de la empresa debe estar comprometido en la ejecución del sistema HACCP, el estudio del mismo ha de llevarlo a cabo un Equipo HACCP que debe ser pequeño y multidisciplinar, incluyendo representantes de todas las áreas de la empresa implicadas en la calidad. Su selección debe basarse en la experiencia, responsabilidades y conocimiento de los procesos y productos que se elaboran. En algunos casos es posible que se haga necesaria la colaboración de personal externo a la empresa o consultores.
- Descripción del producto. Inocuidad, composición (materias primas y porcentajes), características físicoquímica y microbiológicas, tratamientos estáticos para la destrucción de los microbios, envasado, durabilidad, condiciones de almacenamiento, instrucciones de uso y sistema de distribución.
- Identificación del uso al que ha de destinarse. Basado en los usos del producto previstos por el usuario o consumidor final.

- Elaboración de un diagrama de flujo por el equipo de HACCP. Se trata de describir el proceso completo de elaboración, transformación y distribución en forma de etapas secuenciadas, que incluyan todas las entradas de productos que van a influir en el proceso: materias primas, ingredientes, materiales de embalaje y etiquetado.
- Verificación in situ del diagrama de flujo por el equipo HACCP. Éste deberá cotejar el diagrama de flujo con la operación de elaboración en todas sus etapas y momentos.
- Enumeración de todos los posibles peligros, ejecución de un análisis de peligros y estudio de las medidas para controlar los peligros identificados (principio 1)
- Determinación de los PCC (principio 2)
- Establecimiento de límites críticos para cada PCC (principio 3)
- Establecimiento de un sistema de vigilancia para cada PCC (principio 4)
- Establecimiento de medidas correctoras (principio 5)
- Establecimiento de procedimientos de verificación (principio 6)
- Establecimiento de un sistema de documentación y registro (principio 7)

Un programa de seguridad alimentaria efectivo debe estar basado en los conceptos de análisis de riesgos y prevención utilizados en los siete principios del HACCP (*Bauman, 1995*). Estos conceptos deberían fundamentarse en bases científicas y todas las intervenciones y toma de decisiones relacionadas con la seguridad alimentaria deben ir acompañadas de una importante documentación científica. Las industrias, las agencias gubernamentales y los consumidores deben entender sus papeles individuales para lograr la mayor efectividad del programa (*Harris et al., 1995*). Además, el personal de planta debe participar en el desarrollo y mantenimiento del plan HACCP ya que ellos conocen las limitaciones, los equipos y demás factores implicados. A través de estos análisis, el personal puede llegar a familiarizarse gradualmente con las cuestiones reales de la seguridad alimentaria y aprender a enfocar sus esfuerzos hacia minimizar o prevenir que ocurra (*Tompkin, 1994*).

### **Planes Generales de Higiene en la industria alimentaria**

Al implantar un sistema HACCP en una industria, es aconsejable examinar los programas ya existentes y comprobar si está preparada para construir sobre ellos o si, en primer lugar, debe focalizar la atención en prácticas básicas de higiene (*Bernard et al., 1994*), realización de los principios generales de higiene de



los alimentos, las buenas prácticas de fabricación, controles y documentación (FAO, 2002). Estos principios se deben de aplicar a la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta el consumidor final, estableciendo las condiciones de higiene necesarias para la producción de alimentos inocuos y aptos para el consumo.

Es importante destacar la importancia de estos principios generales de higiene ya que forman las bases para formular buenos planes HACCP.

En los últimos años, la metodología de implantación de los sistemas HACCP ha ido modificándose hacia un procedimiento más racional, según las orientaciones que sobre estos temas va realizando el Codex Alimentarius. Así, en la actualidad, se tiende a que los peligros que aparezcan de forma reiterativa en todas las fases de la cadena de producción de una empresa se gestionen de manera horizontal. Y además se acometan bajo direcciones de los Principios Generales de Higiene de los alimentos establecidos por el propio Codex. Estos peligros, que aparecen sistemáticamente y que se controlan con una serie de medidas preventivas comunes, constituyen los Planes Generales de Higiene o Prerrequisitos. Se definen como “el conjunto de programas y actividades preventivas básicas, a desarrollar en todas las empresas alimentarias para la consecución de la seguridad alimentaria”, y requieren de unos planes específicos que contemplen de manera documentada: responsable, procedimientos de ejecución, vigilancia, acciones correctoras y verificación. En Andalucía se exigen de manera obligatoria los planes referentes a: control de suministro de agua, control de plagas o plan de desinsectación y desratización (D+D), protocolos de limpieza y desinfección (L+D), plan de trazabilidad, mantenimiento de instalaciones y equipos, plan de formación de manipuladores. Hay otros cuya ejecución, aunque voluntaria, resulta muy aconsejable: guía de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), plan de eliminación de residuos, plan de proveedores.

Los Planes Generales de Higiene, junto con el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control, constituyen el Sistema de Autocontrol de una empresa alimentaria.

## SISTEMAS CONTINUOS DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS (SCCP)

El principal objetivo de los sistemas de autocontrol es detectar cualquier pérdida de control durante el procesado del alimento, con el fin de actuar de forma eficaz, antes de que suponga un peligro. De aquí se deduce que las herramientas que han de utilizarse en la monitorización deben ser de respuesta inmediata (medidas de temperatura, pH,...). La microbiología, por lo tanto, no es la base de los sistemas HACCP, aunque es un apoyo imprescindible en el establecimiento de límites, en el desarrollo de estudios estadísticos de comprobación, y procesos de verificación.

Basándonos en el sistema de actuación HACCP, pero con objetivos más amplios de calidad, podemos hablar de Sistemas Continuos de Control en la Producción (SCCP). Se trata de identificar las etapas del proceso que pueden provocar un efecto, tanto beneficioso como perjudicial, sobre la calidad del producto final y ejercer sobre las mismas una vigilancia sistematizada, con el fin de favorecer los efectos positivos y minimizar o eliminar, si fuera posible, los riesgos. Entre las ventajas que estos sistemas ofrecen se encuentra el beneficio económico que supone evitar errores en el producto final controlando los posibles fallos en etapas intermedias. Frente a los sistemas de control tradicionales, basados en el estudio de producto final, los SCCP son sistemas de control preventivos que permiten planificar las actuaciones durante el proceso frente a la aparición de posibles riesgos, reducir la frecuencia de los mismos, así como favorecer los factores que aumentan la calidad final.

Las principales diferencias entre los Sistemas Continuos de Control en la Producción y los sistemas HACCP se encuentran en el planteamiento de los objetivos:

- a) El HACCP sólo contempla la calidad higiénico-sanitaria y el cumplimiento de los límites legales establecidos, mientras que el SCCP debe considerar todos los aspectos de la calidad (calidad higiénico-sanitaria, físico química, organoléptica, nutricional y tecnológica del producto) tratando de conseguir productos de la máxima calidad, no sólo desde el punto de vista legal.
- b) Los sistemas HACCP consideran el riesgo como un peligro para el consumidor, por lo que su objetivo es evitar enfermedades transmitidas por los alimentos. Para los SCCP los riesgos son peligros para el producto, es decir, todos

aquellos factores a los que se encuentran expuestos los alimentos y que pueden afectar a su calidad.

c) Mientras que los sistemas HACCP sólo pretenden eliminar o reducir los riesgos que disminuyen la calidad, los SCCP, además, potencian los factores que intervienen positivamente en la calidad final.

La implantación de sistemas continuos de control en la producción (SCCP) en la industria alimentaria supone una nueva filosofía en la concepción del control de calidad; con el consiguiente aumento de la eficacia en la utilización de los medios de los que se dispone en la industria.

Sin embargo, en muchas industrias alimentarias, la calidad higiénico-sanitaria es uno de los factores más importantes en la calidad global, por lo que no es fácil establecer una clara separación entre HACCP y SCCP. Una fase decisiva en el diseño e implantación del sistema de control, es determinar qué fases del proceso son las que constituyen algún riesgo para la calidad del producto y cuál será la magnitud del mismo, es decir, su valoración cuantitativa. Esto exige determinar la probabilidad de que éste se presente y la gravedad del mismo.

## **LA EMPRESA**

La compañía NUTRECO es una multinacional del sector agroalimentario, constituida en 1994. Tiene sus oficinas centrales en Amersfoort (Holanda), con sedes en más de 100 países, cuyas actividades principales son agroalimentaria (Nutreco Agriculture) y acuicultura (Nutreco Aquaculture). Nutreco Agricultura está dedicada a producir aves y ganado porcino, y posee fábricas de pienso en Europa que transforman productos agrícolas en piensos para aves, porcino, vacuno y otras especies de animales. Nutreco España, S.A., la sociedad matriz del grupo NUTRECO en nuestro país, gestiona y presta servicios centralizadamente a sus compañías participadas en asuntos tales como I+D, tecnología de la información, seguridad e higiene, o gestión medioambiental. Está estructurada en cinco divisiones de negocio (genética, agroespecialidades, piensos compuestos, avicultura y procesado avícola, y acuicultura), gestionadas de forma independiente a través de diferentes compañías. En total se agrupan 23 empresas, con 57 centros de trabajo, y laboratorios de Investigación y Desarrollo.

El Grupo SADA p.a., S.A., junto con Agrovic Alimentación S.A. (adquirida por el grupo en el año 2001) está especializada en la producción avícola integrada. Su actividad se centra en la gestión total del ciclo productivo del pollo de carne, desde reproductoras, incubadoras, granjas de cebo y plantas de procesamiento, hasta la distribución y comercialización del producto final. Está compuesta por 11 plantas de producción, y cuenta en su organización con incubadoras, mataderos y plataformas de distribución. Mantienen una estrecha colaboración con el centro específico exclusivo para avicultura de I+D de Nutreco situado en Toledo, donde se realizan proyectos encaminados a mejorar la productividad y a calidad del producto final. Consolida los diferentes eslabones de la cadena de producción avícola, integrada verticalmente bajo un mismo concepto de calidad, lo que permite garantizar un producto final uniforme y homogéneo según los estándares de calidad de cada mercado, así como asegurar la trazabilidad de los productos, desde el nacimiento de las aves, productos con los que han sido alimentadas y procesamientos posteriores realizados.

En 1994, el Grupo Sada implantó un sistema de aseguramiento de la calidad en todas sus plantas de procesado, certificado por AENOR, según la Norma Internacional ISO 9002.

Desde 1997, ha mantenido una estrecha relación con el grupo de investigación "Color y Calidad de Alimentos" (AGR-225, P.A.I.) de la Universidad de Sevilla, mediante diferentes convenios de colaboración y contratos de investigación (arts. 68 y 85, L.O.U.).

## FACTORES ASOCIADOS A LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LOS ALIMENTOS

### MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA

La microbiología de los alimentos es la parte de la microbiología que trata de los microorganismos que influyen en las características de los productos de consumo alimenticio, humano o animal. Engloba, por tanto, aspectos de ecología microbiana y de biotecnología para la producción alimentaria.

Los microorganismos con interés en los alimentos se pueden clasificar en cuatro grandes grupos:

- Productores de alimentos
- Microorganismos beneficiosos para la salud humana
- Microorganismos responsables del deterioro de los alimentos
- Microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos

### Microorganismos como productores de alimentos en la industria

Desde los tiempos más antiguos se han utilizado microorganismos para producir alimentos (cerveza, vinagre, vino o pan). Los procesos microbianos dan lugar a una serie de cambios en los alimentos que les confieren mayor resistencia al deterioro o unas características organolépticas más deseables.

La microbiología industrial es la parte de la microbiología que se ocupa fundamentalmente de las aplicaciones industriales de los microorganismos, trata de utilizar microorganismos para producir compuestos químicos, o realizar funciones que sean útiles desde un punto de vista aplicado (salud, alimentos, producción vegetal y animal, insumos industriales, minería y servicios). Para cada producto o transformación concreta será necesario determinar qué microorganismo es el más adecuado para llevarlo a cabo.

La mayoría de los procesos de fabricación de alimentos en los que intervienen microorganismos se basan en el desarrollo de procesos fermentativos sobre los materiales de partida con "cultivos microbiológicos de arranque". Los procesos fermentativos más habituales suelen ser llevados a cabo por bacterias del grupo láctico (*Giraffa y Rossetti, 2004*), produciendo un descenso del pH, lo que reduce la capacidad de supervivencia de especies bacterianas indeseables. Se

acumulan en el alimento ácidos orgánicos de cadena corta que, además de su efecto antibacteriano, confieren al alimento características de sabor agradable. Gracias a su capacidad antimicrobiana, se utiliza en la industria para la conservación de alimentos como alternativa a la utilización de aditivos alimentarios químicos (nitrito, sulfito, ácido propiónico, sórbico y benzoico) que suelen ser rechazados por el consumidor (*Leroy y De Vuyst, 2004*). En ciertos casos, se acumulan, además, compuestos antibacterianos que reducen la carga microbiana del alimento, incrementando su vida media o impidiendo la germinación de esporas de bacterias posibles causantes de intoxicaciones alimentarias. Por ejemplo, las bacteriocinas producidas por bacterias ácido-lácticas pueden ser utilizadas como una alternativa al nitrato de potasio para prevenir la contaminación del queso por clostridios (*Thomas et al., 2000*) y es utilizada también para inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (*Nettles y Barefoot, 1993; Jamuna et al., 2005*).

Un gran número de bacterias, levaduras y hongos son capaces de producir glutaminasa, enzima utilizada en la industria alimentaria (fermentación en la elaboración de salsa de soja) y farmacéutica (*Nandakumar et al., 2003*). Las pectinasas o enzimas pectolíticas, ampliamente distribuidos en bacterias, hongos y plantas, se utilizan en procesos industriales como extracción y clarificación del zumo de frutas (las pectinas influyen en la viscosidad y turbidez del zumo), producción de fibra vegetal, fermentación del té y del café, extracción de aceite de cítricos, tratamiento de aguas residuales y mejora de las características cromáticas y la estabilidad de vinos tintos (*Jayani et al., 2005*).

Levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces fragilis* son los fermentos utilizados en la fabricación de pan y bebidas alcohólicas. *Nikolaou et al. (2006)* han estudiado que la utilización de determinadas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* dan lugar a vinos de mejor calidad por su contenido en compuestos volátiles con aroma a frutas.

Los hongos son fuente de numerosas enzimas comerciales (amilasas, proteasas, pectinasas), ácidos orgánicos (cítrico, láctico), e intervienen en la fabricación de quesos especiales como Camembert o Roquefort (*Boutrou y Guéguen, 2005*).

Por su parte, existen muchas bacterias de interés industrial entre las que se encuentran los géneros *Gluconobacter* y *Acetobácter* (bacterias del ácido acético) que convierten el etanol en ácido acético; *Clostridium acetobutylicum*, que fermentan los azúcares originando acetona y butanol; o las bacterias ácido lácticas

que incluyen entre otras las especies de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*, empleadas en la producción de yogurt.

### Microorganismos beneficiosos para la salud humana

Directamente relacionados con este tipo de microorganismos aparecen los conceptos de alimentos probióticos, prebióticos y simbióticos.

Los alimentos *probióticos* son aquellos que contienen microorganismos viables (generalmente lactobacilos y bifidobacterias) en cantidad suficiente para modificar la microflora intestinal y producir efectos beneficiosos en la salud (*Havenaar y Huis In't Veld, 1992; Schrezenmeir y de Vrese, 2001*). Los microorganismos capaces de colonizar el intestino tienen capacidad para competir con los microorganismos patógenos por los nutrientes accesibles y sitios de adherencia a la mucosa intestinal, aumentar la respuesta inmune humoral, promover la barrera inmunológica intestinal y estimular la respuesta no específica del huésped hacia gérmenes patógenos (*Ferrer y Dalmau, 2001; Servin y Coconnier, 2003*). *Gopal et al. (2003)* han demostrado que el suplemento con *B. Lactis* HN019 en la dieta aumenta la proporción de bifidobacterium y lactobacillus en el tracto gastrointestinal humano y proporciona efectos beneficiosos en la salud humana. Como consecuencia de todo se producen efectos beneficiosos tales como la prevención de la diarrea post-terapia antibiótica (combinación de la levadura *Saccharomyces boulardii* con lactobacilos), la modulación del sistema inmune y protección de la mucosa intestinal (*L. GG*), la mejora de la intolerancia a la lactosa (*L. bulgaricus* y *S. thermophilus* utilizados en la industria láctea), la reducción del riesgo de constipación (*L. acidophilus*), el tratamiento de la diarrea por *C. difficile* (*S. boulardii, L. reuteri*), la prevención de la diarrea por rotavirus (*B. lactis, L. casei*), y la reducción del riesgo de contraer cáncer de colon, entre otros (*Matsuzaki, 1998; Schrezenmeir y de Vrese, 2001; Teitelbaum y Walker, 2002; Rafter, 2003; Tuohy et al., 2003; Young y Huffman, 2003; You et al., 2004; Commane et al., 2005*). También se atribuyen efectos beneficiosos en la prevención y tratamiento de las alergias producidas por proteínas de la leche de vaca y otras proteínas alimentarias. Así como en la prevención y tratamiento de enfermedades del sistema urinario (*Hoesl y Altwein, 2005*).

*Bogaerts et al. (2005)* sugieren que para el tratamiento de la encefalopatía hepática es más efectiva la utilización de probióticos que de prebióticos. Esto es debido a que los probióticos interrumpen el proceso de producción de amonio, por eliminación de la bacteria causante, en el intestino delgado y colon, mientras que

los prebióticos lo hacen principalmente del colon.

Los alimentos *prebióticos* son sustancias no digeribles que producen un efecto beneficioso en el hospedador al estimular el crecimiento selectivo y/o la actividad metabólica de un número limitado de bacterias en el colon (*Gibson y Roberfroid, 1995*). Es decir, un alimento debe ser clasificado como prebiótico si cumple al menos los siguientes criterios (*Gibson, 2004*):

- el sustrato no debe ser hidrolizado ni absorbido en el estómago ni en el intestino delgado
- debe ser selectivo para las bacterias beneficiosas que se encuentran en el colon (bifidobacterias)
- su fermentación debe producir efectos beneficiosos en el hospedador.

En Europa los prebióticos más conocidos y estudiados son la inulina y la oligofrustrusa u oligosacáridos no digeribles (lactulosa, fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, oligosacáridos de soja, lactosacarosa, isomalto-oligosacárido, gluco-oligosacárido, xilo-oligosacárido), ambos presentes en muchos vegetales, frutas y hortalizas (ej., cebolla, ajo, tomate, plátano, trigo, alcachofas, espárragos, puerros, etc.), y su consumo produce beneficios en el individuo (*Gibson, 2004; Matteuzzi et al., 2004; López-Molina et al., 2005; Montesi et al., 2005*). Debido a su configuración, no son digeribles al menos en el tracto superior del aparato digestivo y son utilizados preferentemente por la microbiota del colon, transformándolos por vía fermentativa en ácido láctico y otros ácidos orgánicos de cadena corta que estimulan de forma selectiva la proliferación de bacterias lácticas y bifidobacterias en el colon (*Roberfroid, 2000; Flamm et al. 2001*). Los beneficios del consumo de estos alimentos son: reducción de diarreas asociadas a infecciones intestinales, disminución de triglicéridos en plasma (*Fiordaliso et al., 1995; Delzenne y Kok, 1999*), reducción del riesgo de obesidad y de contraer diabetes tipo II, reducción del riesgo de cáncer de colon (*Reddy et al., 1997; Hylla, 1998*), y reducción del riesgo de osteoporosis por la estimulación de la absorción de calcio y magnesio, así como la mayor retención del calcio en el tejido óseo (*Roberfroid, 2000; 2002; Scholz-Ahrens et al., 2001; Teitelbaum y Walker, 2002; Tuohy et al., 2003; Gibson, 2004*).

La presencia en el mismo alimento de prebióticos y probióticos define a éste como *simbiótico* (*Schrezenmeir y de Vrese, 2001*). Esta simbiosis afecta beneficiosamente al huésped, mejorando la supervivencia e implantación en el colon de los microorganismos vivos tomados de alimentos con probióticos y



estimulando selectivamente el crecimiento o activando el metabolismo de un número limitado de bacterias promotoras de la salud (*Rastall y Maitin, 2002; Tuohy et al., 2003*). Uno de los principales beneficios de los alimentos simbióticos es que aumentan la persistencia del probiótico en el tracto gastrointestinal (*Gmeiner et al., 2000*).

### **Microorganismos responsables del deterioro de los alimentos**

El deterioro o alteración de los alimentos comprende todo cambio, producido por agentes microbianos, químicos o físicos, que los convierte en inadecuados para el consumo.

La alteración de los alimentos puede deberse al ataque de insectos, lesiones físicas por golpes, presiones, congelación, deshidratación y radiación, actividad de enzimas, cambios químicos sobre todo debidos al oxígeno (rancidez oxidativa de grasas y aceites, y colores extraños en carnes crudas) y actividad de los microorganismos, sobre todo bacterias, levaduras y mohos, resultado de las relaciones ecológicas entre el alimento y el microorganismo.

Hace años, la alteración de los alimentos era considerada como un pequeño problema en la industria alimentaria, mucho menos importante que la contaminación de éstos por patógenos. Sin embargo, en la actualidad, el deterioro de los alimentos es el mayor problema que existe en la industria alimentaria ya que ha aumentado considerablemente en las últimas décadas debido a la utilización de nuevas tecnologías para la producción de alimentos, nuevas fórmulas de alimentos y la tendencia a reducir el uso de conservantes y procesos severos (*Loureiro y Malfeito-Ferreira, 2003*). Por tanto el impacto económico que supone la pérdida de productos por su deterioro es un factor muy importante (*Martorell et al., 2005*).

La alteración originada por los microorganismos es, sin duda, la más importante. De todos los microorganismos presentes en un alimento sólo algunos son capaces de multiplicarse activamente sobre él dando lugar al predominio de una o dos cepas que se convierten en la flora responsable de la alteración observada en ese alimento (*Forsythe y Hayes, 2002*). Por consiguiente, en el proceso de deterioro se va seleccionando una población predominante, de forma que la variedad inicial es poco indicativa del posible deterioro y sólo refleja las poblaciones iniciales. Cada alimento se deteriora, generalmente, por acción de un tipo de microorganismo concreto estableciéndose una asociación específica entre el microorganismo alterante y el producto alterado. Así, las carnes son alimentos

fácilmente deteriorables debido a las favorables condiciones para el desarrollo de microorganismos.

Existen factores que dirigen esta selección y determinan lo que se denomina resistencia a la colonización de un alimento. Estos factores son: a) factores intrínsecos a la composición del alimento (actividad de agua, pH, potencial redox, nutrientes, estructura del alimento, agentes antimicrobianos presentes, etc.) que condicionan un ambiente ideal, por ejemplo, para el crecimiento de bacterias anaerobias (*Clostridium* sp.); b) factores extrínsecos derivados de las condiciones físicas del ambiente en el que se almacena el alimento (temperatura de almacenamiento, humedad ambiental, etc.) dando lugar por ejemplo al desarrollo de bacterias psicrótrofas (*Pseudomonas* spp. y *Brochothrix thermosphacta*); c) tratamientos tecnológicos que modifican la flora inicial; y d) factores implícitos que comprenden las relaciones entre los microorganismos establecidos (antagonismo, metabiosis, comunicación de una célula a otra) como consecuencia de los factores anteriores (*Gram et al., 2002*).

El deterioro de alimentos causado por microorganismos puede manifestarse como un crecimiento visible (limo, colonias), un cambio en la textura (degradación de polímeros) y un cambio en el color, olor o sabor (*Gram et al., 2002*).

La alteración de los alimentos puede ser causada por la proliferación de diferentes microorganismos: bacterias anaerobias (*Clostridium* sp., que crece en los músculos de carnes después del sacrificio, debido a la disminución del oxígeno en éstos y en productos enlatados), bacterias psicrótrofas (*Pseudomonas*, responsable de la alteración de alimentos almacenados en condiciones de refrigeración dando lugar a olores putrefactos y aparición de baba), bacterias fecales (*Escherichia*, *Enterobacter* y *Streptococcus*), bacterias termodúricas (*Streptococcus thermophilus*, *Bacillus cereus*, etc., que resisten la pasteurización de la leche y de ovoproductos), bacterias esporuladas (*Bacillus stearothermophilus* y *Bacillus subtilis* cuyas esporas resisten el tratamiento UHT de la leche), mohos y levaduras (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Candida*, *Saccharomyces*, etc., que originan alteraciones en quesos, yogurt, mantequillas, pan, vino, frutas y hortalizas) (*Overy et al., 2003*; *Viljoen et al., 2003*), acetobacterias y bacterias lácticas que producen alteraciones en el vino y la cerveza, etc. (*Forsythe y Hayes, 2002*). En la actualidad son las levaduras las principales responsables del deterioro del vino (formación de películas, turbidez, producción de gas en botellas), siendo menos frecuente el deterioro debido a las bacterias, gracias a la introducción de

nuevas tecnologías de producción, buenas prácticas de manipulación, uso de conservantes, etc. (Loureiro y Mafeito-Ferreira, 2003).

*Pseudomonas* spp. y algunos microorganismos psicrótrofos gram-negativos son mayoritarios en alimentos proteicos almacenados a bajas temperaturas y ambiente aeróbico (carne, pollo, conejo, leche y pescado). Cuando la carne se envasa al vacío, las bacterias ácido lácticas, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta*, clostridios y *S. Putrefaciens*, que crece en carnes con pH elevado, pueden causar también alteraciones en el alimento (Dainty y Mackey, 1992; Broda et al., 1996; Samelis et al., 2000). En el pescado envasado al vacío son *Shewanella putrefaciens*, que produce SH<sub>2</sub> y reduce el óxido de trimetilamina, y *P. phosphoreum*, bacteria psicotolerante y CO<sub>2</sub>-resistente, las que pueden deteriorar el alimento (Graw y Dalgaard, 2002; Gram et al., 2002; Hozbor et al., 2006).

Estudios realizados por Rodríguez-Calleja et al. (2005) sobre el desarrollo de la flora alterante de carne de conejo almacenada a bajas temperaturas han concluido que los principales microorganismos alterantes de la carne de conejo, cuyo pH es superior al de la mayoría de las carnes rojas, son *Pseudomonas* y en menor cantidad levaduras, *Brochothrix thermosphacta* y *Enterobacteriaceae*.

La flora de bacterias Gram-negativas se reduce, por la disminución del pH (por debajo de 5), el aumento de la concentración de NaCl y la adición de sorbato y/o benzoato. Las bacterias ácido-lácticas y levaduras permanecen en las semiconservas de pescado. *Lacobacillus* spp. son microorganismos responsables del deterioro de este tipo de alimentos (Graw y Dalgaard, 2002).

Los zumos de frutas, que tienen un alto contenido en azúcar y un pH bajo (2-4.5), se alteran con frecuencia debido al crecimiento de bacterias ácido lácticas y/o levaduras (Tahiri et al., 2006). Cuando los zumos son pasteurizados *Alicyclobacillus acideoterrestris* es responsable del deterioro. *Erwinia* y *Pseudomonas* son bacterias alterantes de productos vegetales preparados y *Pediococcus* es importante en la alteración de la cerveza (Walls y Chuyate, 2000).

### Microorganismos patógenos transmitidos por alimentos

Un microorganismo es patógeno cuando es capaz de causar una infección o enfermedad en un huésped determinado. Existen numerosas enfermedades transmitidas por los alimentos, en las cuales los microorganismos vivos presentes o sus productos tóxicos son ingeridos junto con ellos. El término *toxiinfección alimentaria* se emplea corrientemente para referirse a un amplio grupo de

enfermedades o condiciones clínicas que afectan al tracto gastrointestinal, debido a la ingesta de alimentos contaminados. Estas enfermedades pueden suponer, a veces, problemas preocupantes y constituir serios riesgos sanitarios, con altos costes para la administración sanitaria.

Según la definición de la Organización Mundial de la Salud, se define enfermedad transmitida por alimento como “una enfermedad de carácter infeccioso o tóxico causada, o que se cree que es causada, por el consumo de alimentos o de agua contaminada”.

La patogenicidad se produce: a) por la ingestión de un alimento contaminado con microorganismos dando lugar a diferentes procesos patológicos (infección alimentaria); b) como consecuencia de la ingestión de una toxina preformada de origen microbiológico presente en el alimento, alterando las funciones vitales del consumidor (intoxicación alimentaria); o c) como consecuencia de la acción de una toxina sintetizada en el organismo por un microorganismo que se encontraba presente en el alimento ingerido (toxiinfección alimentaria).

Los microorganismos patógenos pueden ser tanto de origen endógeno, presentes en el interior del alimento, como exógeno, depositados en la superficie del alimento durante su manipulación y procesado.

Los factores más importantes que contribuyen a la presencia de patógenos de origen exógeno en alimentos preparados suelen ser: higiene inadecuada, contaminación cruzada, producción y almacenamiento de alimentos en habitaciones inadecuadas, equipos contaminados y contaminación debido al personal (*Kusumaningrum et al., 2003; Reij y Den Aantrekker, 2004*).

Existen estudios sobre la microflora del ambiente y la cadena de producción de industrias alimentarias. La importancia de la contaminación por *Salmonella* spp. en mataderos de cerdo (*Giovannacci et al., 2001*), por *Listeria monocytogenes* en plantas de ahumado de salmón (*Fonneshech-Vogel et al., 2001*), *Listeria* spp. en industrias de producción de carne (*Senczek et al., 2000*), *Staphylococcus aureus* en plantas de suero liofilizado (*Kleiss et al., 1994*) o *Bacillus cereus* en plantas de procesado de suero (*Pirttijärvi et al., 1998*).

Son numerosos los microorganismos que se introducen en el hospedador a través de los alimentos causando enfermedades. Dentro de estos microorganismos, los principales responsables de infecciones alimentarias son: *Salmonella* que produce gastroenteritis severa, *Campylobacter* que es uno de los patógenos gastrointestinal más comunes, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* que

produce diarrea sanguinolenta, *Y. enterocolitica*, *Shigella*, *Bacillaceae*; los responsables de intoxicaciones alimentarias son: *C. botulinum* cuya toxina parálitica produce botulismo, *S. aureus* cuya toxina produce vómitos intensos y *B. cereus* (Schlundt, 2002).

## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE UN ALIMENTO

Cuando se desea establecer la aptitud de un alimento para el consumo humano se ha de evaluar una serie de microorganismos o grupos de ellos, que son determinantes del grado de salubridad e higiene o de la calidad higiénico-sanitaria. Dentro de estos análisis se establecen distintas categorías:

### Parámetros generales

- *Recuento total*. En general, sirve para conocer las condiciones de salubridad de algunos alimentos. El recuento total de *aerobios mesófilos* estima la flora total de microorganismos que no crecen por debajo de 7°C. Se trata de conocer el número total de gérmenes presentes, ya que la mayoría de los microorganismos de un alimento pertenecen a este grupo. Aunque incluye la mayoría de las bacterias patógenas, el recuento total tiene un valor limitado como indicador de presencia de patógenos o sus toxinas, ya que niveles bajos de aerobios mesófilos en un alimento no aseguran que éste se encuentre exento de patógenos, como tampoco los valores altos implican la presencia de los mismos. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, además de las condiciones higiénicas de la materia prima y la forma en que fueron manipuladas en el proceso. Altos recuentos suelen ser signo de inmediata alteración del producto (Roberts *et al.*, 1980; Collins y Lyne, 1989; Sofos, 1994).
- *Recuento de Psicrótrofos*. Son aquellos que pueden formar colonias visibles a temperaturas de refrigeración. Son psicrotróficos todos los microorganismos que exigen o toleran temperaturas bajas para su crecimiento, comprendidas entre 4 y 20 °C, por lo que suelen ser la causa del deterioro de alimentos refrigerados, y de ahí la importancia de su determinación en alimentos que se conservan a bajas temperaturas. Los microorganismos psicrotróficos aeróbicos aumentan considerablemente su número durante el almacenamiento, pudiendo

causar modificaciones organolépticas, tales como los olores anormales muy variados, cuando alcanzan en el alimento concentraciones de  $10^6$  -  $10^8$  ufc/g (Capita et al., 1999).

Dentro de este grupo, *Pseudomonas* es el tipo de bacterias más frecuente en los alimentos. Presentan una versatilidad metabólica muy grande que se traduce en su capacidad para utilizar como fuente de carbono substratos muy variados. Debido a su gran potencial metabólico, son agentes importantes en la alteración de alimentos tales como productos cárnicos almacenados a temperaturas de refrigeración dando lugar a olores no deseados, producción de limo, aumento del pH y presencia de fluorescencia en superficie (Forsythe y Hayes, 2002).

Son los organismos más dados a contaminar los suministros municipales de agua, ya que pueden crecer en aguas muy pobres en nutrientes. Aunque el agua sea apta para beber, no siempre es aceptable para el tratamiento de los alimentos. Ello se debe a la presencia de microorganismos corruptores o productores de compuestos químicos que dan lugar a la aparición de olores y sabores inadmisibles en los alimentos (Banwart, 1982).

### Microorganismos marcadores

Tienen gran importancia a la hora de establecer la seguridad y calidad microbiológica de los alimentos. Son especies microbiológicas cuya existencia indica la posible la presencia de otras bacterias causantes de toxiinfecciones alimentarias o de otras patógenas con significado higiénico. Su utilidad se debe a que su identificación es más rápida, fácil, segura y económica que la de otros patógenos.

Dentro de este grupo se puede hablar de microorganismos "índices" e "indicadores" (Robach, 1996; Forsythe y Hayes, 2002):

- *Índice*: microorganismo cuya presencia en los alimentos sugiere la posibilidad de que haya bacterias patógenas relacionadas ecológicamente con él, es decir, está relacionado con la seguridad alimentaria (ej. *E. coli* índice de *S. typhi*).
- *Indicador*: microorganismo cuya presencia está más relacionada con el estado microbiológico general del alimento, es decir, con su calidad higiénica (ej. coliformes).

Entre los microorganismos marcadores más frecuentes en los alimentos, y de amplia utilización en los laboratorios de control de alimentos se encuentran *Enterobacteriaceae* totales, coliformes, *Escherichia coli* y *Streptococos fecales* (De Boer, 1998):

- *Enterobacteriaceae*. Aunque las pruebas para demostrar la presencia de bacilos coliformes en general, y de *Escherichia coli* en particular, son muy útiles, es conveniente hacer el recuento de todas las enterobacterias presentes ya que algunas cepas de *Citrobacter* o *Klebsiella* spp. son más resistentes que *Escherichia* spp., con lo que su presencia es mejor indicador de un proceso inadecuado (Collins y Lyne, 1989). Además, frente a los coliformes, el análisis de enterobacterias es más fácil, de mejor interpretación y de menor coste. La familia *Enterobacteriaceae* debe considerarse indicadora aunque en determinados alimentos, en los que cabría esperar enterobacterias patógenas como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, se considera un índice, más adecuado que coliformes, que no cubre a estos patógenos. Así, su uso como índice ha adquirido gran aceptación en Europa, si bien hay que aclarar que no existe correlación directa entre enterobacterias y patógenos (Forsythe y Hayes, 2002).

La presencia de estos microorganismos indica una elaboración poco higiénica del alimento, una contaminación posterior a su fabricación, o ambas cosas. Mossel *et al.* (1963) sostienen que existe una estrecha relación entre los recuentos totales de enterobacterias y la contaminación fecal del alimento.

La presencia de gran número en los alimentos implica prácticas inadecuadas de higiene, o bien exposición del alimento a condiciones que pudieran haber permitido la multiplicación excesiva de bacterias indeseables. Por esta razón se utiliza como índice para señalar la calidad sanitaria de alimentos procesados. Las enterobacterias son indicadores muy útiles, ya que, además de ser un grupo taxonómicamente bien definido, incluye la mayor parte de los patógenos entéricos. En la mayoría de los alimentos, se ha comprobado que el recuento total de *Enterobacteriaceae* ofrece una información suficiente sobre el estado de la muestra y sólo en determinados casos es necesario realizar pruebas adicionales para *Salmonella* u otros (Mossel y Moreno, 1985)

- *Coliformes*. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Se caracteriza por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas en un

periodo de 48 horas, a una temperatura de incubación comprendida entre 30 y 37 °C. Los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, pertenecientes a este grupo, se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, además de otros ambientes como suelo, plantas, cáscara de huevo, etc. Aunque su especificidad como indicadores no es buena, se suelen usar como índice de contaminación fecal por su frecuencia en heces, su fácil detección en el laboratorio y sus características semejantes, en algún aspecto, a la de algunos miembros patógenos pertenecientes a esta familia (Pascual, 2000). Dentro de este grupo, son los coliformes fecales, que se presentan normalmente en el intestino del hombre y de animales, los que tienen significado sanitario y, por tanto, los que más interesan en el análisis microbiológico de alimentos, siendo natural suponer que su presencia en los alimentos indica reciente contaminación con heces. Las principales bacterias coliformes son *Escherichia coli*, que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales y *Enterobacter aerogenes*, asociada normalmente con la vegetación y que aparece ocasionalmente en el intestino (Forsythe y Hayes, 2002).

- *Escherichia coli*. Este microorganismo se encuentra muy difundido en la naturaleza aunque la mayoría de las cepas tienen probablemente su origen en las heces ya que es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Por su especificidad está considerado como un buen índice de contaminación fecal. Tiene la particularidad de vivir poco tiempo en ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica una contaminación reciente (Pascual, 2000). Su escasa resistencia (se destruye a temperatura de pasteurización y durante el almacenamiento en frío, sobre todo con la congelación) hace que no sea un buen indicador de flora patógena.
- *Streptococcus fecales*. Al igual que otras *enterobacterias*, el hábitat natural de estos microorganismos es el aparato digestivo humano y de los animales de sangre caliente. Son considerados indicadores de contaminación fecal, y su presencia en los alimentos indica falta de higiene o condiciones de conservación defectuosas, excepto en alimentos en los que interviene como flora habitual de procesos fermentativos. Son muy resistentes a las condiciones adversas (congelación, desecación, etc.) por lo que se consideran buenos



indicadores para valorar las condiciones higiénicas y de conservación de alimentos congelados y desecados cuando aparecen en cifras muy elevadas. Su utilización como índice de contaminación fecal del agua es habitual, pero su valor como indicador en los alimentos es más discutido (*Pascual, 2000*).

- *Clostridios sulfitorreductores*. Son microorganismos productores de toxinas que se utilizan como indicadores de contaminación fecal en aguas y productos de origen animal. La capacidad de esporular de estos microorganismos les confiere una gran resistencia.

### Microorganismos patógenos

Son agentes causantes de toxiinfecciones e infecciones alimentarias, por lo que su determinación en algunos alimentos es fundamental.

- *Salmonella*. Es un género que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Provocan la enfermedad (salmonelosis) cuando mueren: después de multiplicarse en el intestino de su hospedador y de sufrir la lisis subsiguiente, se libera una potente endotoxina que provoca destrucción del epitelio intestinal. La carne de vacuno, cerdo, oveja y aves, los huevos, los piensos animales, la leche, el queso, el chocolate, etc., pueden ser fuentes de salmonellas, siendo la carne de ave (principalmente la de pollo) y los huevos las fuentes más importantes (*Forsythe y Hayes, 2002*). El principal hábitat de las especies de *Salmonella* es el tracto intestinal de animales y son excretadas en heces y son diseminados en el ambiente, pudiéndose encontrar en el agua. La contaminación secundaria es también origen importante de casos de salmonelosis a través de los manipuladores (por ser portadores asintomáticos después de sufrir la enfermedad) y del contacto directo entre alimentos contaminados y no contaminados.
- *Shigella*. Son microorganismos productores de cuadros de disentería. También pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, de origen humano, pues los animales no son reservorios de ellas, por lo que las contaminaciones se producen por la manipulación del alimento. Su presencia en los alimentos (leche, carnes crudas, ensaladas, etc.) es debida a una higiene defectuosa por parte de los portadores. Una vez en el alimento se multiplican cuando éste se mantiene a temperatura ambiente.

- *Listeria monocytogenes*. Desde 1980 se sabe que este microorganismo está asociado a los alimentos. *Farber y Peterkin (1991)* han realizado una extensa revisión sobre muchos aspectos relacionados con este patógeno (epidemiología, crecimiento en los alimentos y factores de virulencia relacionados con la enfermedad humana). Es un germen psicrófilo aunque también presenta una gran resistencia al calor y otros métodos de conservación como la desecación. Se ha demostrado que su presencia está relacionada con la microflora de origen, donde los lactobacilos parecen tener el mayor efecto antilisterial (*Farber y Peterkin, 1991*). Es una bacteria extraordinariamente ubicua que se puede encontrar en muchas zonas de granjas y mataderos (suelo, agua, forraje, paja, pienso, heces, suelo húmedo) por ello es difícil de controlar (*Forsythe y Hayes, 2002*). En la industria, esta bacteria tiene fácil acceso a los productos alimenticios en las distintas fases de su elaboración. Sobre todo en la industria cárnica es capaz de colonizar las superficies de contacto y formar biofilms (*Spurlock y Zottola, 1991; Ronner y Wong, 1993; Blackman y Frank, 1993; Maurice, 1994*), que es una fuente de contaminación potencial para los productos alimentarios (*Cox et al., 1989; Sammarco et al., 1997*). Su patogenicidad depende de factores del hospedador, por lo que es importante su determinación en alimentos destinados a determinados grupos con factores de riesgo (inmunodeprimidos, niños, ancianos y mujeres gestantes).
- *Clostridium botulinum*. Microorganismo anaerobio ampliamente distribuido en la naturaleza (polvo, suelo, vegetación, sedimento de ríos, lagos, etc.), con gran capacidad de resistencia mediante la generación de esporas que sobreviven al cocinado y se reproducen a temperaturas de hasta 50 °C. Si estas esporas logran germinar en los alimentos, se multiplican las formas vegetativas y producen una toxina mortal. La toxina se produce solamente en un ambiente anaerobio de baja acidez (>4.5), antes de la ingestión del alimento (exotoxina), se absorben en el intestino delgado, se transportan por la corriente sanguínea y finalmente llega al tejido nervioso. También existen esporas que pueden germinar y multiplicarse en el intestino de lactantes produciendo suficiente toxina, lo que da lugar a botulismo infantil (*Sofos, 1991; Pascual, 2000*). Por esto es muy importante su determinación en alimentos de ambiente anaerobio, tales como las conservas.

- *Clostridium perfringens*. De todas las patógenas es quizás la más ampliamente distribuida en la naturaleza. Se encuentra en el suelo, aguas naturales, en el intestino de personas sanas y animales también sanos. Sin embargo, algunas cepas son patógenas para el hombre (toxiinfección alimentaria producida por *C. perfringens* tipo A, y enteritis necrótica producida por *C. perfringens* tipo C) y para los animales, cuando están presentes en los alimentos a concentraciones elevadas (superiores a  $10^5$  ufc/g) (Pascual, 2000). Las estirpes del tipo A termorresistentes, cuyas esporas resisten la ebullición de 1 a 5 horas, son las responsables de la mayoría de los brotes causados por este microorganismo. La toxiinfección es causada por una toxina. Los microorganismos se multiplican en el intestino, donde tiene lugar la esporulación. La toxina se produce por las células esporulantes de las que se libera en la lisis (Forsythe y Hayes, 2002).
- *Staphylococcus aureus*. Es una especie bacteriana, integrada por formas cocáceas que se agrupan irregularmente en racimos. Es anaerobio facultativo, pero crece mejor en presencia de aire, además presenta la característica poco frecuente de tolerar tasas bajas de actividad de agua y por lo tanto crece a niveles de sal relativamente altos. Aproximadamente, el 50% de las cepas de *S. aureus* son enterotoxigénicas, productoras de una enterotoxina termorresistente causante de intoxicaciones alimentarias. Estas toxinas son exotoxinas ya que se originan en el interior de la célula intacta, desde donde se liberan al alimento. Una dosis infectiva de menos de 1 microgramo (incluso a concentraciones de 100-200 ng) puede producir síntomas de intoxicaciones estafilocócicas, cuando ésta es ingerida junto con los alimentos (Forsythe y Hayes, 2002; Pascual, 2000), aunque estos niveles se alcanzan cuando la población de *S. aureus* excede de  $10^5$  ufc/g. *S. aureus* está presente en aire, polvo, aguas residuales, leche y otros alimentos. Los alimentos implicados en intoxicaciones estafilocócicas son aquellos que requieren una considerable manipulación durante su preparación y que posteriormente no han sido suficientemente calentados (por encima de 60 °C) o refrigerados (por debajo de 7.2 °C) (US FDA, 2003). Es un marcador de contaminación por manipulación defectuosa al ser habitual su presencia en las fosas nasales, faringe, pelo, heridas, ojos, tracto intestinal y pliegues de la piel del organismo humano, etc. (Oballe et al., 2001). Es muy sensible a la acción del calor y los desinfectantes, por lo que su presencia o la de su toxina en los alimentos es signo evidente de falta de higiene en el procesado y la posterior manipulación del mismo.

- *Bacillus cereus*. Es un germen ubicuitario abundante en la naturaleza (suelo, vegetales, harinas, especias, arroz) y en algunos alimentos crudos y procesados. Es capaz de producir enfermedad en el hombre cuando el alimento está muy contaminado (recuentos de  $10^6$  ufc/g y superiores) (Pascual, 2000). Las esporas son mucho menos termorresistentes que las de *C. perfringens* y se destruyen a 100 °C en 5-30 minutos. *B. cereus* produce dos tipos de toxinas (que se forman en el alimento) que dan lugar a dos distintas intoxicaciones alimentarias: una de ellas es termosensible, asociada a alimentos como sopas de ave, carnes, salsas, y da lugar a un "síndrome diarreico" (parecido al originado por *C. perfringens*) y la otra es más termorresistente, asociada a arroz y alimentos ricos en almidón, y da lugar a un "síndrome vomitivo o emético" (parecido al producido por *S. aureus*). Al contrario que en el caso de *C. perfringens* estas toxinas son preformadas, se producen en el alimento. Aunque su importancia reside en su papel como patógeno, su presencia en alimentos almacenados en frigoríficos indica una posible interrupción de la cadena de frío (Pascual, 2000).
- *Campylobacter*. Existen varias especies de *Campylobacter* que originan toxiinfecciones alimentarias (*C. jejuni*, *C. coli* y, ocasionalmente, *C. lari*). Estas bacterias no crecen a temperatura ambiente (25 °C) y se conocen como "campilobacter termófilos" ya que crecen a temperaturas de 42-43 °C. Están ampliamente distribuidas en los alimentos y en el medio pero las principales causas de infección en la especie humana son la carne de ave y la leche contaminadas. *Campylobacter* se transmite generalmente comiendo o bebiendo el alimento o agua contaminado y, en ocasiones, por el contacto con los animales infectados.
- *Vibrio parahaemolyticus*. Es un germen halófilo muy distribuido en el agua de costas (sobre todo en costas de aguas templadas), sedimentos y plancton, produciendo una gastroenteritis aguda al ingerir pescados o mariscos contaminados. Si se presenta en otros alimentos se debe a una contaminación cruzada a partir de alimentos procedentes del mar. Su presencia en el agua requiere que la temperatura sea superior a 20 °C, y en alimentos crece a una temperatura de 10 °C, luego la refrigeración y la congelación pueden provocar su inactivación e incluso su eliminación. Es muy termosensible, por lo que se destruye fácilmente a temperaturas mayores de 50 °C.

## FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO

En la industria alimentaria existen muchos factores que pueden influir en el crecimiento bacteriano, que pueden ser ambientales y de proceso. Se pueden citar factores tales como temperatura ambiental y de producto, pH, oxígeno, humedad, nutrientes, sustancias inhibidoras, tiempo de procesos, factores de manipulación (uso de guantes, mascarillas, uniformes, manipulación del alimento), higiene y limpieza de la maquinaria industrial, agua utilizada en la industria, etc. Aunque cada uno de estos factores independientemente es importante y puede influir en el crecimiento bacteriano, son sus efectos combinados los que determinan generalmente si tendrá lugar el crecimiento y, dadas las condiciones de crecimiento convenientes, qué bacterias crecerán y con qué rapidez.

### *Factores relacionados con el alimento*

- *Nutrientes.* Las bacterias necesitan nutrientes como fuente de energía, y para elaborar sus materiales estructurales. Diferentes elementos presentes en los alimentos son esenciales para el crecimiento de los microorganismos, como son carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo, y en cantidades menores hierro, magnesio, potasio y calcio. Como fuentes de carbono emplean, corrientemente, carbohidratos y aminoácidos; las necesidades de nitrógeno y azufre se satisfacen con aminoácidos, péptidos y proteínas. Algunas bacterias tienen necesidades nutritivas más complejas que incluyen algunos aminoácidos, purinas y pirimidinas, así como algunas vitaminas. Estas bacterias, generalmente especies del género *Lactobacillus*, se emplean con fines analíticos para determinar la cantidad de vitaminas que posee el alimento midiendo la respuesta al crecimiento.
- *Temperatura.* Es un factor importante ya que influye mucho en la velocidad de todas las reacciones químicas ligadas a los procesos de crecimiento. Según la temperatura óptima de crecimiento, se puede hablar de cinco grupos fisiológicos de bacterias: hipertermófilos (90-100 °C), termófilos (45-70 °C), mesófilos (30-45 °C, grupo al que pertenecen la mayoría de los patógenos en alimentos), psicrótrofos (20-35 °C, dominantes en alimentos refrigerados) y psicrófilos (5-20 °C, que están adaptados al frío) (*Forsythe y Hayes, 2002*).

A bajas temperaturas las rutas metabólicas de los microorganismos se ven alteradas como consecuencia de su adaptación al frío. Estos cambios

metabólicos pueden dar lugar a la producción de deterioros diferentes a los causados por los mismos microorganismos a diferentes temperaturas. En condiciones de refrigeración (temperatura inferior a 10 °C y superior al punto de congelación del agua) los microorganismos mesófilos y termófilos detienen su crecimiento y se mantienen durante largo tiempo sin morir (excepto cuando el alimento se enfría rápidamente, que las bacterias mesófilas sí mueren debido al "choque de frío"). Los psicrótrofos y psicrófilos, sin embargo, pueden crecer y llegar a producir poblaciones importantes en estas condiciones. En condiciones de congelación (temperatura inferior al punto de congelación del agua) la formación de cristales en el interior de las células produce altas mortalidades reduciendo la población microbiana, sin embargo, la actividad enzimática de las bacterias pueden continuar dando lugar al deterioro del alimento.

Cuando los alimentos se calientan hasta alcanzar una temperatura interna superior a 78 °C, aunque sea por unos segundos, se produce la destrucción de bacterias, excepto algunas tales como *Clostridium* que produce esporas resistentes al calor. Estas esporas mueren únicamente a temperaturas por encima del punto de ebullición del agua. Las toxinas producidas por las bacterias varían en cuanto a su sensibilidad al calor, unas se inactivan al hervir (toxina botulínica) y otras no (toxina de estafilococos).

- *Actividad de agua ( $a_w$ )*. Es la cantidad de agua disponible y no la total la que determina si ocurrirá o no el crecimiento microbiano. Todos los microorganismos necesitan agua para su crecimiento y para llevar a cabo sus funciones metabólicas. La mayoría de las bacterias crece bien en medios cuya actividad de agua está entre 0.990 y 0.998. Muchos microorganismos no crecen a  $a_w$  por debajo de 0.95, aunque los micrococcos y estafilococos corrientes toleran  $a_w$  por debajo de 0.86. La sal disminuye la actividad de agua, por lo que se emplea corrientemente como conservante al impedir el crecimiento progresivo de microorganismos, excepto de las bacterias halófilas, que son capaces de desarrollarse en altas concentraciones de sal para su crecimiento.
- *pH*. Determina la clase de agente contaminante y los cambios que se pueden ocasionar en el alimento. En general, a mayor acidez, mayor dificultad de proliferación. Los intervalos de pH tolerables por diferentes tipos de microorganismos son distintos: la mayoría de los microorganismos crecen a

pH=5-8, aunque hay bacterias acidófilas que pueden vivir a pH=1 y otras alcalófilas que toleran pH=10. El pH interno en la mayoría de los microorganismos está en el rango de 6 a 7. El efecto letal del pH ácido sobre muchos microorganismos tiene aplicación en la conservación de muchos alimentos, por acidificación (escabeches,...).

- *Oxígeno.* La actividad de las bacterias depende de sus necesidades de oxígeno, y se pueden clasificar en función de dichos requerimientos en aerobias obligadas o aerobias estrictas, que dependen del oxígeno libre del aire para su actividad; anaerobias obligadas, que sólo crecen en ausencia de oxígeno libre y mueren en presencia de oxígeno; anaerobias facultativas, que crecen tanto en ausencia como en presencia de oxígeno libre, mostrando preferencia por las condiciones aeróbicas; y por último las bacterias microaerófilas, que tienen necesidad de oxígeno pero a concentraciones mucho menores que las del aire.
- *Sustancias inhibidoras.* Algunos alimentos contienen una serie de sustancias que afectan al crecimiento microbiano, y que pueden presentarse de manera natural como la lisozima y la conalbúmina de los huevos, tener un origen microbiano como el ácido láctico que producen los lactobacilos o, añadirse artificialmente como el dióxido de azufre en vinos y cervezas.

#### Factores relacionados con el proceso de elaboración del alimento

- *Tiempo:* el tiempo del proceso es un factor a tener en cuenta ya que a determinadas temperaturas (30-45 °C), si el proceso es muy prolongado, el número de bacterias mesófilas aumenta considerablemente. Los retrasos en el procesado (ej: avería en la maquinaria, descanso) constituyen un problema ya que se producirá un continuo crecimiento microbiano en función de la temperatura del alimento y de su permanencia a la misma. Por el contrario, existen determinados procesos que necesitan un tiempo mínimo para cumplir con sus objetivos y, consecuentemente, evitar crecimientos bacterianos, como es el caso de limpieza del alimento o de refrigeración.
- *Humedad ambiental.* La humedad de la atmósfera determina, a su vez, la humedad de la capa superficial de los alimentos, y por tanto, determina su flora superficial. Cuando es elevada, proporciona un ambiente idóneo para el crecimiento de numerosos microorganismos.

- *Agua.* En determinadas industrias la utilización de agua es continua. Por ello, un factor importante es el estado del agua utilizada: actualmente el agua utilizada en una industria alimentaria debe ser potable (*Decisión de la Comisión 2001/471/CE; R.D. 140/2003*). También en determinados procesos, y según su fin, es importante controlar la temperatura del agua y el aumento de la contaminación con el paso del tiempo para que sea renovada (ej., escaldado).
- *Factores de manipulación.* En la industria alimentaria el alimento pasa por una serie de etapas en las cuales, a veces, la manipulación por parte de los operarios es importante. Esta manipulación, si no es adecuada, puede influir en la contaminación microbiológica final del producto. Tales factores pueden ser el uso de guantes (deben ser lavados y desinfectados al reutilizarlos y deberán ser renovados cuando se deterioren), la higiene personal adecuada cada vez que se comienza a trabajar y durante el trabajo (ej., tras el descanso del bocadillo, tras el uso del servicio, al cambiar de actividad en el área de trabajo), la realización de un determinado proceso de la forma adecuada (ej., eviscerado sin romper el paquete intestinal), etc.
- *Limpieza y desinfección.* La limpieza de los equipos y las salas es un factor importante que influye en la contaminación microbiana de los alimentos. Es importante alcanzar el nivel de limpieza requerido, sobre todo de las superficies que contactan con el alimento. En estas superficies pueden quedar restos crecientes de bacterias que pasan desapercibidas. Como resultado se establece una flora bacteriana autóctona en las partes del equipo que no se limpiaron adecuadamente, dando lugar incluso a la formación de biofilms difíciles de eliminar posteriormente, y consecuentemente a la obtención de un producto final de menor calidad higiénica.



## CARNE DE AVE. MICROBIOLOGÍA Y PRODUCCIÓN

La carne de ave debido a su composición química (proteínas, vitaminas y sales minerales), actividad de agua (0.98-0.99) y su pH (5.6-6.4, por la conversión, tras el sacrificio, del glucógeno en ácido láctico) es un medio propicio para el crecimiento de toda clase de bacterias, especialmente de las productoras de alteración y las causantes de intoxicaciones alimentarias en humanos (*Pascual, 2000*). Generalmente es un alimento con una contaminación inicial en su superficie, por lo que es una de las más importantes fuentes de toxiinfección alimentaria en el hombre. Los principales microorganismos patógenos causantes de estas intoxicaciones alimentarias son *Salmonella*, *C. perfringens* y *S. aureus* enterotoxigénico, sin olvidar algunas enfermedades provocadas por *E. coli* enteropatógeno, *Y. enterocolitica* y *Campylobacter*. También hay que tener en cuenta la presencia *L. monocytogenes*, que en los últimos años se ha detectado en un número elevado de canales de aves (*Capita et al., 1999; Pascual, 2000*). En la actualidad *Salmonella* constituye un auténtico problema de salud pública y así, los datos aportados por distintos países indican que entre el 50 y el 90% de las canales de pollo están contaminadas por este género (*ICMSF, 1991; Pascual, 2000*), aunque no parece ser parte de la flora intestinal normal de las aves, sino que la adquieren del ambiente en que viven (a partir de insectos, roedores, aves salvajes, o el hombre), así como a través de piensos. *Clostridium perfringens* está muy extendida en la naturaleza y se encuentra en la flora intestinal de mamíferos y aves. *Staphylococcus* se introduce en el matadero a través de las aves vivas, que llevan el germen en sus plumas, patas, fosas nasales, etc., y persiste en el material utilizado para el faenado y especialmente en los dedos de las desplumadoras. *S. aureus* disminuye de forma ostensible utilizando una adecuada limpieza y desinfección.

Los criterios microbiológicos son normas a cuyo cumplimiento se comprometen las compañías, pero que no tienen implicaciones legales directas (*Forsythe y Hayes, 2000*). Diversos comités nacionales e internacionales estudian la posibilidad de establecer normas microbiológicas que incluyan desde el plan de muestreo hasta los límites establecidos como norma estándar de calidad (*ICMSF, 1986; 1997*). Los criterios deben comprender la protección del consumidor, un trato justo para el fabricante y un uso razonable del personal del laboratorio, del tiempo, de las posibilidades y del dinero y, además, tener en cuenta los puntos de muestreo y que las técnicas sean estandarizadas y reproducibles (*Collins y*

Lien, 1986; Forsythe y Hayes, 2002).

Actualmente no existe una norma microbiológica en la legislación española en cuanto a la calidad higiénica de la carne fresca de ave. Se sugiere, para poder conocer el estado higiénico-sanitario de estos productos, tener en cuenta las siguientes determinaciones y las cifras que se señalan, únicamente como orientación para el técnico (Pascual, 2000):

- Recuento de colonias aerobias mesófilas.....  $10^6$  ufc/g
- Recuento de psicotróficas .....  $10^5$  ufc/g
- Recuento de *E. coli* .....  $10^3$  ufc/g
- Recuento de *Salmonella-Shigella*..... Ausencia/25 g
- Recuento de *Cl. Perfringens*..... 50 ufc/g
- Recuento de *St. Aureus* enterotoxigénico.....  $10^2$  ufc/g

La evaluación microbiana de la piel de canales de ave puede indicar la calidad, el grado de higiene de los procesos de obtención y el posterior manejo del producto, así como el correcto mantenimiento de la cadena de frío (Capita et al., 1999). Existen una serie de microorganismos utilizados para el estudio de las diferentes etapas de la cadena de producción de la carne de ave.

El recuento de *aerobios mesófilos* sobre las canales se toma, generalmente, como indicador del grado de higiene durante su elaboración. Valores por encima de  $10^6$  ufc/cm<sup>2</sup> suelen indicar un inicio de descomposición del producto. Recuentos superiores están, generalmente, asociados con un inicio de alteraciones organolépticas: con  $10^7$  ufc/cm<sup>2</sup> se produce la formación de sulfuro de hidrógeno por la acción bacteriana y con recuentos de  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup> se produce la aparición de limo en el alimento (Nickerson y Sinskey, 1978; Capita et al., 1999).

Los microorganismos *psicotróficos*, sobre todo *Pseudomonas*, son especialmente importantes en la carne de ave por ser un producto refrigerado. Para algunos autores es el principal responsable de la alteración superficial de la carne de pollo refrigerada en atmósfera aerobia y supone el 70-80% de la flora contaminante en el momento de la alteración, pudiendo llegar al 90% en periodos de almacenamiento prolongado (Dainty y Mackey, 1992). A su llegada al matadero, existe un escaso número de aves vivas contaminadas por estos microorganismos, ya que *Pseudomonas* tiene dificultad para desarrollarse a su temperatura corporal. Estudios realizados sobre la variación de la carga bacteriana en aves durante el proceso de elaboración demostraron que este género de bacterias, que prácticamente no se aísla de animales vivos, es muy variable, predominante en

unos casos y ausente en otros, y que su presencia puede derivarse del agua, las manos o los utensilios (*Lehallec y Colin, 1979*).

Por otro lado, las *Enterobacterias* proceden del tracto intestinal de los animales y su presencia en el alimento indicará contaminación de origen fecal, poniendo de manifiesto una elaboración poco higiénica, incorrectas prácticas de la manipulación, contaminación posterior y/o almacenamiento inadecuado.

*Staphylococcus aureus* se suele detectar en carne cruda aunque, generalmente, en bajos recuentos. Compite en desventaja con la flora normal de la carne cruda, por lo que sólo constituye un peligro para la salud cuando esta flora competitiva es restringida y se da un mal uso de la temperatura del alimento (*ICMSF, 1986*). Aunque los manipuladores son el principal origen de la bacteria en el alimento, los equipos y superficies también pueden ser fuentes de contaminación.

El principal objetivo de los mataderos es obtener la carne de ave con la menor contaminación posible y, posteriormente, asegurar que estos valores se mantienen bajo mínimos. Por lo tanto, el manipulado de la carne a través de los procesos de enfriado, congelado, cocinado, envasado y distribución deben estar encaminados a reducir o prevenir los incrementos del contenido microbiano que puede ocurrir tanto por crecimiento de bacterias ya existentes como por posteriores contaminaciones (*Grau, 1986*).

La calidad microbiológica de la carne de ave depende de distintos factores ligados a su cría, sacrificio y comercialización. A lo largo de la cadena de producción se producen aumentos y descensos de la contaminación de las canales. Con el proceso de industrialización del sector avícola y los importantes avances técnicos se ha conseguido un elevado grado de automatización que, sin embargo, no siempre se traduce en una mejora de la calidad microbiológica. Es muy importante, por tanto, controlar todos los factores ya descritos durante la elaboración del producto, mediante la utilización de buenas prácticas de higiene y de conservación para minimizar las posibilidades de contaminación.

Las aves vivas suelen albergar un gran número de microorganismos de diferentes tipos, principalmente en plumas, patas, contenido intestinal, exudado nasal, etc., y además, el estrés del transporte favorece la acción de los microorganismos entéricos, lo que muchas veces es causa de la aparición de procesos diarreicos. Por todo ello, las aves llegan al matadero con una gran carga microbiana.

Durante las operaciones de **colgado en la cadena del matadero** y el **sacrificio**, se pueden generar aerosoles que distribuyen la contaminación bacteriana (microorganismo entéricos principalmente) de las plumas y superficie de las aves. Además, la humedad y el calor desprendido por los equipos extienden la contaminación entre las canales (*Sofos, 1994*). En el desangrado, la cuchilla puede diseminar las bacterias de unos animales a otros.

El **escaldado**, que se realiza para facilitar el posterior desplumado, es un punto en el que la contaminación es bastante importante debido a la suciedad que pasa de las aves (de sus plumas, piel, patas y contenido intestinal) al agua, ya que las altas temperaturas son propicias para el crecimiento de bacterias, aunque sí se produce la destrucción de las más termosensibles, entre las que figuran las alterantes psicrotróficas. Una renovación del agua de escaldado y un aprovechamiento de los efectos letales de temperaturas altas (unos 60° para la inactivación de microorganismos en forma vegetativa) son parámetros que deben ser monitorizados.

El **desplumado** es un punto conflictivo, pues pueden arrancarse no sólo las plumas sino parte de la piel dando lugar a procesos degradativos de la canal (*Vaquerizo, 1991*). También pueden ocurrir contaminaciones cruzadas por microorganismos fecales y procedentes de la piel, plumas y suelo (*Salmonella, E. coli* y *Campylobacter*), así como problemas con aerosoles, particularmente con *Staphylococcus aureus* (*Pearson y Dutson, 1986; Forsythe y Hayes, 2002*). Para disminuir esta contaminación seguidamente se deben duchar las canales con agua.

La **evisceración** también puede aumentar la carga bacteriana, extendiendo la flora fecal a la piel, al mismo tiempo que se produce la contaminación de unas canales a otras por contacto con las manos de los operarios, utensilios y equipos. La habilidad de los operarios en la manipulación de las canales y el empleo de técnicas correctas son factores importantes.

En el **lavado** que sigue a la evisceración se produce un importante descenso de la carga microbiana debido más al efecto de arrastre que produce el agua limpia de la ducha que a los posibles niveles de cloro (*González-Miret et al., 1998*). Sin embargo, también puede ocurrir que el agua de lavado puede aportar a las canales microorganismos psicrotróficos, especialmente *Pseudomonas* (*Capita et al., 1999*).

Tras el lavado, se produce un **enfriamiento** de las canales mediante corriente de aire frío que tiende a secar la piel, retardando con ello el crecimiento de la flora psicrotrófica e impidiendo el desarrollo de la no psicrotrófica.

Las fases posteriores de **clasificado, despiece, embarquetado y conservación** en frío dan lugar a variaciones en la carga microbiana que dependen mucho de las condiciones bajo las cuales se lleven a cabo (temperatura, limpieza, higiene de los manipuladores, etc.). La carne de pollo conservada a temperatura de refrigeración prescrita, tiene su mayor contaminación a nivel superficial. Con el paso de los días esta contaminación va aumentando, dando lugar a la aparición de olores, producción de limo y un aumento de pH hasta 7.5 (*Sofos, 1994*). La flora alterante de la carne de ave refrigerada está dominada por el género *Pseudomonas*, que crece más rápidamente en traseros (pH=6.5) que en pechuga (pH=5.8), y en menor cantidad por *Acinetobácter* y *Alteromonas*.

## LA ESTADÍSTICA APLICADA AL CONTROL DE CALIDAD

La estadística es una rama de las matemáticas que trata la recopilación, presentación, análisis e interpretación de datos numéricos. Definición dada por el New Collegiate Dictionary de Webster, que implica una recopilación de datos teniendo como objetivo la inferencia, y requiere una selección de un subconjunto de una gran colección de datos, con el propósito de hacer inferencias con respecto a las características del conjunto completo (*Lara, 2000*).

Limitando tales datos a los de "control de calidad" se tiene una definición del "Control estadístico de calidad" (*Hasen, 1980*).

Durante muchos años la calidad se daba por supuesta, y los fabricantes eran artesanales. Con las primeras fábricas aparecen las primeras necesidades de controlar la calidad. Con la fabricación en cadena (comenzó el señor Ford), aparecieron los departamentos de inspección, y ésta era realizada cuando el producto ya estaba fabricado, es decir, cuando la inversión ya se había realizado (se debía inspeccionar el 100% del material). Esta inspección estaba motivada por una necesidad de ofrecer productos iguales. Con la inspección se iniciaba el control de calidad.

Los principios del control de calidad se remontan a 1924, cuando el doctor Walter A. Shewhart, de los laboratorios de la Bell Telephone, aplicó por primera vez un gráfico estadístico de control de calidad a productos manufacturados. Se detectaban las anomalías en el producto final. El producto que se ofrecía satisfacía a los clientes a base de retirar los defectuosos, o sea, de encarecer la producción. Cuando la cantidad de productos defectuosos era muy elevada se realizaba un ajuste del proceso.

Al principio de la década 1940-50 comenzó el desarrollo y uso de tablas de muestreo para la inspección de aceptación. Aparecieron los controles de procesos. Se realizaban muestreando a intervalos de tiempo, con lo se podían detectar errores antes de tener todo el producto fabricado.

Juran y Deming, introdujeron las técnicas de control de procesos, midiendo la calidad por la satisfacción o no de los clientes (*Colomer, 1997*).

Es hacia el año 1980 cuando se inicia el diseño para el control de calidad. Calidad es satisfacer las necesidades y expectativas de los clientes. El

control de calidad se diseña en función de lo que el cliente desea teniendo en cuenta a los proveedores y el proceso de producción.

Se denomina control de calidad al conjunto de técnicas y procedimientos de que se sirve la dirección para orientar, supervisar y controlar todas las etapas hasta la obtención de un producto de la calidad deseada.

Durante los últimos años, las industrias alimentarias, los gobiernos y los organismos responsables de la seguridad alimentaria han considerado los sistemas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) como un instrumento útil para conseguir el control alimentario. Esto conduce a la necesidad de contar con las herramientas adecuadas para la monitorización, optimización, caracterización, especificación y manipulado de materias primas, procesos intermedios y productos finales. Para conseguir estos propósitos es de gran importancia la óptima utilización de los datos disponibles, obtenidos a lo largo de la cadena productiva, con objeto de extraer de ellos la máxima y más relevante información posible. De este modo, se está mostrando cada vez un mayor interés por la aplicación de técnicas estadísticas en los procesos de diseño, implantación y verificación de estos sistemas de control de calidad en la industria alimentaria. En cada etapa del sistema HACCP pueden aplicarse con eficacia diferentes patrones estadísticos (*Hayes, et al 1997; Gonzalez-Miret, et al., 1998; 2000; 2001b*).

Las técnicas estadísticas aplicadas al análisis de los resultados permiten tomar decisiones sobre la importancia de cada etapa y establecer criterios de calidad y límites críticos. En diversas ocasiones se ha propuesto la aplicación de la estadística multivariante en los procesos de control (*Whiting, 1995; Naes et al., 1996; Bisailon et al., 1997; Katz et al., 1997; Khongsak y Hourigan, 2002*) para:

- evaluar el análisis de los riesgos como una herramienta de gran utilidad
- poder llevar a cabo la interpretación de matrices con gran cantidad de datos
- valorar la efectividad de los controles efectuados y de los planes de muestreo
- predecir el comportamiento microbiano bajo determinadas condiciones ambientales.

*Bro et al. (2002)* ponen de manifiesto la necesidad de unir esfuerzos para resolver problemas relacionados con complicadas cadenas alimentarias mediante métodos científicos modernos. Proponen desarrollar técnicas basadas en modelos matemáticos, para la monitorización avanzada de la cadena de producción alimentaria. Este análisis multivariante de los datos se ha utilizado para abordar más eficientemente problemas en ciencia de los alimentos, que no pueden ser resueltos de otra forma. Es de gran ayuda para analizar complicados conjuntos de datos obtenidos de la monitorización de diferentes etapas en la cadena productiva, con los que desarrollar herramientas que aseguren un óptimo control en posteriores procesos de producción de alimentos. En el estudio se aplican, entre otras, técnicas estadísticas tales como el análisis factorial paralelo (PARAFAC) que separa las señales medidas en las contribuciones fundamentales, análisis de componentes principales (PCA) para encontrar el factor con mayor contribución, y modelos de regresión por mínimos cuadrados (PLS) para predecir la calidad del producto final.

En un estudio realizado sobre jamón (*Virgili y Parolari, 1991*) se aplica la estadística multivariante con dos propósitos: realizar un control del proceso y un control de la calidad. En el primer caso se aplican técnicas de análisis de componentes jerarquizados (Cluster) con el fin de encontrar el efecto de las técnicas aplicadas, por combinación de variables subjetivas e instrumentales. En el control de la calidad, mediante la aplicación de regresiones multivariantes (PLS) se consigue la correlación de tres descriptores sensoriales con cinco medidas instrumentales, es decir, se trata de sustituir las medidas subjetivas por medidas analíticas. Esto permite predecir la calidad del producto a partir de datos instrumentales, lo que supone un importante avance en este tipo de industrias en la que, generalmente, es necesario evaluar la calidad sensorial de cientos de muestras al día.

Mediante la aplicación de técnicas estadísticas se puede evaluar la incidencia de cada etapa y sus factores de riesgos asociados en la calidad higiénica del producto final elaborado, así como de las medidas preventivas utilizadas para minimizar los efectos adversos. Algunos de estos estudios tratan sobre:

- la evaluación de la calidad higiénica de hamburguesas en diferentes plantas de elaboración en función de su proceso de elaboración (*Gill et al., 1997*)



- la valoración higiénica de diferentes técnicas de lavado de las manos de manipuladores de alimentos en los niveles de contaminación, utilizando datos experimentales y datos bibliográficos (*Montville et al., 2002*),
- la determinación de la distribución de microorganismos sobre la superficie de los alimentos (*Reinders et al., 2003*).

Por otro lado, la microbiología predictiva estudia la respuesta de crecimiento o inhibición de microorganismos que crecen en alimentos, en función de factores que les afecten (pH, temperatura, humedad, etc.), y a partir de estos datos predice lo que sucederá durante el procesado, almacenamiento, etc.

La identificación de factores de riesgo es una etapa importante dentro del sistema de control. En los sistemas HACCP, el análisis de peligros es la recopilación y evaluación de información, características y datos de contaminaciones, así como de las condiciones que conducen a riesgos en seguridad alimentaria. Como resultado se obtiene la identificación de medidas de control esenciales para prevenir contaminaciones o sus incrementos, así como para reducir las contaminaciones hasta niveles aceptables. El enfoque estadístico incorpora resultados, conocimientos experimentales, datos de bibliografía y supuestos razonados sobre diferentes factores de riesgo, en las funciones de distribución de probabilidad. Aplicando técnicas estadísticas se consiguen resultados fiables y cuantificables, lo que da una mayor profundidad en el conocimiento sobre la necesidad y el efecto de medidas de control (*Coleman y Marks, 1999; Hoornstra y Notermans, 2001; Hoornstra et al., 2001*). Algunos autores consideran que, a pesar de la gran importancia que supone esta metodología, actualmente, la evaluación de riesgos no es una opción aplicable en la mayoría de las industrias alimentarias debido a que, en general, no disponen de la cantidad de datos suficiente para llevarla a cabo con rigor (*Notermans y Mead, 1996; Mayes, 1998*).

La evaluación cuantitativa de riesgos microbiológicos (*QMRA, Quantitative Microbiological Risk Assessment*) es una herramienta utilizada para incrementar la seguridad alimentaria, especialmente con criterios de salud pública, mediante la aplicación de modelos predictivos de microbiología de alimentos (*Nauta, 2002*). Estos modelos pueden cuantificar el incremento (aumento o descenso) de la población bacteriana y predecir el efecto de

procesos de intervención para mitigar el riesgo. Su fundamento es considerar que en toda cadena alimentaria, cada etapa puede ser encuadrada dentro de uno de los seis tipos de procesos básicos (módulos): uno de los dos procesos microbiológicos (crecimiento e inactivación), o uno de los cuatro procesos de manipulado de producto (mezclado, despiece, extracción o eliminación y contaminación cruzada).

En gran parte de las referencias bibliográficas consultadas se utiliza la terminología *Statistical Process Control (SPC)* como sinónimo de Control de Calidad (*Quality Control*). La principal herramienta utilizada por los sistemas SPC son los gráficos de control (*control charts*), que establecen niveles de alerta y niveles de calidad, superiores e inferiores, por encima o por debajo de los cuales, respectivamente, se indica que se han de llevar a cabo medidas correctoras para evitar que la producción quede fuera de control. Estos gráficos, además de una clasificación *apto / no apto*, permiten realizar un análisis de tendencias, al ofrecer información sobre estados de peligro del punto estudiado.

Algunos de los organismos relacionados con la seguridad alimentaria han elaborado códigos de prácticas en los que se recoge el establecimiento y uso de adecuados sistemas de procesos estadísticos de control (*SPC*) para asegurar una eficaz ejecución y obtención de resultados. Sin embargo, al no ser normas de obligado cumplimiento, estos sistemas de control no suelen ser utilizados, la mayoría de las veces debido a la aparente complejidad del método. En algunos trabajos recientes se trata la aplicación de procesos de control estadístico (*SPC*) a los sistemas HACCP, afirmando que la estadística ofrece una herramienta perfecta para la vigilancia de la elaboración de productos y el seguimiento de las tendencias de un proceso, con el fin de monitorizar y evaluar estadísticamente un PCC (*Bisailon et al, 1997; Hayes et al., 1997*), remarcando el importante papel que los SPC pueden jugar en relación con la seguridad alimentaria. En otro trabajo, *Grigg et al. (1998)* presentan un estudio, aplicado al proceso de empaquetado de alimentos, en el que ponen de manifiesto que es un método simple que no necesita grandes conocimientos de estadística.

Asimismo, se han realizado estudios sobre el seguimiento de la calidad de peras durante el almacenamiento (*Sumnu, 2000*) utilizando parámetros como la pérdida de peso, la acidez, sólidos solubles y color, para construir los gráficos de control, determinándose que dichos gráficos resultaban de gran ayuda en el mantenimiento de la inevitable pérdida de calidad dentro de

límites aceptables al poder reajustar las condiciones de almacenado cuando dichos límites fueron rebasados.

Otro de los procesos en los que la estadística juega un importante papel es en la validación y verificación de los sistemas. Según el Codex Alimentarius (*Codex, 1997*) *validación* es la obtención de evidencias sobre la efectividad de los elementos del sistema HACCP, mientras que *verificación* es la aplicación de los métodos y procesos necesarios para determinar si se ajusta a lo establecido en el plan y éste funciona con eficacia.

*Khongsak y Hourigan (2002)* aplican los gráficos de control a la validación de puntos de control, en concreto al proceso de lavado de la cáscara de huevos, teniendo en cuenta en el análisis tanto los datos experimentales obtenidos en el proceso comercial como los datos obtenidos a partir de la literatura científica.

En la validación de un proceso de esterilización en el empaquetado de alimentos (*Moruzi et al., 2000*) se pone de manifiesto la necesidad de ser rigurosos a la hora de aplicar la estadística. En el estudio se evalúa la capacidad de reducción de la carga microbiana, inoculando una carga microbiana conocida de una bacteria especialmente resistente a las condiciones de esterilización. Se realiza un estudio de probabilidad mediante la técnica del número más probable (MPN). Se concluye que no es demasiado improbable obtener, por puro azar, resultados aparentemente consistentes desde un punto de vista estadístico, incluso si se ha violado alguna asunción inicial. Así, los resultados positivos desde el punto de vista estadístico no son suficientes por sí solos para la validación, sino que deben ser consecuencia, además, de consideraciones químicas, físicas, biológicas y tecnológicas.

*Gonzalez-Miret et al. (2001a)* aplican técnicas estadísticas multivariantes para la validación de parámetros microbiológicos de control. Concretamente utilizan el Análisis de la Varianza (MANOVA), el Análisis Cluster y el Análisis Discriminante para identificar y seleccionar las variables microbiológicas más útiles como parámetros de manipulación.

Si se amplía el control de calidad hasta términos de seguridad alimentaria, y con ello a las consecuencias de la ingesta de alimentos en un estado higiénico-sanitario defectuoso, también puede hablarse de la aplicación de la estadística a la valoración de la incidencia del estado higiénico de los alimentos sobre el número de enfermedades transmitidas por su consumo y la necesidad de revisar los criterios de calidad establecidos (*Todd, 2003*). Aunque

se han promulgado normas microbiológicas durante muchas décadas, su utilidad se ha cuestionado a veces. Por esta razón en muchas ocasiones se desarrollaron normas y límites microbiológicos asociados con los programas HACCP particulares para plantas de procesado concretas.

Las técnicas estadísticas se presentan como una herramienta útil en el estudio de un proceso. Sin embargo, ese estudio ha de estar cuidadosamente diseñado y planificado con objeto de obtener la mayor cantidad de información posible, de la manera más eficaz y con la mayor fiabilidad. En este sentido, en la presente memoria se proponen y aplican de manera práctica dos planteamientos de estudio.

Por un lado un planteamiento inverso, en el que se estudia la influencia de las características del producto en un punto del proceso ( $P = n-1$ ) sobre las características higiénicas del producto en el punto siguiente ( $P = n$ ), así como los factores, de diversa índole, que tienen lugar en las operaciones que ocurren entre ambos puntos.

Por otro lado, un planteamiento concéntrico, que consiste en la ejecución sistematizada de una secuencia de operaciones y estudios estadísticos consecutivos, mediante la división organizada y fundamentada de la cadena productiva, que tienen como objetivo acotar y localizar un determinado peligro.

En este Trabajo, tras un conocimiento y estudio previo del proceso de obtención de carne fresca de ave, se proponen diferentes métodos de implantación de sistemas de control y se plantean los siguientes objetivos:

1. Establecer, mediante técnicas estadísticas multivariantes, los puntos de la cadena de producción y los factores de intervención que deben ser controlados, en el diseño de un Sistema de Calidad basado en un Método Inverso.
2. Diseñar un Sistema de Control mediante un Método Concéntrico basado en el análisis específico de peligros asociados a la cadena obtención de carne fresca de ave.
3. Aplicar el Método Concéntrico a la localización de un posible foco de *Listeria monocytogenes* en la cadena de producción.
4. Confirmar la utilidad de la estadística multivariante, para la optimización de las condiciones del proceso y la solución de problemas planteados en la cadena de producción, basándose en una toma de decisiones segura.

## DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO Y DEL PROCESO

### CANAL Y DESPIECES DE POLLO

En la industria de obtención de carne fresca de ave, existe una nomenclatura peculiar para identificar distintas partes de la canal. En la Figura 2 se observa un esquema general de las partes de la canal del pollo que constituyen los diferentes despieces que se comercializan.

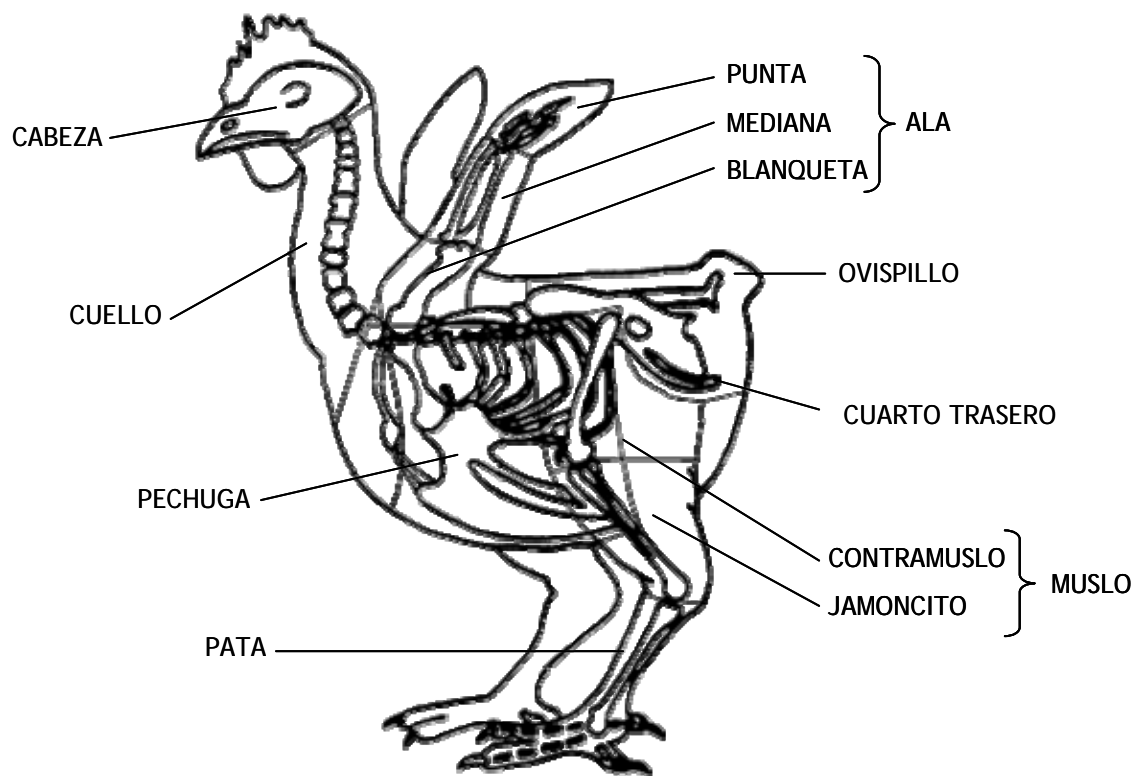


Figura 2. Partes de la canal de pollo

En los mataderos objeto de estudio, los principales despieces comercializados son:

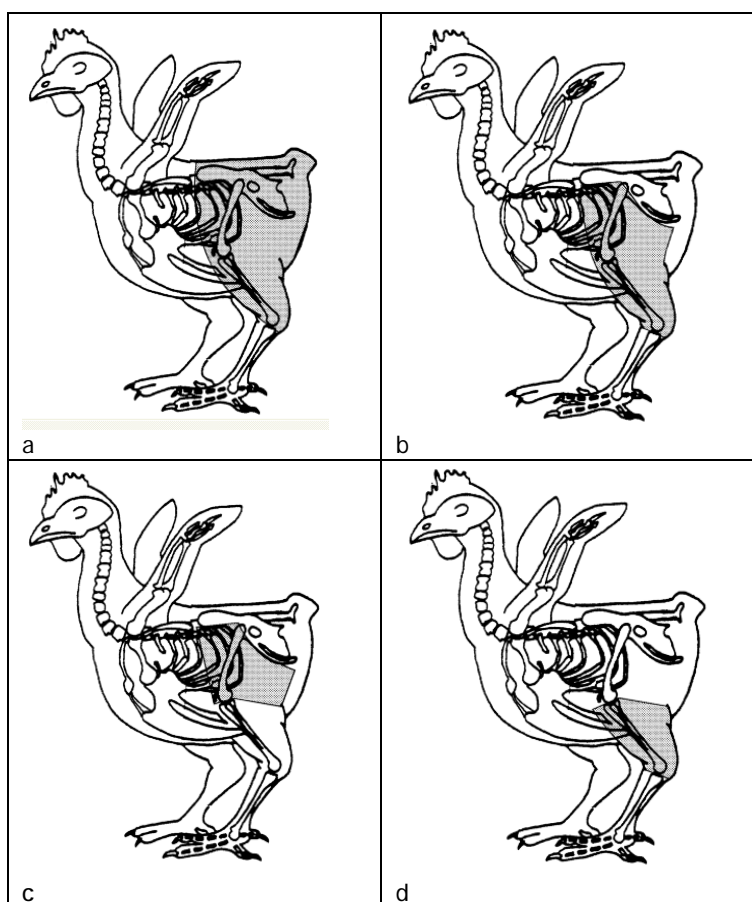
**Cuartos traseros.** Mitad posterior de la canal obtenida por el corte en la articulación entre el fémur y la pelvis. Incluye hueso de espinazo (columna vertebral) y huesos de la pelvis. No lleva patas ni ovispillo.

**Trasero.** Cuando los cuartos traseros se cortan por la mitad a lo largo del hueso de espinazo se obtienen los dos traseros (Figura 3a).

**Muslo.** Es el trasero sin el hueso de espinazo y sin el hueso de la pelvis. (Figura 3b).

**Contramuslo.** Parte proximal del muslo que se separa de la parte distal (jamoncito) a través de un corte en la articulación fémoro-tibial o rodilla (Figura 3c). El contramuslo puede ser deshuesado para obtener carne de contramuslo.

**Jamoncito.** Parte distal del muslo que se separa del contramuslo por corte en la rodilla (Figura 3d). Igualmente el jamoncito puede ser deshuesado para obtener carne de jamoncito.



*Figura 3.a) trasero, b) muslo, c) contramuslo, d) jamoncito*



**Alas.** Parte de la canal obtenida al cortar por la articulación entre la clavícula, el omóplato y el húmero (hombro) (Figura 4a).

**Blanquetas.** Parte proximal del ala separada de la canal por corte en el hombro, y de la mediana por corte en el codo (Figura 4b).

**Puntas.** Parte distal del ala obtenida, punta del ala (Figura 4c).

**Medianas.** Parte media del ala separada de la parte proximal (blanqueta) a través de un corte en la articulación húmero-radio (codo) y sin las puntas (Figura 4c).

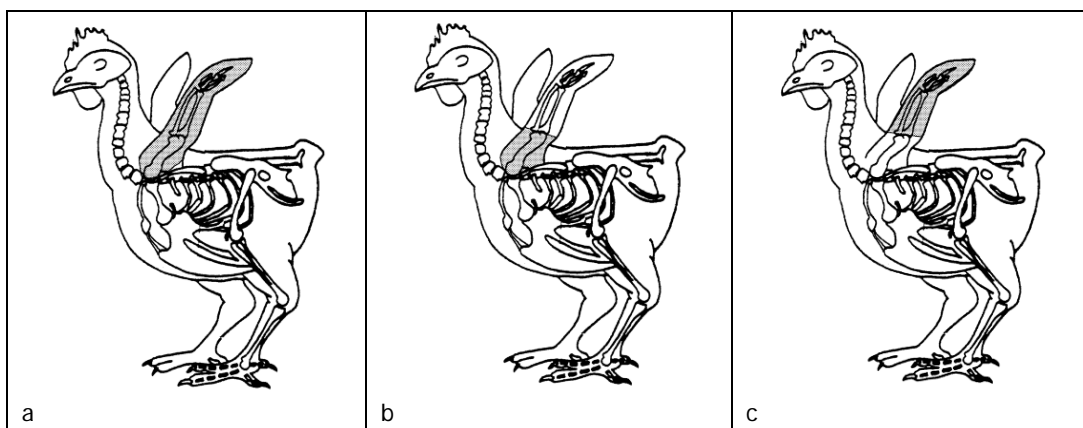


Figura 4. a) ala, b) blanqueta, c) mediana y punta

**Pechuga.** Parte delantera de la canal separada de las alas por el hombro, del cuello por vértebra cervical y de la parte trasera mediante corte por detrás de las costillas. La pechuga incluye la horquilla en "Y" que da forma a la parte terminal de las costillas (Figura 5a).

**Filete de pechuga.** Cada una de las dos unidades de carne que se obtienen a partir de la pechuga, desprovistas de piel y hueso (Figura 5b). Cuando estas unidades son laminadas se obtienen los llamados filetes de pechuga fileteados.

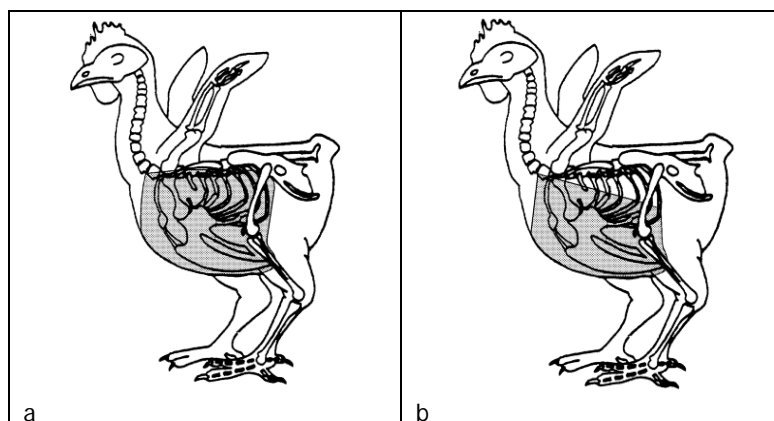


Figura 5. a) pechuga, b) filete de pechuga

## OBTENCIÓN DE CARNE FRESCA DE AVE

La parte experimental de este trabajo ha sido llevada a cabo en dos mataderos del Grupo SADA: matadero SADA Andalucía en La Rinconada (Sevilla) donde ha transcurrido una mayor parte del trabajo (en adelante matadero de Sevilla), y SADA Toledo en Lominchar (Toledo) (en adelante matadero de Toledo).

La elaboración de carne fresca de ave, en sus diferentes modalidades, se realiza mediante secuencias de operaciones automatizadas, semiautomatizadas y manuales en las que intervienen, por lo tanto, factores tales como equipos, personal y otros (físicos, químicos y microbiológicos) que deben permanecer sujetos a estrictos controles.

La obtención de carne fresca de ave se puede dividir en dos grandes bloques:

- Producción de pollo vivo
- Transporte y matadero

## PRODUCCIÓN DE POLLO VIVO

La producción de carne de ave destinada a la alimentación humana comprende las fases de Recría, Ponedoras, Incubadoras y Cría/Cebo y el posterior procesado en matadero y salas de despique, en su caso (Figura 6).

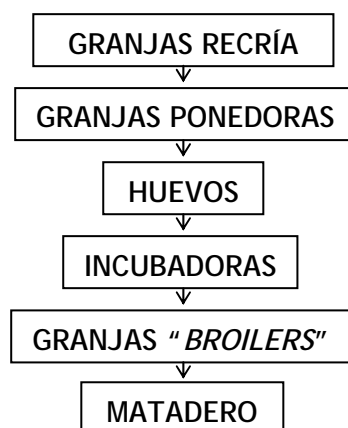


Figura 6. Secuencia de etapas en la producción de carne de ave para consumo humano

En el caso de la empresa donde se desarrolla el estudio, tanto la producción animal como el procesado de la carne se llevan a cabo en instalaciones de la

propia empresa o en otras bajo su control, lo que facilita la absoluta trazabilidad del producto.

## GRANJAS DE RECRÍA



Figura 7. Granjas recría

Son aquellas en las que se crían las gallinas destinadas a ser ponedoras (Figura 7). Estos animales se adquieren con un día de vida, procedentes de estirpes controladas.

En estas mismas granjas se crían también los gallos seleccionados para ser progenitores, aunque en naves separadas.

Las estirpes que existen son:

- Cobb-500 ("americana")
- Ross-308 ("inglesa")
- Hybro-G ("holandesa")

En España sólo existen cinco granjas dedicadas a la cría y venta de estas estirpes. El GRUPO SADA compra animales a tres de estas cinco granjas, y sólo de la estirpe Hybro-G.

En las granjas de recría, los animales pasan 20 semanas, en condiciones muy específicas, con el objeto de conseguir la regulación tanto del peso y como del desarrollo ovárico. Se mantienen con alimentación y luz estrictamente controladas: la primera semana tienen 24 horas de luz; luego se les va restringiendo hasta que llegan a estar casi las 24 horas en completa oscuridad; y a partir de la 18ª semana se les comienza a aumentar las horas de luz para que, cuando llegue el momento de salir, a las 20 semanas, el choque de horas de luz no sea excesivo, ya que esto podría provocarles un desarrollo ovárico demasiado rápido.

Las naves de recría, al igual que las que se verán a continuación, tienen un sistema de calefacción mediante estufas, en las que se aprovechan algunos residuos vegetales como orujo o cáscaras de piñones. El aire caliente se conduce mediante tubos, y es aspirado por extractores colocados en el extremo del tubo.

Para evitar el exceso de temperatura y la muerte por asfixia en épocas calurosas, se cuenta con sistemas de aireación por ventiladores.

Las granjas están ocupadas 40 semanas al año, en dos turnos de recría. El resto del tiempo se dedica a la limpieza y desinfección de las naves, lo cual es especialmente importante en esta clase de cría debido al alto valor económico de estos animales. Primero se limpian con agua a presión, se blanquean y se fumigan. A los 5-6 días se repite el fumigado y se llenan con una "cama" limpia, hecha, generalmente, con cascarilla de arroz. Cuando todo el material está dentro, se fumiga por última vez antes de recibir una nueva camada.

Durante la recría, el mantenimiento que necesitan las aves afecta a diversos aspectos:

- Alimentación: se realiza mediante tolvas que dispersan por el suelo una cantidad determinada de pienso.
- Separación de los animales por tamaños, en dos grupos (se divide la nave por la mitad con una malla).
- Vigilancia veterinaria y vacunación, realizada y controlada por el personal de la empresa.
- Retirada de bajas (animales muertos o heridos).
- Control de temperatura: Sistema de calefacción/refrigeración.

Una vez transcurridas las 20 semanas, los animales son transportados hasta las granjas dedicadas a la producción de huevos

## GRANJAS DE REPRODUCTORAS



Figura 8. Granjas reproductoras

A estas granjas se llevan las gallinas y los gallos procedentes de las granjas de recría (con 20 semanas) (Figura 8). Allí se mantienen hasta las 64 semanas, cuando las gallinas dejan de ser rentables como ponedoras, tras lo cual se conducen al matadero para su sacrificio y venta.

Los animales se distribuyen en las naves, juntos machos y hembras, en proporción aproximada 15%-85%, respectivamente.

Las condiciones durante este periodo son:

- Alimentación controlada en agua y pienso: sólo comen una vez al día, unos 120-150 g de pienso por cabeza. El sistema de comederos es diferente para

machos y para hembras; este último tiene un sistema de rejillas que limitan la entrada a las cabezas de los machos, de mayor tamaño.

- Iluminación: Se les proporciona unas 17 horas de luz al día.
- Control de temperatura: Sistema de calefacción/refrigeración.
- Vigilancia veterinaria

En las naves existen unos casilleros con "cama" para la puesta de los huevos. De allí se recogen a diario y se transportan a la planta de incubación.

## INCUBADORAS



*Figura 9. Incubadora*

Los huevos llegan a la planta de incubación procedentes de las granjas de ponedoras, transportados en camiones refrigerados, para que no progrese el desarrollo embrionario, desinfectados y colocados en bandejas de cartón, marcados adecuadamente según la granja de procedencia, para evitar contaminaciones cruzadas entre granjas.

A la llegada, se guardan en cámaras refrigeradas, a baja temperatura y humedad elevada, tanto más cuanto más días hayan pasado desde la puesta. La humedad se controla mediante nebulizadores de agua.

Lo ideal es comenzar la incubación entre los días 4 y 6 después de la puesta, y siempre antes de 10 días. Si esto no fuera posible, se deben conservar los huevos en condiciones extremas de temperatura y humedad.

Una vez que se decide comenzar la incubación, los huevos se colocan en bandejas. Para ello, a pesar de que en las granjas ya han sido preclasificados, se eliminan los huevos no aptos para incubar: incubar solamente huevos limpios y no lavados; no incubar los huevos puestos en el suelo; si se lavan huevos sucios incubarlos en máquina aparte; no incubar huevos pequeños o demasiado grandes; prohibir incubar huevos sucios, fisurados y con cáscaras porosas. Se revisa que todos los huevos estén en la posición adecuada, ya que en las bandejas deben colocarse de manera que se mantenga la cámara de aire hacia arriba, es decir, con el extremo más agudo hacia abajo. De esta forma, cuando el pollo se abra paso

hacia el exterior (siempre lo hace hacia arriba), encuentre un espacio con aire para respirar hasta que consiga salir. Un sistema de ventosas saca los huevos de los cartones y los coloca en las bandejas de incubación. Posteriormente, estas bandejas se disponen en carros de incubación, y de esta forma pasan a una segunda cámara de refrigeración provista de una puerta aislada y con cierre hermético, a temperatura y humedad controladas. Desde aquí se someten a dos procesos previos a la incubación:

- Pre calentamiento, para alcanzar la temperatura óptima
- Desinfección mediante fumigado con vapores de formol y permanganato potásico. La sala donde se realiza esta operación tiene un sistema de seguridad que impide la apertura de las puertas hasta que se haya eliminado todo el gas desinfectante.

Después pasan a la cámara de incubación propiamente dicha (Figura 9). El periodo de incubación es de 23 días y 3 horas y se divide en varias etapas, cada una de las cuales se lleva a cabo en diferente grupo de incubadoras. La planta de incubación tiene una capacidad total de 627000 huevos. El primer grupo de incubadoras se compone de 33 máquinas, distribuidas en tres salas. Cada semana se carga una de las salas de manera que en cada una de ellas hay huevos de diferente tiempo de incubación. Estas máquinas incubadoras tienen una capacidad de 57000 huevos por cámara. Tienen un control automatizado, por ordenador, de los siguientes parámetros, cuyos datos se reflejan en un panel de control en la entrada de cada máquina:

- el tiempo que llevan los huevos en incubación,
- la temperatura (debe ser de 37.5 °C),
- la humedad (que se mantiene interiormente mediante unos rodillos sumergidos en un baño con agua destilada circulante),
- el grado de volteo de las bandejas (que van oscilando lentamente en los carros para que el embrión no se pegue a la cáscara), y
- la ventilación (que se controla mediante la apertura de compuertas en el techo)

A los 17-18 días de incubación, los carros se sacan de estas cámaras y se pasan a una sala donde los embriones son vacunados contra *Salmonella*, dentro del huevo. La vacunación se realiza mediante un sistema múltiple de ventosas (tantas como huevos en cada bandeja) que sujetan el huevo mientras una aguja inyecta la vacuna, saliendo del interior de la ventosa a gran velocidad para dañar el huevo lo menos posible.

Tras la vacunación, los carros se trasladan a las incubadoras de las "salas de nacimiento", donde la humedad se controla por nebulización, y a los 3-4 días se produce la eclosión de los huevos.

Los pollos recién nacidos se llevan a la sala de clasificado donde operadores experimentados los separan por sexos, mediante observación del tipo y colocación de las plumas de las alas. Posteriormente, pasan mediante cintas transportadoras, a través de una célula fotoeléctrica que los cuenta automáticamente y los separa en cajas, con cuatro compartimentos, y 25 pollos por compartimento. A la salida de esta selección, y dentro de estas cajas, son vacunados por aspersión contra la bronquitis infecciosa aviar. Así colocados, se cargan en camiones y se llevan a las granjas de engorde.

Los vehículos de transporte de pollitos además de perfectamente limpios y desinfectados, deben estar provistos de sistemas de control de temperatura y humedad que aseguren el confort de los animales en las distintas áreas del furgón. La cabina del furgón debe tener controles que le indiquen la situación del recinto en el que se transportan los pollitos.

El sistema de señalización y trazabilidad establecido mediante un código de colores que se mantiene hasta el nacimiento, permite conocer la granja de procedencia de cada lote de pollos, incluso hasta la llegada al matadero. A su vez, el matadero posee su propio sistema de trazabilidad que, junto con el anterior, hace posible actuar sobre errores en granjas de ponedoras detectados en el producto sacrificado.

## GRANJAS DE "BROILERS"



*Figura 10. Pollos recién nacidos para su engorde*

Desde la incubadora, los pollos se llevan a estas granjas para ser engordados (Figura 10). Este periodo tiene una duración de unos 42-43 días para las hembras, que alcanzan un peso medio de 1.850 Kg, y de 45-46 días para los machos, que llegan a pesar 2.500 Kg.

El mantenimiento en estas granjas es:

- Alimentación: Se les suministra comida y agua continuamente, excepto por la noche.
- Iluminación: La primera semana tienen 24 horas de luz para estimular la alimentación; posteriormente se les deja en oscuridad durante la noche.
- Temperatura ambiente: sistema de calefacción/ventilación
- Retirada de pollos muertos
- Vigilancia veterinaria: visitas periódicas con controles y registros de bajas y tratamientos.

Cuando los pollos son pequeños, se divide la nave en compartimentos menores utilizando plásticos, con objeto de mantener el calor más fácilmente.

Al alcanzar el peso necesario para el sacrificio, se les retira el alimento dos días antes de ser cargados en los camiones hacia el matadero. Con esto se consiguen dos objetivos:

- animales más limpios exteriormente a la hora de ser sacrificados, ya que en el transporte defecan menos,
- disminuir el riesgo de contaminación en el eviscerado, ya que tienen el buche vacío.

La carga en los camiones se realiza por la noche y en oscuridad. Con esto se evita que los animales se lesionen durante la captura, ya que están más tranquilos y se dejan atrapar con facilidad, sin oponer demasiada resistencia.

Cada vez que se descarga una nave, se procede a su limpieza y desinfección antes de recibir a una nueva camada de pollos. Para ello, en primer lugar se retira completamente la cama antigua. Posteriormente se limpia con agua a presión y desinfectantes y se pone una cama nueva. Lo normal es que este proceso dure una semana pero, si la camada anterior ha tenido algún problema patológico, se debe esperar unos 20 días antes de meter pollos nuevos.

En general, se tiene en cuenta la contaminación cruzada entre naves de la misma granja, aunque muy especialmente la contaminación entre diferentes granjas.



## MATADERO

En los mataderos de aves el proceso que se realiza es común para todos ellos, pudiendo variar únicamente aquellas fases que dependen del tipo de producto final. Dentro del proceso común, las fases por las que han de pasar las aves hasta salir al mercado, enteras o con destino a su elaboración industrial como despiece o como materia prima para la industria procesadora cárnica, son las siguientes (Buxadé, C., 1985; Vaquerizo, J.M., 2002) (Figura 11).

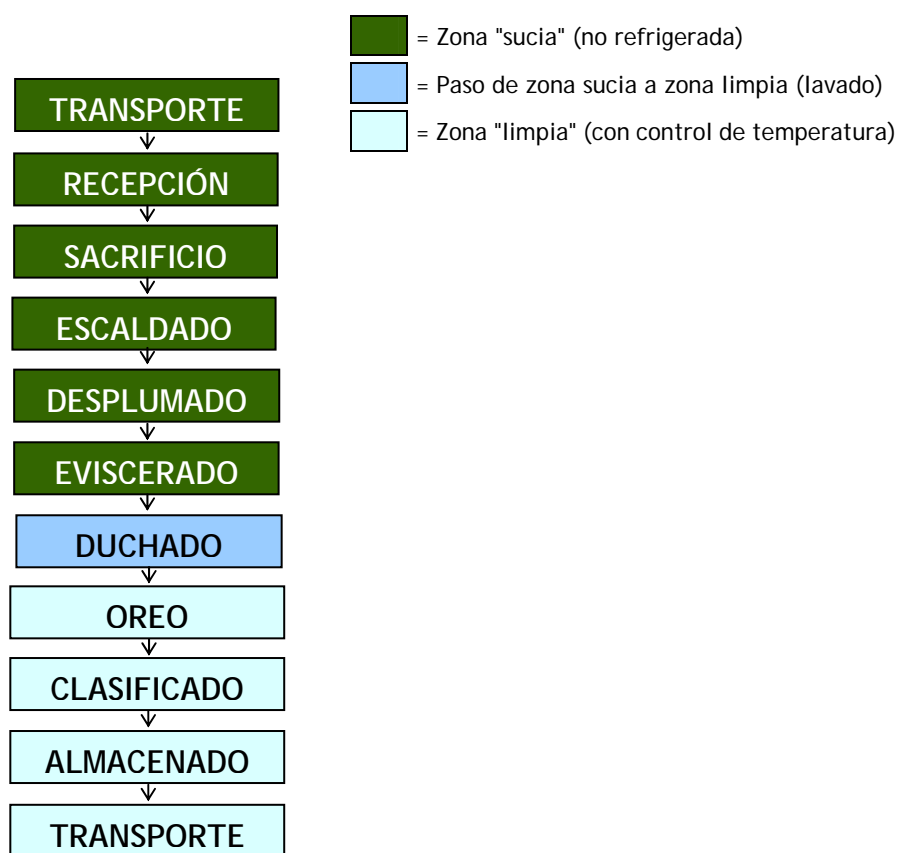


Figura 11. Secuencia de etapas en un matadero de aves

A continuación se describe el proceso de obtención de carne de ave en los mataderos estudiados. Se toma como base el matadero de La Rinconada (Sevilla) haciéndose mención a las diferencias específicas que presenta el matadero de Toledo.

## TRANSPORTE DE "BROILERS" AL MATADERO



Figura 12. Transporte de las aves al matadero

El transporte de aves se realiza en camiones con carros. Éstos son apilamientos de cajas, con apertura lateral, sobre una plataforma con ruedas que facilita la descarga al llegar al matadero (Figura 12). A partir del momento en que las aves son cargadas en los carros para su traslado al matadero, van entrando bajo la disciplina y control de éste.

El valor de las aves será en función del peso de éstas cuando son cargadas en el camión, sin embargo es en este momento cuando comienzan las mermas en el peso para el matadero. Por ello es importante controlar todos los efectos que tienen una acción directa sobre dichas mermas hasta el sacrificio y posterior comercialización: estado de los elementos de traslado al matadero (camiones y jaulas limpios, desinfectados y en buen estado), manipulación de las aves en la carga de la granja (con tranquilidad, evitando contusiones, han de cogerse por las patas no por las alas, muslos ni cuello), condiciones del transporte (aire, temperatura, número de aves por jaula, suavidad conduciendo).

El transporte debe realizarse en las horas con temperaturas más suaves (fresca en verano y no demasiado fría en invierno) para reducir al máximo el número de bajas. Por el mismo motivo se procura que las granjas no estén demasiado alejadas del matadero, para que el tiempo de transporte sea mínimo.

## RECEPCIÓN DE AVES

A la llegada al matadero, los camiones pasan a una zona de espera (Figura 13) donde los animales, dentro de las jaulas, descansan del estrés que les provoca el transporte. Este tiempo de espera debe ser lo más corto posible dado que las aves están privadas de alimentación y agua.



Figura 13. Zona de espera

En caso de que las temperaturas sean elevadas, se pone en funcionamiento un adecuado equipo de ventiladores y atomizadores de agua para refrescar el ambiente.



Figura 14. Descarga y colgado de animales en la línea de producción

Posteriormente, los camiones pasan al muelle de descarga. La descarga debe ser rápida y efectuarse sin brusquedades. Los carros se descargan en el muelle y se colocan en plataformas hidráulicas que los elevan a medida que los operarios vacían las jaulas con las aves. Las aves se sacan de las jaulas y se cuelgan individualmente y de forma manual por los tarsos, en los ganchos de la cadena de sacrificio. De esta forma, la sangre se les acumula en la cabeza y así permanecen relativamente inmóviles. En esta posición se mantienen durante todo el proceso de sacrificio y eviscerado (Figura 14).



Figura 15. Sistema de lavado de carros

Los carros vacíos se retiran de la plataforma y pasan por un túnel de lavado donde se limpian con agua a presión y desinfectante. A la salida, se cargan de nuevo en los camiones, que también se lavan y desinfectan con agua a presión, antes de salir de las instalaciones del matadero (Figura 15).

## SACRIFICIO

### Aturdido eléctrico

El animal, colgado por las patas, mediante un descenso del transportador aéreo, sumerge la cabeza en un baño de agua con sal donde se encuentran dos electrodos que descargan una sacudida eléctrica, de frecuencia y voltaje

controlado, con objeto de aturdir al ave (Figura 16). Para aumentar el contacto eléctrico y la eficacia de la descarga, una ducha moja las patas de las aves. Con esta operación se consigue la estimulación del corazón (produciendo una taquicardia que tiene un rápido efecto de bombeo de la sangre al exterior), favoreciendo el sangrado, a la vez que se evita el sufrimiento del animal a la hora del sacrificio.

En esta etapa es muy importante controlar tanto el voltaje como la frecuencia, para que se produzca sólo el aturdimiento del animal. De lo contrario, se produce la aparición de hematomas en determinadas zonas, especialmente las alas, o incluso la muerte, lo que conduce a un sangrado defectuoso con la consiguiente coloración roja de la carne, convirtiéndolos, en ambos casos, en productos de calidad inferior o, incluso, desechables.



Figura 16. Baño de aturdimiento

### Corte y sangrado

Tras el aturdimiento, se procede al degüello de las aves para que se desangren y aumentar así la duración de su conservación. Mediante una cuchilla giratoria, a la cual llega el animal conducido por barras-guía, se le produce un corte muy preciso y no demasiado profundo, de las venas y arterias en el cuello (Figura 17a). Para que el sangrado sea efectivo y la carne quede blanca (sin hematomas ni acumulación de sangre en el músculo) el animal debe desangrarse completamente. Esto implica que debe permanecer vivo durante esta operación. Por lo tanto, es muy importante que el corte no seccione la columna ni la tráquea, para que el animal continúe respirando y muera por sangrado.

Tras pasar por la cuchilla giratoria hay un operador o matarife que revisa y sacrifica manualmente las aves que no han sido correctamente degolladas con la cuchilla (Figura 17b).

Tras el corte, se pasa al túnel de sangrado, una habitación donde la cadena lleva un recorrido zigzagueante, de duración entre 1 y 2 minutos, donde la sangre cae a un canal para ser recogida en un depósito subterráneo, desde el cual se

bombea a la instalación de tratamiento de subproductos. La sangre tratada térmicamente será envasada en la sala de clasificado junto al envasado de hígados y mollejas.

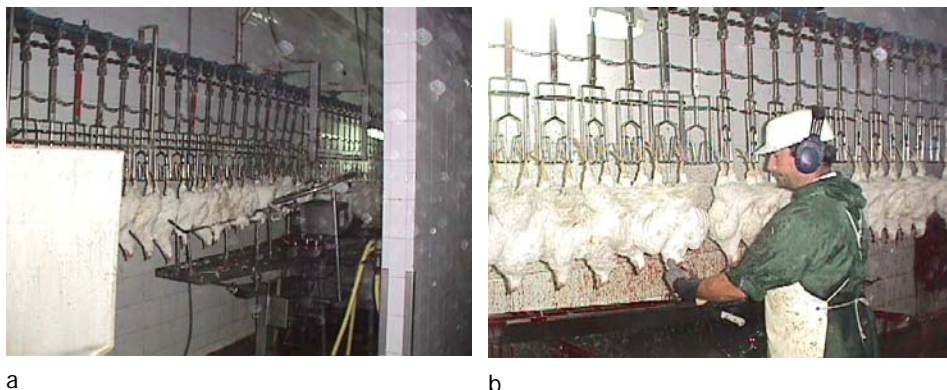


Figura 17. a) Sacrificio automático; b) sacrificio manual

Tras el túnel, la canal sale completamente desangrada. Conviene que las canales lleguen con la mínima sangre posible al escaldador (siguiente etapa en la cadena), ya que la presencia de ésta en el agua favorece la producción de espuma.

Un buen aturrido y un desangrado completo son claves para obtener canales de aves impecables ya que los procesos que se realizan a continuación dependen en gran manera de ellos.

## ESCALDADO

Mediante este proceso se prepara el producto para que las plumas se puedan eliminar más fácil y rápidamente. En esta etapa las aves se sumergen de forma sucesiva en dos tanques de agua caliente, con el fin de abrir los folículos de la piel, debido a las reacciones enzimáticas que se producen por la acción del calor transmitido por el baño durante todo el tiempo (2-2.5 min.) que el ave permanezca en él, facilitando así el posterior desplumado (Figura 18). El control de la temperatura del agua se realiza mediante termostato manteniéndose entre 50 y 53 °C.

El escaldado es un punto de gran contaminación debido a la suciedad de las propias aves y a las altas temperaturas. Por este motivo, se utilizan dos tanques, para que en el primero quede retenida la mayor cantidad de suciedad con lo que la canal sale del segundo en mejores condiciones higiénicas. El agua de ambos tanques se encuentra en agitación (de abajo a arriba) permitiendo que la temperatura del agua sea la misma en todas las zonas, así como una mayor

penetración del agua entre las plumas hasta llegar a la piel. Además, el agua está en constante renovación para evitar la excesiva acumulación de suciedad. La escaldadora posee un mecanismo de flotador que regula el nivel de agua.



Figura 18. Tanques de escaldado

Tanto la temperatura de los tanques de escaldado como la frecuencia y el voltaje del aturdidor están gobernados desde un panel de control, ubicado en la sala del aturdidor.

En el matadero de Toledo, la escaldadora está cerrada por la parte superior, evitándose así que el agua rebose (Fig. 19).



Figura 19. Tanque de escaldado en el matadero de Toledo

Está formada por dos tanques de agua, de renovación continua, con inyección de vapor, regulada por cuatro sondas conectadas a termostatos, que controlan la temperatura del agua a  $50\pm 3$  °C. El recorrido de las canales dentro del tanque de escaldado tiene una duración entre 3 y 4 minutos, aproximadamente.

## DESPLUMADO

La retirada de las plumas se lleva a cabo de forma mecánica. Esta operación se realiza utilizando tres bloques de máquinas *desplumadoras* compuestas por una serie de barras con un conjunto de discos giratorios que se mueven a gran velocidad, los cuales disponen de "dedos" de goma flexible que, al entrar en contacto con las plumas, las separan del folículo, eliminándolas (Figura 20a y b). El material de estos dedos es goma rígida (mayor dureza) en el primer bloque, donde el ave tiene todavía gran cantidad de plumas, y una goma mucho más suave en el último bloque, para evitar dañar la piel.

Estas desplumadoras tienen la separación de las paredes regulables, posibilitando su ajuste según el tamaño de las aves, para desplumar bien sin producir daños en la piel. Por ello el tamaño de las canales de cada lote debe ser homogéneo.

Al entrar en contacto los dedos con todas las aves, si hubiera alguna enferma contaminaría las siguientes. Para minimizar la contaminación cruzada, en el interior de la peladora, tanto las aves como los dedos de goma se lavan continuamente con abundante agua. Además, esto ayuda a mantener la humedad en la piel de las canales. A la salida del último bloque de peladoras, las canales se encuentran completamente desplumadas y pasan por una ducha para eliminar restos de plumas y suciedad superficial que puedan quedar adheridas, antes de pasar a las sucesivas etapas que comprenden la fase de eviscerado.

En el matadero de Toledo esta etapa es análoga, con la única diferencia de realizarse en 5 bloques de máquinas desplumadoras (Figura 20c).



Figura 20. a) Entrada de la peladora; b) salida de la peladora; c) peladora del matadero de Toledo

## RAJADO Y CORTE DE CLOACA

Esta operación es realizada por una única máquina. A través de la cloaca, en las canales se introduce un vástago provisto de dos cuchillas: la primera, con un movimiento giratorio, corta, sin llegar a separar del todo, el "ovispillo" o parte terminal de la columna; una segunda cuchilla lateral (o de apertura) raja la piel de la parte anterior, para facilitar el eviscerado. A la salida, el vástago deja la cloaca junto con el intestino recto colocada sobre el dorso de la canal, hacia atrás (Figura 21).



Figura 21. Máquina rajadora y cortadora de cloaca

## EVISCERADO

A la salida de la rajadora, las canales se separan en dos líneas de procesado, según la relación peso/tamaño, el tipo de canal comercial y el destino:

- Línea tradicional o española: hasta 4.0 Kg
- Línea europea: hasta 2.5 Kg



a



b

Figura 22. Líneas de producción: a) tradicional; b) europea



Esta clasificación se realiza manualmente, de manera que los pollos que van a seguir la línea europea continúan colgados por las patas (Figura 22a), mientras que los de la línea tradicional son colgados, además, por la cabeza en una cadena paralela a la que llevan, donde continúan colgados por las patas (Figura 22b).

En este punto se realiza una inspección para retirar de la cadena los decomisos: caquexias (pollos con extrema delgadez), mal sangrados, con lesiones mecánicas generalizadas, etc.

### Línea tradicional: pollo español

#### *Eviscerado manual*

Las canales se encuentran enganchadas por las patas en una cadena y por la cabeza en otra cadena paralela a la anterior (Figura 23). Esta posición de las canales permite un mejor y más fácil eviscerado manual. Para ello, una línea de operarios extraen manualmente todas las vísceras, menos la molleja, el hígado y el corazón, separando la hiel del hígado.



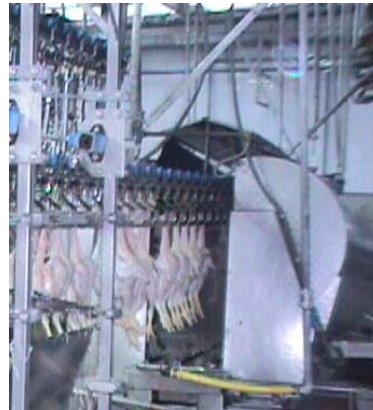
Figura 23. Eviscerado manual de la línea tradicional

#### *Descolgado automático de las patas*

Las patas del pollo pasan sobre una barra-guía que va ascendiendo hasta que salen de los enganches, con lo que queda colgado sólo del cuello.

### *Ducha*

Las canales se duchan mediante aspersores laterales y verticales de agua fría y ayudados por cintas de goma que golpean las canales (Figura 24). Con esta operación se eliminan posibles restos fecales derivados del eviscerado así como plumas.



*Figura 24. Ducha de pollo español*

### **Línea europea**

#### *Decapitador*

La cadena de línea europea lleva las canales hasta la máquina decapitadora y separadora de tráqueas. El cuello del pollo queda atrapado en un tornillo sin fin dentro de un canal, de forma que quiebra la columna vertebral en su punto más débil y, al ir ascendiendo la cadena que sujeta las patas, se desprende la cabeza (Figura 25). En este proceso no se utiliza cuchilla para que la tráquea y el esófago se arrastren junto con la cabeza.

Esta operación mejora en alto grado el funcionamiento de la evisceradora automática por quedar separados los ligamentos entre el esófago y el buche, así como entre la tráquea y los pulmones.



*Figura 25. Decapitador*

### *Corte de patas y cambio automático a línea europea*

La máquina flexiona las patas de la canal para que una cuchilla giratoria las corte a la altura de la articulación. Posteriormente, mediante un golpe seco en el gancho que la ha conducido hasta este momento, la canal es transferida a un gancho de una cadena paralela (Figura 26a).

A la salida del corte de patas se encuentra un operario que revisa si el rajado y corte de la cloaca es correcto antes de entrar en el eviscerado automático, cuelga las canales que en el traspaso de una cadena a otra han caído a una rampa de recogida y quita las canales que están estropeadas, con patas o alas rotas, etc (Figura 26b).



a



b

Figura 26. a) Cortapatas; b) Operario revsando a la salida de corte de patas

### *Eviscerado automático*

Se introduce por la cloaca un cilindro que, en el interior, abre el extremo y engancha el paquete intestinal. Al salir, extrae las vísceras dejándolas colgando por el dorso para ser eliminadas posteriormente (Figura 27a). Al final de esta operación se lava la canal, mediante duchado con agua.



a



b

Figura 27. a) Eviscerado automático; b) separación de hígados y mollejas

### *Separación de hígados y mollejas*

Los operarios van retirando las vísceras, separando del paquete intestinal por un lado el hígado y el corazón, y por otro la molleja (Figura 27b). Ambos productos se llevan, separadamente, mediante un sistema de conducción por vacío, a las correspondientes mesas de empaquetado situadas en la sala de clasificado. Una vez allí, hígados y corazones son envasados directamente (Figura 28), mientras que las mollejas se limpian mediante unos rodillos estriados giratorios, ayudándose de un chorro de agua, y posteriormente se envasan.



*Figura 28. Envasado de hígado y corazón*

### *Extracción de buche*

Por la cloaca se introduce un cilindro con salientes dentados, que gira y ducha con agua el interior de la canal, arrastrando posibles restos de buche. Al final de esta extracción hay una ducha con agua a presión que limpia las canales exteriormente.

### *Corte de cuellos*

El equipo consta de unas barras paralelas que se van cerrando y atrapan el cuello, cortándolo por presión contra una superficie metálica. Los cuellos se recogen en una tolva y, mediante un sistema de vacío, son transportados a la sala de clasificado donde se encuentra la mesa de selección y distribución en cajas. Posteriormente, se corta y elimina la piel sobrante del cuello.

### Verificación

Consiste en un tubo de aspiración que se introduce en la canal, eliminando los restos de vísceras (principalmente pulmón) que hayan podido quedar tras el eviscerado (Figura 29).

En el matadero de Toledo, esta máquina se encuentra tras la ducha.



Figura 29. Máquina verificadora

### Descolgado automático de la canal

Las canales se descuelgan del gancho que las conduce hasta este momento y caen por un canalón de recogida hasta una cinta transportadora (Figura 30a y b)

### Colgado manual

Los operarios recogen las canales de la cinta transportadora y las cuelgan por las patas en la cadena, que se dirige a la etapa siguiente (Figura 30c).

En el matadero de Toledo no es necesaria esta operación ya que el enfriado posterior en túnel es estático. En su lugar, tras el descolgado automático de la canal se produce el clasificado y prerrefrigeración estática de las canales.



Figura 30. a) y b) Descolgado de línea de eviscerado; c) colgado manual

## DUCHA TRAS EVISCERADO

La operación de duchado es común a las dos líneas de producción: la tradicional y la europea.

Después de la evisceración, las canales pasan por la etapa de lavado con ducha que sustituye la capa de líquido superficial de las canales por una capa de agua limpia. Se realiza con agua potable a presión y está destinada a limpiar las

canales por dentro y por fuera, por dos razones principales: limpiarlas (eliminando los restos de sangre, suciedad y plumas que pudieran quedar adheridas) y evitar que se resequen en el túnel de oreo.

La ducha mide 225 cm de longitud, y en su interior tiene 4 bloques de chorros de agua con un total de 32 boquillas, que conducen el agua en diferentes direcciones, 28 laterales y 4 hacia arriba, lavando tanto la superficie como el interior de las canales (Figura 31). Las canales se lavan durante 8 segundos (2 segundos por bloque). En los bloques 1 y 2 la presión del agua es de 12-15 Kg/cm<sup>2</sup>, con un total de 18 boquillas: 16 laterales y 2 de abajo hacia arriba, y en los bloques 3 y 4 la presión es de unos 2 kg/cm<sup>2</sup>, con 14 boquillas: 12 laterales y 2 hacia arriba).

Esta operación es muy importante, ya que limpia y descontamina las canales, eliminando por arrastre una gran cantidad de microorganismos (*González-Miret et al., 1998*)



Figura 31. Ducha tras el eviscerado

## ZONA LIMPIA. CONTROL DE LA TEMPERATURA

A partir de la etapa de ducha tras el eviscerado, las operaciones que se realizan se encuentran en lo que se denomina “Zona Limpia” del matadero. La característica principal de estas salas es que en todas ellas se realiza un control de la temperatura ambiental, así como su registro continuo mediante un sistema informatizado.

El frío actúa como elemento paralizador de los procesos de degradación de las carnes, tanto desde el punto de vista microbiológico, como de las oxidaciones responsables del enranciamiento de las canales. El frío, adecuadamente aplicado,

puede producir una disminución de las mermas, una mejora en la presentación de las canales y un aumento del tiempo de conservación.

### TÚNEL DE ORO O REFRIGERADO RÁPIDO

Es una cámara a temperatura controlada con aire entre  $-6$  y  $+2$  °C, humedad relativa de 69% y con capacidad para unos 10000 pollos, donde se produce un proceso de refrigeración dinámica ya que se realiza con las canales en movimiento. La cámara está recorrida por una cadena zigzagueante de 1300 m, en tres niveles, cuyo recorrido total tiene una duración media aproximada de 100 minutos (Figura 32a). La temperatura de las canales a la salida oscila entre los  $4$  °C y los  $10$  °C, dependiendo del tamaño de las mismas.

En el matadero de Toledo la operación de refrigerado rápido de las canales se realiza en un túnel de oro estático. En este caso, las canales han sido clasificadas previamente y colocadas en cajas de plástico. Estas cajas se introducen en el interior de una gran cámara con aire frío a una  $T^a$  de  $-10$  y  $-5$  °C (Figura 32b). Dentro de la cámara permanecen unos 100 minutos y a continuación se sacan (con temperatura de salida de la canal entre  $1$  y  $7$  °C) para llevarlas a la cámara de refrigeración que las mantiene a  $4$  °C.



Figura 32. a) Imagen parcial del túnel de oro dinámico (Sevilla); b) Túnel de oro estático (Toledo)

### PESAJE Y CLASIFICADO

A la salida del túnel dinámico de enfriamiento rápido, las canales se transfirieren a la cadena de clasificado mediante un resorte que golpea el gancho. Esta cadena pasa por una microbáscula conectada a un ordenador y se van clasificando las canales según el peso, al descolgarse sobre determinados cajones,

desde los cuales los operarios de la sala las colocan en cajas (Figura 33). Éstas son conducidas mediante cinta transportadora, y en su recorrido pasan por etiquetado, colocación de marchamo a las canales (Figura 34a), peso de las cajas y asignación de un código que recoge información sobre el camión, fecha de matanza, número de la caja, número de aves por caja, peso total y código de barras (Figura 34b).

Cuando la clasificación se realiza tras el túnel de oreo, hay que procurar que los cajones no se amontonen en los cajones de clasificado y así, evitar que suba la temperatura en las aves que se encuentren en el fondo.



Figura 33. Sala de pesaje y clasificado de canales

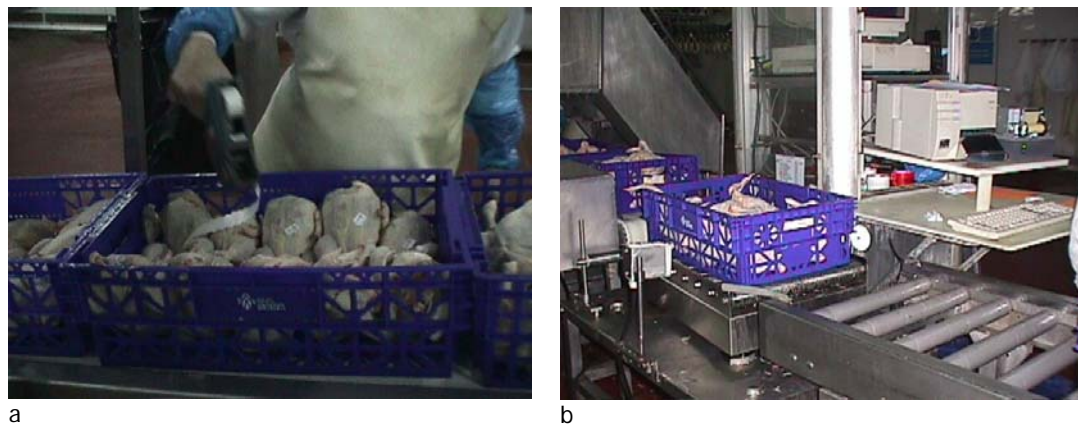


Figura 34. a) Etiquetado y marchamo; b) peso y asignación de código

En el matadero de Toledo, el clasificado se realiza por operarios que seleccionan las piezas visualmente, según tamaño, y las van colocando en cajas, pasan por la báscula donde se les asigna el código antes descrito (Figura 35). Esta operación tiene lugar tras la ducha y antes del enfriamiento rápido.





Figura 35. Clasificado manual de canales (Toledo)

## REFRIGERADO

Las canales, una vez clasificadas, pasan a la cámara de refrigeración (Figura 36). Esta cámara debe mantener los productos a una temperatura no superior a 4 °C, hasta su procesado o comercialización, para lo cual, la temperatura ambiente se mantiene entre 0 y 4 °C. En esta cámara se conservan los “productos de primera” (canales enteras que se comercializarán como pollo entero) y “productos de segunda” en espera del despiece.



Figura 36. Cámara de refrigerado

## DESPIECE

En la sala de despiece se reciben las canales procedentes de la cámara de refrigerado para la obtención de los diferentes productos comerciales. En Sevilla todas las canales que se despiezan han sido sacrificadas y evisceradas en la misma planta, sin embargo, en Toledo, se despiezan canales sacrificadas en la misma planta y otras que han sido sacrificadas y evisceradas en otros mataderos. La temperatura de esta sala debe oscilar entre 8 y 12 °C.

En la Sala de Despiece se encuentran tres líneas claramente diferenciadas, tanto por su funcionamiento como por su disposición dentro de la sala: despiece automático, manual y línea de carne industrial.

### Despiece automático

Se realiza mediante una compleja secuencia de equipos con cuchillas que permiten la regulación en todos los puntos de corte para ajustarlos al tamaño de las canales que se procesan en cada momento.

Las canales, distribuidas en cajas, entran en la sala de despiece a través de una abertura que comunica el muelle de expediciones con la sala. Manualmente son colgadas por las patas en la cadena automática de despiece y pasan por sucesivas etapas (Figura 37):

- 1- Unos rodillos giratorios golpean lateralmente los costados de las canales, para separar las alas del cuerpo, preparándolas para su corte posterior.
- 2- Dos cuchillas, situadas a los lados de forma oblicua, cortan las *alas*. En el matadero de Toledo antes de cortar las alas, las canales pasan por una máquina que les corta el muñón y por otra que les corta el ovispillo.

Además, la máquina corta-alas permite la posibilidad de cortar por separado las falanges (puntas, medianas y blanquetas) o cortar las alas completas.

- 3- Una cuchilla corta la pechuga separándola de los traseros. Las *pechugas* caen a una cinta transportadora y los traseros quedan colgados y siguen avanzando por la cadena.
- 4- Las pechugas, desde la cinta transportadora, son colocadas en una línea de conos de teflón que avanza ante una cadena de operarios (Figura 37b) para la obtención de *filetes de pechuga*: primero retiran la piel de la pechuga y a continuación, cortando con un cuchillo, separan los dos filetes de pechuga. Éstos se colocan en cajas de plástico para pasar a la cámara de despiece a través de la correspondiente cadena transportadora.

En Toledo, tras la separación de los dos filetes se echan en cajas de plástico y se trasladan a la máquina que calibra filetes según tamaño, y se vuelven a colocar en cajas para su posterior envasado al vacío o almacenamiento.

- 5- Los traseros pueden seguir varios procesos, según el producto que se quiera obtener. Una cuchilla corta el obispillo obteniéndose los *cuartos traseros*.
- 6- Si el proceso continúa, una cuchilla corta por la mitad el hueso, con lo que

se obtienen *traseros*.

- 7- La pieza queda aprisionada entre un raíl que, al avanzar, quiebra y separa el hueso central o espinazo. Luego baja el gancho donde se encuentran colgadas las patas, separando ambas del hueso. Así se obtienen los *muslos*.
- 8- Los muslos pasan por unas cuchillas que realizan un corte a nivel de la articulación separando *contramuslo* y *jamoncito*.

En el matadero de Toledo, tras la obtención de los traseros, se elimina la piel de la parte del *contramuslo* y luego se separa la carne del hueso para obtener *carne de contramuslo*. A continuación se corta el hueso y se obtiene el *jamoncito* completo, o bien se quita la piel del *jamoncito* y se separa la carne del hueso para obtener *carne de jamoncito*.

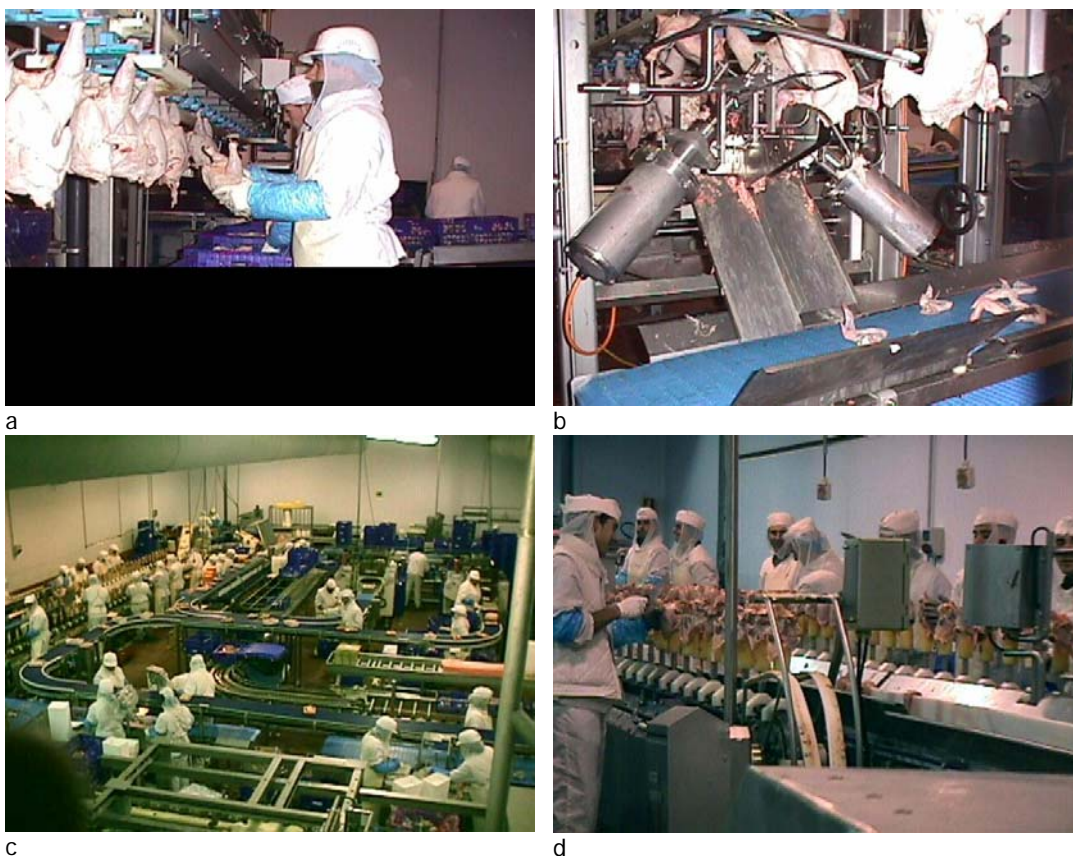


Figura 37. Despiece automático. a) colgado manual de las canales en despiece automático; b) Obtención de alas; c) Línea de despiece automática; d) Línea de conos (semiautomático)

Los productos que se obtienen en cada paso (puntas, medianas, blanquetas, alas, pechugas, filetes de pechugas, cuartos traseros, traseros, muslos, jamoncitos, contramuslos, carne de jamoncitos y carne de contramuslos) caen en

cintas transportadoras desde las cuales son repartidos en cajas con plásticos o colocados en las barquetas y conducidas, pasando por un detector de metales, a la cámara de despiece donde permanecen hasta su posterior envasado y etiquetado, congelación o expedición.

Los subproductos obtenidos de estas operaciones (piel, huesos, carcasas, obispillos) son también recogidos en cajas y conducidos a la correspondiente cámara hasta su expedición.

### **Despiece manual**

Es realizado por una serie de operarios sobre una mesa de procesado. Los productos que salen de ella pasan por la báscula hacia la cámara de conservación de productos de despiece. Luego, según de qué producto se trate, pueden envasarse y comercializarse o ir a congelado.

En esta línea ocurren diferentes operaciones, que se pueden dividir en dos grupos:

- a) Las que se efectúan sobre canales que llegan directamente de la cámara de refrigeración, mediante las que se obtienen: pollo a cuartos, pollo a medio, pollo ajillo (troceado) y despiece de mercadería (gallinas, pavos).
- b) Las que se efectúan a partir de producto procesado previamente en la sala, es decir, de un producto de despiece, que puede proceder directamente de otra de las líneas de la sala o de la cámara de despiece. Este es el caso de operaciones de retirada de grasa, huesos, etc. de estos productos, con destino a congelación.

### **Línea de carne industrial (Sada Andalucía, Sevilla)**

Es una línea específica de procesado de cuartos traseros para obtención de carne, por lo tanto es un producto procedente de otra línea de despiece, directamente o habiendo permanecido algún tiempo en la cámara de despiece.

La secuencia de operaciones comienza con una máquina peladora que retira la piel y separa el hueso, y un posterior repaso manual para eliminar con tijeras los posibles restos de piel, cartílago o hueso.

La carne se coloca en cajas con bolsas de plástico, se pesan y se llevan a la cámara de despiece.

## **CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS EN REFRIGERACIÓN/CONGELACIÓN**

Todos los productos elaborados se conservan en refrigeración o congelación, según su destino. Para ello, la planta cuenta con diferentes cámaras de conservación, con estricto control de la temperatura.

### **Cámara de despieces**

A esta cámara llegan los productos elaborados en la sala de despiece. En ella permanecen hasta que pasan a envasado o a un segundo procesado en la sala de despiece. También se conservan en esta cámara los productos del despiece ya envasados, en espera de ser enviados a su comercialización.

### **Cámara de conservación de subproductos comestibles**

Donde se almacenan, hasta su expedición, la sangre tratada térmicamente, los hígados y las mollejas.

### **Túnel de congelación**

En esta cámara los productos se congelan mediante un gradiente descendente de temperatura que va desde los 0 °C a los -50 °C. Una vez congelados, los productos pasan a la cámara correspondiente.

### **Cámara de conservación de productos congelados**

En ella se mantienen los productos procedentes del túnel de congelación.

## **ENVASADO Y ETIQUETADO**

El proceso de envasado o embarquetado, por el nombre de los envases en los que se coloca el producto (barquetas) (Figura 38), se realiza en dos zonas según el producto:

- En la sala de despiece, para productos de despiece
- En la sala de embarquetado, para canales enteras



Figura 38. Máquina envasadora y etiquetadora

## EXPEDICIÓN DE PRODUCTOS

A través del muelle de expediciones se realizan, fundamentalmente, dos operaciones: salida de la mercancía hacia los puntos de venta (tras facturación y pesaje), y recepción de productos de mercadería. El muelle cuenta con tres puertas hacia el exterior por las que se realiza la carga y descarga los camiones (Figura 39).



Figura 39. Muelle de descarga

## TRANSPORTE

Se realiza en camiones frigoríficos, dotados de un sistema de mantenimiento de la temperatura (por debajo de 4 °C), hasta los puntos de venta.

## LAVADORA DE CAJAS

Sala donde se realiza la limpieza y desinfección de las cajas de plástico destinadas a contener y transportar productos elaborados. Las cajas van colgadas por ganchos, y avanzan mediante una cadena, a través de un túnel, en cuyo interior se lavan las cajas con agua a presión y desinfectante (Figura 40).



Figura 40. Sistema de lavado de cajas

## ESQUEMAS DEL PROCESO

Desde la llegada de los animales vivos al matadero hasta la salida en expedición de los diferentes productos elaborados, la cadena productiva sigue una compleja secuencia de etapas, tal como se ha detallado en los apartados anteriores. Con objeto de mostrar de manera gráfica esta secuencia, en este apartado se presentan esquematizadas, tanto el global del proceso, como un mayor detalle de las diferentes salas.

Estas gráficas muestran tanto las dependencias del matadero de Sevilla como el matadero de Toledo, ya que entre ellos existen ciertas diferencias, principalmente en el orden de los equipos.

### SEVILLA

- Producción global (Figura 41)
- Proceso de sacrificio, escaldado, desplumado, eviscerado y ducha (Figura 42)
- Proceso de enfriamiento en túnel, clasificado y refrigerado (Figura 43)
- Proceso de despiece y embarquetado (Figura 44)

### TOLEDO

- Producción global (Figura 45)
- Proceso de escaldado y desplumado (Figura 46)
- Proceso de eviscerado, ducha, clasificado y oreo (Figura 47)
- Proceso de despiece (Figura 48)

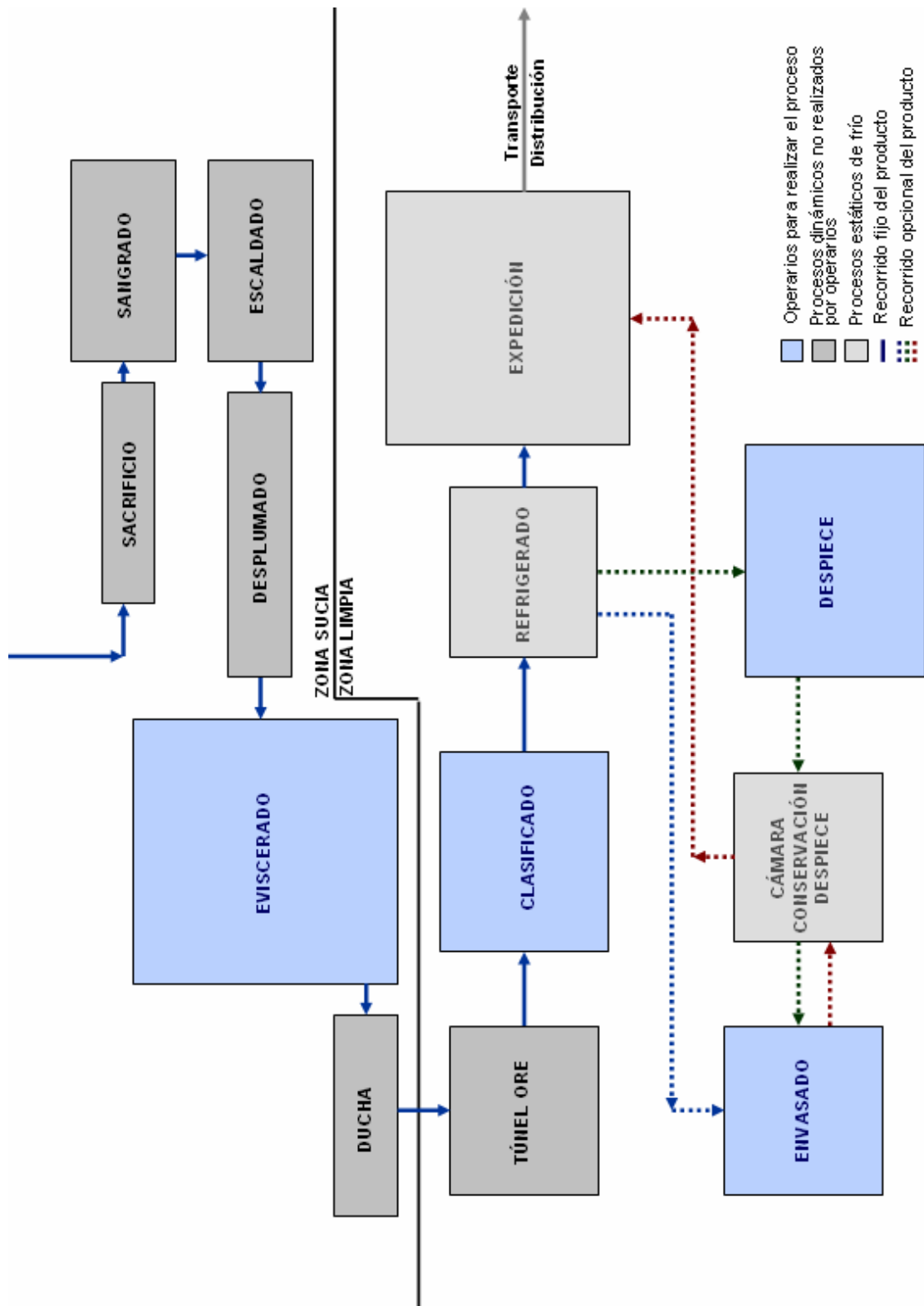


Figura 41. Producción global (Sevilla)



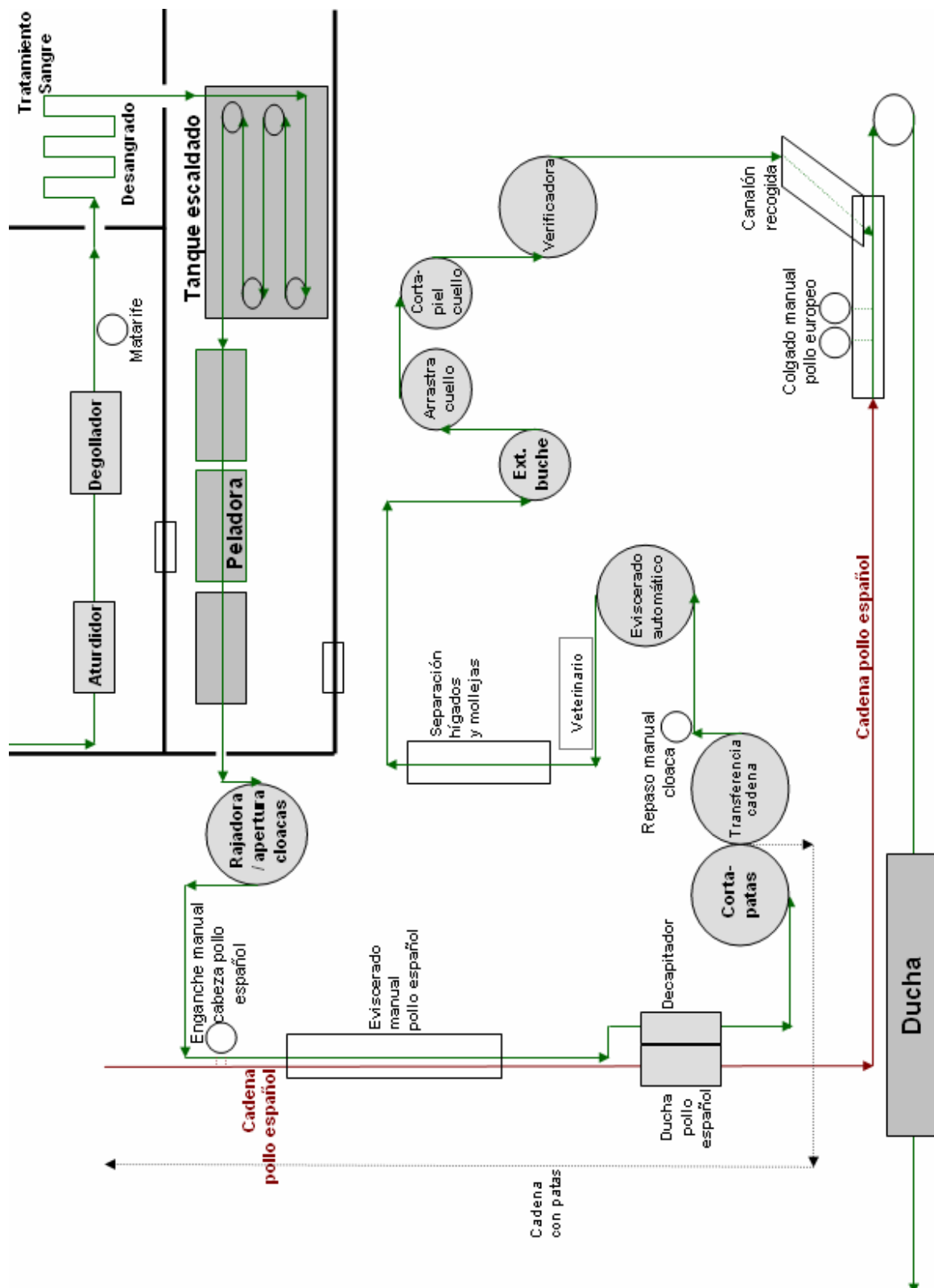


Figura 42. Sacrificio, eviscerado y ducha (Sevilla)

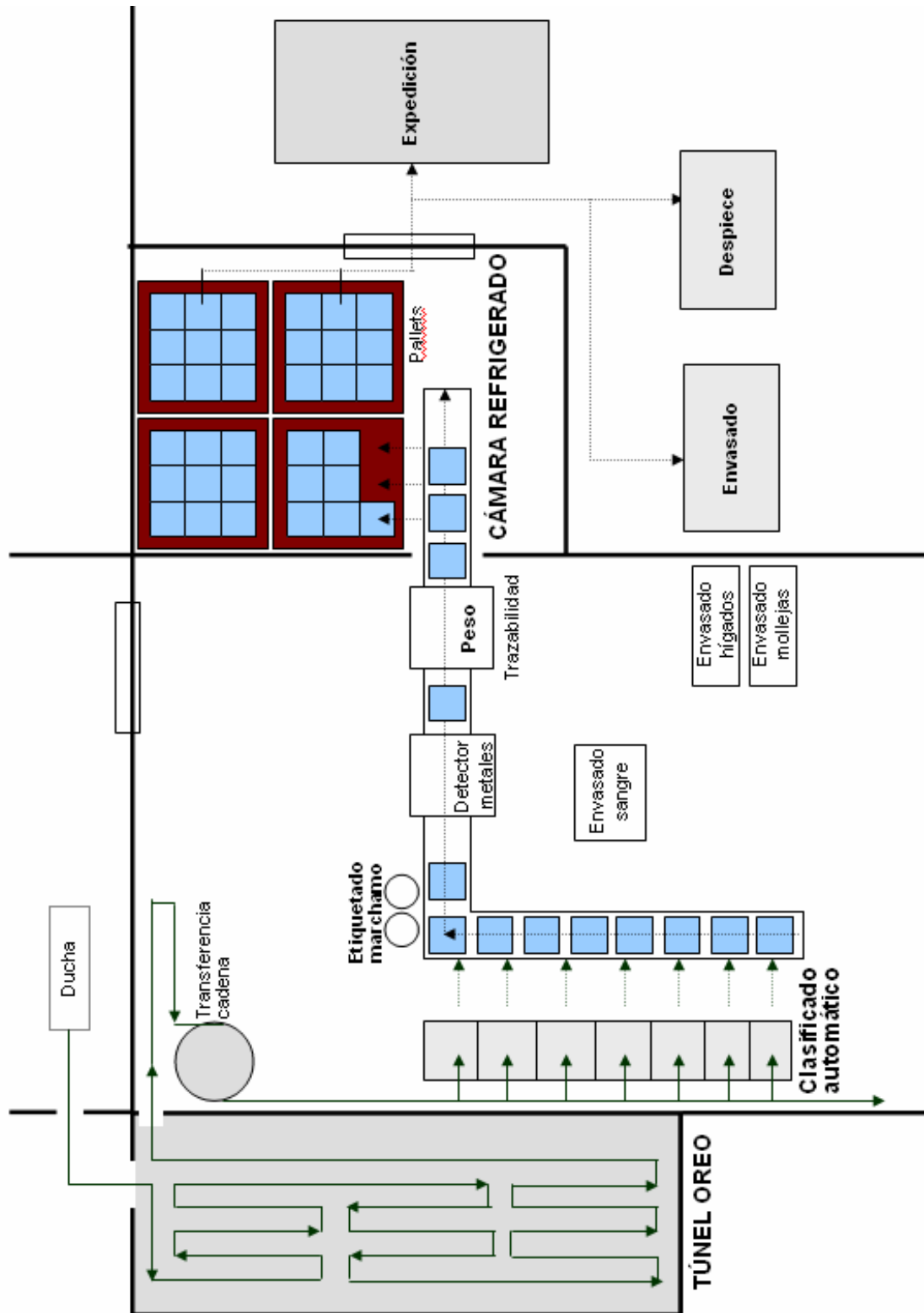


Figura 43. Túnel oro, clasificado, refrigerado y expedición (Sevilla)

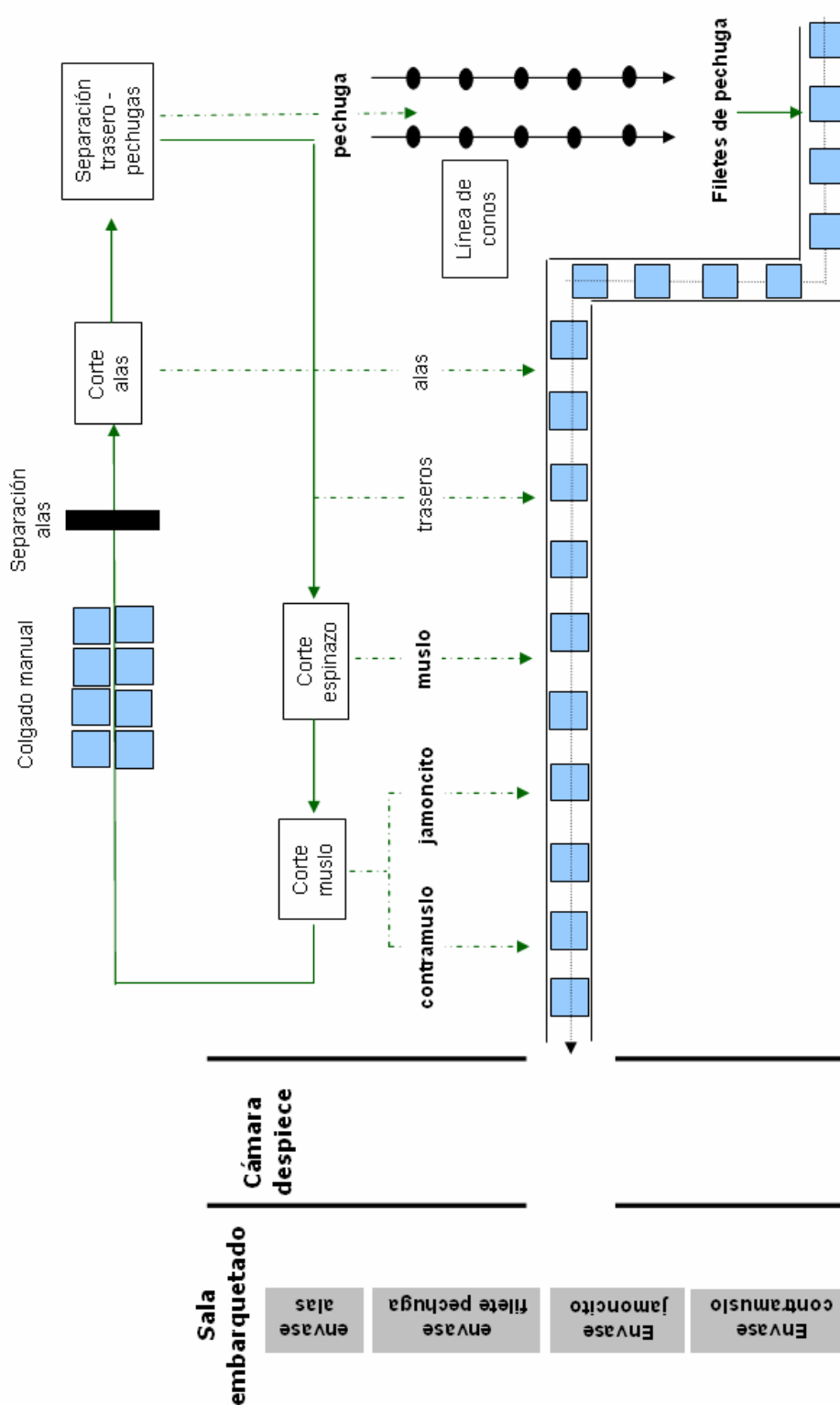


Figura 44. Proceso de despiece y embarquetado (Sevilla)

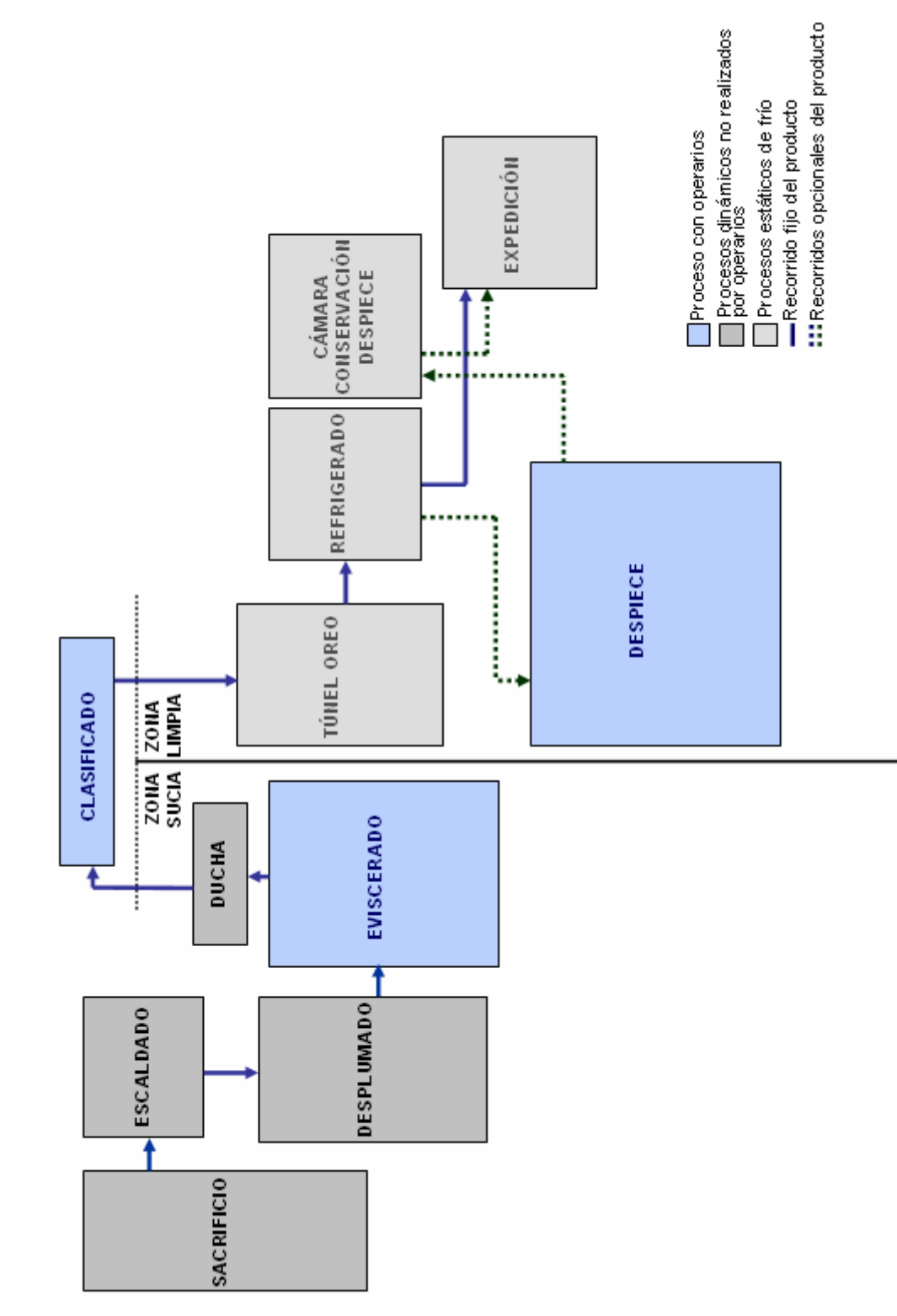


Figura 45. Producción global (Toledo)

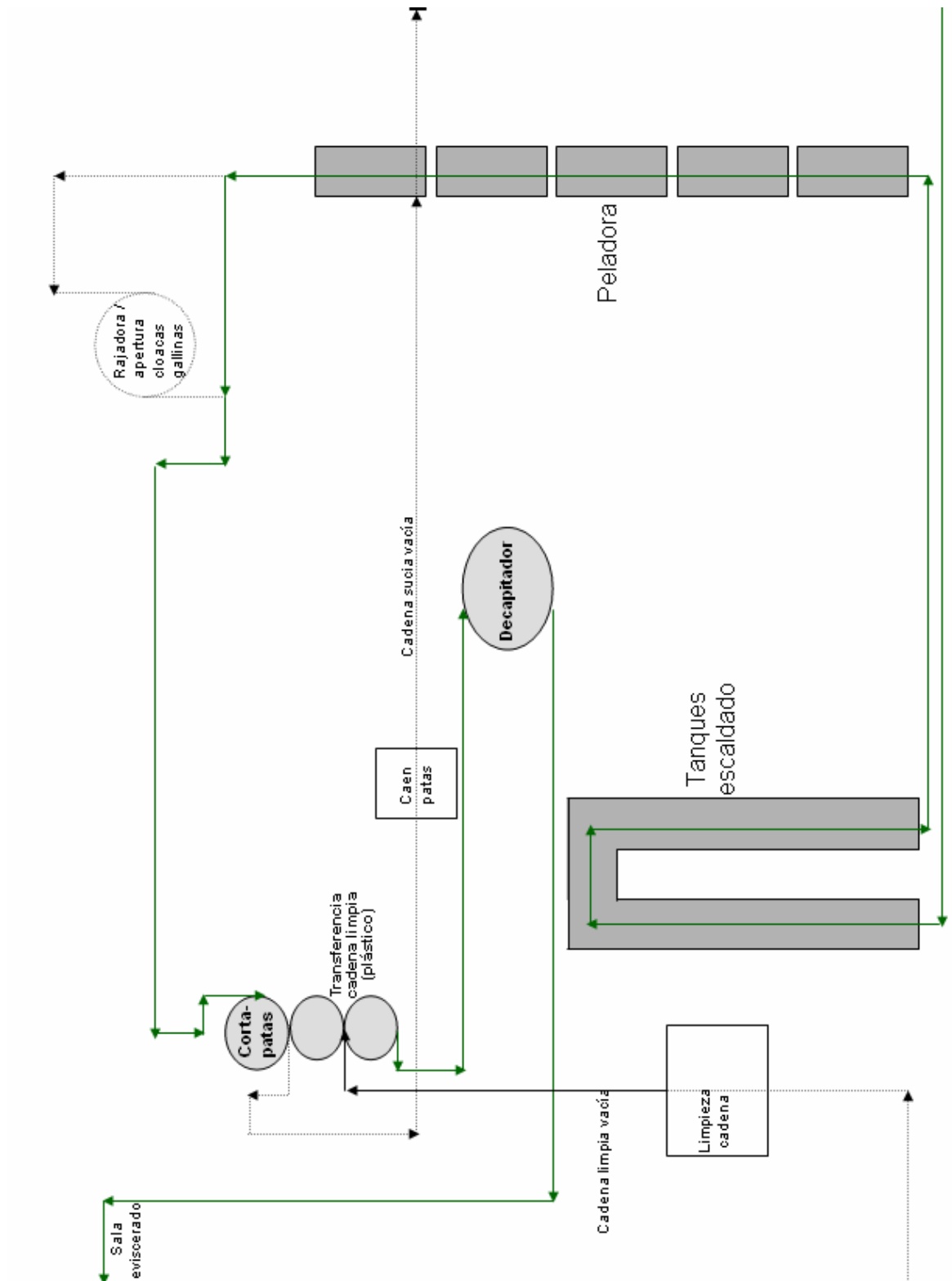


Figura 46. Sala de escaldado y desplumado (Toledo)

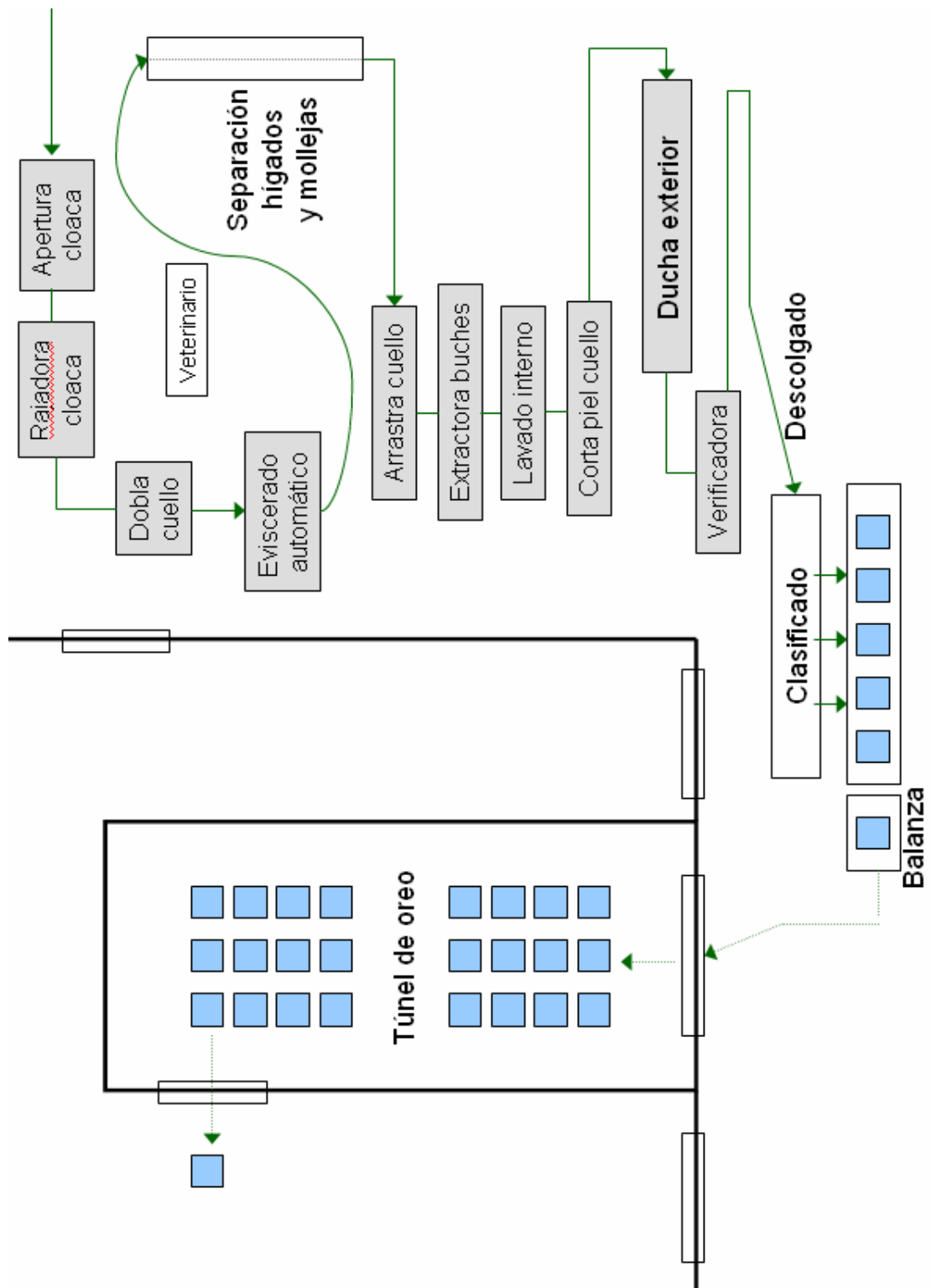


Figura 47. Eviscerado, clasificado y oreo (Toledo)

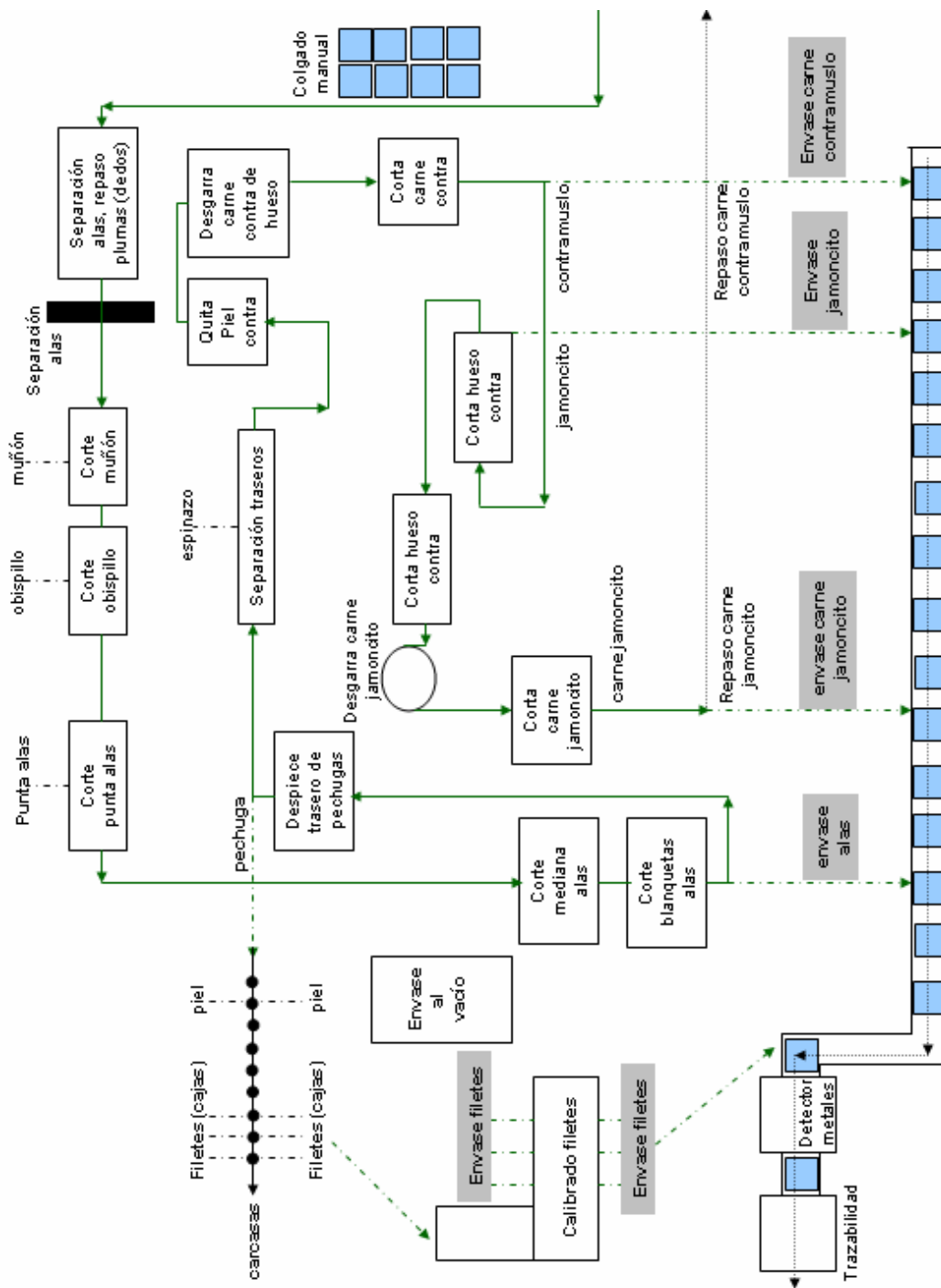


Figura 48. Sala de despiece (Toledo)

## MUESTRAS

En el desarrollo de la fase experimental objeto de la presente memoria se han analizado un total de 1368 muestras, obtenidas en plantas de procesado de carne de ave:

- Matadero de Sevilla: donde ha tenido lugar la gran mayoría del trabajo de investigación expuesto en esta memoria.
- Matadero de Toledo: donde se ha realizado un estudio específico sobre aplicación de un Método Concéntrico.

### MATADERO DE SEVILLA

#### TIPO DE MUESTRAS

En la mayoría de los puntos de la cadena de producción que fueron sometidos a estudio, las muestras estuvieron formadas por piel de una sola canal. En el caso de despieces (filetes de pechuga), las muestras estuvieron constituidas por carne de pechuga.

Las canales analizadas procedían de la línea europea de producción, es decir, completamente evisceradas, sin cabeza ni patas, con un peso por canal entre 2.0 y 2.5 Kg.

En la mayoría de los casos se tomó muestras de la misma unidad muestral en diferentes puntos.

Así, se han analizado un total de 942 muestras, de las cuales 840 estuvieron formadas por piel (89.2%) y 102 por carne (10.8%) (Figura 49).

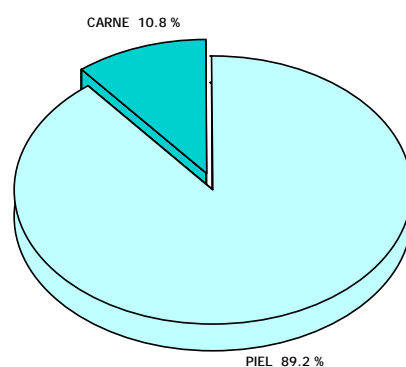


Figura 49. Tipos de muestras analizadas en el matadero de Sevilla



Las muestras de piel fueron obtenidas de la pechuga de la canal (Figura 50a) y las muestras de carne se tomaron a partir de filete de pechuga (Figura 50b).

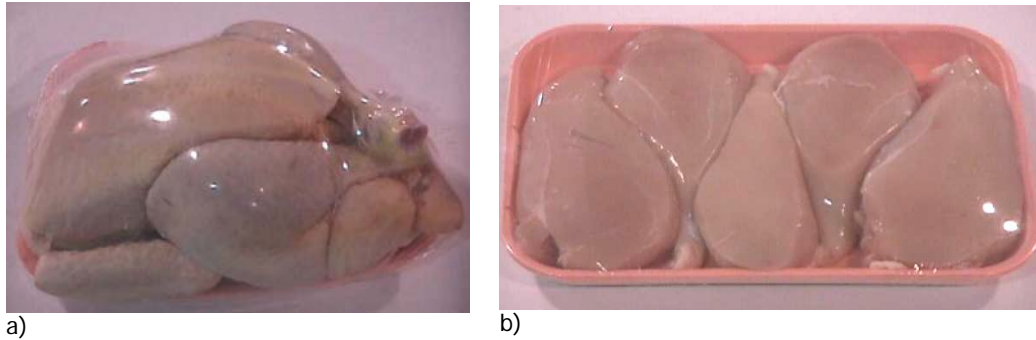


Figura 50. Productos para las muestras de a) piel; b) carne

### PUNTOS DE MUESTREO

El estudio se ha desarrollado a lo largo de la cadena productiva, por lo que se han tomado muestras en diferentes puntos de la misma.

La selección de los puntos de muestreo iniciales se basó en estudios bibliográficos sobre HACCP en la producción de carne de ave, así como en la observación de las prácticas de elaboración, materiales y equipos utilizados en la industria particular en la que se llevan a cabo los estudios, con el fin de asegurar la mejor representatividad posible del muestreo de forma que se considerasen suficientemente los distintos factores y etapas implicados en la realización del presente trabajo. Finalmente se escogieron los que se indican en la Tabla 2, asignándoles un código de una letra. La descripción y proporción de muestras analizadas en cada uno de los puntos seleccionados se detalla en la Figura 51.

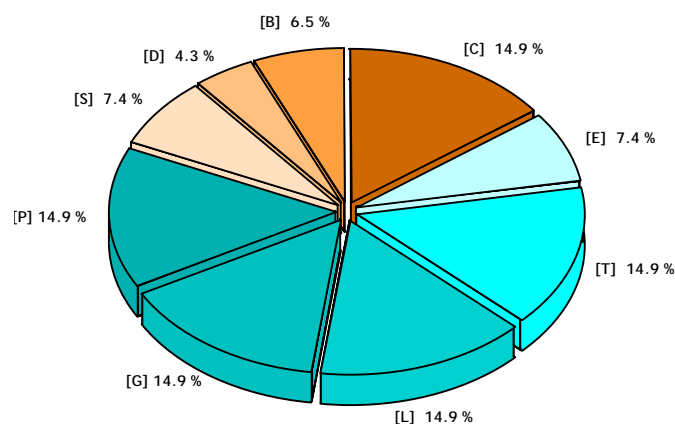


Figura 51. Porcentaje de muestras en cada punto de muestreo, en el matadero de Sevilla

Tabla 2. Puntos de muestreo: descripción, número y porcentaje de muestras en el matadero de Sevilla

Punto	Descripción	Nº muestras	%
[S]	A la salida del tanque de <i>escaldado</i> , antes de entrar en la máquina peladora. En este punto, el ave se encuentra aún con plumas. Sólo ha sufrido las operaciones de aturdido, sacrificio, desangrado y escaldado.	70	7.4
[P]	A la salida de la máquina <i>peladora</i> , cuando la canal acaba de ser completamente desplumada y duchada.	140	14.9
[G]	Al terminar el eviscerado las canales caen sobre una cinta transportadora desde la que son <i>colgadas</i> manualmente. Se toma la muestra en la cadena, una vez colgada, antes de entrar en la ducha.	140	14.9
[L]	A la salida del <i>lavado</i> con la ducha, antes de entrar en el túnel de enfriamiento rápido. La canal ha pasado por todas las manipulaciones de la "zona sucia" (escaldado, desplumado, rajado y eviscerado), antes del enfriamiento rápido en el túnel de oreo, y esta ducha es la última operación de limpieza que se realiza sobre ella.	140	14.9
[T]	A la salida del <i>túnel de oreo</i> . Se trata de un túnel dinámico en el que la canal es sometida a un enfriamiento rápido para evitar que permanezca demasiado tiempo a 37-40 °C, temperatura a la cual se produciría una gran proliferación bacteriana.	140	14.9
[C]	Tras el proceso de <i>clasificado</i> , cuando la canal se ha colocado en la caja en la que se traslada a la cámara de conservación. En este proceso se produce una manipulación, más o menos intensa, necesaria para distribuir las canales en cajas.	140	14.9
[E]	Producto <i>embarquetado</i> , envasado en barquetas de poliestireno expandido y envueltas con film transparente, tanto las canales como los productos de despiece.	70	7.4
[D]	Justo a la salida del <i>despiece</i> .	41	4.3
[B]	<i>Cámara de refrigeración B</i> , donde se conservan los productos de despiece.	61	6.5

Todas las muestras fueron tomadas en días normales de trabajo, en el que no se habían realizado tareas de limpieza excepcionales, para considerar en todo momento la contaminación real media de los distintos procesos. En los casos en los que se necesitarían muestras de una misma canal en diferentes puntos para estudiar su evolución, ésta fue debidamente marcada con una brida coloreada.

## MATADERO DE TOLEDO

### TIPO DE MUESTRAS

En la mayoría de los puntos de la cadena de producción que fueron sometidos a estudio, las muestras estuvieron formadas por piel de diferentes partes de las canales. En el estudio de despieces, las muestras estuvieron formadas mayoritariamente por carne. También se tomaron muestras de superficies de contacto.

Al igual que en el matadero de Sevilla, las canales analizadas procedían de la línea de producción "pollo europeo".

En este estudio se ha analizado un total de 426 muestras, de las cuales 281 estuvieron formadas por piel (66.0%), 133 por carne (31.2%) y 12 muestras de superficie (2.8%) (Figura 52). Asimismo, cada una de las muestras estuvo constituida por piel procedente de 6 canales diferentes. En el caso de los despieces, se muestrearon tanto productos individuales (muestra de la misma unidad muestral en diferentes puntos) como mezcla de productos procedentes de 4 canales diferentes, por cada muestra. Por lo tanto, se han muestreado un total de 1236 canales de aves correspondientes a: 168 muestras de piel x 6 canales, 108 muestras de despiece x 1 canal y, 30 muestras de mezcla de despieces x 4 canales.

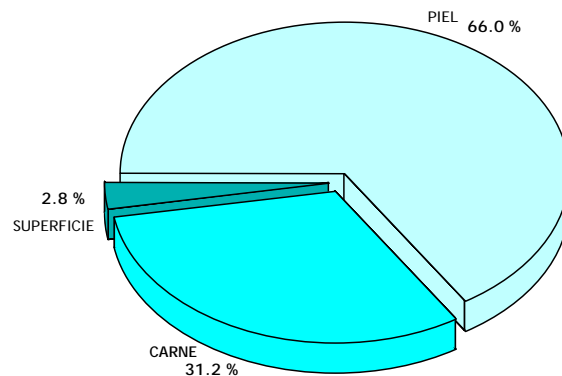
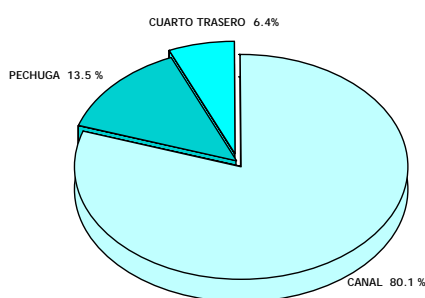


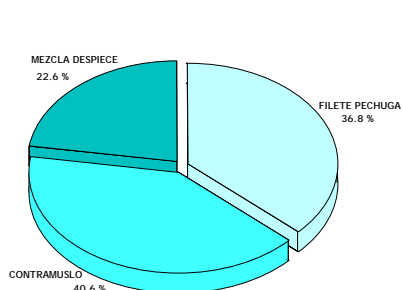
Figura 52. Tipo de muestras

La composición de las muestras fue diferente, según el estudio realizado. El tipo y porcentaje de muestras fue (Figura 53):

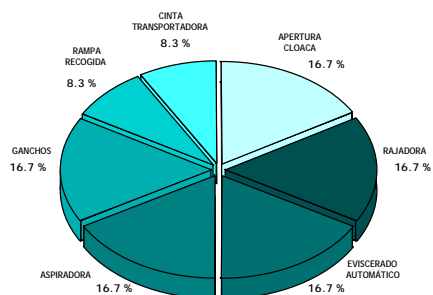
- 281 muestras de piel (66.0%) obtenidas a partir de los siguientes productos (Figura 54 a, b y c):
  - 225 muestras de canal (80.1%)
  - 38 muestras de pechuga (13.5%)
  - 18 muestras de cuarto trasero (6.4%)



Composición de las muestras de piel

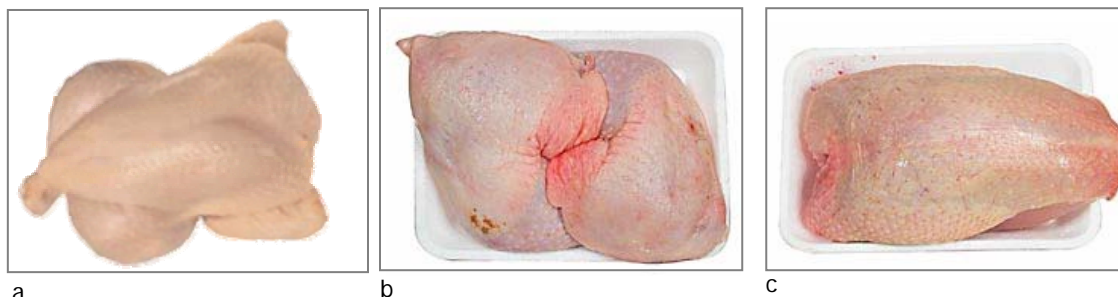


Composición de las muestras de carne



Localización de las muestras de superficie

Figura 53. Composición de las muestras analizadas en el matadero de Toledo



a

b

c

Figura 54. Productos para las muestras de a) Canal; b) cuarto trasero; c) pechuga

- 133 muestras de carne (31.2%) obtenidas a partir de los siguientes productos:
  - 54 muestras de contramuslo (40.6%).
  - 49 muestras de filete de pechuga (36.8%).
  - 30 muestras de mezcla de carne de filete de pechuga, contramuslo, jamoncito y ala (22.6%).
  
- 12 muestras de superficie (2.8%) obtenidas a partir de las siguientes superficies:
  - máquina de apertura de cloaca (2 muestras)
  - rajadora de cloaca (2 muestras)
  - máquina de eviscerado automático (2 muestras) (Figura 55a)
  - ganchos (2 muestras)
  - verificadora o aspiradora (2 muestras)
  - cinta transportadora de clasificado (1 muestra) (Figura 55b)
  - rampa de recogida de canales descolgadas (1 muestra) (Figura 55c)



a



b



c

Figura 55. Toma de muestras de superficies a) sala de eviscerado; b) cinta transportadora de clasificado; c) rampa de recogida de canales descolgadas

## PUNTOS DE MUESTREO

Aunque el objetivo específico del estudio realizado en el matadero de Toledo era diferente al de Sevilla, el protocolo de muestreo es similar, por lo que, nuevamente, la selección de los lugares de muestreo iniciales se basó en la observación de la cadena de producción. Finalmente, se escogieron los que se indican en la Tabla 3, asignándoles un código de una letra. El porcentaje de muestras analizadas en cada uno de los puntos seleccionados se detalla en la Figura 56.

Tabla 3. Puntos de muestreo: descripción, número y porcentaje de muestras de piel y carne en el matadero de Toledo

Punto	Descripción	Nº muestras	(%)
[P]	A la salida de la máquina <i>peladora</i> , cuando la canal acaba de ser completamente desplumada y duchada.	30	7.0
[CC]	Tras la máquina que <i>corta la cabeza</i> de las canales, inicio de la sala de eviscerado.	18	4.2
[DC]	A la salida de la rajadora y <i>dobla cuello</i> , antes de entrar en la máquina de eviscerado automático.	18	4.2
[HM]	Tras la separación de <i>hígados y mollejas</i> .	18	4.2
[VR]	A la salida de la máquina <i>verificadora</i> , que succiona o aspira para verificar la limpieza interior de la canal. En Toledo esta máquina se encuentra inmediatamente después de la ducha.	18	4.2
[C]	Tras el <i>clasificado</i> , cuando la canal se ha colocado en la caja donde se va a trasladar, en este caso, al túnel de oreo estático. En este proceso se produce una manipulación, más o menos intensa, necesaria para distribuir las canales en cajas.	18	4.2
[T]	A la salida del <i>túnel de oreo</i> . En Toledo el túnel es estático y se encuentra tras el clasificado. En esta operación la canal es sometida a un enfriamiento rápido para evitar que permanezca demasiado tiempo a 37-40 °C, temperatura a la cual se produce una gran proliferación bacteriana.	48	11.3
[CJ]	En las <i>cajas</i> antes del colgado en cadena de despiece	19	4.5
[CO]	Tras el corte de <i>obispillo</i> en la sala de despiece.	38	8.9
[SP]	Tras la <i>separación de traseros de pechugas</i> y obtención de alas.	56	13.1
[FP]	A la salida de la línea de conos. Tras la obtención de <i>filetes de pechugas</i> .	34	8.0
[FC]	A la salida de la máquina <i>calibradora de filetes de pechuga</i> .	15	3.5
[CT]	Tras la obtención de <i>carne de contramuslo</i> sin piel y deshuesado.	36	8.5
[CR]	A la salida del <i>repaso de la carne de contramuslo</i> .	18	4.2
[D]	Este punto se muestreó en mezcla de productos despiezados, justo a la salida del <i>despiece</i> .	30	7.0
SF	<i>Superficie</i>	12	2.8

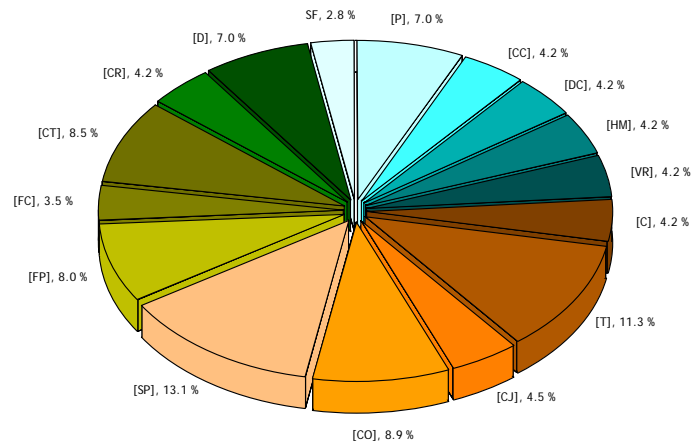


Figura 56. Porcentaje de muestras en cada punto de muestreo en el matadero de Toledo

## TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron tomadas, en los lugares indicados, de forma aséptica con pinzas y bisturí estériles, recogidas en placas Petri y trasladadas al laboratorio para proceder a su análisis inmediato. Allí se pesaron 10 g de muestra, se introdujeron en una bolsa de Stomacher junto con 90 mL de agua de peptona al 1% y se trituraron con el masticador durante 1 minuto. Con esta dilución ( $10^{-1}$ ) se prepara una batería de diluciones tomando 1 mL con pipeta estéril, y añadiendo 9 mL de agua de peptona al 1%. A partir de ésta se procede de igual manera, hasta llegar a la dilución conveniente en cada caso.

En las muestras tomadas a la salida del tanque de escaldado ([S]) fue necesario, antes de tomar la porción de piel, desplumar la zona de la pechuga.

En la toma de muestras de superficie se utilizaron hisopos estériles.

## MÉTODOS

### DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

Aunque la microbiología de los alimentos está considerada por diversos comités de la Unión Europea, todavía no existe un acuerdo general en cuanto a los métodos recomendados para los exámenes de laboratorio, salvo en determinados países, y para alimentos concretos. Las técnicas utilizadas se han desarrollado como consecuencia de la cooperación entre microbiólogos de la industria alimentaria y de los servicios de salud pública (*Collins y Lyne, 1989*). En los EE.UU., la *American Public Health Association* publica técnicas estándar (*APHA, 1992*) y la *Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1978; 1995; 2004-2005)* edita manuales de bacteriología analítica con los métodos oficiales de análisis microbiológicos, en los que se han basado los estudios de la presente memoria. En este sentido existen, además, diversas publicaciones de la *International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1983; 1986)*.

Los parámetros microbiológicos utilizados en los estudios realizados se han escogido en base a la utilidad de su información respecto a los peligros y/o la concordancia con las buenas prácticas de manipulación (*ICMSF, 1986*) y en determinadas ocasiones, a las necesidades de la empresa. En las determinaciones se ha utilizado el método de recuento de organismos vivos en placas, en el que cada colonia que se desarrolla crece a partir de una unidad viable. Para el caso concreto de *Listeria monocytogenes*, se ha utilizado un método cualitativo automático basado en la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

### MATERIALES Y EQUIPOS

- Balanza 0-1200 g (d=0.1 g) KERN® Mod. 440-47 (Balingen, Germany)
- Balanza 0-620 g (d=0.01 g) Gibertini EU600 (Novate, Milán, Italia)
- Triturador de paletas Seward Stomacher® Lab System Mod. 400 (London, England)
- Triturador de paletas Seward Stomacher® Lab System (London, England)
- Campana de flujo laminar TELSTAR® Micro-V (Barcelona, España)
- Campana de flujo laminar TELSTAR® Bio IIA (Barcelona, España)
- Estufas de cultivo P-SELECTA® Mod. 4101 y Mod. 207 (Barcelona, España)



- Estufas de cultivo P-SELECTA® (Barcelona, España)
- Baño maría con termostato P-SELECTA® Precistern (Barcelona, España)
- Baño maría con termostato P-SELECTA® (Barcelona, España)
- Autoclave P-SELECTA® Autester-G (Barcelona, España)
- Autoclave P-SELECTA® (Barcelona, España)
- Analizador MINIVIDAS® Instrument System BioMérieux S.A. (Marcy L'Etoile, Francia).
- Termómetro con sonda digital ELTH de HANNA® instruments (Eibar, España)
- termo-higrometro HI-93640 de HANNA® instruments (Eibar, España)
- pH-metro de sonda 00-507-05 con electrodo de pH de penetración 52-32, de CRISON® Strumenti (Modena, Italia)
- Placas de Petri estériles, de 90 mm de diámetro Scharlab® (Barcelona, España)
- Bolsas estériles Stomacher® (Seward, London, England)
- Hisopos estériles
- Asas de plástico estériles calibradas 0.1 mL, un único uso Scharlab® (Barcelona, España)
- Pipetas estériles 1 mL, un solo uso Scharlab® (Barcelona, España)
- Micropipetas y puntas estériles

## MÉTODOS

### RECUENTO DE ORGANISMOS VIVOS EN PLACAS

#### Procedimiento

Se pesan 10 g de muestra, se colocan en una bolsa estéril a la que se añaden 90 mL de diluyente (agua de peptona al 1%) y se introducen en el triturador de paletas durante 2 minutos. Posteriormente, se realizan diluciones decimales seriadas: 1 mL de la dilución inicial se añaden a un tubo que contiene 9 mL de diluyente. A continuación, y siempre antes de que transcurran 2 horas desde su preparación, se ponen partes alícuotas de cada dilución en (método de “vertido en placa”) o sobre (método de “extensión en placa”) medios de cultivo convenientes, seleccionándose para los estudios las diluciones que proporcionaron recuentos entre 30 y 300 ufc (unidad formadora de colonia)/placa (*Collins y Lyne, 1989, Forsythe y Hayes, 2002*) (Figura 57).

En el “método de vertido en placa” se vierte en la placa de Petri una alícuota de 1 mL de la dilución apropiada. A continuación se adiciona unos 10-

15 mL del medio de cultivo fundido (atemperado a 45 °C), y se mezcla cuidadosamente haciendo movimientos circulares. En algunas ocasiones se añade una segunda capa de medio de cultivo. Una vez solidificado, se invierte y se incuba en estufa. En el caso del método de "extensión en placa" o "en superficie", en primer lugar se vierte el medio en la placa de Petri y, una vez solidificado, se extiende por la superficie de forma uniforme una alícuota de 0.1 mL de la dilución apropiada del alimento, y se incuba en estufa en posición invertida.

### Cálculos

En todos los casos, los análisis se realizaron por duplicado, tomando dos diluciones consecutivas (A y B), obteniendo como resultado la media de los recuentos, en ufc/g, de las dos placas de la misma dilución sembrada. El número de colonias contadas, multiplicada por el factor de dilución de la placa da como resultado el número total de bacterias por gramo, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Recuento final (ufc/g)} = [(Placa A + Placa B \times 10) \times \text{Dilución Placa A}] / 2$$

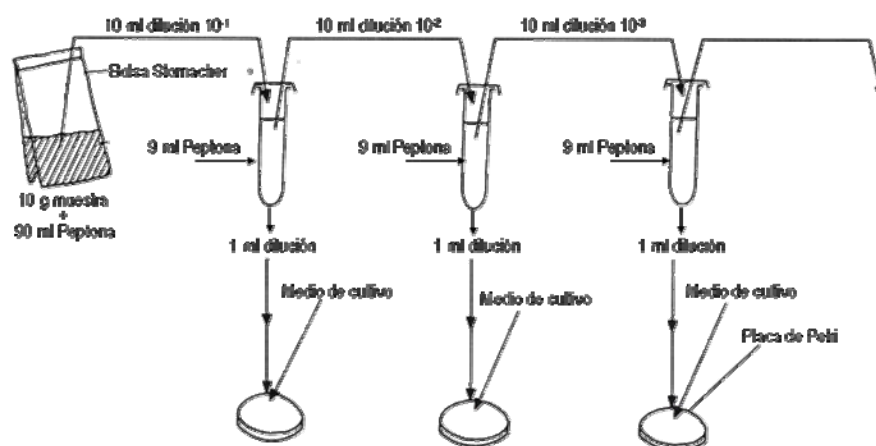


Figura 57. Representación esquemática del protocolo de análisis microbiológico.

Las diluciones de las muestras se preparan con Peptona Bacteriológica Neutralizada *Oxoid*<sup>®</sup> (*Basingstoke, Hampshire, England*). Esta disolución contiene un amplio espectro de péptidos de diferentes pesos moleculares.

#### Análisis típico en % p/p:

Nitrógeno total	14.0
Nitrógeno amínico	2.6
Cloruro sódico	1.6
pH (disolución 1%)	6.3

### Microorganismos analizados

Utilizando las diluciones preparadas, se analizaron, en cada muestra y por duplicado, la presencia y recuento de los siguientes microorganismos:

- *Aislamiento y recuento de microorganismos aerobios mesófilos*

Se inocula en placas Petri 1 mL de las diluciones seleccionadas para cada caso, se añade el medio de cultivo en una sola capa y se incuban a 30 °C durante 48 horas.

El medio de cultivo utilizado es *Agar Nutritivo Oxoid*<sup>®</sup> (*Basingstoke, Hampshire, England*), preparado a 28 g/L, con la siguiente composición:

Polvo "Lab-Lenco"	1.0 g/L
Extracto de levadura	2.0 g/L
Peptona	5.0 g/L
Cloruro sódico	5.0 g/L
Agar	15.0 g/L
pH	7.4 ± 0.2 a 25 °C



El *Agar Nutritivo* es un medio base utilizado para el cultivo de microorganismos no exigentes en requerimientos, por lo que el recuento de las placas dará una información sobre la contaminación global de las canales.

- *Aislamiento y recuento de Pseudomonas*

Las placas se inoculan en superficie y se incuban a 30 °C durante 48 horas.

El medio utilizado es *Bacto Pseudomonas Isolation Agar* para aislamiento de *Pseudomonas*, *Difco*<sup>®</sup> (*Detroit, Michigan, USA*), preparado a 45 g/L, con 20 mL de glicerina. Este medio es especialmente útil para el aislamiento de *Pseudomonas* ya que incluye *Irgasan*<sup>®</sup> CH3565, que es un potente compuesto antimicrobiano de amplio espectro, no activo contra *Pseudomonas* (*Furia y Schenkel, 1968*). Además de ser selectivo, está formulado para potenciar la formación del pigmento pircianina azul o azul-verde de *Pseudomonas aeruginosa*.

El medio de cultivo utilizado presenta la siguiente formulación:

Peptona	20.0 g/L
Cloruro Magnésico	1.4 g/L
Sulfato potásico	10.0 g/L
Irgasan®	0.025 g/L
Agar	13.6 g/L
pH	7.0 ± 0.2 a 25 °C

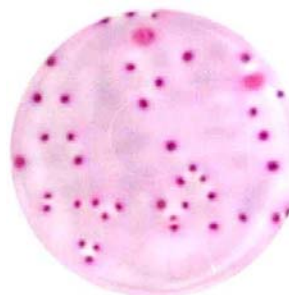


- *Aislamiento y recuento de Enterobacterias*

Se inocula en placa Petri una alícuota de 1 mL de la dilución y se añaden 15 mL del medio de cultivo girando la placa con suavidad. Cuando se ha enfriado, y el medio se ha solidificado, se cubre con 10 mL del mismo medio para asegurar las condiciones anaeróbicas. Se incuban a 37 °C durante 24 horas.

Se utiliza como medio de cultivo *Violet Red Bile Glucose Agar Oxoid®* (Basingstoke, Hampshire, England), preparado a 38.5 g/L. Es un medio selectivo, con glucosa para la detección y recuento de *Enterobacteriaceae* en productos alimentarios, con la siguiente composición:

Extracto de levadura	3.0 g/L
Peptona	7.0 g/L
Cloruro sódico	5.0 g/L
Sales biliares n° 3	1.5 g/L
Glucosa	10.0 g/L
Rojo neutro	0.03 g/L
Cristal violeta	0.002 g/L
Agar	12.0 g/L
pH	7.4 ± 0.2 a 25 °C
No esterilizar en autoclave	



El grupo de Enterobacterias comprende coliformes, salmonelas, shigelas y *Escherichia coli* enterotoxigénico, además de *Klebsiela* y *Citrobacter* que son más resistentes al calor que los coliformes y, por consiguiente, mejores indicadores del mal funcionamiento de los procedimientos de fabricación en los que se utiliza un calentamiento mínimo.

Las condiciones anaerobias de incubación impiden el crecimiento de las bacterias Gram-negativas no fermentadoras y estimulan la fermentación de la glucosa. Esto favorece la formación de colonias púrpura, con lo que se facilita su identificación.

- *Aislamiento y recuento de Staphylococcus aureus*

*Capita et al. (2001)* han comprobado la validez de este método para la determinación de *S. Aureus* en carne de pollo. Las placas se siembran en superficie y se incuban a 35-37 °C durante 48 horas (*Lancette y Tatini, 1992*).

El medio utilizado es *Agar Baird-Parker Scharlau® (Barcelona, España)*, preparado a 63 g/L. Este medio es generalmente utilizado para el aislamiento y recuento de estafilococos coagulasa-positivo (como *S. aureus*) en alimentos. Este medio complejo (*Baird-Parker, 1962*) se introdujo para solucionar el problema de recuperar de los alimentos células de *S. aureus* dañadas. La selectividad del medio se consigue gracias al telurito de potasio y al cloruro de litio que actúan como agentes inhibidores. La emulsión de yema de huevo actúa como sistema indicador. La composición detallada del medio es:

Triptona	10.0 g/L
Polvo Lab-Lemco	5.0 g/L
Extracto de levadura	1.0 g/L
Piruvato sódico	10.0 g/L
Glicina	12.0 g/L
Cloruro de litio	5.0 g/L
Agar	20.0 g/L
pH	6.8 ± 0.2 a 25 °C

Adición de 50 mL de emulsión yema de huevo-telurito *Scharlau® (Barcelona, España)*



## SISTEMA INMUNO-ANALÍTICO MINI VIDAS. DETECCIÓN DE *Listeria monocytogenes*. MÉTODO AUTOMÁTICO DE DETECCIÓN RÁPIDA



Figura 58. Analizador mini-VIDAS

El sistema mini-Vidas bioMérieux s.a. (*Francia*) (Figura 58) lleva a cabo un ensayo inmunológico en fase sólida cuya actividad se mide por una reacción enzimática fluorescente. Es decir, usa el principio de valoración ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Immunoassay) asociado al método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, basado en la detección de

un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que, directa o indirectamente, producen una reacción cuyo producto puede ser medido espectrofotométricamente) con una lectura final en fluorescencia azul.

El método VIDAS *L. monocytogenes* (LMO) está aprobado por la AOAC con el número 2004.02 (AOAC, 2004-2005). Es una técnica cualitativa que permite la determinación específica del antígeno de *L. monocytogenes* en los productos alimentarios y en las muestras de medio ambiente. Esta técnica discrimina *L. monocytogenes* de las especies no patógenas, tales como *L. innocua*, a menudo presente en los productos alimentarios.

### Reactivos método LMO

Los reactivos utilizados para el desarrollo del método son los siguientes:

- *Caldo Fraser* preparado de BioMérieux, SA. (Francia). Se utiliza como enriquecimiento de la muestra previo a su análisis.

Composición	g/litro
Proteosa Peptona	5.0
Peptona de caseína	5.0
Extracto de levadura	5.0
Extracto de carne	5.0
Cloruro sódico	20.0
Hidrógeno fosfato disodio	9.6
Dihidrógeno fosfato de potasio	1.4
Esculin	1.0
Cloruro de litio	3.0
Citrato amónico hierro (III)	0.5
Acriflavina	0.025
Ac. Nalidíxico	0.020

- *Caldo Half-Fraser* preparado de BioMérieux, SA. (Francia)

Composición	g/litro
Proteosa Peptona	5.0
Peptona de caseína	5.0
Extracto de levadura	5.0
Extracto de carne	5.0
Cloruro sódico	20.0
Hidrógeno fosfato disodio	9.6
Dihidrógeno fosfato de potasio	1.4
Esculin	1.0
Cloruro de litio	3.0
Citrato amónico hierro (III)	0.5
Acriflavina	0.0125
Ac. Nalidíxico	0.010

- *Cono test LMO* BioMérieux, SA. (Francia). Cono sensibilizado por anticuerpos anti-*Listeria monocytogenes*. Sirve de fase sólida para la reacción. El cono hace las veces de sistema de pipeteo.
- *Cartucho test LMO* BioMérieux, SA. (Francia). El cartucho está compuesto por 10 pocillos recubiertos de una hoja de aluminio sellada y etiquetada. El primer pocillo incluye una parte precortada para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo permite la lectura por fluorimetría. Los pocillos restantes contienen los diferentes reactivos necesarios para el análisis. La composición detallada del cartucho se recoge en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición del contenido del cartucho del test Vidas LMO

Pocillo	Reactivo
1	Pocillo muestra: para 500 µL de caldo de pre-enriquecimiento
2	Solución prelavado: TBS (Tris-buffer salino) (150 mmol/L) - Tween pH 7.6 + azida sódica 1 g/L (400 µL)
3,4,5,7,8,9	Solución lavado: TBS (Tris-buffer salino) (150 mmol/L) - Tween pH 7.6 + azida sódica 1 g/L (600 µL)
6	Conjugado: Anticuerpos anti- <i>L. monocytogenes</i> marcados con fosfatasa alcalina + azida sódica 1 g/L (400 µL)
10	Cuveta de lectura con sustrato: 4-metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/L) + dietanolamina (0.62 mol/L, es decir 6.6%) pH 9.2 + azida sódica 1 g/L (300 µL)

Los reactivos VIDAS están precalibrados, suministrando las curvas de calibración para cada lote.

## Procedimiento

### *Muestras de producto*

Se pesan 25 g de muestra, se colocan en una bolsa estéril a la que se añaden 225 mL de medio de enriquecimiento (caldo Fraser) y se introducen en el triturador de paletas durante 2 minutos. Estas bolsas se incuban a 30 °C durante 24 horas. Posteriormente, 1 mL de la dilución inicial se añade a un tubo que contiene 10 mL de diluyente (caldo Fraser). Este tubo se incuba a 30 °C otras 24 horas. Por último, se toman 500 µL del tubo y se introducen en el pocillo número 1 del cartucho del test LMO.

### Muestras de superficie

Con un hisopo estéril se toca la superficie que se quiere analizar, y a continuación se le añaden 10 mL de dilución 1:10 de caldo Half-Fraser. Esta dilución con la muestra se incuba a 30°C durante 48 horas. Por último, se toman 500 µL del tubo y se introducen en el pocillo número 1 del cartucho del test LMO.

### Análisis y detección de *L. monocytogenes* en el equipo mini-Vidas®

Se introduce en el equipo un cono del test LMO (fase sólida) por muestra y el correspondiente cartucho con la muestra. A continuación tiene lugar el análisis. La muestra problema, en la que se encuentra el antígeno del microorganismo de interés, se fija en el receptáculo constituido por una fase sólida recubierta de anticuerpos anti-*L. monocytogenes*, al ser reconocido por el primer anticuerpo. A continuación se transfiere automáticamente a los reactivos requeridos (pocillos 2, 3, 4, 5) para su lavado, eliminándose el material no retenido. Posteriormente, se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado con fosfatasa alcalina (pocillo 6), seguido de sucesivos lavados (pocillos 7, 8, 9).

Así pues, cada molécula de antígeno quedará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, al menos, que lo marca. Por último, tiene lugar la etapa de detección (pocillo 10), en la que la enzima conjugada cataliza la hidrólisis del 4-metil-umbeliferil fosfato para obtener un compuesto fluorescente (4-metil-umbeliferona), cuya fluorescencia es medida a 450 nm (Figura 59).

Los análisis serán procesados hasta la impresión de los resultados (positivo, negativo) obtenidos para cada muestra.

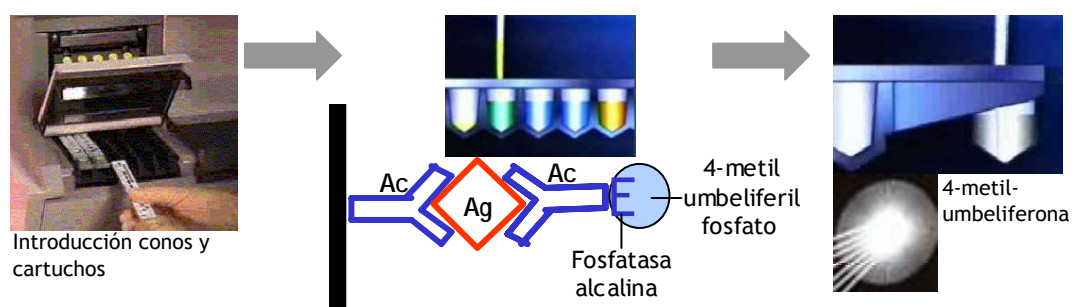


Figura 59. Proceso de análisis en el equipo miniVidas



## DETERMINACIONES FISICOQUÍMICAS

### Temperatura y humedad ambiental

En todos los puntos de muestreo se realizaron medidas de la temperatura y la humedad relativa del ambiente, con un termo-higrómetro HI-93640 de HANNA® instruments (Eibar, España). La temperatura ambiente del túnel de oreo y las cámaras de refrigeración fueron tomadas de los termorregistradores instalados en cada zona por el matadero.

### Temperatura del producto

Para cada muestra se midió la temperatura del producto. Esta medida fue llevada a cabo mediante la utilización de un termómetro con sonda digital ELTH de HANNA® instruments (Eibar, España). En ocasiones también se realizó esta medida a muestras de agua.

### pH del producto

Para cada muestra se determinó el pH del producto con un pH-metro de sonda CRISON® 00-507-05, con electrodo de pH de penetración 52-32, de CRISON® Strumenti (Modena, Italia).

### Peso de la canal

Las canales fueron pesadas en una balanza ubicada en la plataforma de pesaje, a la sala de clasificado.

### Cloro libre residual en agua

Se ha seguido el método para la determinación del cloro activo de las aguas y de los extractos de Javel (*Rodier, 1981*), basado en una volumetría. El yoduro potásico se oxida en medio ácido y el yodo que libera se valora con una disolución de tiosulfato sódico.

Dada la inestabilidad del cloro en el agua, es necesario practicar las medidas sin demora, inmediatamente después de tomar la muestra, evitando la agitación, la luz y la elevación de la temperatura, que provocarían pérdidas.

### Reactivos

- Ácido sulfúrico Panreac® (Barcelona, España)
- Agua destilada
- Disolución de almidón al 1% Panreac® (Barcelona, España)

- Tiosulfato sódico 0.05 M Merck® (Darmstadt, Germany)
- Yoduro potásico Panreac® (Barcelona, España)

### *Procedimiento*

Se toma una muestra de 50 mL de agua. Se añaden 3 mL de ácido sulfúrico al 25%, 0.5 g de yoduro potásico y unas gotas de disolución de almidón. Agitar y valorar el yodo liberado con tiosulfato sódico 0.05 M hasta desaparición de la coloración azul.

### *Cálculos*

Multiplicar la cantidad de tiosulfato que se ha gastado por el factor 35.5. El resultado obtenido será la concentración de cloro, expresado en partes por millón (ppm).

## PARÁMETROS DE MANIPULACIÓN

Mediante la observación de las operaciones, a lo largo de la cadena de producción se midieron diferentes variables de "manipulación" (Tabla 5). Estas variables son diferentes en cada una de las etapas del proceso, por ello se detallan, posteriormente, de manera más específica, para cada uno de los estudios realizados.

Tabla 5. Variables de manipulación medidas en la cadena de producción. Descripción.

Variabes	Descripción	Valores
con pollo español	canal acompañada con pollo español en la cadena de producción	S/N
Descanso	toma de muestra antes o después del descanso de los operarios	a/d
Engolillado	colocación de gomilla que sujeta alas y muslos en el embarquetado	S/N
guantes nuevos	utilización de guantes nuevos para la manipulación de la canal muestreada en el proceso de embarquetado	S/N
volcado en cajón	volcado de canales en cajón de acero inoxidable antes del embarquetado	S/N
nº chorros	número de chorros abiertos en la ducha del lavado de canales	a/b/c
ducha ext. buches	ducha de la máquina extractora de buches abierta o cerrada	S/N
pollo acumulado	pollos acumulados en la cinta de transporte cuando las canales se descuelgan tras la succionadora	S/N
Guantes	uso de guantes por parte de los operarios que cuelgan las canales antes de entrar en la ducha, tras el eviscerado	S/N
Colgado canales	manipulación de la canal muestreada cuando es colgada antes del lavado en ducha: pechuga o espalda	p/e

## MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Para el análisis de los datos obtenidos se han empleado dos paquetes estadísticos: Statistica v.5.5 (Statsoft, 1999) y SPSS v.11.5 (SPSS, 2003).

### Análisis descriptivo y exploratorio

La estadística descriptiva tiene como objetivo la descripción del colectivo estudiado, que puede ser toda la población (censo) o una parte de la misma (muestra). Cuando en una población dada se selecciona adecuadamente un grupo de individuos (muestra), la descripción de éstos es el objetivo de la estadística descriptiva (Martín, 2001). El análisis descriptivo de los datos da una visión general, complementaria a la posterior confirmación mediante el uso de técnicas estadísticas multivariantes.

Los elementos utilizados para el análisis descriptivo de los datos objeto de estudio son *Media aritmética* ( $\bar{X}$ ), *Rango e intervalo*, *Varianza* ( $S^2$ , ó  $\sigma^2$ ), *Desviación tipo (DT)* y *Coefficiente de variación (CV)*; y representaciones gráficas tales como *Diagramas de barras*, *Histogramas* y *Gráficos de caja*.

### Pruebas para funciones de distribución. Tests de normalidad

Una de las distribuciones más importantes dentro de la estadística y más utilizada en la práctica es la *distribución Normal*, que posee las siguientes propiedades (Martín y Luna, 2004): forma de campana (Campana de Gauss), simétrica respecto a la media (que coincide con la moda y la mediana), tiende asintóticamente al eje de abscisas (cualquier valor entre  $-\infty$  y  $+\infty$  es teóricamente posible), y la distancia entre el eje vertical trazado en la media y el punto de inflexión de la curva es la desviación típica.

El teorema central del límite indica que para cualquier distribución de datos con un gran número de muestras, la distribución de las medias estará normalmente distribuida (Pértegas y Pita, 2001; Norman y Streiner, 1996).

Muchos procedimientos estadísticos habitualmente utilizados asumen la normalidad de los datos observados. Así, para aplicar técnicas estadísticas paramétricas, basadas en el cálculo de la media y la desviación típica a un conjunto de datos, debe darse la condición de normalidad en la distribución de los mismos. Por lo tanto, antes de aplicar estas técnicas es importante comprobar la distribución de las variables estudiadas, y en particular de los datos numéricos, para verificar la asunción de normalidad. Esto se realiza mediante la aplicación de un test de normalidad, que comprueba la bondad del

ajuste y la independencia. Algunas de estas pruebas son el test de Kolmogorov-Smirnov y el test de Lilliefors. Adicionalmente, con el mismo fin, se pueden revisar los histogramas de probabilidad (*StatSoft, 2006*):

- *Test de Kolmogorov-Smirnov.*

Es aplicable tanto a casos paramétricos como no paramétricos, que sirve para comprobar si la distribución de la muestra coincide con una distribución de probabilidad teórica dada, en este caso una distribución normal. La hipótesis nula es  $H_0$ : *la muestra proviene de una población cuya distribución es normal*. Se basa en la diferencia máxima o discrepancia entre la distribución muestral y la teórica. Así, se obtiene un estadístico  $D$  que, cuando resulta significativo ( $p < 0.05$ ) indica el rechazo de la hipótesis nula, es decir, la muestra estudiada no cumple la condición de normalidad (*Martín, 2001*).

- *Test de Lilliefors.*

Generalmente, la media y la desviación estándar de la distribución no se conocen a priori, sino que se estiman a partir de los datos de la muestra. En estos casos, el test de normalidad involucra una hipótesis condicional compleja: *“cómo de probable es obtener un estadístico  $D$ , de esa magnitud o mayor a la media y la desviación estándar calculada a partir de los datos”*. El *Test de Lilliefors* es similar al de Kolmogorov-Smirnov (K-S) y se utiliza en los casos descritos para determinar si la diferencia del estadístico de K-S es significativa (*Conover, 1980; Lilliefors, 1967*).

### Contrastes de hipótesis. Casos paramétricos

Un contraste de hipótesis, una prueba de significación, o una prueba estadística son términos que indican el proceso mediante el cual se decide si una hipótesis estadística planteada acerca de la población debe ser aceptada o no (*Martín, 2001*), permitiendo la decisión entre dos hipótesis formuladas previamente (hipótesis nula  $H_0$  y alternativa  $H_1$ ) con un determinado nivel de error (*Lara, 2000*). Para se establece un valor umbral conocido como *nivel de significación* ( $\alpha$ ), que usualmente toma el valor  $\alpha = 0.05$ . Así, en el caso de ser verdadera la  $H_0$ , sólo en un 5% de las veces, o menos, las diferencias observadas serán lo suficientemente grandes como para conducir erróneamente a la conclusión  $H_1$ . A veces, se pueden tomar niveles de significación más exigentes, como puede ser un 1% o  $\alpha = 0.01$ , a fin de tener más confianza en los hallazgos que se alcancen con el nivel de significación elegido. Por tanto, cuando una prueba estadística proporciona el valor  $p$  o de probabilidad de error que

implica aceptar como válido el resultado observado, se procede de la siguiente forma: si  $p > \alpha$  se acepta  $H_0$ ; Si  $p \leq \alpha$  se acepta  $H_1$ .

- *Test de la t de Student*

Para la comparación de medias de dos grupos diferentes de casos u observaciones.

- Grupos independientes. Compara las medias de dos grupos de casos. Para ello, los sujetos deben asignarse aleatoriamente a dos grupos de forma que cualquier diferencia en la respuesta sea debida al tratamiento y no a otros factores.
- Grupos relacionados. Compara las medias de dos variables de un solo grupo. Calcula las diferencias entre los valores de las dos variables de cada caso y contrasta si la media difiere de cero.

#### Modelo Lineal General. Análisis de la Varianza (ANOVA)

ANOVA es el análisis estadístico paramétrico de modelos lineales en los que la variable dependiente (respuesta) es numérica y las variables independientes (factores) son cualitativas. Los factores actúan así como criterios de clasificación de los datos. Los distintos valores que puede tomar un factor se denominan niveles. De este modo se forman grupos que se desean comparar (Martín, 2001).

En general, el propósito del análisis es encontrar diferencias significativas entre los grupos formados, mediante el análisis de las medias de cada uno de los grupos. Es decir, analiza la varianza para establecer la diferencia de las medias (Norman y Streiner, 1996). El ANOVA es un análisis univariante (para una sola variable) y MANOVA es multivariante (tiene en cuenta el efecto de más de una variable dependiente, simultáneamente).

El porcentaje de variabilidad explicada por un efecto nos da una medida adecuada de la influencia de dicho efecto en la respuesta. A este porcentaje se le suele denominar *tamaño del efecto* ( $\eta^2$ ) (Martín, 2001).

Para abarcar situaciones en las que aparecen observaciones repetidas de una variable (bajo diferentes condiciones o a distinto momento en el tiempo: niveles) en un mismo individuo, se utiliza el ANOVA de medidas repetidas. El objetivo principal es establecer si existen diferencias significativas entre los niveles de las observaciones repetidas para la variable dependiente medida. Si

el factor de medida repetida tiene más de dos niveles hay dos alternativas para evaluar la significación del efecto que implica dicho factor: la manera tradicional es llevar a cabo un test univariante, mientras que en los últimos años se está imponiendo el uso de análisis multivariante de la varianza.

Generalmente, tras la obtención de resultados estadísticamente significativos en el ANOVA, se pretende conocer qué media contribuye al efecto, es decir, qué grupos son particularmente diferentes de los demás. Se puede llevar a cabo una serie de tests-*t* simples para comparar todos los posibles pares de medias. Sin embargo, existen técnicas de comparación a posteriori (*Post-hoc*) que tienen en cuenta, específicamente, el hecho de que se puedan tomar más de dos muestras, por lo que se utilizan como tests de hipótesis o métodos exploratorios. En este sentido, el *test de Bonferroni* se puede utilizar para determinar diferencias significativas entre medias de grupos en el análisis de la varianza, cuando se compara un gran número de grupos de medias (*StatSoft, 2002*). Éste test toma un nivel  $\alpha$  más severo. Lo que hace es contar el número de comparaciones (*k*) y dividir 0.05 por *k*.

#### Pruebas no paramétricas

Bajo este nombre se recogen aquellas pruebas que no están sujetas a determinadas condiciones de aplicación, a diferencia de las pruebas paramétricas que sí lo están. La condición principal que marca estas diferencias es que en las pruebas paramétricas se exige la normalidad de las variables (cuantitativas) que aparecen en las muestras.

- *Tests de significación para frecuencias de datos con varias categorías. Tablas de contingencia.*

En la investigación se encuentran con frecuencia datos o variables de tipo cualitativo, mediante las cuales un grupo de individuos se clasifican en dos o más categorías mutuamente excluyentes. Cuando se pretende comparar dos o más grupos de sujetos con respecto a una variable categórica, los resultados se suelen presentar a modo de tablas de doble o tablas de contingencia. Así, la situación más simple de comparación entre dos variables cualitativas es aquella en la que ambas tienen sólo dos posibles opciones de respuesta (variables dicotómicas), lo que supone una tabla 2x2.

- *Test de la Chi-cuadrado ( $\chi^2$ )*. Se utiliza para identificar relaciones de dependencia entre variables cualitativas, determinado si los niveles de

una variable cualitativa influyen en los niveles de la otra variable nominal analizada. Se utiliza cuando las variables en estudio no se ajustan a una distribución normal (Norman y Streiner, 1996; Lara, 2000; Statsoft, 2006). Compara las frecuencias observadas (cada muestra para cada categoría) con las frecuencias predichas bajo la presunción de homogeneidad en la población.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

$O_i$ =frecuencia observada  
 $E_i$ =frecuencia esperada ó predicha

Cuando el valor predicho en alguna celda de la tabla 2x2 es menor de 5, la *Chi-cuadrado* normal presenta problemas de inestabilidad (Norman y Streiner, 1996; Martín, 2001). En aquellos casos en que el valor de la  $\chi^2$  esperada sea menor de 5, se realiza un test exacto de Fisher.

- *Test exacto de Fisher*. Permite analizar si dos variables dicotómicas están asociadas cuando la muestra a estudiar es demasiado pequeña. Se basa en las leyes fundamentales de la probabilidad. Construye tablas 2x2 para los datos reales y todos los casos extremos y calcula la probabilidad asociada a cada una de las tablas mediante el uso del teorema binomial: probabilidad exacta de observar un conjunto concreto de frecuencias (a, b, c y d) en una tabla 2x2 cuando se asume independencia, y los totales de filas y columnas se consideran fijos viene dada por la distribución:

$$p = \frac{(a + b)!(c + d)!(a + c)!(b + d)!}{n! a! b! c! d!}$$

Posteriormente, las probabilidades exactas se suman para obtener el valor p asociado al test exacto de Fisher. Este valor p indicará la probabilidad de obtener una diferencia entre los grupos mayor o igual a la observada, bajo la hipótesis nula de independencia. Si esta probabilidad es pequeña ( $p < 0.05$ ) se deberá rechazar la hipótesis nula y asumir que las dos variables no son independientes, sino que están asociadas. En caso contrario se dirá que no existe evidencia estadística de asociación entre ambas variables.

- *Contrastes no paramétricos para dos o más muestras independientes*
  - *Prueba U de Mann-Whitney.* Alternativa a la prueba paramétrica de la  $t$  de Student para dos muestras independientes. Se agrupan los datos de las dos muestras y se ordenan de menor a mayor, asignando a cada dato su rango, para luego comparar la suma de los rangos de cada muestra. La hipótesis nula es  $H_0$ : No hay diferencias entre ambas muestras
  - *Prueba de Kruskal-Wallis.* Alternativa al análisis de la varianza para más de un grupo de muestras independientes. Consiste en agrupar los datos en un solo grupo, ordenarlos de modo creciente y comparar las sumas de los rangos de los sujetos correspondientes a cada grupo. La hipótesis a contrastar es  $H_0$ : las muestras tienen la misma distribución.
  
- *Contrastes no paramétricos para dos o más muestras dependientes*
  - *Prueba de Wilcoxon.* Alternativa a la prueba paramétrica de la  $t$  de Student para dos muestras relacionadas. Calcula las diferencias entre los datos de ambas muestras, las ordena en sentido creciente de su valor absoluto, calcula su rango y le asigna a cada uno el signo de la correspondiente diferencia. Posteriormente, compara la suma de los rangos de las diferencias positivas y la de los rangos de las diferencias negativas. Si ambas son iguales se acepta la hipótesis nula  $H_0$ : No hay diferencias significativas entre ambas muestras.
  - *Prueba de Friedman.* Alternativa al análisis de la varianza para más de un grupo de muestras relacionadas. Se basa en el cálculo y la comparación de la suma de los rangos de los datos dentro de cada uno de los grupos. Si las sumas son iguales se acepta la hipótesis nula  $H_0$ : No existen diferencias entre ambas muestras.

#### Técnicas de clasificación

El Análisis por Funciones Discriminantes (DA) tiene como objetivo determinar hasta qué punto es posible separar dos o más grupos de muestras previamente establecidos, y qué variables son las que mejor discriminan entre ellos (*Tabachnick y Fidel, 1983; Johnson, 2000*).



Para la ejecución del DA es necesario una variables cualitativa (variable dependiente) y un conjunto de variables cuantitativas y/o cualitativas dicotómicas (variables independientes). Su objetivo es estimar mediante funciones lineales, *funciones discriminantes*, de las variables independientes, la probabilidad de que cada uno de los individuos pertenezca a cada uno de los grupos ya definidos por las categorías de la variable dependiente. Esta clasificación se hará mediante unos criterios o propiedades comunes de los individuos dados por las variables independientes.

La función discriminante representa la mejor separación estadística entre los puntos, es decir, la máxima cantidad de varianza residual.

El método más común dentro del es el procedimiento iterativo: las variables son añadidas ("hacia delante", *forward*) o eliminadas ("hacia atrás", *backward*) de las funciones discriminantes una a una, realizando un estudio de discriminación después de cada paso (SDA). En el caso del método *forward*, cada inclusión viene determinada por el valor del estadístico  $F$ , que indica, para cada variable, su significación en la discriminación entre los grupos, de tal manera que se incluyen las variables que poseen un valor  $F$  superior al establecido en el análisis. De esta forma, el proceso concluye cuando no se da una discriminación significativamente mejor que la anterior.

En resumen, a partir de las variables originales, se establecen funciones que discriminan entre grupos previamente establecidos. Posteriormente, estas funciones pueden ser utilizadas en la clasificación de muestras de origen desconocido asumiendo el error correspondiente, que viene expresado por los propios porcentajes de clasificación correcta, o porcentajes de acierto, de las muestras utilizadas inicialmente en la obtención de las ecuaciones.

La *correlación canónica* es el valor atribuido a cada una de las funciones discriminantes extraídas. Ésta mide las desviaciones de las puntuaciones discriminantes entre grupos respecto a las desviaciones totales sin distinguir grupos. Si su valor es grande, próximo a 1, la dispersión será debida a la diferencia entre grupos y, por tanto, la función discriminará mucho (*Martín, 2001*).

### Técnicas de regresión

La regresión es un análisis estadístico que se utiliza cuando el objetivo es predecir o explicar el valor de una variable a partir de los valores de otras.

- La *Regresión Múltiple* permite valorar la relación (de forma predictiva) entre una variable dependiente y otras variables independientes, que pueden estar o no correlacionadas. El propósito general de la regresión múltiple es estudiar la dependencia de una variable criterio o respuesta cuantitativa respecto a un conjunto de otras variables predictoras o explicativas, valoradas también cuantitativamente. Permite la predicción de valores para la variable dependiente en cada muestra, a partir de la combinación lineal de variables seleccionadas. El objetivo es encontrar los coeficientes de esta combinación que minimizan la suma de cuadrados residuales entre el valor predicho y el observado. El resultado de la aplicación de estas técnicas es una ecuación que representa la mejor recta de ajuste (la máxima correlación posible) entre las variables estudiadas, de la siguiente forma general:

$$Y = B_1V_1 + B_2V_2 + \dots + B_nV_n +$$

donde:

- Y = valor predictivo de la variable dependiente
- B = coeficientes de regresión de cada una de las variables independientes
- V = variables independientes
- = constante que representa la predicción cuando las variables independientes son cero

Se trata de encontrar unos coeficientes de regresión que den un valor de la predicción lo más parecido al valor obtenido en las medidas. Los coeficientes computados tienen como meta minimizar la suma de las desviaciones entre los valores predictivos y los medidos, dicho de otra forma, optimizar la correlación entre la predicción y lo obtenido. Los coeficientes (B) representan individualmente el “peso” (correlación) de cada variable independiente con respecto a la variable dependiente, es decir, la importancia de cada variable independiente sobre la variable dependiente. Cuanto mayor es el valor absoluto del coeficiente que multiplica a cada variable, más importancia tendrá ésta y viceversa.

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es el coeficiente de correlación lineal entre la variable Y y la variable " $B_1V_1 + B_2V_2 + \dots + B_nV_n + \mu$ ". Expresa la parte proporcional de la variancia de la variable dependiente producida por todas las variables independientes individualizadas. Este coeficiente toma valores siempre positivos en el intervalo [0,1]. La raíz cuadrada de esta cantidad es el coeficiente de correlación múltiple (R). Éste es un número comprendido entre -1 y +1, cuyo signo coincide con la pendiente de la recta de regresión y cuya magnitud está relacionada con el grado de dependencia lineal entre dos variables.

*Ecuación con las variables estandarizadas:* Para comparar e interpretar los valores de los coeficientes (B) (llamados  $\beta$  en la ecuación estandarizada) se estandarizan las variables de la ecuación anterior, de forma que oscilan o se agrupan los coeficientes de la misma forma que con la ecuación sin estandarizar pero dentro de niveles ajustados a una distribución de los datos de tal manera que la media sea cero y la desviación estándar sea uno, es decir, se minimizan los valores para hacer una comparación más exacta de éstos.

- *Regresión logística.* Utilizado cuando la variable dependiente presenta una dicotomía y las variables independientes son habitualmente continuas (aunque pueden no serlo). Se trata de un modelo de regresión adaptado a las variables respuesta de tipo binario (ej.:  $Y=1$ ="presencia",  $Y=0$ ="ausencia"). El modelo logístico lo que expresa es la probabilidad  $p(1)$  de que Y sea igual a 1 ("presencia") en términos de una función, la función logística (L), combinación lineal de las variables explicativas o independientes (Martín, 2001; Norman y Streiner, 1996).

$$p = f(Y = 1)$$

$$L = \ln \frac{p(1)}{1 - p(1)} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_n x_n$$

$$p(1) = \frac{1}{1 + e^{(-L)}} = \frac{1}{1 + e^{-\beta_0 - \beta_1 x_1 - \dots - \beta_n x_n}}$$

L puede teóricamente asumir valores entre más/menos infinito. Sin embargo en el modelo de regresión logística los valores predichos de la variable dependiente nunca serán menores que 0 o mayores que 1 gracias a la transformación logística p.

Se estiman las probabilidades de las distintas categorías (1,0). La probabilidad de presencia para un valor dado de L será:

$$\text{- Si } L=0 \quad p = \frac{1}{1 + e^0} = 0.5$$

$$\text{- Si } L \text{ tiende a } +\infty \quad p = \frac{1}{1 + e^{-\infty}} = 1$$

$$\text{- Si } L \text{ tiende a } -\infty \quad p = \frac{1}{1 + e^{\infty}} = 0$$

Así se describe una curva suave que se aproxima a 0 para valores negativos de L, grandes en valor absoluto y se aproxima a 1 cuando L es muy grande y se aproxima a 1 (Norman y Streiner, 1996).

La regresión logística permite realizar una selección de las variables explicativas y muestra una tabla de clasificación, en la que cada paso es clasificado como 1=presencia ó como 0=ausencia según que la probabilidad asignada por el modelo sea mayor ó menor que la fijada como "punto de corte para la clasificación", que suele ser 0.5. Esta clasificación realizada con el modelo ajustado se compara con los datos reales y así se obtiene una medida adicional de la bondad del ajuste logístico.

#### *Nota*

Para llevar a cabo algunos análisis estadísticos es necesaria la distribución normal de los datos. Por ello, para aproximar los datos a una distribución normal, se va a trabajar con las variables microbiológicas transformadas tomando el logaritmo decimal de los datos originales. Antes de calcular el logaritmo decimal, se sumó 1 a los datos originales para evitar recuentos de valor 0 cuyo logaritmo decimal es indeterminado (Norman y Streiner, 1996).

Cuando las variables microbiológicas son el incremento del recuento final menos el inicial, la transformación logarítmica se realizó tomando los valores absolutos de los incrementos y poniéndoles a continuación los signos (+) o (-) como mera indicación del sentido del incremento.

## PRODUCCIÓN DE CARNE FRESCA DE AVE. ESTUDIO DESCRIPTIVO

La elaboración de carne fresca de ave consiste en una sucesión de operaciones que van desde la recepción de los animales vivos hasta la expedición de los productos obtenidos. Esta secuencia se puede considerar dividida en dos grandes bloques o fases. Una primera fase que va desde la recepción de los animales hasta la ducha con agua a presión, y una segunda fase que continúa hasta la cámara de conservación de canales. A partir de este punto, el producto puede considerarse finalizado y dirigirse a los puntos de venta, o continuar su procesado en la industria, pasando a las operaciones de despiece y envasado.

Hay que tener en cuenta que la carne de ave es un producto que, incluso en condiciones higiénicas óptimas, posee un cierto nivel de carga microbiana superficial. En este sentido existen una serie de grupos microbianos, tales como los Aerobios mesófilos, los microorganismos psicrótrofos y la mayor parte de las enterobacterias, cuya evaluación en la superficie del producto puede indicar la calidad microbiológica, el grado de higiene de los procesos de obtención y posterior manipulación de las mismas o el correcto mantenimiento de la cadena de frío (*ICMSF, 1980; Tompkin, 1983; Nortje et al., 1990; Russell, 1996; Capita et al., 1999*).

Antes de abordar los diferentes estudios más específicos sobre etapas del proceso, se ha realizado una evaluación global de la cadena de producción con el fin de conocer las condiciones microbiológicas y físico-químicas generales en las que se encuentran tanto el producto como el proceso a lo largo de las diferentes etapas, desde el escaldado hasta que el alimento se encuentra listo para su comercialización. El objetivo del estudio ha sido determinar las variaciones en la contaminación sobre la piel de las aves, tanto cualitativa como cuantitativamente, desde que éstas son sacrificadas hasta el final de la cadena. Estas variaciones pueden ser debidas tanto al propio proceso de elaboración como al sistema y condiciones de conservación.

## EVOLUCIÓN DE LA CARGA MICROBIANA EN LA SUPERFICIE DE CANALES ENTERAS

El estudio se llevó a cabo sobre un total de 838 muestras de canales de ave. Para ello se tomaron muestras de piel de la pechuga de las canales enteras en diferentes puntos de la cadena de producción (Figura 60).

- [S]: a la salida del escaldado.
- [P]: tras la peladora.
- [G]: tras el colgado que tiene lugar inmediatamente después del eviscerado de la línea europea.
- [L]: tras el lavado en ducha con agua a presión.
- [T]: a la salida del túnel de oreo.
- [C]: tras el clasificado y colocación en cajas.
- [E]: tras el embarquetado.

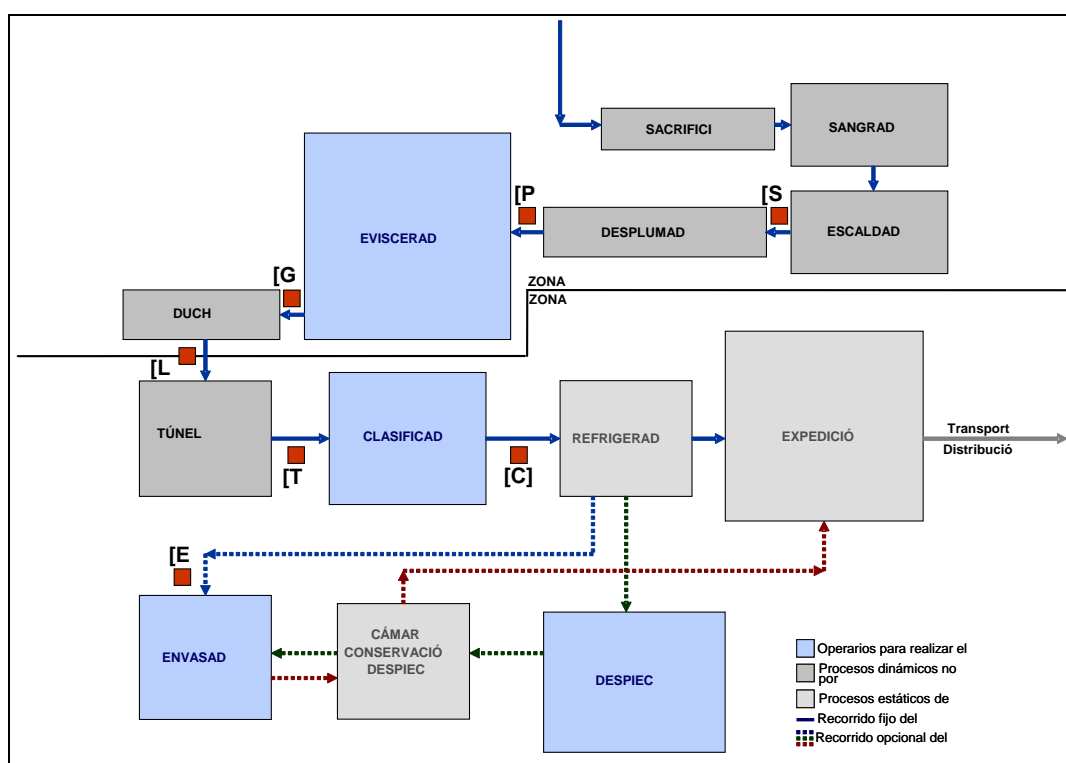


Figura 60. Puntos de muestreo de la cadena de producción del matadero de Sevilla

Las determinaciones microbiológicas llevadas a cabo sobre las muestras fueron Aerobios mesófilos (Am), *Pseudomonas* (Ps), *Enterobacteriaceae* (Eb) y *Staphylococcus aureus* (St).

Los valores medios de la contaminación, los intervalos y los coeficientes de variación en los puntos estudiados se encuentran recogidos en la Tabla 6. Para aplicar la estadística descriptiva, se ha tomado el logaritmo decimal de la media, ya que ésta no necesita la normalización de los datos.

En las Figuras 61 a 64 se pueden observar las variaciones de los recuentos microbiológicos para cada punto y cada microorganismo controlado en el estudio.

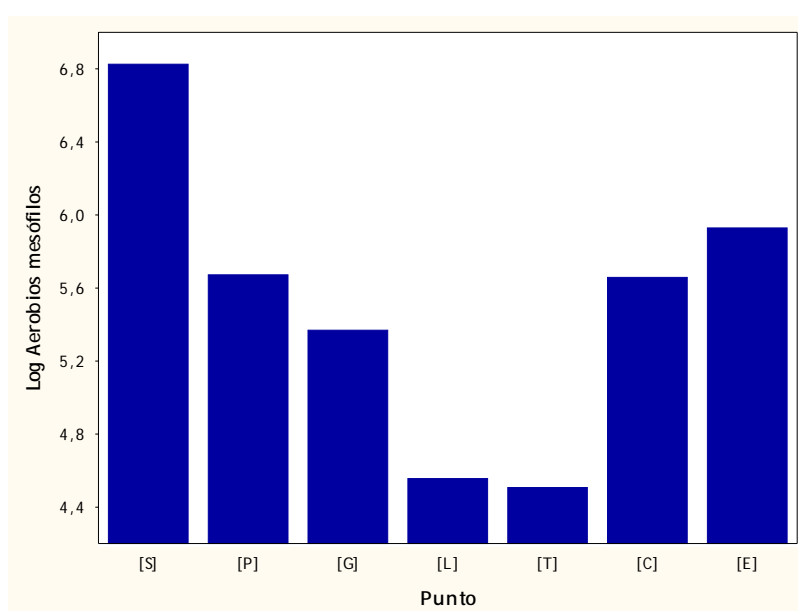


Figura 61. Diagramas de barras para Aerobios mesófilos en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

La determinación de **Aerobios mesófilos** (Am) refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma en que fueron manipulados durante su elaboración.

Tabla 6. Valores estadísticos de las variables microbiológicas Aerobios mesófilos (Am), *Pseudomonas* (Ps), *Enterobacteriaceae* (Eb) y *Staphylococcus aureus* (St) en cada uno de los puntos estudiados de la cadena de producción.

Punto	Variable	N	Media (ufc/g)	Log <sub>10</sub> Media	Intervalo	C.V.
[S]	Am	70	6713000.00	6.83	0.00 - 7.74	151.39
	Ps	70	1776.07	3.25	0.00 - 4.40	252.99
	Eb	70	39155.00	4.59	0.00 - 5.70	197.14
	St	70	97795.36	4.99	0.00 - 5.98	193.67
[P]	Am	140	469689.29	5.67	3.57 - 7.57	666.57
	Ps	140	5260.00	3.72	0.00 - 5.48	522.44
	Eb	140	24173.93	4.38	1.40 - 6.04	419.70
	St	140	6680.71	3.83	0.00 - 5.59	498.07
[G]	Am	140	233823.21	5.37	3.54 - 6.44	146.80
	Ps	140	6314.29	3.80	0.00 - 5.26	314.64
	Eb	140	14386.43	4.16	1.40 - 5.12	123.28
	St	140	3964.64	3.60	0.00 - 4.82	191.35
[L]	Am	140	35953.57	4.56	0.00 - 5.73	153.67
	Ps	140	1598.75	3.20	0.00 - 4.35	220.47
	Eb	140	1831.79	3.26	0.00 - 4.49	209.24
	St	140	3487.86	3.54	0.00 - 5.32	522.05
[T]	Am	138	32164.86	4.51	3.30 - 5.56	143.96
	Ps	138	867.03	2.94	0.00 - 4.02	166.49
	Eb	138	1517.03	3.18	0.00 - 4.04	139.29
	St	138	2494.20	3.40	0.00 - 4.95	350.06
[C]	Am	140	455573.21	5.66	3.48 - 7.73	1003.61
	Ps	140	8180.71	3.91	0.00 - 5.80	673.40
	Eb	140	3170.71	3.50	1.40 - 4.90	235.84
	St	140	1886.43	3.28	0.00 - 4.52	248.27
[E]	Am	70	848889.29	5.93	3.97 - 7.72	743.04
	Ps	70	2003.21	3.30	1.40 - 4.01	120.51
	Eb	70	2921.43	3.47	2.24 - 4.28	114.43
	St	70	1593.93	3.20	0.00 - 4.43	243.16

Log<sub>10</sub> Media: log<sub>10</sub> de la media de los recuentos brutos

Intervalo: log<sub>10</sub> del valor mínimo - log<sub>10</sub> del valor máximo

C.V.: coeficiente de variación



En las muestras analizadas se encontraron altos niveles de contaminación para esta variable tras el escaldado ([S]). Las canales llegan al escaldado con niveles bastante altos de contaminación procedentes de la piel, patas, plumas y contenido intestinal, cediendo los microorganismos al agua de escaldado cuando son sumergidos. Muchos de estos microorganismos no son capaces de resistir las temperaturas de escaldado y se inactivan. Por lo tanto, la temperatura del tanque es un factor determinante en la supervivencia de los microorganismos, aunque en menor medida para el caso de los microorganismos mesófilos (*Vaquerizo-Florez, 1991, Capita et al., 1999*). En este mismo sentido, la ICMSF (1998) recoge el efecto de dos condiciones de escaldado, a 60 °C durante 115 segundos, y a 53 °C durante 128 segundos; ambos dan lugar a una disminución de los recuentos por Aerobios mesófilos, siendo más acusada a las temperaturas de escaldado más elevadas. Teniendo en cuenta estos datos, y dados los altos niveles de contaminación encontrados en las canales tras el escaldado, se puede deducir que la contaminación por Am tras el escaldado no se produce durante esta etapa, sino que procede de las etapas anteriores, ya que el estado higiénico sanitario del pollo en el escaldado es prácticamente el mismo que a la llegada al matadero, es decir, aún con plumas y con la suciedad exterior que portan los animales vivos.

En el resto de los puntos estudiados los valores de recuento microbiológico obtenidos fueron siempre más bajos, lo que indica que, en los casos analizados, las operaciones de limpieza de las canales en la cadena de producción eran efectivas para la reducción de la carga microbiana inicial.

A la salida de la peladora ([P]), las canales muestran una disminución importante de la contaminación, lo que, sin duda, es debido a que en esta operación se retiran las plumas (con alta carga microbiana en los animales vivos). Por otro lado, esta reducción de la contaminación se explica por el duchado de canales que se efectúa justo a la salida de la máquina desplumadora que, además de limpiar la superficie de las mismas de restos de plumas, heces y tierra, produce una disminución de la temperatura.

A continuación, en las muestras tomadas tras la fase de colgado manual ([G]), al final del proceso de evisceración, los niveles bacterianos se mantienen con valores similares a los que presentan las canales a la salida de la desplumadora. Esto pone de manifiesto que, a pesar de que el proceso de eviscerado es un conjunto de operaciones con alto riesgo de contaminación (al ser manipuladas las vísceras, donde se encuentran gran número de microorganismos), las operaciones se realizan en condiciones higiénicas adecuadas y ajuste óptimo de

la maquinaria empleada.

Al finalizar el eviscerado se encuentra la etapa de lavado en la ducha ([L]). En esta fase se produce una gran disminución de los recuentos microbiológicos debido, principalmente, al lavado con agua a presión, que produce un arrastre de la suciedad superficial de la canal. A partir de este punto, todas las etapas se realizan a bajas temperaturas.

La primera de estas etapas es el refrigerado ([T]) en túnel de oreo. En esta etapa la contaminación por Am se mantienen en niveles bajos debido al efecto de las bajas temperaturas.

A la salida del túnel se clasifican las canales ([C]) en función del peso y el tamaño. Tras esta operación se produce un nuevo aumento de la contaminación en el producto, lo que puede explicarse por el efecto de la manipulación que tiene lugar por parte de los operarios, así como a la contaminación cruzada que se puede producir en los cajones de clasificado y en las cajas donde se colocan finalmente las canales. En el embarquetado ([E]) se mantienen más o menos constantes los niveles de microorganismos procedentes del clasificado, con ligeros aumentos que pueden ser debidos a la manipulación propia de esta etapa.

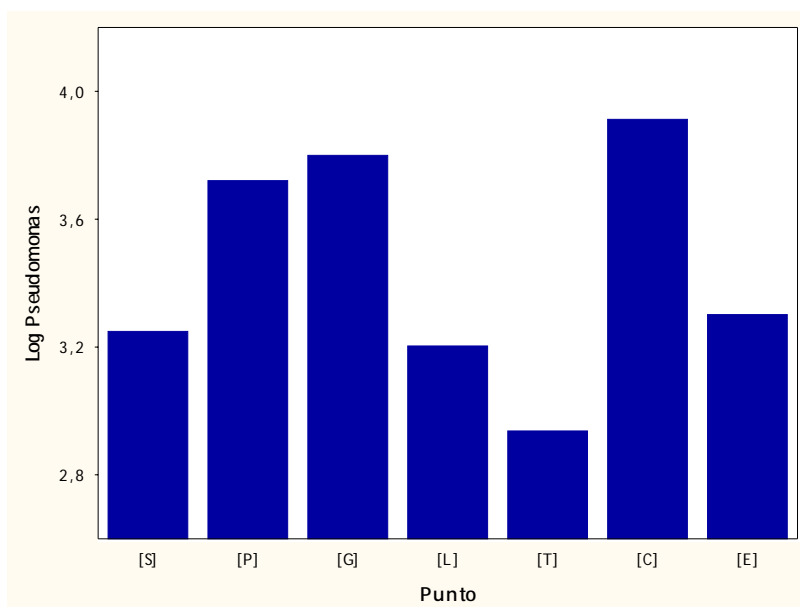


Figura 62. Diagramas de barras para *Pseudomonas* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

Las *Pseudomonas* (Ps) son microorganismos psicrotóxicos que se pueden multiplicar a temperaturas propias de refrigeración (0-6 °C), aunque su temperatura óptima de crecimiento se estima entre 20-35 °C. Estos microorganismos están implicados en la alteración superficial de la carne de pollo refrigerada, de ahí la importancia de su determinación en este tipo de alimento.

En la etapa de escaldado ([S]) se observó (Figura 62) que *Pseudomonas* presentaba uno de los recuentos más bajos de todos los puntos estudiados. Durante el escaldado, las aves son sumergidas durante 2.5 a 3 minutos en un tanque de agua caliente (50-53 °C), temperatura bastante superior a la máxima de crecimiento de Ps. Esto produce la inactivación de estas bacterias termosensibles. Por otro lado, en estudios previos realizados por *González-Miret (2003)*, se ha puesto de manifiesto que Ps no procedía de animales vivos, ya que tras la etapa del sangrado los niveles de este microorganismo eran muy bajos (incluso ausencia en la mayoría de los casos). Por lo tanto, la presencia de Ps en la superficie de las canales es la consecuencia de contaminaciones posteriores al escaldado, durante el almacenamiento y manipulación (*Capita et al., 1999*).

A la salida de la peladora ([P]) se produce un aumento de la contaminación por este microorganismo, lo que puede ser debido a la disminución de la temperatura y a la contaminación cruzada que se da en esta etapa. Además, el agua de ducha (situada a la salida de la peladora) pueden aportar a las canales muchos microorganismos psicrótofos, especialmente *Pseudomonas ssp.* (*Capita et al., 1999*).

Tras el eviscerado ([G]) se encuentra un ligero aumento de los niveles de contaminación por Ps, aunque tras la ducha ([L]) estos niveles disminuyen bastante ya que durante esta operación la capa del líquido superficial más contaminado de las canales es sustituida por una capa de agua limpia.

Durante la etapa de enfriamiento en túnel de oreo ([T]) los niveles de contaminación se mantienen similares a los obtenidos tras la ducha o con ligeros descensos. A pesar de tratarse de una etapa, a priori, favorecedora para el desarrollo de microorganismos psicrotóxicos como es el caso de Ps, no se produce tal crecimiento, lo que se podría explicar por que a tales temperaturas el tiempo de generación de Ps es mayor que el tiempo que dura la etapa del túnel. Además, en el túnel de oreo el enfriado se realiza mediante corrientes de aire frío, el cual tiende a secar la piel de las canales, retardando con ello el crecimiento de la flora psicrótofa (*Pascual, 2000*).

Tras esta etapa de refrigerado, tienen lugar las operaciones de clasificado y embarquetado ([C] y [E]) en las que se produce un aumento de los niveles de contaminación. La explicación de este incremento puede deberse a un efecto conjunto de las bajas temperaturas a las que se encuentran estas salas, favorecedoras del desarrollo de microbiota psicrófila, junto con una manipulación y contaminaciones cruzadas más extendidas en el tiempo, ya que la duración de estas etapas es mayor.

La mayor parte de las *Enterobacteriaceae* (Eb) presentes en la superficie de las canales proceden de contaminación de origen fecal, procedente bien de las aves vivas (suciedad en las plumas) o bien del procesado por rotura del paquete intestinal y contaminación superficial. Así, su presencia en niveles elevados puede indicar una manipulación poco higiénica y/o un almacenamiento inadecuado (Capita et al., 1999). Mossel et al. (1963) ya hablaban de la estrecha correlación entre los recuentos totales de Eb y el grado de contaminación fecal, por lo que se suele usar como índice de contaminación fecal (Pascual, 2000).

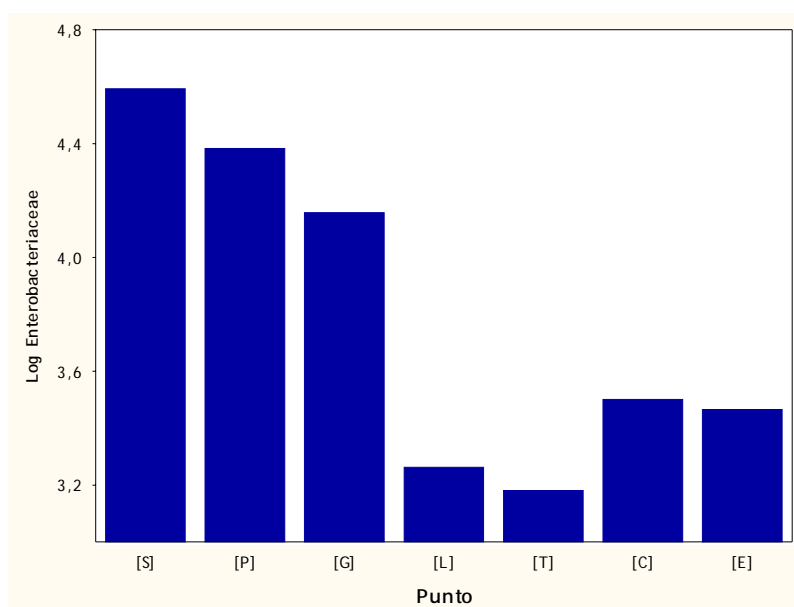


Figura 63. Diagramas de barras para *Enterobacteriaceae* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

En la Figura 63 se observa que los mayores niveles de contaminación se dan tras el escaldado ([S]) ya que, cuando llegan las canales a esta operación del matadero, han pasado ya por una serie de etapas que favorecen la aparición de

Eb, como son el transporte de pollo vivo (que puede producir procesos diarreicos debidos al estrés), el aturdimiento eléctrico (que da lugar a la relajación de los esfínteres), y el desangrado, en el que la hoja de la cuchilla puede diseminar las bacterias de unos animales a otros.

Como en el caso de Am, tras el desplumado ([P]) se produce una disminución de los niveles de contaminación, posiblemente debido a la desaparición de las plumas y la posterior ducha con agua limpia a la salida de la desplumadora.

Después del proceso de eviscerado ([G]) vuelve a producirse una disminución de la contaminación, poniéndose de manifiesto que las operaciones llevadas a cabo durante el eviscerado se realizan en condiciones higiénicas adecuadas. Seguidamente tiene lugar el lavado con agua a presión ([L]), que supone un paso muy importante para la limpieza de la canal produciéndose, por tanto, una disminución drástica de los recuentos de Eb.

El efecto del refrigerado en túnel de oreo ([T]) disminuye de nuevo los niveles de contaminación con respecto a los que se presentan a la salida de la ducha, demostrándose el efecto de las bajas temperaturas sobre Eb. Sin embargo, y debido a los procesos de manipulación que en ellas tienen lugar, en las etapas posteriores ([C] y [E]) se produce un incremento de la contaminación por este microorganismo.

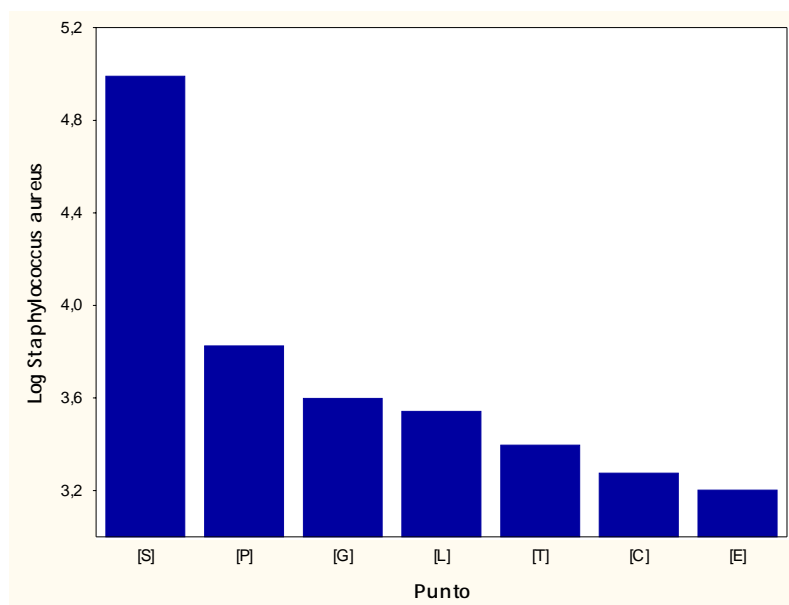


Figura 64. Diagramas de barras para *Staphylococcus aureus* en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

*Staphylococcus* (St), es generalmente considerado como un índice de manipulación de los alimentos. En la Figura 64 se observa, en general, que la mayor contaminación se obtuvo a la salida del tanque de escaldado ([S]), lo que puede ser debido a que los estafilococos se introducen en el matadero a través de las aves vivas, que portan este germen en sus plumas, patas, fosas nasales, etc. En las operaciones realizadas posteriormente, los niveles de contaminación fueron disminuyendo progresivamente, apreciándose un descenso más acusado tras la peladora ([P]), debido, posiblemente, a la eliminación de las plumas y a la ducha efectuada al final de esta etapa.

Con los resultados de esta evaluación global se pueden destacar las siguientes consideraciones generales. En primer lugar, tras el escaldado se dan los niveles más altos de contaminación para todos los microorganismos estudiados, excepto para *Pseudomonas*. Este alto nivel de contaminación en el punto [S] constata el hecho de los animales vivos como principal origen de los microorganismos en las canales, y la importancia del control desde el principio de la producción de carne fresca de ave. Por otro lado, también se observa que la ducha con agua a presión efectuada tras el eviscerado ejerce un importante efecto descontaminante para todos los microorganismos estudiados. Se destaca que, entre todos los puntos estudiados, es la etapa de envasado ([E]), la que presenta menor variabilidad de resultados para los microorganismos Ps y Eb, y la etapa de desplumado ([P]) que presenta la mayor variabilidad para Eb y St. En el caso de Am y Ps, la etapa presenta mayor variabilidad es el clasificado ([C]).

## EVOLUCIÓN DE LA CARGA MICROBIANA EN PRODUCTOS DE DESPIECE

En la planta de procesado, además de canales enteras, se elaboran productos de despiece, obtenidos de las diferentes divisiones que se pueden realizar sobre las canales en las salas específicas destinadas para ello. Así, además, en el estudio global de la evolución de la contaminación a lo largo de la producción se incluyen las etapas de despiece y embarquetado de estos productos. Los puntos de muestreo seleccionados para el estudio de esta segunda parte de la industria fueron:

- [C]: canales a la llegada a la cámara de conservación
- [D]: productos tras el despiece
- [B]<sub>24</sub>: productos conservados 24h en cámara de despiece
- [B]<sub>48</sub>: productos conservados 48h en cámara de despiece

El producto seleccionado para describir la evolución de la carga microbiana durante el despiece fue el filete de pechuga (producto sin piel) en los puntos [D] y [B], con el fin de que existiera una continuidad con las muestras de piel de pechuga descritas en los procesos previos al despiece (punto [C]).

Las determinaciones microbiológicas fueron Aerobios mesófilos (Am), *Pseudomonas* (Ps) y *Enterobacteriaceae* (Eb).

En la Tabla 7 se recogen los valores estadísticos básicos de cada variable microbiológica en los diferentes puntos de muestreo seleccionados.

Este estudio se realizó sobre un total de 242 muestras. Al igual que en el caso de canales enteras, el planteamiento general se basa en el análisis descriptivo de los datos, considerando independientemente cada tipo de muestra.

Tabla 7. Valores estadísticos de las variables microbiológicas Aerobios mesófilos (Am), *Pseudomonas* (Ps) y *Enterobacteriaceae* (Eb) en cada uno de los puntos estudiados del proceso de despiece y conservación en cámara.

Punto	Variable	N	Media (ufc/g)	Log <sub>10</sub> Media	Intervalo	C.V.
[C]	Am	140	455573.21	5.66	3.48 - 7.73	1003.61
	Ps	140	8180.71	3.91	0.00 - 5.80	673.40
	Eb	140	3170.71	3.50	1.40 - 4.90	235.84
[D]	Am	41	13171.95	4.12	0.00 - 5.40	341.60
	Ps	41	357.93	2.55	0.00 - 3.62	273.13
	Eb	41	433.54	2.64	0.00 - 3.67	197.79
[B] <sub>24</sub>	Am	41	12031.10	4.08	0.00 - 5.39	371.09
	Ps	41	2313.41	3.36	0.00 - 4.54	262.61
	Eb	41	660.85	2.82	0.00 - 3.80	177.07
[B] <sub>48</sub>	Am	20	3638.75	3.56	1.40 - 4.27	132.13
	Ps	20	1873.75	3.27	0.00 - 4.34	259.84
	Eb	20	415.13	2.61	0.00 - 3.41	160.60

Log<sub>10</sub> Media: log<sub>10</sub> de la media de los recuentos brutos (ufc/g)

Intervalo: log<sub>10</sub> del valor mínimo - log<sub>10</sub> del valor máximo

C.V.: coeficiente de variación

La contaminación microbiana por **Aerobios mesófilos** (Figura 65) disminuye a lo largo del proceso. Inicialmente, en [C] los recuentos son más elevados con respecto a los dos puntos siguientes debido, precisamente, a que las muestras estaban formadas por piel de pechuga, manipulada en los procesos previos de eviscerado y clasificado. Tras el proceso de despiece [D], se produce la eliminación de la piel (principal portadora de la contaminación) y la obtención de la carne de pechuga. Por tanto, la contaminación en el punto [D] es debida principalmente a la manipulación recibida durante el despiece, ya que en el producto de partida, cubierto de piel, se trataba de carne prácticamente estéril. A continuación, tras la conservación en la cámara de despiece [B], se vuelve a producir un descenso de la contaminación por Am en la carne de pechuga, principalmente tras 48h, poniéndose de manifiesto el efecto que las bajas temperaturas producen sobre este microorganismo.



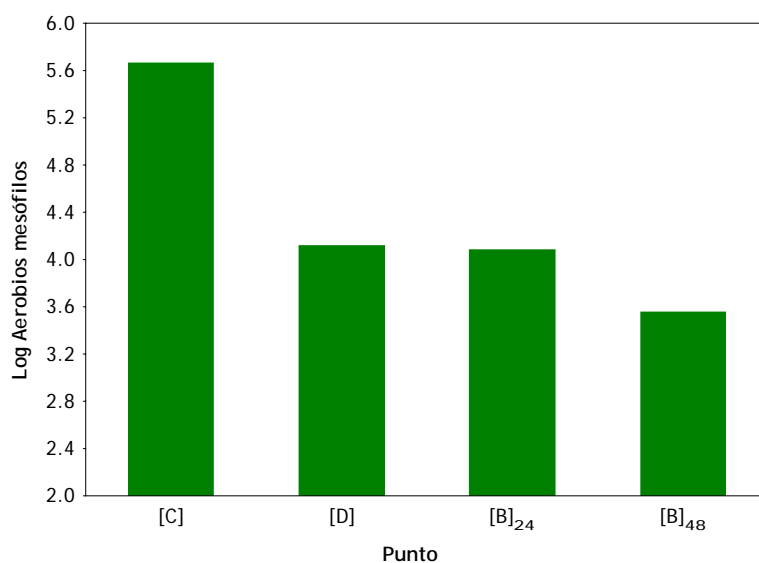


Figura 65. Diagramas de barras para Aerobios mesófilos en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.

*Pseudomonas* (Figura 66) se comporta igual que Am en los dos primeros puntos muestreados, es decir desciende entre el punto [C] (piel) y el punto [D] (carne). Sin embargo, la conservación en cámara de despiece produce un aumento de la contaminación por Ps durante las primeras 24 horas y se mantiene tras 48 horas. Las temperaturas de refrigeración no frenan el crecimiento de este microorganismo debido a su naturaleza psicrotrofica y, por tanto, la conservación en cámara es un proceso favorecedor para su desarrollo.

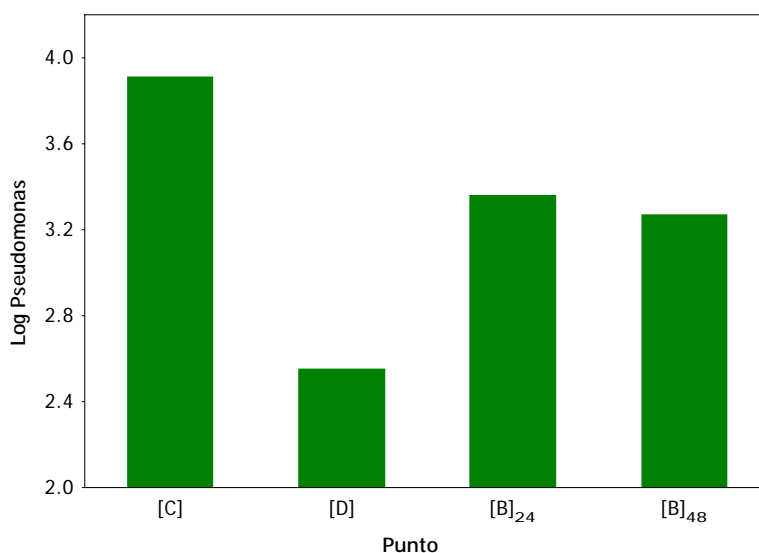


Figura 66. Diagramas de barras para *Pseudomonas* en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.

También se observa (Figura 67) que existe un descenso de la contaminación por *Enterobacteriaceae* en el inicio del proceso ([C]/[D]). Tras el despiece, las pechugas se conservan en la cámara de refrigeración [B], cuya temperatura logra frenar el crecimiento de Eb en las muestras. Es decir, en este caso no produce ni un descenso (como ocurría con Am) ni un aumento (producido sobre Ps), sino una estabilización de la contaminación. La cámara de refrigerado en este caso logra su objetivo de conservar el producto.

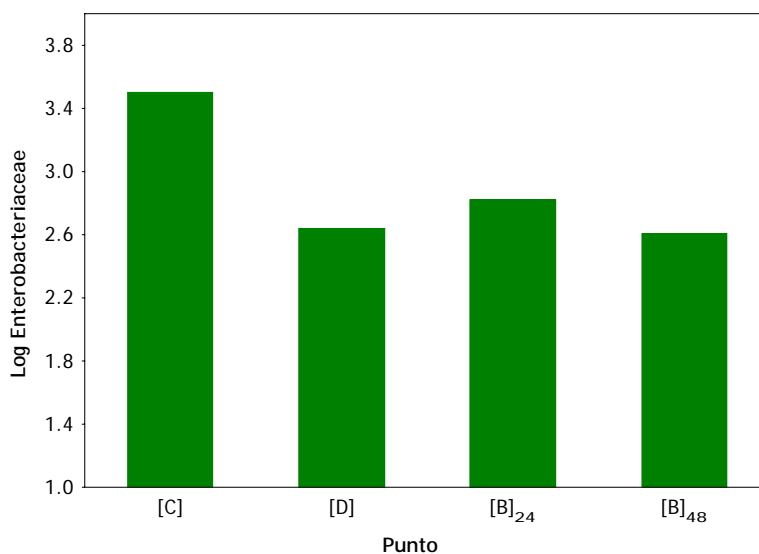


Figura 67. Diagramas de barras para *Enterobacteriaceae* en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.

## CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS DEL PRODUCTO Y DEL PROCESO

Tras una fase previa de observación de la cadena de producción y de acuerdo con la experiencia de los técnicos de la empresa, se seleccionaron, en función de su relevancia en cada etapa, los factores físico-químicos, tanto del producto como del proceso, que debían ser controlados y considerados en los estudios. Los factores finalmente seleccionados son los que se recogen en la Tabla 8, donde se dan los valores medios, los intervalos y las desviaciones típicas para cada uno de ellos, en los diferentes puntos estudiados a lo largo de la cadena de producción.

Las temperaturas ambiente en las áreas iniciales de la planta de procesado son claramente superiores a las de las fases finales. Esto es debido a que las primeras operaciones se llevan a cabo sin control de temperatura ambiental, incluso en algunos casos, como es el proceso de escaldado, mediante el empleo de agua caliente. A partir de la etapa de lavado con ducha tras el eviscerado, donde comienza la denominada "zona limpia", en la que se llevan a cabo operaciones a temperatura controlada, la temperatura ambiente desciende manifiestamente. El túnel de oreo y la cámara de refrigerado, punto donde se tomaron las muestras de canal recién clasificada, presentan los valores más bajos de temperaturas ambiente.

La temperatura del producto experimenta un importante descenso desde la zona sucia a la limpia, observándose una disminución media de unos 30 °C tras su paso por el túnel de oreo ([T]).

Análogamente, la humedad ambiental va disminuyendo a lo largo del proceso de producción, con lo que el sentido de la cadena va desde zonas más húmedas (debido al uso de abundante agua para la limpieza de las canales en el procesado) a zonas más secas.

En cuanto al tiempo, desde que la canal sale del escaldado hasta que se realiza el embarquetado del producto (considerando canales enteras, no despieces) transcurren, aproximadamente, 120 minutos. El túnel de oreo es la etapa más larga, mientras que la ducha tras el eviscerado es la más corta.

Los niveles de cloro libre residual del agua de la ducha a presión tras el eviscerado se mantienen, en general, dentro de los niveles que establece la legislación española vigente para aguas potables.

Otro parámetro físico-químico que "a priori" tiene influencia sobre la cantidad y el tipo de microorganismos presente en un alimento es el pH. En este

caso, el pH de las canales se mantiene a lo largo de la cadena en valores bastante homogéneos.

Tabla 8. Valores estadísticos para las variables físico-químicas medidas en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

Punto	Variable	N	Media	Intervalo	D.T.
[S]	T. Ambiente (°C)	70	18.90	10.20 - 26.40	4.98
	T. Producto (°C)	70	42.56	41.20 - 44.00	0.59
	Humedad (%)	70	85.02	70.30 - 113.90	7.37
[P]	Tiempo (min.)	70	1.00	0.52 - 1.15	0.18
	T. Ambiente (°C)	140	19.50	11.40 - 26.80	3.56
	T. Producto (°C)	137	42.23	33.20 - 45.40	1.55
	Humedad (%)	140	81.47	66.20 - 105.00	7.44
[G]	Tiempo (min.)	69	6.93	6.19 - 8.41	0.57
	T. Ambiente (°C)	140	15.15	8.90 - 21.80	3.54
	T. Producto (°C)	139	39.36	27.90 - 43.50	2.39
	Humedad (%)	70	76.16	62.50 - 84.30	4.92
	pH	11	6.31	6.06 - 6.59	0.19
[L]	Tiempo (min)	69	0.17	0.12 - 0.33	0.04
	T. Ambiente (°C)	110	11.43	5.30 - 17.10	3.02
	T. Producto (°C)	140	37.51	27.10 - 43.30	2.65
	Humedad (%)	110	68.54	54.40 - 78.40	5.76
	pH	51	6.22	5.86 - 6.69	0.19
	Tª agua (°C)	68	16.93	15.20 - 18.50	1.06
	Cloro agua (ppm)	68	1.57	0.64 - 4.12	0.85
[T]	Tiempo (min.)	68	94.26	81.00 - 111.00	6.65
	T. Ambiente (°C)	135	13.41	8.00 - 21.00	3.57
	T. Producto (°C)	137	8.37	1.10 - 18.40	3.56
	$\Delta$ T. Producto (°C)	68	30.14	18.90 - 37.60	3.61
	T. Túnel (°C)	70	0.68	-2.86 - 5.76	2.45
	Humedad (%)	79	63.86	36.90 - 79.60	9.37
	pH	45	6.38	6.04 - 6.83	0.23
	Peso canal (kg)	108	1.61	0.91 - 2.71	0.34

Intervalo: valor mínimo - valor máximo

D.T.: Desviación tipo

Tabla 8 (continuación). Valores estadísticos para las variables físico-químicas medidas en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción.

Punto	Variable	N	Media	Intervalo	D.T.
[C]	Tiempo (min.)	70	11.68	3.15 - 56.00	12.53
	T. Ambiente (°C)	140	0.84	-1.00 - 7.00	1.62
	T. Producto (°C)	138	8.03	1.10 - 18.00	3.34
	Humedad (%)	80	50.59	34.00 - 78.00	8.64
	pH	75	6.20	5.69 - 6.74	0.25
[E]	Tiempo (min.)	54	4.96	1.21 - 10.00	2.06
	T. Ambiente (°C)	70	6.87	4.40 - 9.00	1.06
	T. Producto (°C)	70	7.23	3.00 - 13.80	2.67
	Humedad (%)	40	55.12	32.10 - 65.80	9.24
	pH	40	6.07	5.75 - 6.57	0.25

Intervalo: valor mínimo - valor máximo

D.T.: Desviación tipo

En la Figura 68 se representan los gráficos de cajas donde se indican los valores, junto con las correspondientes desviaciones tipo, de las cinco variables físicas comunes a la mayoría de los puntos de muestreo (temperatura ambiente, temperatura del producto, humedad, pH y tiempo del proceso). Es interesante destacar, en general, los pequeños valores de la desviación tipo, lo que indica una baja variabilidad de los datos físicos.

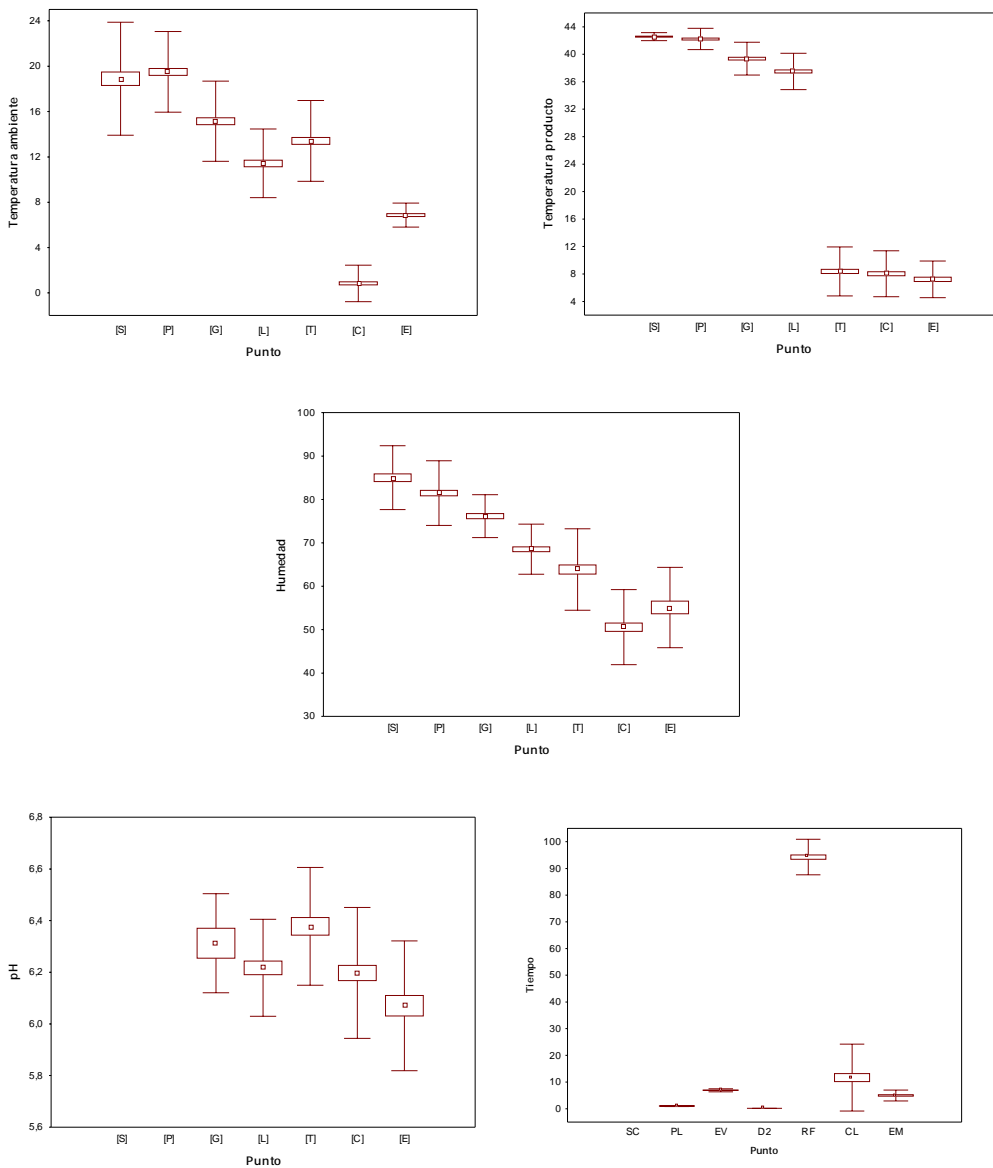


Figura 68. Gráficos de caja para las variables físicas  $T_a$ ,  $T_p$ ,  $H_m$ ,  $pH$  y  $t$  en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción de canales.

(● = Media;  = media ± error estándar;  = media ± desviación tipo)

## CONDICIONES FÍSICAS DURANTE EL PROCESO DE DESPIECE Y CONSERVACIÓN EN CÁMARA

Los factores físicos considerados en los procesos de despiece y conservación en cámara fueron la temperatura del producto y del proceso y la humedad ambiental, que definen las condiciones en las que se realizan estos procesos.

La Tabla 9 recoge los valores medios, intervalos y desviaciones estándar de los factores físicos medidos en las etapas de despiece y conservación en cámara. En ella se observa la evolución de la temperatura del producto y del proceso y la humedad ambiental a lo largo de las etapas estudiadas, así como su variabilidad.

Tabla 9. Valores estadísticos para las variables físicas medidas en cada uno de los puntos estudiados en el proceso de despiece y conservación en cámara.

Punto	Variable	N	Media	Intervalo	D.T.
[C]	T. Ambiente (°C)	140	0.84	-1.00 - 7.00	1.62
	T. Producto (°C)	138	8.03	1.10 - 18.00	3.34
	Humedad (%)	80	50.59	34.00 - 78.00	8.64
[D]	T. Ambiente (°C)	41	7.37	6.20 - 9.00	0.79
	T. Producto (°C)	41	6.95	1.70 - 11.70	2.59
	Humedad (%)	41	55.15	32.10 - 65.80	9.13
[B] <sub>24</sub>	T. Ambiente (°C)	41	2.66	0.00 - 4.00	0.65
	T. Producto (°C)	41	3.91	2.90 - 6.60	1.26
	Humedad (%)	41	55.91	44.30 - 58.8	3.84
[B] <sub>48</sub>	T. Ambiente (°C)	20	2.70	2.00 - 3.00	0.47
	T. Producto (°C)	20	3.73	3.00 - 5.30	0.62
	Humedad (%)	20	48.59	39.50 - 53.10	4.71

La temperatura ambiental de las zonas destinadas a la conservación de productos son las que presentaron valores más bajos, siendo la temperatura de la cámara de conservación de canales, tras el clasificado [C], la de temperatura media más baja (0.84 °C). Esto se debe a que el producto que entra en ellas se encuentra a una temperatura moderada y es necesario disminuirla y mantenerla baja lo más eficazmente posible.

En la sala de despiece, situada en la “zona limpia” del proceso, la temperatura ambiente también es baja, ya que en ella se manipula un producto que ha sido previamente enfriado, y es necesario mantener la cadena de frío.

La humedad, tanto en las cámaras ([C] y [B]) como en la sala de despiece, se encuentra en valores similares, siempre por debajo del 70%, valor a partir del cual se producirían condensaciones, con el consiguiente riesgo de aparición de hongos de superficie sobre las paredes, techos y contenedores, así como en los productos almacenados.

En cuanto a la temperatura del producto, ésta disminuye a lo largo de los procesos de despiece y conservación en cámara, ya que el producto de partida (canales enteras) es enfriado en la cámara correspondiente, y los sucesivos productos que se van obteniendo son manipulados y almacenados en salas y cámaras a temperatura de refrigeración, con lo que esta disminución de temperatura es cada vez más eficaz.

En la figura 69 se muestran, gráficamente, los resultados obtenidos de la descripción de los datos físicos durante los procesos de despiece y conservación en cámara. En general, se observan bajos valores para la desviación tipo, principalmente de las temperaturas (ambiente y de producto) en la cámara de conservación de productos de despiece ([B]).

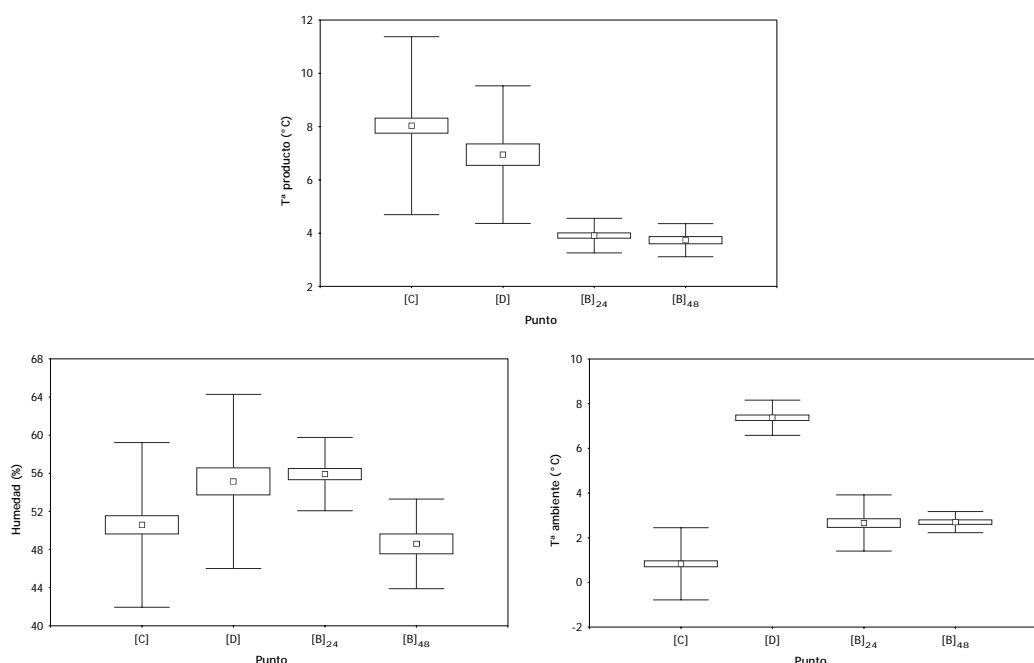


Figura 69. Gráficos de caja para las variables físicas  $T_a$ ,  $T_p$ ,  $H_m$ ,  $pH$  y  $t$  en cada uno de los puntos estudiados en la cadena de producción de despieces.

(• = Media;  $\square$  = media  $\pm$  error estándar;  $\text{I}$  = media  $\pm$  desviación tipo)



## PLANTEAMIENTO INVERSO DE UN SISTEMA DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE AVE

### SISTEMA DE CONTROL: SCCP

Los sistemas de control de calidad durante la producción, autocontroles en la industria alimentaria, están fundamentados en un concepto preventivo de la metodología de control, es decir, se basan en el conocimiento de los riesgos para evitar su aparición, si esto fuera posible, o estar preparados para reducir sus efectos, en caso de que se produzcan. Para conseguir este objetivo se han de localizar las etapas, procesos o prácticas de la cadena productiva que suponen algún riesgo, e identificar de qué tipo es, con el fin de acotarlos dentro de unos límites que aseguren la obtención de productos de calidad.

Pero la aspiración de una industria, incluida la del sector alimentario, es conseguir la calidad total del producto que elabora. Así, basándose en el sistema de actuación HACCP, pero con objetivos más amplios de calidad, se puede hablar de *Sistemas Continuos de Control durante la Producción (SCCP)*. Se trata con ellos de identificar las etapas del proceso que pueden provocar un efecto, tanto beneficioso como perjudicial, sobre la calidad del producto final, y ejercer sobre las mismas una vigilancia sistematizada, con el fin de favorecer los efectos positivos (factores que incrementan la calidad del producto) y minimizar o eliminar, en la medida de lo posible, los riesgos (*González-Miret et al., 1998*). Un SCCP, por tanto, tiene en cuenta todos los aspectos relacionados con la calidad (no sólo los higiénico-sanitarios), considerando el riesgo como un peligro tanto para el consumidor como para el producto (que afecta a su calidad).

Para conseguir estos objetivos, no sólo se deben controlar aquellos puntos que inciden sobre la seguridad del alimento (Puntos Críticos de Control, PCCs), sino también aquellos en los que se puede mejorar la calidad del producto. Por este motivo, cuando se habla de calidad total no se debe hablar de Puntos Críticos de Control sino de Puntos de Control del Proceso (PCP). Es la acción que se realiza en estos puntos la que permite controlar la calidad del producto.

Cuando se habla de Puntos de Control del Proceso, las medidas preventivas o del proceso son aquellos factores físicos, químicos, de manipulación, o de otra

índole que han de ser controlados en un determinado PCP, y sobre los que se debe de actuar en caso necesario para mejorar la calidad del producto.

Para obtener un sistema de control sencillo y fácil de llevar a cabo, el número de Puntos de Control en la cadena de producción no debe ser elevado. Por ello, para establecer qué etapas o procesos son realmente importantes en el control y así obtener un producto de máxima calidad, se ha realizado un estudio estadístico en cada una de las etapas del proceso.

## PROCEDIMIENTO: SISTEMA INVERSO

El diseño de un sistema de control se puede plantear en dos sentidos: directo (*hacia delante*) o inverso (*hacia atrás*), según que la secuencia de razonamientos de los estudios experimentales, encaminados a la decisión sobre puntos de control y nivel de riesgo o peligro, comiencen por el principio o por el final de la cadena productiva, respectivamente.

Ya que el objetivo último de un sistema de control alimentario es optimizar la calidad del producto final, parece, a priori, más adecuado conocer las características que definen el producto que llega al consumidor y evaluar los factores previos que condicionan dichas características. De esta forma, las variables que caracterizan el producto en cada punto pueden interpretarse estadísticamente como variables dependientes (multivariantes, *variates*) de diferentes variables independientes, que, fundamentalmente, se encuentran agrupadas en dos grandes bloques: a) las características del producto a el punto inmediatamente anterior; b) los factores que condicionan el proceso de transformación del producto entre un punto y otro.

Así, se propone un diseño inverso del sistema de control mediante el cual se decida la relevancia de cada etapa del proceso, así como qué variables y factores ejercen mayor influencia sobre las características del producto, mediante el empleo de ecuaciones de regresión.

De acuerdo con este planteamiento, se presenta como objetivo del estudio encontrar ecuaciones matemáticas que expresen los pesos de cada una de las variables, con los que poder decidir qué variables han de ser especialmente tenidas en cuenta en el sistema de control y cuáles de ellas podrían ser obviadas en los controles de rutina.

### Proceso industrial

El proceso que ha sido evaluado en la planta de procesado de carne fresca de ave comprende las etapas de desplumado, eviscerado, ducha, refrigerado en túnel y clasificado, conservación en cámara de refrigeración a 4 °C y posterior envasado.

### Diseño experimental

El sistema propuesto consiste en evaluar los distintos procesos de la cadena de producción en sentido inverso (comenzando por el final de la cadena hasta la etapa inicial) mediante la aplicación de técnicas estadísticas. En cada una de las etapas de la cadena de producción se realiza la toma de muestra, inmediatamente antes y después de la etapa en estudio, así como la medida de los factores, tanto de la etapa como del producto, en cada punto de muestreo. Con los datos obtenidos se hacen dos planteamientos:

I) *Valoración de la relevancia de cada etapa.* Mediante el recuento de diferentes microorganismos, es posible determinar qué fases del proceso ejercen un efecto (aumento o disminución) sobre la contaminación del producto, y así identificar y proponer puntos de control del proceso. Estas variables microbiológicas deben ofrecer información significativa sobre el sistema de control en cada una de las etapas estudiadas. Su utilidad puede determinarse mediante la aplicación de técnicas estadísticas uni y multivariantes.

Para llevar a cabo esta evaluación, se realizó la determinación de los parámetros microbiológicos de una misma unidad muestral en diferentes condiciones (antes y después de un proceso). Posteriormente, se aplicaron técnicas estadísticas de medidas repetidas para determinar la existencia de diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los distintos grupos de muestras (Figura 70).

II) *Valoración de la relevancia de los factores medidos.* En cada una de las etapas estudiadas de la cadena de producción se miden diferentes factores que, fundamentalmente, se encuentran agrupados en tres grandes bloques:

- a. las características del producto inmediatamente anterior: variables del punto inicial
- b. los factores que condicionan el proceso de transformación del producto entre un punto y otro: variables de la etapa, y
- c. las características del producto inmediatamente después de la etapa: variables del punto final.

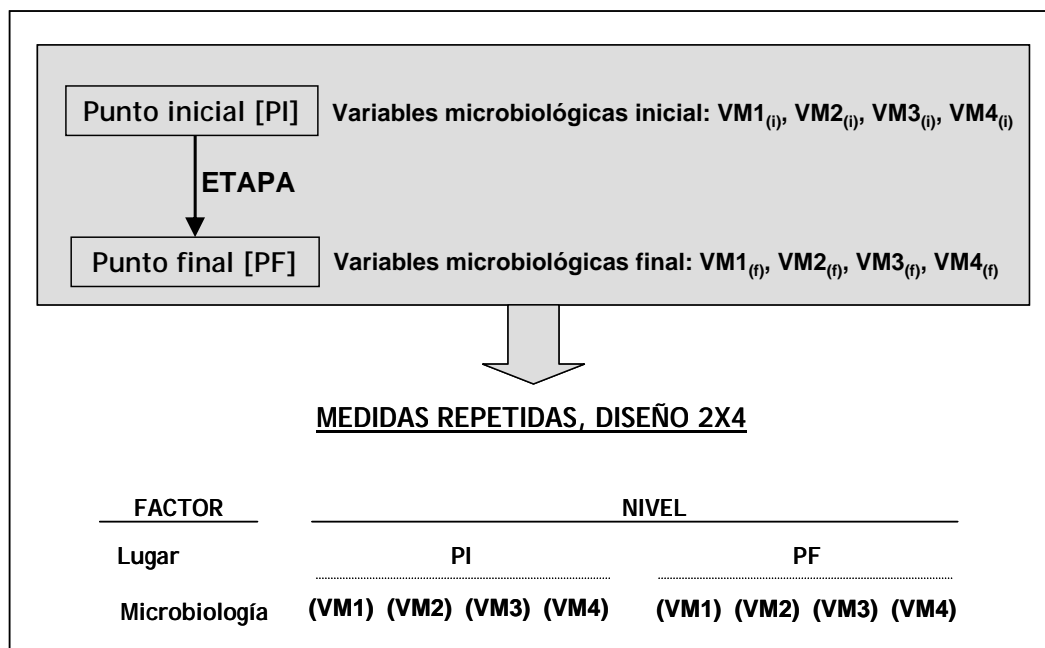


Figura 70. Esquema de la secuencia de estudio inicial propuesta por el sistema inverso

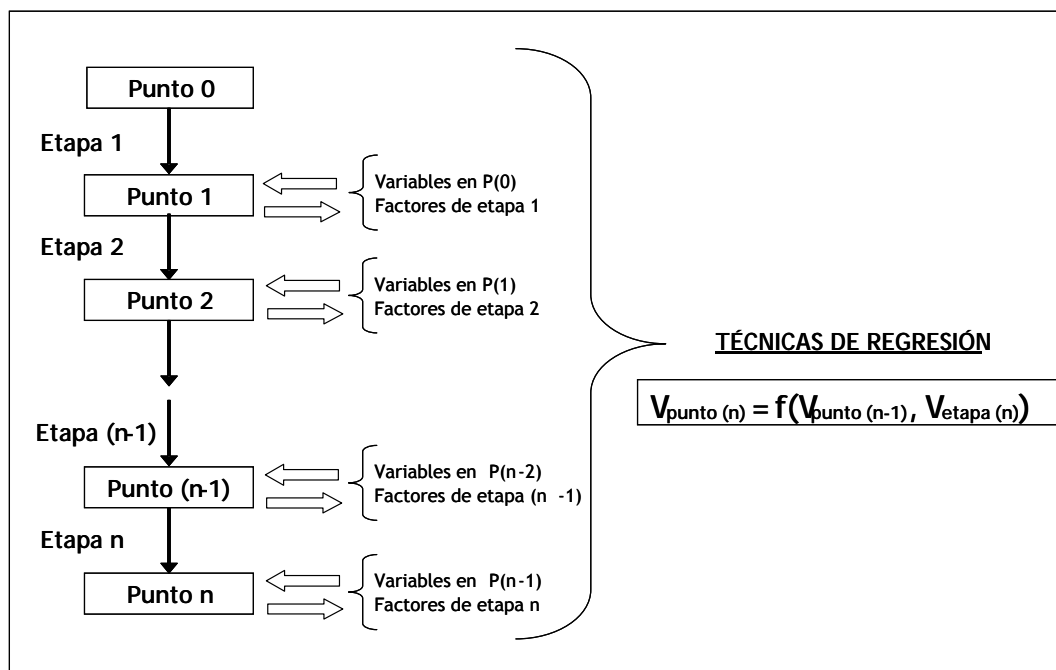


Figura 71. Esquema de la secuencia de estudio de variables del proceso

En la Figura 71 se esquematiza la secuencia general del estudio. En esta cadena de procesos se indica la influencia que ejercen las condiciones iniciales del producto (en el punto anterior) y los factores que intervienen en el proceso estudiado, sobre las características del producto resultante. De acuerdo con el caso que se estudia en esta Memoria, las condiciones de las canales en el punto tras una determinada etapa (punto final [PF]) son consecuencia, tanto de lo que ha ocurrido durante ese proceso como de las condiciones en las que se encontraba el producto en el punto inmediatamente anterior a dicha etapa (punto inicial [PI]). Así, las variables microbiológicas del [PF] son conjuntamente las características microbiológicas que definen al pollo procesado tras la etapa de estudio.

Aunque los estudios incluidos en este capítulo, en principio, son independientes entre sí, se presentan en sentido contrario al del sistema de producción, es decir, en sentido inverso, puesto que, además de ser el orden cronológico en el que fueron desarrollados, éste es el sentido que ha de utilizarse según el planteamiento descrito.

Según esto, a partir de las características higiénicas óptimas del producto final y de los factores que resulten significativos en la calidad de la última etapa (n), podrán estimarse las características óptimas del producto antes de dicha etapa y, sucesivamente, considerar estas características así como los factores significativos de la penúltima etapa (n-1) en la calidad del producto inmediatamente anterior.

Entre los objetivos de esta Memoria, se encuentra el estudio de las etapas y los factores significativos asociados a ellas, pero no el establecimiento de los límites concretos del producto en cada fase, lo que supone la realización de estudios adicionales de verificación, que están programados para futuros trabajos, incluyendo estudios a escala piloto con modificación de factores inducida, lo cual escapa completamente a una producción industrial.

#### Muestras

En el estudio se analizó un total de 838 muestras cuya descripción y lugar de muestreo se recogen en la Tabla 10.

En cada fase se tomaron muestras de la misma canal antes y después de cada etapa, para determinar la evolución de la contaminación debida al proceso, por lo que son muestras dependientes o “de medidas repetidas”.

Para el estudio se eligió la piel de la pechuga por ser una zona muy homogénea, con una superficie suficientemente extensa para tomar varias muestras de la misma canal. Además, es una superficie muy expuesta durante la manipulación de la canal, que refleja claramente los efectos de este proceso.

Durante el estudio, las canales fueron debidamente marcadas para facilitar su correcto seguimiento a través del proceso.

Como en el resto de los estudios, las muestras se tomaron asépticamente, utilizando pinzas y bisturí estériles, se recogieron en placas Petri y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde se procedió a su análisis.

Tabla 10. Puntos de muestreo y descripción de las muestras

Etapa	Nº canales	Punto de muestreo	Código	Nº muestras
Embarquetado	70	Cámara de refrigerado	[C]	70
		Sala de embarquetado	[E]	70
Clasificado	70	Salida túnel oreo	[T]	70
		Cámara refrigerado	[C]	70
Túnel de oreo	70	Salida de la ducha	[L]	70
		Salida del túnel de oreo	[T]	68
Ducha	70	Tras el colgado manual	[G]	70
		Salida de la ducha	[L]	70
Eviscerado	70	Salida de la peladora	[P]	70
		Tras el colgado manual	[G]	70
Desplumado	70	Salida del escaldado	[S]	70
		Salida de la peladora	[P]	70

#### Análisis de las muestras

Sobre cada muestra se realizaron análisis microbiológicos (*Aerobios mesófilos* (Am), *Pseudomonas* (Ps), *Enterobacteriaceae* (Eb) y *Staphylococcus aureus* (St)), físicos y de manipulación, que fueron diferentes en función de la etapa estudiada.

### Tratamiento estadístico de los datos

Inicialmente se realizó un estudio descriptivo de los datos y, posteriormente, se aplicaron técnicas uni y multivariante en cada etapa del diseño experimental

- I) *Valoración de la relevancia de cada etapa.* Los análisis utilizados fueron el test de la  $t$  de Student para muestras relacionadas (distribución normal de las muestras) y la prueba de Wilcoxon (prueba no paramétrica para muestras que no cumplen el criterio de normalidad), para calcular el efecto de la etapa (inicial/final) sobre cada una de las variables microbiológicas analizadas (Am, Ps, Eb y St). Además, se realizó un análisis múltiple de la varianza de medidas repetidas para comprobar el efecto de cada etapa sobre todas las variables microbiológicas (variables dependientes) simultáneamente.
  
- II) *Valoración de la relevancia de los factores medidos:* se aplicaron técnicas estadísticas de regresión para determinar qué variables y factores ejercen mayor influencia sobre las características del producto procesado y en qué grado. Cuando las variables objeto de estudio fueron cualitativas (variables de manipulación) se realizaron los test de significación entre grupos de muestras.

### PUNTOS DE CONTROL Y FACTORES DE INTERVENCIÓN DEL PROCESO

En la Tabla 11 se observan los resultados del análisis descriptivo inicial realizado sobre los datos obtenidos por parejas de puntos en cada etapa. Como puede observarse, y siguiendo el orden inverso establecido, el nivel de contaminación sobre las canales en la etapa de embarquetado casi no se ve afectado, dándose sólo un ligero aumento para las variables Ps y St. En cambio, durante el proceso de clasificado ocurre un aumento de todos los microorganismos analizados sobre la superficie de las canales. En el túnel de oreo (proceso previo al clasificado) la media del recuento de microorganismos se mantiene en niveles similares a los obtenidos en el inicio de dicho proceso. La ducha con agua a presión sí ejerce un efecto más importante sobre la contaminación superficial de las canales, ya que todas las variables microbiológicas estudiadas disminuyen al final de esta etapa. Sin embargo, en el proceso de eviscerado ocurre lo contrario, todos los recuentos de contaminación superficial sufren un aumento. Por último, en el

proceso de desplumado, el comportamiento entre los diferentes microorganismos analizados es variado. La contaminación por Am y St desciende tras la desaparición de las plumas, Ps aumenta y se observa un ligero ascenso de los valores de Eb.

Por tanto, a priori, los datos indican que las etapas que más afectan, de forma negativa, a la contaminación superficial de las canales son el clasificado y el eviscerado, siendo ambas etapas en las que existen un gran número de operarios manipulando los productos y alto riesgo de contaminación cruzada. Además, el eviscerado es una etapa con humedad ambiental muy elevada y varios puntos de duchas que pueden dispersar contaminantes de unas canales a otras así como del ambiente (suelo, aire, máquinas) a las canales. Y en el clasificado las canales están muy en contacto tanto con las superficies de los diversos contenedores utilizados en esta operación (cajones de clasificado, cajas de embarquetado de canales a granel) como entre sí, dándose un ambiente muy adecuado para la contaminación cruzada.

Por otro lado, es también muy importante tener en cuenta en el sistema de control aquellas etapas que producen un efecto positivo sobre las canales. En este caso se podrían considerar las etapas de lavado con agua a presión (ducha) y en cierto modo el desplumado. En ambas etapas se dan dos características comunes: poseen una ducha con agua a presión que arrastra la suciedad superficial de las canales, y carecen de manipulación por parte de operarios. La etapa de desplumado es menos efectiva que la ducha ya que se dan unas condiciones ambientales y de proceso menos adecuadas que en la etapa de ducha, con valores de humedad y temperatura ambiente más elevadas. Además, la maquinaria interna de la desplumadora, formada por dedos de goma a modo de rodillos, es susceptible de contener y dispersar más suciedad. Por otro lado, hay que tener en cuenta que las canales llegan al desplumado sin eviscerar y recién sacrificadas, y por tanto, más contaminadas.



Tabla 11. Log decimal de la media de los recuentos brutos de cada variable microbiológica en cada punto de muestreo y para cada etapa.

Etapa	Punto de muestreo	Am	Ps	Eb	St
Embarquetado	[C]	5.933	3.230	3.450	3.062
	[E]	5.929	3.302	3.466	3.202
Clasificado	[T]	4.512	2.956	3.297	3.141
	[C]	4.736	4.166	3.547	3.418
Túnel de oreo	[L]	4.452	3.020	2.933	3.697
	[T]	4.503	2.918	3.017	3.561
Ducha	[G]	5.153	3.609	4.083	3.546
	[L]	4.619	3.271	3.444	3.172
Eviscerado	[P]	4.968	3.853	3.723	3.233
	[G]	5.508	3.928	4.218	3.644
Desplumado	[S]	6.827	3.249	4.593	4.990
	[P]	5.928	3.530	4.634	4.066

Para poder aplicar las técnicas estadísticas con requerimiento de normalidad de los datos, se utilizaron las variables microbiológicas transformadas tomando el logaritmo decimal de los datos originales. Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors se evaluó la normalidad de cada una de las variables transformadas, en cada etapa y para cada punto de muestreo, obteniendo los resultados de  $|D_{\max}|$  que se muestran en la Tabla 12. Estos valores fueron significativos ( $p < 0.01$ ), es decir, no cumplen la condición de normalidad, para Log St en todos los puntos de muestreo estudiados, para Log Am en los puntos [C] y [E] de la etapa de embanquetado, [L] de la ducha, [P] del eviscerado y [S] del desplumado, para Log Ps en el punto [T] del clasificado, en los puntos inicial y final del túnel de oreo, en el punto [L] de la ducha, el [P] del eviscerado y el [S] del desplumado, y para Log Eb en los puntos [T] del proceso de clasificado, y [P] del eviscerado.

Tabla 12. Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $D_{\max}$ )

Etapa	Punto muestreo	Microbiología			
		Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
Embarquetado	[C]	0.159**	0.052	0.067	0.202**
	[E]	0.187**	0.066	0.057	0.191**
Clasificado	[T]	0.102	0.138**	0.153**	0.209**
	[C]	0.042	0.088	0.088	0.176**
Túnel de oreo	[L]	0.078	0.125**	0.063	0.156**
	[T]	0.061	0.157**	0.101	0.179**
Ducha	[G]	0.070	0.083	0.095	0.168**
	[L]	0.151**	0.135**	0.098	0.175**
Eviscerado	[P]	0.117*	0.135**	0.109*	0.202**
	[G]	0.091	0.066	0.080	0.202**
Desplumado	[S]	0.281**	0.185**	0.089	0.173**
	[P]	0.088	0.056	0.072	0.138**

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

#### VALORACIÓN DE LA RELEVANCIA DE CADA ETAPA

Para comprobar la significación del efecto que ejerce, cada etapa de la cadena alimentaria, sobre la contaminación superficial de las canales, se llevaron a cabo técnicas estadísticas para grupos de muestras relacionadas. Se realizó el test de la  $t$  de Student para muestras relacionadas (inicial/final) en los casos en los que las variables analizadas presentaban una distribución normal y la prueba de Wilcoxon cuando las variables estudiadas no seguían una distribución normal. En la Tabla 13 se observa que las etapas de clasificado, ducha, eviscerado y desplumado ejercen un efecto significativo ( $p<0.01$ ) sobre la contaminación superficial de las canales para todas las variables microbiológicas estudiadas, excepto la etapa del desplumado sobre la contaminación por *Enterobacteriaceae*, cuyo efecto no es significativo. Otras etapas de la cadena de producción, como el embarquetado y el túnel de oreo, no ejercieron un efecto significativo sobre el recuento microbiológico superficial de las canales.

Estos resultados corroboran la información obtenida en el estudio descriptivo de los datos, poniendo de manifiesto la importancia de determinadas etapas de la cadena de producción de carne fresca de ave, tanto por el efecto negativo de unas como por el efecto positivo de otras.

Tabla 13. Nivel de significación (p) para grupos de muestras relacionadas [punto inicial]/[punto final] para las variables microbiológicas

Etapa	Comparación	Variables	Test- <i>t</i> grupos dependientes	Prueba de Wilcoxon
Embarquetado	[C]/[E]	Log Am	-	0.835
		Log Ps	0.127	-
		Log Eb	0.254	-
		Log St	-	0.147
Clasificado	[T]/[C]	Log Am	0.000	-
		Log Ps	-	0.000
		Log Eb	-	0.000
		Log St	-	0.000
Túnel de oreo	[L]/[T]	Log Am	0.268	-
		Log Ps	-	0.587
		Log Eb	0.336	-
		Log St	-	0.398
Ducha	[G]/[L]	Log Am	-	0.000
		Log Ps	-	0.000
		Log Eb	0.000	-
		Log St	-	0.000
Eviscerado	[P]/[G]	Log Am	-	0.000
		Log Ps	-	0.000
		Log Eb	-	0.000
		Log St	-	0.001
Desplumado	[S]/[P]	Log Am	-	0.000
		Log Ps	-	0.000
		Log Eb	0.630	-
		Log St	-	0.000

Posteriormente, y con el fin de establecer diferencias significativas entre los grupos de muestras relacionadas, se llevó a cabo un análisis múltiple de la varianza de medidas repetidas. Las cuatro variables microbiológicas (Log Am, Log Ps, Log Eb y Log St) se determinaron para la misma unidad muestral antes y después de cada etapa estudiada ([inicial]/[final]). Por lo tanto se puede hablar de un diseño 2x4 con dos factores de medidas repetidas: lugar ([inicial] y [final]) y variable microbiológica (Log Am, Log Ps, Log Eb y Log St). En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos al realizar el MANOVA de medidas repetidas en cada una de las etapas estudiadas.

Tabla 14. Resultados del análisis múltiple de la varianza con dos factores de medidas repetidas: lugar y variables microbiológicas, en cada una de las etapas estudiadas en la cadena de producción.

Etapa	Factor	F	p	$\eta^2$
Embarquetado	Punto de muestreo	4.997	0.029	0.068
	Variable microbiológica (VM)	152.96	0.000	0.689
	Punto de muestreo x (VM)	1.067	0.364	0.015
Clasificado	Punto de muestreo	291.501	0.000	0.739
	Variable microbiológica (VM)	44.736	0.000	0.393
	Punto de muestreo x (VM)	94.023	0.000	0.577
Túnel de oreo	Punto de muestreo	0.022	0.883	0.000
	Variable microbiológica (VM)	114.683	0.000	0.631
	Punto de muestreo x (VM)	1.088	0.355	0.016
Ducha	Punto de muestreo	71.290	0.000	0.512
	Variable microbiológica (VM)	123.900	0.000	0.646
	Punto de muestreo x (VM)	5.711	0.001	0.077
Eviscerado	Punto de muestreo	70.911	0.000	0.507
	Variable microbiológica (VM)	144.572	0.000	0.677
	Punto de muestreo x (VM)	2.153	0.095	0.030
Desplumado	Punto de muestreo	5.504	0.022	0.074
	Variable microbiológica (VM)	139.162	0.000	0.669
	Punto de muestreo x (VM)	46.350	0.000	0.402

En las figuras 72 a 77 se muestran, gráficamente, los recuentos microbiológicos, para cada una de las bacterias analizadas, en los puntos inicial y final de cada una de las etapas estudiadas.

En la etapa de embarquetado (Figura 72) se encontraron diferencias significativas tanto entre las etapa como entre las variables microbiológicas ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ , respectivamente), pero no en las interacciones entre ambos factores. El tamaño del efecto ( $\eta^2 = 0.69$ ) fue más elevado para el factor "variable microbiológica". A través del test de Bonferroni, utilizado para determinar las diferencias significativas entre las medias de los grupos, se observa que entre los dos puntos de muestreo implicados ([C]/[E]), y teniendo en cuenta todas las variables microbiológicas en su conjunto, no existen diferencias significativas.

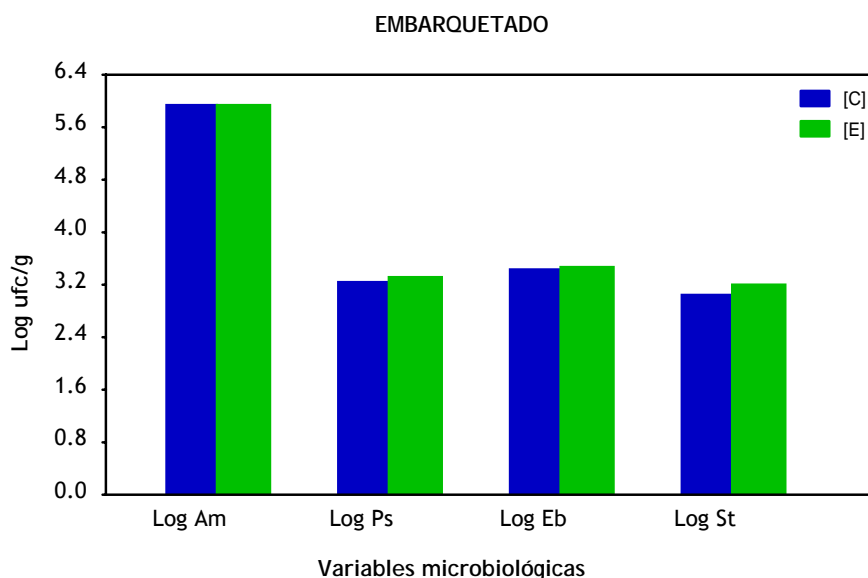


Figura 72. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de embarquetado

Cuando se comparan las medias de las variables microbiológicas se obtienen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre Am y el resto de variables, y entre Ps y St; sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre Ps y Eb, lo que indica que en el embarquetado ambos microorganismos presentan valores similares de la media. Cuando se realiza la comparación por pares de puntos ([C]/[E]) para cada variable microbiológica no se encontró diferencia significativa para ninguna pareja, tal como se comprobó al realizar el test de la  $t$  de Student o la prueba de Wilcoxon.

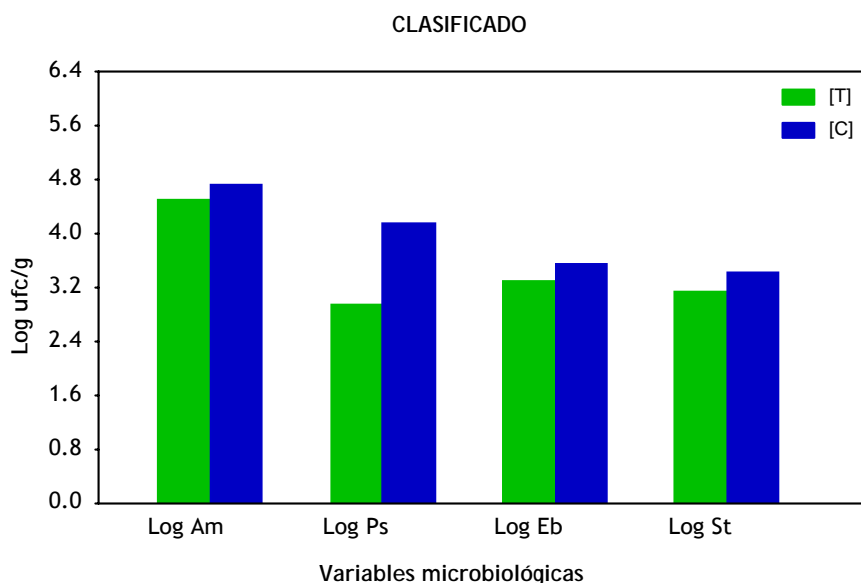


Figura 73. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de clasificado

Respecto al efecto de la etapa, las variables microbiológicas y la interacción de ambos factores, resultaron significativos ( $p < 0.01$ ) en la etapa de clasificado (Figura 73), con una contribución del factor "punto de muestreo" del 74%. El test de Bonferroni indicó que el punto [T] presentaba una media significativamente más baja que el punto [C]. La comparación entre las variables microbiológicas reveló que las medias de Am y Eb eran significativamente mayores ( $p < 0.01$ ) que la media de Ps y St. El resto de comparaciones posibles entre las variables microbiológicas no resultaron significativas. Por otro lado, las diferencias entre el punto inicial y final para cada variable microbiológica fueron significativas en todos los casos excepto para Am. Este último dato no coincide con el test de la  $t$  de Student realizado con anterioridad, el cual sí consideró significativa la diferencia entre el punto inicial y final para Am. Esto es debido a que el test de Bonferroni hace una corrección severa del nivel  $\alpha$ , ya que lo divide por el número total de comparaciones que realiza, obteniéndose un nuevo valor ( $\alpha = \alpha / n^\circ$  comparaciones) más estricto (Norman y Streiner, 1996; Martín y Luna, 2004).

En la etapa de refrigerado en túnel de oreo (Figura 74) se observan diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre las variables microbiológicas, con tamaño de efecto  $\eta^2 = 0.63$ ; sin embargo, entre los puntos de muestreo no existen tales diferencias. Cuando se tienen en cuenta ambos factores a la vez tampoco se producen diferencias significativas.

Con esto se pone de manifiesto que el túnel de oreo es una etapa con la que se detiene la proliferación microbiana ya que se mantienen los niveles de contaminación superficial con los que las canales partían en la entrada del túnel.

El frío sobre las canales durante un periodo corto de tiempo (100 minutos) no produce un efecto descontaminante sobre ellas, sino una ralentización en el desarrollo de la flora microbiana, lo que evita que aumenten significativamente los niveles de contaminación. Sin embargo, en un estudio anterior realizado por *González-Miret et al. (2000)* pone de manifiesto el efecto descontaminante del frío, principalmente sobre Eb, cuando se trata de un periodo de tiempo mas prolongado (24 horas).

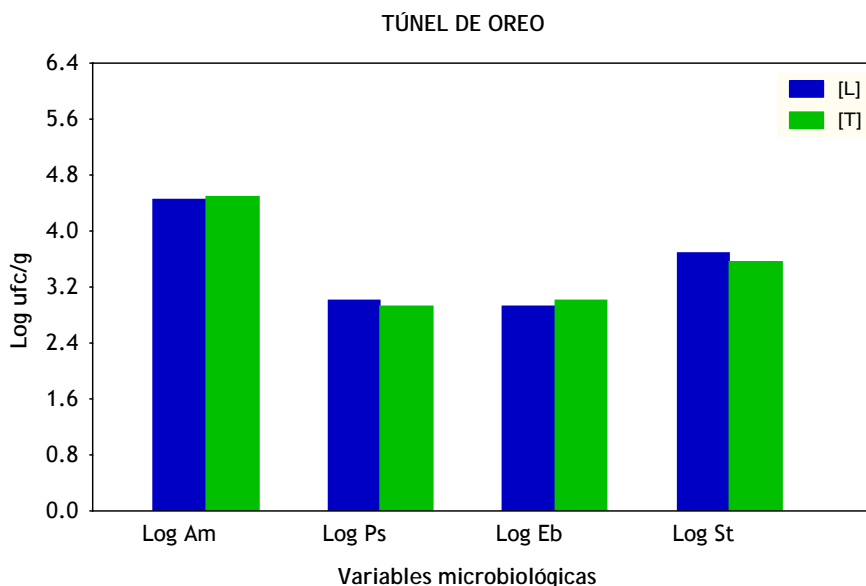


Figura 74. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en lada etapa de refrigerado en túnel

Posteriormente, en la etapa previa de lavado en la ducha con agua a presión (Figura 75), se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para los dos factores de medidas repetidas (punto de muestreo y variables microbiológicas (VM)), así como para la interacción de ambos factores (punto de muestreo x VM).

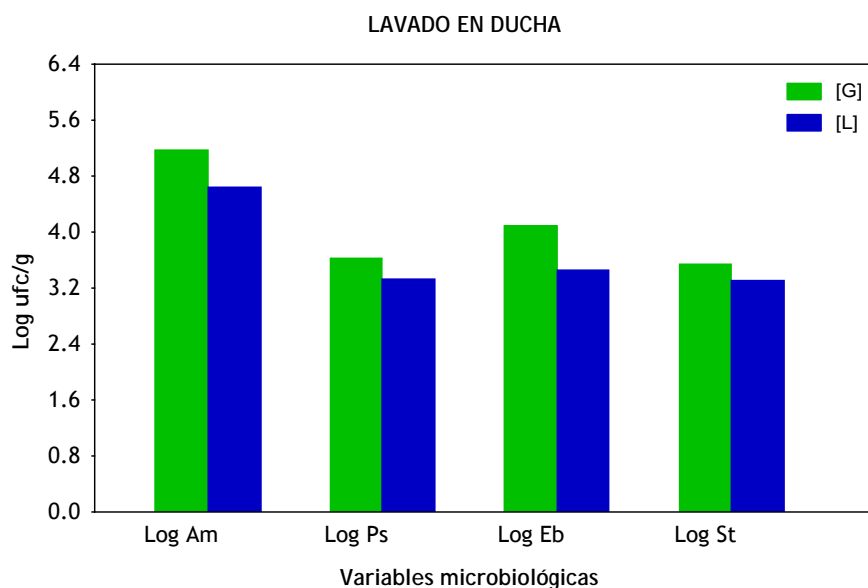


Figura 75. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de lavado en ducha

La ducha es uno de los procesos más relevantes de la cadena de producción, ya que se trata de la etapa que divide la “zona sucia” de la “zona limpia” y produce un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre la reducción de la contaminación superficial de las canales. Por este motivo se decidió realizar un estudio más detallado que se recoge en el capítulo cuatro de los resultados de esta Memoria (Escudero-Gilete *et al.*, 2005).

En el eviscerado (Figura 76) se observan diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para los factores “punto de muestreo” y VM. Al realizar el test posterior de comparación por parejas, se observa que la media del punto [P] es significativamente menor que la del punto [G], y que las medias de las variables microbiológicas son todas diferentes entre sí de forma significativa ( $p < 0.01$ ), siendo Am la variable con mayor media seguida de Eb, Ps y St, consecutivamente. Al comprobar, mediante el test de Bonferroni, la diferencia entre los puntos inicial y final para cada variable microbiológica, se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para todos los parámetros microbiológicos, produciéndose, siempre, un aumento de la contaminación final con respecto a la inicial. Este resultado coincide con el cálculo realizado anteriormente en el test de la *t* de Student y la prueba de Wilcoxon. El eviscerado es una etapa en la que el producto es muy manipulado y las condiciones del producto y del proceso son muy delicadas desde el punto de vista higiénico-sanitario, dando lugar a aumentos significativos de la contaminación.



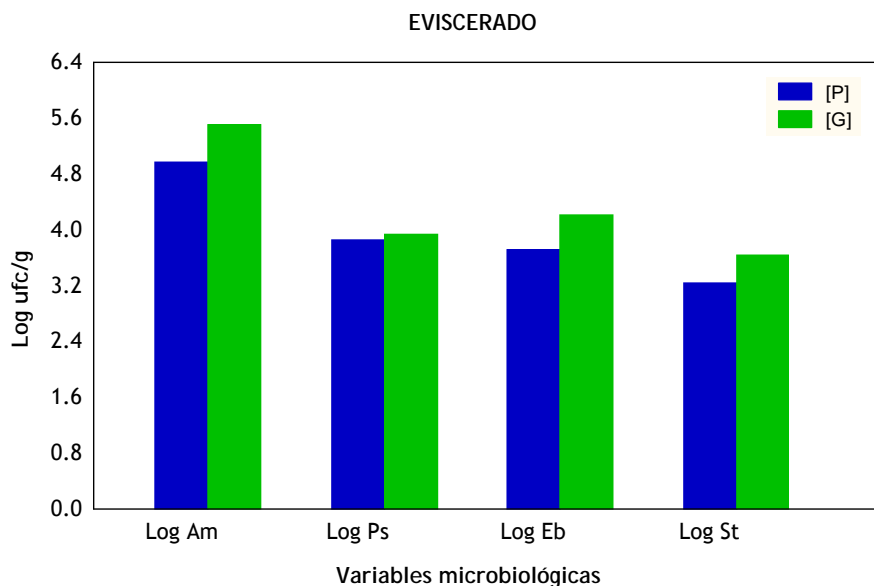


Figura 76. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de eviscerado

La última etapa estudiada en el proceso de elaboración, el desplumado (Figura 77), presentó valores significativos ( $p < 0.05$ ) para los dos factores estudiados así como para la interacción entre ambos, obteniéndose una contribución del factor “variable microbiológica” del 67%. Sin embargo, mediante el test de Bonferroni no se obtuvo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los puntos de muestreo. Las comparaciones entre las variables microbiológicas fueron siempre significativas, con un valor de media mayor para Am, seguido de Eb, St y Ps respectivamente. Las diferencias entre pares de puntos de muestreo para cada parámetro microbiológico fueron significativas, con sentido negativo para Am y St, y positivo para Ps. Para la variable Eb no existió diferencia significativa entre el punto [S] y el punto [P]. Se confirma, por tanto, el efecto descontaminante que produce la eliminación de las plumas, sobre todo sobre los parámetros Am y St. En el caso de la variable Ps, los resultados obtenidos son similares a los encontrados por Escudero-Gilete *et al.* (2005) en un estudio realizado sobre la etapa de ducha con agua a presión tras el eviscerado, en el que se produce un ligero aumento de los recuentos de estos microorganismos cuando la duración del lavado se reducía de 8 a 4 segundos (estos resultados se recogen en el cuarto capítulo de los resultados de esta memoria). Ya que al final de la peladora se aplica una ducha, aunque de muy pequeña duración, esto podría indicar que una reducción de Ps debida al efecto de arrastre del agua ha de estar mediada por un lavado con un tiempo más prolongado.

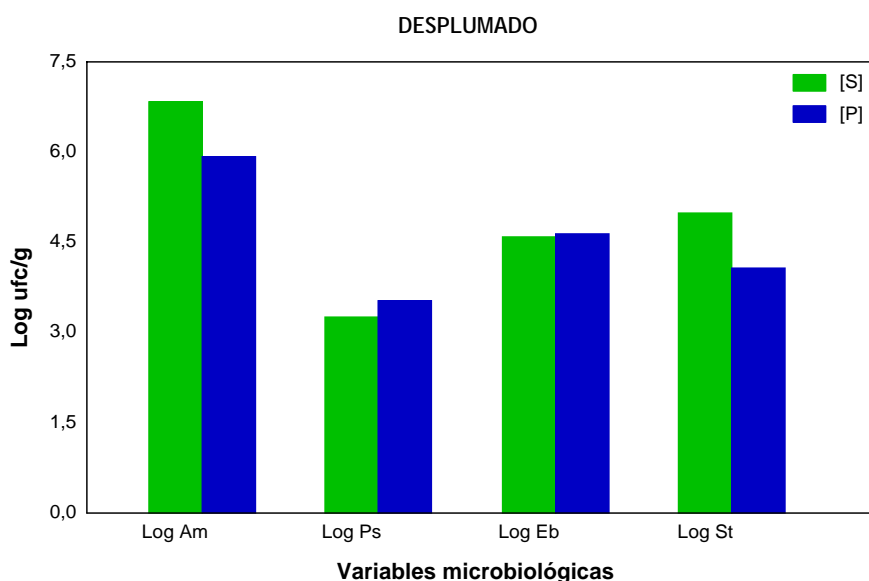


Figura 77. Contaminación (Am, Ps, Eb, St) inicial y final en la etapa de desplumado

Así, las variables microbiológicas indicadoras de una manipulación inadecuada experimentan incrementos significativos en las etapas de clasificado y eviscerado, ambas operaciones con un elevado nivel de manipulación por parte de los operarios. Por el contrario, las etapas en las que se produce una limpieza de la superficie de las canales, bien por desprendimiento de las plumas (desplumado) o por arrastre de resto de suciedad con agua a presión (ducha), se produjo una disminución significativa de la mayoría de los parámetros estudiados.

Como consecuencia de los estudios estadísticos realizados sobre los parámetros microbiológicos analizados para diferentes puntos de muestreo, los procesos de desplumado, eviscerado, ducha y clasificado debían ser considerados puntos de control del proceso. Sin embargo, las etapas de refrigerado en túnel de oreo y embarquetado, no son puntos de control en los sistemas de verificación del proceso, aunque deben ser incluidas dentro de los Planes Generales de Higiene, ya que en éstos deben monitorizarse factores como la temperatura, el tiempo, la limpieza y desinfección o las condiciones adecuadas de manipulación.

## FACTORES DE INTERVENCIÓN

De acuerdo con el planteamiento propuesto, a continuación se procede al estudio de cada una de las etapas de la cadena de producción para establecer qué factores influyen de forma significativa sobre la calidad higiénica de las canales.

Según el planteamiento experimental, las condiciones de la canal en el punto final de cada etapa son consecuencia tanto de lo que ha ocurrido durante ese proceso como de las condiciones en las que se encontraba el producto en el inicio de la etapa. Las variables microbiológicas del punto final son conjuntamente las características microbiológicas que definen al pollo procesado. Por tanto, la variable múltiple final  $VM_{[final]}$ , que podría denominarse “características microbiológicas finales”, debe ser función de las variables microbiológicas en el punto inicial  $VM_{[inicial]}$  y de los factores físicos y de manipulación del producto y del proceso.

Especial importancia tiene, en este caso, la Regresión Múltiple, que valora la relación entre una variable dependiente y diversas variables independientes.

De acuerdo con este planteamiento, se presenta como objetivo encontrar ecuaciones que expresen los “pesos” de cada una de las variables, con los cuales se podrá decidir qué variables han de ser tenidas en cuenta en el sistema de control.

Se han ensayado diferentes posibilidades de ecuaciones de regresión. Para ello se han escogido como variables independientes, por separado, las variables microbiológicas en el punto inicial ( $\text{Log } Am_{[inicial]}$ ,  $\text{Log } Ps_{[inicial]}$ ,  $\text{Log } Eb_{[inicial]}$ ,  $\text{Log } St_{[inicial]}$ ), las variables físicas del producto y del proceso, y por último se han tomado los dos conjuntos unidos para comprobar si mejoraban las ecuaciones de regresión.

En las tablas A2-4 a A2-27 (apéndice 2) se recogen los modelos de correlación múltiples para los diferentes parámetros microbiológicos del producto clasificado en función de los parámetros microbiológicos antes del clasificado y los factores físicos del producto y del proceso, lo que permite la relación más inmediata de estos caracteres con la microbiología final del producto. Se incluyen los coeficientes de correlación múltiple (R) obtenidos para cada ecuación, así como los coeficientes de regresión asociados a cada variable independiente.

Como variables dependientes se tomaron: el  $\text{Log } VM_{[final]}$ , como parámetro que define las características de la canal al final de cada etapa y el  $(\pm)\text{Log } |(VM_{[final]} - VM_{[inicial]})|$ , como parámetro que define el efecto de la propia etapa.

Por otro lado, para calcular la importancia de las variables de manipulación estudiadas en cada una de las etapas, se realizó:

- el test de la  $t$  de Student para grupos de muestras independientes cuando las variables microbiológicas presentaron una distribución normal para grupo de muestras obtenido, o
- la prueba U de Mann-Whitney cuando tal distribución no fue normal.

La distribución normal de los datos se comprobó previamente mediante el test de Kolmogorov-Smirnov sobre las variables microbiológicas para cada grupo de muestras.

### Embarquetado

Las canales llegan a la cámara de refrigeración [C] desde la sala de despiece. A continuación pasan a la sala de embarquetado donde se vuelcan en un cajón de acero desde el cual son tomadas por los operarios para colocarse adecuadamente en una barqueta, con la pechuga hacia arriba y las alas y las patas recogidas, generalmente con una gomilla. Así se colocan en la cinta transportadora que pasa por la máquina envasadora, son envueltas en un film y, a continuación se etiquetan. Por último pasan a la cámara de conservación de canales a la espera de su expedición.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa fueron el tiempo ( $t$ , min.), la temperatura ambiental ( $T_a$ , °C) y la humedad ambiental ( $H_m$ , %), como factores del proceso, y la temperatura de la canal ( $T_p$ , °C) y el pH de la canal ( $pH$ , unidades de pH), como factores de producto.

Además, se consideraron las siguientes variables de manipulación: el "descanso" ( $D_s$ ), el "engomillado" ( $E_g$ ), los "guantes" ( $G_u$ ) y el "volcado en cajón" ( $C_j$ ). A estos factores de manipulación fueron seleccionados por criterios basados en la observación y la experiencia:

- 1 hora antes ( $D_s=a$ ) o 1 hora después ( $D_s=d$ ) del descanso de los operarios. Después del descanso los operarios se deben lavar las manos y ponerse guantes nuevos, y además, su labor será más eficiente precisamente porque han descansado. Antes del descanso los operarios llevan más tiempo trabajando, están más cansados y sus guantes tienen más suciedad acumulada.
- Los operarios embarquetan los productos con guantes de látex que se cambian cada vez que van a cambiar de producto a embarquetar. Por ello,

se ha realizado la siguiente clasificación: llevan un tiempo con los mismos guantes se codifica Gu=No, y cuando se ponen los guantes nuevos, bien porque cambian de producto o bien porque lo hayan hecho por indicación nuestra para que embarqueten nuestras muestras, se codifica Gu=Sí.

- Las canales, una vez que llegan a la sala de embarquetado, se vuelcan sobre un cajón de acero junto con otras canales o se dejan en las cajas azules de plástico en las que vienen. Con lo cual, cuando se vuelcan y se mezclan en el cajón con más canales (a veces, incluso se mezclan canales europeas con españolas) Cj=Sí, y cuando se dejan en las cajas de plástico Cj=No.
- Las canales, cuando se van a embarquetar, se engomillan (Eg=Sí) o no (Eg=No). El engomillado consiste en atar las alas y muslos con una gomilla, esto lleva algo de más manipulación que si no se engomilla.

Muchas de estas determinaciones se han realizado en el punto inicial y final del clasificado. Por lo tanto, el número total de variables medidas son:

- Variables microbiológicas: Log Am<sub>[C]</sub>, Log Am<sub>[E]</sub>, Log Ps<sub>[C]</sub>, Log Ps<sub>[E]</sub>, Log Eb<sub>[C]</sub>, Log Eb<sub>[E]</sub>, Log St<sub>[C]</sub>, Log St<sub>[E]</sub>
- Variables físicas: t, Ta<sub>[C]</sub>, Ta<sub>[E]</sub>, Hm<sub>[C]</sub>, Hm<sub>[E]</sub>, Tp<sub>[C]</sub>, Tp<sub>[E]</sub>, pH<sub>[C]</sub>, pH<sub>[E]</sub>
- Variables de manipulación: Ds, Gu, Cj, Eg

A partir de los datos recogidos, se obtuvieron diferentes ecuaciones de regresión (Tablas A2-4 a A2-7).

Para la variable Am, las ecuaciones, cuya variable dependiente fue Log Am<sub>[E]</sub>, siempre mejoraron con respecto a las obtenidas cuando la variable dependiente se trataba de  $(\pm)\text{Log} |\Delta(\text{Am})|$  (Tabla A2-4). Las ecuaciones obtenidas con la variable dependiente Log Am<sub>[E]</sub> se muestran a continuación:

$$\text{Log Am}_{[E]} = 0.903\text{Log Am}_{[C]} - 0.004\text{Log Ps}_{[C]} - 0.068\text{Log Eb}_{[C]} + 0.053\text{Log St}_{[C]}$$

$$\text{Log Am}_{[E]} = -0.260\text{Ta}_{[C]} + 0.581\text{Ta}_{[E]} + 0.499\text{Hm}_{[C]} - 0.408\text{Hm}_{[E]} - 0.131\text{Tp}_{[C]} - 0.096\text{Tp}_{[E]} - 0.160\text{pH}_{[C]} - 0.175\text{pH}_{[E]} - 0.295t$$

$$\text{Log Am}_{[E]} = 0.029\text{Ta}_{[C]} + 0.332\text{Ta}_{[E]} + 0.295\text{Hm}_{[C]} - 0.096\text{Hm}_{[E]} - 0.377\text{Tp}_{[C]} + 0.279\text{Tp}_{[E]} - 0.013\text{pH}_{[C]} - 0.111\text{pH}_{[E]} + 0.065t + 0.789\text{Log Am}_{[C]} - 0.003\text{Log Ps}_{[C]} - 0.073\text{Log Eb}_{[C]} - 0.123\text{Log St}_{[E]}$$

Los coeficientes de correlación múltiples para cada una de las ecuaciones anteriores fueron  $R=0.890$ ,  $R=0.717$  y  $R=0.932$  respectivamente. En las tres ecuaciones los contrastes ANOVA presentaron niveles de significación  $p<0.01$ . Se observa que en esta etapa los factores que presentan una influencia más importante sobre la contaminación por Am final son:  $\text{Log Am}_{[C]}$ ,  $\text{Ta}_{[E]}$  y  $\text{Hm}_{[C]}$ . Éstos presentaron coeficientes de regresión significativos ( $p<0.05$ ) y con una relación directa sobre la variable dependiente, es decir, una contaminación inicial elevada da lugar a niveles también elevados de ésta en el punto final, y cuando la temperatura y la humedad ambiente aumenta, la contaminación por Am también aumenta.

La contaminación por Ps en el punto final de esta etapa está relacionada con la contaminación inicial debida a este mismo microorganismo, con un coeficiente de regresión significativo ( $p<0.01$ )  $\beta=0.602$ . En cuanto a las variables físicas incluidas en la ecuación, fue la temperatura del producto en el punto inicial  $\text{Tp}_{[C]}$  la que presentó el coeficiente de regresión más elevado. Las mejores ecuaciones de regresión (con ANOVA significativo  $p<0.05$ ) se obtuvieron cuando la variable introducida como variable dependiente fue  $\text{Log Ps}_{[E]}$ , obteniéndose valores de R aproximados a 0.7 (Tabla A2-5).

Las ecuaciones obtenidas para la variable dependiente Eb no resultaron significativas (MANOVA  $p<0.05$ ), excepto cuando las variables independientes fueron las variables microbiológicas en el punto inicial. En este caso, el  $\text{Log Eb}_{[C]}$  fue la variable independientes que presentó los valores más altos de coeficiente de regresión ( $\beta$ ), con un nivel de significación  $p<0.01$ . Éstos coeficientes presentaron signo positivo para la relación con  $\text{Log Eb}_{[E]}$  y negativo para la relación con  $(\pm)\text{Log}|\Delta\text{Eb}|$ , es decir, cuanto mayor es la carga microbiana inicial, menor es el incremento (Tabla A2-6).

Con la variable dependiente  $\text{Log St}_{[E]}$  se obtuvieron las ecuaciones con mejor coeficiente de correlación  $R=0.89$ ,  $R=0.93$  y  $R=0.93$ , para cada uno de los bloques de variables independientes estudiados (Tabla A2-7):

$$\begin{aligned} \text{Log St}_{[E]} &= - 0.013\text{Log Am}_{[C]} + 0.004\text{Log Ps}_{[C]} + 0.135\text{Log Eb}_{[C]} + 0.879\text{Log St}_{[C]} \\ \text{Log St}_{[E]} &= - 0.291\text{Ta}_{[C]} - 0.167\text{Ta}_{[E]} + 0.407\text{Hm}_{[C]} + 0.186\text{Hm}_{[E]} - 1.047\text{Tp}_{[C]} + 0.656\text{Tp}_{[E]} - \\ &\quad 0.131\text{pH}_{[C]} - 0.062\text{pH}_{[E]} - 0.656t \\ \text{Log St}_{[E]} &= - 0.218\text{Ta}_{[C]} - 0.085\text{Ta}_{[E]} + 0.283\text{Hm}_{[C]} + 0.321\text{Hm}_{[E]} - 0.997\text{Tp}_{[C]} + 0.702\text{Tp}_{[E]} - \\ &\quad 0.194\text{pH}_{[C]} + 0.053\text{pH}_{[E]} - 0.418t + 0.009\text{Log Am}_{[C]} + 0.107\text{Log Ps}_{[C]} + 0.081\text{Log Eb}_{[C]} \\ &\quad + 0.145\text{Log St}_{[E]} \end{aligned}$$

Se observa que las variables independientes que más influyen sobre las características microbiológicas finales de la canal, en cuanto a St, son el tiempo, y las condiciones ambientales medidas, tales como humedad y temperatura. Los coeficientes de dichas variables presentaron siempre coeficientes significativos con  $p < 0.05$ .

A continuación se evaluó la normalidad de cada una de las variables dependientes para cada grupo de muestras de las variables de manipulación (Ds (a/d), Gu (S/N), Cj (S/N), Eg (S,N)). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 15 que recoge los valores de  $|D_{\max}|$  del Test de Kolmogorov-Smirnov. Se observa que en la mayoría de los casos las variables no presentaron una distribución normal ( $p < 0.05$ ), excepto las variables Log Ps<sub>[E]</sub> y Log Eb<sub>[E]</sub> que presentaron una distribución normal con  $p > 0.05$ .

Tabla 15. Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $|D_{\max}|$ )

Variable	Grupos							
	Descanso		Guantes		Cajón		Engomillado	
	a	d	S	N	S	N	S	N
Log Am <sub>[E]</sub>	0.245**	0.083	0.143	0.208**	0.256**	0.104	0.197**	0.142
Log Ps <sub>[E]</sub>	0.120	0.126	0.156	0.093	0.085	0.089	0.097	0.110
Log Eb <sub>[E]</sub>	0.097	0.116	0.128	0.070	0.153	0.063	0.064	0.107
Log St <sub>[E]</sub>	0.218**	0.161*	0.188	0.234**	0.284**	0.170**	0.189**	0.221*
(±)Log  ΔAm	0.254**	0.290**	0.297**	0.265**	0.334**	0.287**	0.272**	0.327**
(±)Log  ΔPs	0.240**	0.252**	0.281**	0.227**	0.292**	0.242**	0.238**	0.250**
(±)Log  ΔEb	0.252**	0.266**	0.302**	0.270**	0.300**	0.276**	0.267**	0.276**
(±)Log  ΔSt	0.144	0.271**	0.215*	0.170**	0.227**	0.159**	0.158**	0.248**

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

A continuación se procedió a comprobar, mediante diferentes test de significación, si las variables de manipulación estudiadas daban lugar a diferencias significativas entre los distintos grupos de muestras establecidos. En la Tabla 16 se observa que no existen diferencias significativas entre los grupos de muestras comparados, excepto para la variable Log Am<sub>[E]</sub> que presenta medias significativamente ( $p < 0.05$ ) más grandes antes del descanso (a) que después de éste (d), también se obtienen medias significativamente ( $p < 0.05$ ) más elevadas para este parámetro microbiológico cuando los operarios no se pusieron guantes nuevos comparado con el grupo de operarios que sí se pusieron guantes nuevos, y por último, el pollo engomillado dio lugar a valores de Log Am<sub>[E]</sub> significativamente más altos que cuando el pollo era embarquetado sin gomilla. Las variables Log Ps<sub>[E]</sub> y  $(\pm)\text{Log } |\Delta\text{Am}|$  presentan diferencia significativa entre echar las canales en el cajón y no echarlas, produciéndose incrementos de Am con signo (+) cuando las muestras eran volcadas en el cajón y con signo (-) cuando las muestras no eran volcadas en éste.

Tabla 16. Niveles de significación (p) del test *t*-Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para las variables independiente descanso, guantes, cajón y engomillado.

Variable dependiente	Descanso (a/d)	Guantes (S/N)	Cajón (S/N)	Engomillado (S/N)
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Am} $	0.326	0.911	0.041	0.832
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Ps} $	0.215	0.649	0.892	0.485
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Eb} $	0.533	0.697	0.660	0.317
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{St} $	0.054	0.382	0.421	0.430
Log Am <sub>[E]</sub>	0.042	0.042	0.335	0.012
Log Ps <sub>[E]</sub>	0.681	0.308	0.015	0.065
Log Eb <sub>[E]</sub>	0.091	0.470	0.252	0.966
Log St <sub>[E]</sub>	0.205	0.592	0.115	0.459

### Clasificado

Las canales llegan a la sala de clasificado tras el enfriamiento en túnel de oreo. Allí son clasificadas, de forma semiautomática, en función del peso y del destino (pollos de primera: destinado a su venta como pollo entero; pollos de segunda: destinados al proceso en despiece). A continuación, tras el etiquetado de las cajas (peso y datos de trazabilidad), éstas con las canales en su interior pasan a la cámara de conservación de canales.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa fueron el tiempo (t,



min.), la temperatura ambiental ( $T_a$ , °C) y la humedad ambiental ( $H_m$ , %) como factores del proceso, y la temperatura de la canal ( $T_p$ , °C), el pH de la canal (pH, unidades de pH) y el peso de ésta (Kg) como factores de producto.

También se tuvieron en cuenta, como factores de manipulación del proceso, el factor “descanso” ( $D_s$ ) y el factor “pollo español” ( $P_e$ ). Éstos presentan respuestas del tipo sí/no:

- 1 hora antes ( $D_s=a$ ) o 1 hora después ( $D_s=d$ ) del descanso de los operarios. Descrito en la etapa anterior.
- Con pollo español ( $P_e=Sí$ ) o sin éste ( $P_e=No$ ). Las canales europeas, cuando van acompañadas, en la cadena transportadora, por canales españolas, pueden estar más contaminadas, ya que la canal española lleva patas, cabeza y parte de sus vísceras, aportando más suciedad a las canales que la acompañan y dando lugar a contaminaciones cruzadas.

El número total de variables medidas fueron:

- Variables microbiológicas:  $\text{Log } A_{m[T]}$ ,  $\text{Log } A_{m[C]}$ ,  $\text{Log } P_{s[T]}$ ,  $\text{Log } P_{s[C]}$ ,  $\text{Log } E_{b[T]}$ ,  $\text{Log } E_{b[C]}$ ,  $\text{Log } S_{t[T]}$ ,  $\text{Log } S_{t[C]}$
- Variables físicas:  $t$ , Peso,  $T_{a[T]}$ ,  $T_{a[C]}$ ,  $H_{m[T]}$ ,  $H_{m[C]}$ ,  $T_{p[T]}$ ,  $T_{p[C]}$ ,  $pH_{[C]}$
- Variables de manipulación:  $D_s$ ,  $P_e$

En el caso de la variable  $A_m$ , las ecuaciones de regresión obtenidas siempre mejoraron cuando se incluyeron en el bloque de variables independientes los factores microbiológicos del producto inicial y los factores físicos de producto y de proceso (Tabla A2-8). Especialmente, se obtiene el mejor coeficiente de correlación  $R=0.8$  para la ecuación:

$$(\pm) \text{Log } |\Delta A_m| = -0.070T_{a[T]} - 0.309T_{a[C]} + 0.192H_{m[T]} - 0.069H_{m[C]} + 0.296T_{p[T]} - 0.301T_{p[C]} - 0.102pH_{[C]} - 0.456\text{Peso} - 0.078t - 0.769\text{Log } A_{m[T]} + 0.223\text{Log } P_{s[T]} + 0.192\text{Log } E_{b[T]} + 0.127\text{Log } S_{t[T]}$$

En esta ecuación se observa que la variable que más influye sobre la variable dependiente estudiada, con un coeficiente de regresión ( $\beta=-0.769$ ) significativo ( $p<0.01$ ), es la propia contaminación inicial de las canales por  $A_m$ . La

relación en este caso es en sentido inverso, es decir, cuando la contaminación inicial por Am es más elevada, el incremento de la contaminación ocurrido es menor.

En las ecuaciones de regresión obtenidas para la variable microbiológica Ps (Tabla A2-9), se puede comprobar que los coeficientes de correlación múltiple obtenidos (R) son similares para todas las variables dependientes tenidas en cuenta, y éste, de nuevo mejora cuando se tienen en cuenta todas las variables independientes a la vez. En esta ocasión, son las variables físicas  $Hm_{[C]}$  y  $Ta_{[C]}$  las que presentan coeficientes de regresión más elevados, poniéndose de manifiesto la importancia de los procesos, llevados a cabo bajo temperaturas de refrigeración, sobre la contaminación por Ps. De nuevo, la variable microbiológica inicial Ps es la que más influye en la contaminación de las canales tras la etapa. No obstante, el ANOVA realizado en el estudio de regresión, únicamente fue significativo ( $p < 0.05$ ) cuando el bloque de variables independientes eran los parámetros microbiológicos en el punto inicial.

El estudio de la contaminación microbiológica por Eb en el clasificado dió lugar a ecuaciones de regresión en las que la variable independiente que más "peso" ejercía sobre la contaminación final de la canal fue la propia contaminación inicial por este microorganismo (Tabla A2-10). Las canales que parten con mayores niveles de contaminación por Eb dan lugar a canales con un elevado nivel de contaminación por este microorganismo pero el incremento producido en la etapa es menor que cuando se parte de niveles de contaminación más bajos.

El estudio del comportamiento de St en función del resto de variables estudiadas fue el que dio lugar a ecuaciones de regresión con coeficientes de correlación (R) más elevados, sobre todo siempre que dentro de las variables independientes se encontraban los parámetros microbiológicos iniciales del proceso (Tabla A2-11). Se deben destacar en este estudio las siguientes ecuaciones de regresión ( $R=0.876$  y  $R=0.877$  respectivamente):

$$\begin{aligned} \text{Log } St_{[C]} &= 0.049\text{Log } Am_{[T]} + 0.005\text{Log } Ps_{[T]} - 0.054\text{Log } Eb_{[T]} + 0.883\text{Log } St_{[T]} \\ \text{Log } St_{[C]} &= 0.055Ta_{[T]} + 0.000Ta_{[C]} - 0.050Hm_{[T]} + 0.133Hm_{[C]} + 0.013Tp_{[T]} + 0.265Tp_{[C]} + \\ & 0.067pH_{[C]} + 0.009\text{Peso} + 0.067t - 0.062\text{Log } Am_{[T]} + 0.103\text{Log } Ps_{[T]} - 0.101\text{Log } Eb_{[T]} \\ & + 0.821\text{Log } St_{[T]} \end{aligned}$$

Las variables independientes que tienen mayor influencia sobre la contaminación final y la variación producida por  $St$ , con un nivel de significación  $p < 0.01$ , son la propia contaminación inicial debida a este microorganismo. Los parámetros físicos, humedad y temperatura del producto tras el clasificado ( $Hm_{[C]}$ ,  $Tp_{[C]}$ ) presentaron altos coeficientes de regresión ( $\beta$ ) pero no significativos. Además la relación siempre fue directa, es decir, cuando dichas variables independientes aumentan la variable dependiente también aumenta.

A continuación, se realizó un estudio comparativo con las variables de manipulación. El test de normalidad realizado para las variables microbiológicas  $\text{Log } (VM)_{[C]}$  y  $(\pm)\text{Log } |(VM_{[C]} - VM_{[T]})|$  en cada grupo de manipulación propuesto (a/d, S/N) resultó significativo ( $p < 0.05$ ) en todos los casos, es decir, distribución no normal. Por lo tanto se realizó la prueba U de Mann-Whitney para comprobar el posible efecto de las variables de manipulación sobre la contaminación durante y tras la etapa de clasificado. En la tabla 17 se recogen los niveles de significación ( $p$ ) obtenidos en la prueba realizada. Se observa que no existe diferencia significativa entre los diferentes grupos de muestras.

Tabla 17. Niveles de significación ( $p$ ) de la Prueba U de Mann-Whitney para las variables independiente descanso y pollo español

Variable dependiente	Descanso (a/d)	Pollo Español (S/N)
$(\pm)\text{Log }  \Delta Am $	0.514	0.994
$(\pm)\text{Log }  \Delta Ps $	0.828	0.111
$(\pm)\text{Log }  \Delta Eb $	0.805	0.501
$(\pm)\text{Log }  \Delta St $	0.562	0.824
$\text{Log } Am_{[C]}$	0.109	0.611
$\text{Log } Ps_{[C]}$	0.233	0.063
$\text{Log } Eb_{[C]}$	0.756	0.165
$\text{Log } St_{[C]}$	0.694	0.908

### Túnel de oreo

Las canales, tras la descontaminación en la ducha, comienzan la "zona limpia" del proceso, es decir, realizada a bajas temperaturas. La primera etapa de ésta zona es el refrigerado en túnel de oreo dinámico, en el que las canales pasan, en movimiento, alrededor de 100 minutos para disminuir la temperatura de las canales hasta 4-10 °C.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa fueron el tiempo (t, min), la temperatura ambiental (Ta, °C), la temperatura del túnel de oreo (Tt, °C) y la humedad ambiental (Hm, %) como factores del proceso, y la temperatura de la canal (Tp, °C), el pH de la canal (pH, unidades de pH) y el peso de ésta (Kg) como factores de producto.

Esta es una fase en la se pretende disminuir la temperatura de las canales con el fin de mantener los niveles de contaminación microbiana obtenidos tras la descontaminación en la ducha, por lo tanto, no existen factores de manipulación, únicamente se consideró si las canales iban acompañadas o no por pollo español (Pe=S/Pe=N).

Muchas de estas determinaciones se han realizado en el punto inicial y final del clasificado. Por lo tanto, el número total de variables medidas fueron:

- Variables microbiológicas: Log Am<sub>[L]</sub>, Log Am<sub>[T]</sub>, Log Ps<sub>[L]</sub>, Log Ps<sub>[T]</sub>, Log Eb<sub>[L]</sub>, Log Eb<sub>[T]</sub>, Log St<sub>[L]</sub>, Log St<sub>[T]</sub>
- Variables físicas: t, Peso, Tt, Ta<sub>[L]</sub>, Ta<sub>[T]</sub>, Hm<sub>[L]</sub>, Hm<sub>[T]</sub>, Tp<sub>[L]</sub>, Tp<sub>[T]</sub>, pH<sub>[L]</sub>, pH<sub>[T]</sub>
- Variables de manipulación: Pe

A continuación se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple en el que obtuvieron las diferentes ecuaciones de regresión (Tablas A2-12 a A2-15).

Para la variable microbiológica Am, las ecuaciones de regresión con las que se obtuvieron mejores resultados fueron (R=0.62 y R=0.79 respectivamente) (Tabla A2-12):

$$(\pm) \text{Log } |\Delta\text{Am}| = - 0.520\text{Log } Am_{[L]} - 0.072\text{Log } Ps_{[L]} + 0.112\text{Log } Eb_{[L]} - 0.219\text{Log } St_{[L]}$$

$$(\pm) \text{Log } |\Delta\text{Am}| = - 0.222Ta_{[L]} - 0.033Ta_{[T]} + 0.120Hm_{[L]} - 0.142Hm_{[T]} + 0.091Tt + 0.143Tp_{[L]} + 0.185Tp_{[T]} - 0.037pH_{[L]} - 0.171pH_{[T]} - 0.002\text{Peso} - 0.217t - 0.448\text{Log } Am_{[L]} - 0.184\text{Log } Ps_{[L]} + 0.350\text{Log } Eb_{[L]} - 0.358\text{Log } St_{[L]}$$

En ambas ecuaciones se observa que  $\text{Log Am}_{[L]}$  presentó los coeficientes de regresión más altos ( $\beta = -0.520$  y  $-0.448$  respectivamente) y estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ).

Para comprobar la importancia de los factores medidos sobre la contaminación final de Ps y sobre el incremento de éste mismo microorganismo en la etapa de túnel de oreo, las ecuaciones de regresión que presentaron mejores coeficientes de correlación fueron aquellas en las que se introdujeron como variables independientes tanto los factores físicos como las variables microbiológicas en el punto inicial [L] (Tabla A2-13). A continuación se muestran ambas ecuaciones con  $R = 0.78$  y  $R = 0.79$  respectivamente:

$$\begin{aligned} \text{Log Ps}_{[T]} = & 0.124\text{Ta}_{[L]} - 0.075\text{Ta}_{[T]} - 0.312\text{Hm}_{[L]} - 0.632\text{Hm}_{[T]} + 0.307\text{Tt} - 0.075\text{Tp}_{[L]} + \\ & 0.391\text{Tp}_{[T]} - 0.192\text{pH}_{[L]} - 0.266\text{pH}_{[T]} + 0.625\text{Peso} - 0.130\text{t} + 0.445\text{Log Am}_{[L]} - \\ & 0.073\text{Log Ps}_{[L]} - 0.456\text{Log Eb}_{[L]} - 0.121\text{Log St}_{[L]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Ps}| = & 0.163\text{Ta}_{[L]} - 0.140\text{Ta}_{[T]} - 0.079\text{Hm}_{[L]} - 0.557\text{Hm}_{[T]} + 0.373\text{Tt} - 0.092\text{Tp}_{[L]} - \\ & 0.178\text{Tp}_{[T]} - 0.272\text{pH}_{[L]} + 0.051\text{pH}_{[T]} + 0.293\text{Peso} + 0.075\text{t} + 0.230\text{Log Am}_{[L]} - \\ & 0.597\text{Log Ps}_{[L]} - 0.384\text{Log Eb}_{[L]} + 0.300\text{Log St}_{[L]} \end{aligned}$$

Se observa que las variables físicas y microbiológicas que más influyen en la contaminación final de las canales por Ps y en el incremento de dicho microorganismo durante la etapa de refrigerado en túnel de oreo son: la humedad final ( $\text{Hm}_{[T]}$ ), el peso de las canales, la temperatura del túnel de oreo (Tt) (poniéndose de manifiesto la importancia de factores como la temperatura sobre la contaminación por microorganismos psicrótrofos), la contaminación inicial por Eb ( $\text{Log Eb}_{[L]}$ ) y Am ( $\text{Log Am}_{[L]}$ ) y la contaminación inicial por Ps ( $\text{Log Ps}_{[L]}$ ).

Dentro de las ecuaciones obtenidas para el estudio de Eb, se observa, en la Tabla A2-14, que cuando la variable dependiente considerada era  $\text{Log Eb}_{[T]}$ , se obtuvieron mejores ecuaciones de regresión. Concretamente cuando las variables microbiológicas, en el punto inicial, eran incluidas en el bloque de variables independientes. Siendo mejorada cuando el bloque de variables independientes está formado por las variables microbiológicas iniciales y las variables físicas. Las ecuaciones obtenidas se describen a continuación ( $R = 0.523$  y  $R = 0.781$  respectivamente)

$$\begin{aligned} \text{Log Eb}_{[T]} &= 0.096\text{Log Am}_{[L]} + 0.069\text{Log Ps}_{[L]} + 0.447\text{Log Eb}_{[L]} - 0.225\text{Log St}_{[L]} \\ \text{Log Eb}_{[T]} &= - 0.002\text{Ta}_{[L]} - 0.143\text{Ta}_{[T]} - 0.059\text{Hm}_{[L]} - 0.144\text{Hm}_{[T]} + 0.054\text{Tt} + 0.333\text{Tp}_{[L]} + \\ & 0.005\text{Tp}_{[T]} + 0.010\text{pH}_{[L]} - 0.237\text{pH}_{[T]} + 0.220\text{Peso} - 0.284\text{t} + 0.160\text{Log Am}_{[L]} + \\ & 0.198\text{Log Ps}_{[L]} + 0.513\text{Log Eb}_{[L]} - 0.169\text{Log St}_{[L]} \end{aligned}$$

En ambas ecuaciones, la variable independiente más importante fue la propia contaminación inicial de este microorganismo en la superficie de las canales.

Las ecuaciones obtenidas cuando la variable dependiente considerada era  $\text{Log St}_{[T]}$  presentaron coeficientes de correlación elevados ( $R=0.8$ ), siendo la contaminación inicial por St la variable independiente cuyo coeficiente de regresión fue significativo ( $p<0.05$ ) (Tabla A2-15):

$$\begin{aligned} \text{Log St}_{[T]} &= - 0.187\text{Log Am}_{[L]} + 0.031\text{Log Ps}_{[L]} + 0.144\text{Log Eb}_{[L]} + 0.813\text{Log St}_{[L]} \\ \text{Log St}_{[T]} &= - 0.333\text{Ta}_{[L]} + 0.052\text{Ta}_{[T]} - 0.248\text{Hm}_{[L]} + 0.103\text{Hm}_{[T]} + 0.068\text{Tt} + 0.190\text{Tp}_{[L]} + \\ & 0.108\text{Tp}_{[T]} - 0.136\text{pH}_{[L]} - 0.240\text{pH}_{[T]} + 0.165\text{Peso} - 0.051\text{t} - 0.145\text{Log Am}_{[L]} + \\ & 0.099\text{Log Ps}_{[L]} + 0.064\text{Log Eb}_{[L]} + 0.657\text{Log St}_{[L]} \end{aligned}$$

A continuación se realizaron pruebas para comparar medias entre grupos independientes con el fin de comprobar si existía diferencia significativa, en cuanto a la contaminación microbiológica superficial, entre el grupos de canales acompañados por pollo español y los no acompañados. La distribución de los datos siempre tuvo un comportamiento no normal excepto para las variables  $\text{Log Am}_{[T]}$  y  $\text{Log Eb}_{[T]}$  en ambos grupos de muestras (S/N). Los resultados obtenidos tras realizar la comparación de las muestras se muestran en la Tabla 18:

Tabla 18. Niveles de significación (p) del test *t*-Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para la variable de manipulación pollo español (Pe)

Variable dependiente	Pollo Español (S/N)
(±)Log  ΔAm	0.022
(±)Log  ΔPs	0.627
(±)Log  ΔEb	0.757
(±)Log  ΔSt	0.073
Log Am <sub>[T]</sub>	0.009
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.243
Log Eb <sub>[T]</sub>	0.005
Log St <sub>[T]</sub>	0.002

Se observa que las medias de las variables microbiológicas Am, Eb y St tras el túnel de oreo fueron significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) cuando las canales estaban acompañadas por canales españolas. Lo mismo ocurre para la variable (±)Log |ΔAm|.

Por lo tanto, la contaminación superficial de las canales durante y tras el túnel de oreo se ve influenciada por la presencia de canales españolas en la cadena de transporte, esto, muy probablemente, es debido a que las canales españolas entran a el túnel con una temperatura interior mucho más elevada que las canales europeas (que han pasado por más máquinas con duchas de agua fría en el proceso de eviscerado automático), dando lugar a una mayor dificultad para disminuir la temperatura de todas las canales durante el proceso de refrigeración y, así, produciéndose condiciones más adecuadas para el crecimiento microbiano y las contaminaciones cruzadas entre canales.

### Ducha

Tras el proceso de eviscerado, las canales deben ser lavadas por dentro y por fuera antes de comenzar la parte del proceso realizada a bajas temperaturas (“zona limpia”). Este lavado se realiza en una ducha con agua potable a presión a través de la cual pasan las canales.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa fueron el tiempo (t, min), la temperatura ambiental (Ta, °C), la temperatura del agua de ducha (TH<sub>2</sub>O, °C) y la humedad ambiental (Hm, %) como factores del proceso, y la temperatura de la canal (Tp, °C), como factores de producto.

La ducha es una etapa en la que no se realiza manipulación por parte de los operarios, aunque se ha considerado la variable “pollo español” como factor de manipulación de esta etapa ( $Pe=S$ ,  $Pe=N$ ). Además, se midieron otros factores relacionados con la propia ducha, pero éstos serán estudiados con más detalle en el capítulo cuarto de los resultados de esta memoria.

Las determinaciones realizadas son las siguientes:

- Variables microbiológicas:  $\text{Log } Am_{[G]}$ ,  $\text{Log } Am_{[L]}$ ,  $\text{Log } Ps_{[G]}$ ,  $\text{Log } Ps_{[L]}$ ,  $\text{Log } Eb_{[G]}$ ,  $\text{Log } Eb_{[L]}$ ,  $\text{Log } St_{[G]}$ ,  $\text{Log } St_{[L]}$
- Variables físicas:  $t$ ,  $TH_2O$ ,  $Ta$ ,  $Hm$ ,  $Tp_{[G]}$ ,  $Tp_{[L]}$
- Variables de manipulación:  $Pe$

Los resultados obtenidos tras la aplicación de técnicas de regresión para el estudio de la contaminación por  $Am$  muestran que, en esta ocasión, las ecuaciones en las que la variable dependiente fue  $(\pm)\text{Log } |\Delta Am|$  fueron las que presentaron mejores coeficientes de correlación ( $R \approx 0.8$ ), sobre todo aquellas en las que las variables microbiológicas en el punto inicial de la etapa formaban parte de las variables independientes (Tabla A2-16). A continuación se detallan dichas ecuaciones:

$$(\pm)\text{Log } |\Delta Am| = - 0.747\text{Log } Am_{[G]} + 0.002\text{Log } Ps_{[G]} - 0.055\text{Log } Eb_{[G]} + 0.068\text{Log } St_{[G]}$$

$$(\pm)\text{Log } |\Delta Am| = - 0.064Ta + 0.051Hm - 0.071TH_2O + 0.149Tp_{[G]} + 0.000Tp_{[L]} + 0.035t - 0.847\text{Log } Am_{[G]} + 0.080\text{Log } Ps_{[G]} + 0.144\text{Log } Eb_{[G]} + 0.129\text{Log } St_{[G]}$$

En las ecuaciones se observa que la variable independiente que más influye sobre el incremento de la contaminación por  $Am$  es la propia contaminación inicial, en la superficie de las canales, por este microorganismo ( $\text{Log } Am_{[G]}$ ), con coeficientes de regresión significativos ( $p < 0.05$ ).

Para el estudio de  $Ps$  en la ducha (Tabla A2-17), las variables físicas que más influyen sobre el incremento del recuento microbiano por  $Ps$  son la temperatura de las canales y la temperatura del agua. En cuanto a las variables microbiológicas independientes, la contaminación inicial por  $Ps$  es la que está más relacionada con el incremento de ésta bacteria de forma significativa ( $p < 0.05$ ). A continuación se detalla la ecuación que resultó mejor, con un coeficiente de correlación múltiple  $R = 0.71$ :



$$(\pm)\text{Log } |\Delta\text{Ps}| = - 0.189\text{Ta} - 0.152\text{Hm} - 0.414\text{TH}_2\text{O} + 0.256\text{Tp}_{[G]} - 0.265\text{Tp}_{[L]} + 0.032\text{t} + 0.192\text{Log Am}_{[G]} - 0.399\text{Log Ps}_{[G]} - 0.188\text{Log Eb}_{[G]} + 0.043\text{Log St}_{[G]}$$

Para comprobar qué variable independiente de las medidas tiene mayor importancia sobre la contaminación microbiológica, del proceso y final, por Eb, se obtuvieron diferentes ecuaciones de regresión (Tabla A2-18), de las cuales, las que incluían las variables microbiológicas iniciales en el bloque de variables independientes, y las relacionaban con  $(\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}|$ , fueron las que dieron lugar a coeficientes de correlación altos (R=0.9):

$$\begin{aligned} (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}| &= 0.113\text{Log Am}_{[G]} - 0.105 \text{LogPs}_{[G]} - 0.985\text{Log Eb}_{[G]} + 0.066\text{Log St}_{[G]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}| &= - 0.040\text{Ta} + 0.008\text{Hm} + 0.042\text{TH}_2\text{O} + 0.079\text{Tp}_{[G]} - 0.058\text{Tp}_{[L]} + 0.007\text{t} + 0.071\text{Log Am}_{[G]} - 0.073\text{Log Ps}_{[G]} - 0.967\text{Log Eb}_{[G]} + 0.062\text{Log St}_{[G]} \end{aligned}$$

En ambas ecuaciones la variable que presentó coeficiente de regresión significativo ( $p < 0.01$ ) fue  $\text{Log Eb}_{[G]}$ , es decir, su propia contaminación inicial. En cuanto a las variables físicas, fue la temperatura de la canal la que presentó coeficientes de regresión más elevado, siendo éste significativo en las ecuaciones en las que la variable dependiente fue  $\text{Log Eb}_{[L]}$  obtenidas (Tabla A2-18).

La variable dependientes  $\text{LogSt}_{[L]}$  está relacionada con su propia contaminación inicial y principalmente con las variables físicas relacionadas con la temperatura del producto y del proceso (Tabla A2-19). Las ecuaciones con coeficientes de correlación múltiples más elevados fueron las siguientes (R=804, R=630 y R=848 respectivamente):

$$\begin{aligned} (\pm)\text{Log } |\Delta\text{St}| &= - 0.199\text{Log Am}_{[G]} - 0.108 \text{LogPs}_{[G]} + 0.197\text{Log Eb}_{[G]} + 0.553\text{Log St}_{[G]} \\ \text{Log St}_{[L]} &= - 0.305\text{Ta} + 0.029\text{Hm} + 0.518\text{TH}_2\text{O} - 0.314\text{Tp}_{[G]} + 0.089\text{Tp}_{[L]} - 0.129\text{t} \\ \text{Log St}_{[L]} &= - 0.245\text{Ta} - 0.076\text{Hm} + 0.396\text{TH}_2\text{O} - 0.267\text{Tp}_{[G]} - 0.133\text{Tp}_{[L]} - 0.213\text{t} - 0.199\text{Log Am}_{[G]} - 0.108\text{Log Ps}_{[G]} + 0.197\text{Log Eb}_{[G]} + 0.553\text{Log St}_{[G]} \end{aligned}$$

Por último, se comprobó si la presencia de pollo español en la cadena de producción durante el proceso de lavado con ducha daba lugar a diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en cuanto a las variables microbiológicas estudiadas. Previo al test de significación se evaluó la normalidad de los datos, obteniéndose que la distribución de todos los grupos fue no normal, excepto para la distribución de la variable  $\text{LogEb}_{[L]}$  en ambos grupos de muestras (con y sin pollo español). En la Tabla 19 se muestran los niveles de significación ( $p$ ) obtenidos al realizar las pruebas no paramétricas antes mencionadas y las paramétricas en su caso:

Tabla 19. Niveles de significación ( $p$ ) de la Prueba U de Mann-Whitney y el test  $t$ -Student, en su caso, para la variables de manipulación pollo español (Pe)

Variable dependiente	Pollo Español (S/N)
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Am} $	0.198
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Ps} $	0.113
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{Eb} $	0.855
$(\pm)\text{Log }  \Delta\text{St} $	0.085
$\text{Log Am}_{[T]}$	0.005
$\text{Log Ps}_{[T]}$	0.140
$\text{Log Eb}_{[T]}$	0.010
$\text{Log St}_{[T]}$	0.012

De nuevo se obtiene que tras la etapa de ducha, la contaminación superficial por Am, Eb y St es significativamente mayor cuando las canales van acompañadas por pollo español en la cadena. Por tanto la presencia de canales españolas, con parte de sus vísceras en el interior, con patas y cabeza y con una temperatura más alta, influye en el nivel de contaminación con el que las canales salen de la ducha.

### Eviscerado

Las canales llegan a la sala de eviscerado tras el desplumado en la peladora [P]. En esta sala realizan una serie de procesos (rajado de la cloaca, arranque de la cabeza, corte de las patas, eviscerado automático, obtención del hígado y las mollejas, extracción del buche, obtención del cuello, limpieza interna por succión y colgado en la cadena que se dirige al lavado en la ducha [G]) para la obtención de las canales completamente evisceradas.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa fueron el tiempo ( $t$ , min.), la temperatura ambiental ( $T_a$ , °C) y la humedad ambiental ( $H_m$ , %) como factores del proceso, y la temperatura de la canal ( $T_p$ , °C) como factores de producto.

También se tuvieron en cuenta, como factores de manipulación del proceso, los factores "descanso" ( $D_s$ ), "ducha extractora" ( $D_e$ ), "pollo acumulado" ( $P_a$ ), "guantes" ( $G_u$ ) y "espalda/pechuga" ( $E_p$ ). A estos factores de manipulación se les ha asignado una puntuación arbitraria, con criterios basados en la observación y la experiencia:

- 1 hora antes ( $D_s=a$ ) o 1 hora después ( $D_s=d$ ) del descanso de los operarios. Descrito anteriormente.
- Con llave de ducha abierta ( $D_e=S$ ) o sin ella ( $D_e=N$ ). En la extractora de buches existe una ducha que limpia las canales con agua a presión. La llave que controla esta ducha se puede abrir y cerrar.
- Pollo acumulado ( $P_a=S$ ) o no acumulado ( $P_a=N$ ). Tras la verificadora (limpieza interior por succión), las canales caen, por una rampa, hasta una cinta transportadora de donde dos o tres operarios las cogen para colgarlas en la cadena que continúa hacia la ducha. En ocasiones, las canales se acumulan en la cinta transportadora, dando lugar a un aumento de las posibles contaminaciones cruzadas.
- Con guantes ( $G_u=S$ ) o sin éstos ( $G_u=N$ ). Los operarios antes mencionados unas veces llevan guantes y otras no los llevan.
- Éstos operarios cuelgan las canales, en la cadena transportadora, cogiéndolas por la espalda ( $E_p=e$ ) o por la pechuga ( $E_p=p$ ).

Las determinaciones realizadas son las siguientes:

- Variables microbiológicas:  $\text{Log } A_{m[P]}$ ,  $\text{Log } A_{m[G]}$ ,  $\text{Log } P_{s[P]}$ ,  $\text{Log } P_{s[G]}$ ,  $\text{Log } E_{b[P]}$ ,  $\text{Log } E_{b[G]}$ ,  $\text{Log } S_{t[P]}$ ,  $\text{Log } S_{t[G]}$
- Variables físicas:  $t$ ,  $T_{a[P]}$ ,  $T_{a[G]}$ ,  $H_{m[P]}$ ,  $H_{m[G]}$ ,  $T_{p[P]}$ ,  $T_{p[G]}$
- Variables de manipulación:  $D_s$ ,  $D_e$ ,  $P_a$ ,  $G_u$ ,  $E_p$

Las ecuaciones obtenidas para los factores medidos en la etapa de eviscerado con respecto a  $A_m$  resultaron con valores de coeficientes de correlación medios (Tabla A2-20). Aquellas ecuaciones en las que la variable dependiente fue  $\text{Log } A_{m[G]}$  dieron lugar a coeficientes de correlación algo más

elevados. A continuación se recogen dichas ecuaciones:

$$\text{Log Am}_{[G]} = 0.411\text{Log Am}_{[P]} - 0.020\text{Log Ps}_{[P]} - 0.110\text{Log Eb}_{[P]} + 0.187\text{Log St}_{[P]}$$

$$\text{Log Am}_{[G]} = 0.423\text{Ta}_{[P]} - 0.281\text{Ta}_{[G]} + 0.346\text{Hm}_{[P]} + 0.079\text{Hm}_{[G]} + 0.006\text{Tp}_{[P]} - 0.020\text{Tp}_{[G]} - 0.410t$$

$$\text{Log Am}_{[G]} = 0.439\text{Ta}_{[P]} - 0.334\text{Ta}_{[G]} + 0.349\text{Hm}_{[P]} + 0.040\text{Hm}_{[G]} + 0.030\text{Tp}_{[P]} + 0.047\text{Tp}_{[G]} - 0.426t + 0.009\text{Log Am}_{[P]} + 0.005\text{Log Ps}_{[P]} - 0.048\text{Log Eb}_{[P]} + 0.371\text{Log St}_{[P]}$$

Cuando las variables dependientes estaban formadas por el bloque de las variables microbiológicas en el punto inicial del eviscerado ([P]), el  $\text{Log Am}_{[P]}$ , con coeficiente de regresión significativo ( $p < 0.01$ ), fue la variable con mayor “peso” sobre la variable dependiente  $\text{Log Am}_{[G]}$ . Cuando las variables independientes estaban formadas por el bloque de factores físicos, la  $\text{Ta}_{[P]}$ , la  $\text{Hm}_{[P]}$  y el tiempo fueron las variables más importantes de la ecuación de regresión, con coeficientes de regresión significativos ( $p < 0.05$ ). Cuando ambos bloques (variables microbiológicas en el punto inicial y factores físicos) fueron incluidos como variables independientes, de nuevo la  $\text{Ta}_{[P]}$  y el tiempo presentaron coeficientes de regresión significativos ( $p < 0.05$ ) y en esta ocasión la variable microbiológica inicial que más influyó sobre la variable dependiente estudiada fue  $\text{Log St}_{[P]}$ .

Para calcular las variables o factores que más importancia tienen sobre la contaminación por Ps en la etapa de eviscerado (Tabla A2-21), las ecuaciones obtenidas con coeficientes de correlación (R) más adecuados fueron, de nuevo, aquellas en las que la variables dependiente fue  $\text{Log Ps}_{[G]}$ :

$$\text{Log Ps}_{[G]} = 0.064\text{Log Am}_{[P]} + 0.315\text{Log Ps}_{[P]} + 0.176\text{Log Eb}_{[P]} - 0.200\text{Log St}_{[P]}$$

$$\text{Log Ps}_{[G]} = 0.121\text{Ta}_{[P]} - 0.294\text{Ta}_{[G]} - 0.163\text{Hm}_{[P]} + 0.184\text{Hm}_{[G]} - 0.338\text{Tp}_{[P]} + 0.514\text{Tp}_{[G]} - 0.109t$$

$$\text{Log Ps}_{[G]} = 0.038\text{Ta}_{[P]} - 0.276\text{Ta}_{[G]} - 0.192\text{Hm}_{[P]} + 0.170\text{Hm}_{[G]} - 0.229\text{Tp}_{[P]} + 0.368\text{Tp}_{[G]} - 0.123t - 0.010\text{Log Am}_{[P]} + 0.142\text{Log Ps}_{[P]} + 0.206\text{Log Eb}_{[P]} - 0.130\text{Log St}_{[P]}$$

En las ecuaciones expuestas, se observa que las variables independientes que más influyen en la contaminación final por Ps son la propia contaminación inicial y la  $T^a$  del producto.

Cuando se evaluó la contaminación por Eb en el eviscerado (Tabla A2-22), las mejores ecuaciones de regresión obtenidas fueron las siguientes ( $R=0.70$ ,  $R=0.61$ ,  $R=0.75$ ):

$$\begin{aligned} \text{Log Eb}_{[G]} &= 0.149\text{Log Am}_{[P]} + 0.012\text{Log Ps}_{[P]} + 0.607\text{Log Eb}_{[P]} - 0.081\text{Log St}_{[P]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}| &= 0.153\text{Ta}_{[P]} - 0.055\text{Ta}_{[G]} - 0.236\text{Hm}_{[P]} + 0.077\text{Hm}_{[G]} - 0.330\text{Tp}_{[P]} + 0.510\text{Tp}_{[G]} - \\ & 0.207t \\ \text{Log Eb}_{[G]} &= 0.321\text{Ta}_{[P]} - 0.122\text{Ta}_{[G]} + 0.131\text{Hm}_{[P]} + 0.080\text{Hm}_{[G]} - 0.097\text{Tp}_{[P]} + 0.170\text{Tp}_{[G]} - \\ & 0.227t - 0.018\text{Log Am}_{[P]} + 0.028\text{Log Ps}_{[P]} + 0.522\text{Log Eb}_{[P]} + 0.070\text{Log St}_{[P]} \end{aligned}$$

Los resultados son similares a los obtenidos con la contaminación por Ps, siendo la  $T^a$  del producto y la contaminación por Eb en el punto inicial las variables independientes que presentaron coeficientes de regresión significativos ( $p<0.01$ ).

En el caso de la contaminación por St se obtuvieron ecuaciones de regresión con coeficientes de correlación más elevados (Tabla A2-23). Las ecuaciones más relevantes fueron aquellas en las que las variables microbiológicas en el punto inicial formaban parte del bloque de variables independientes:

$$\begin{aligned} \text{Log St}_{[G]} &= -0.199\text{Log Am}_{[P]} + 0.182\text{Log Ps}_{[P]} + 0.045\text{Log Eb}_{[P]} + 0.943\text{Log St}_{[P]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{St}| &= -0.405\text{Log Am}_{[P]} + 0.441\text{Log Ps}_{[P]} + 0.174\text{Log Eb}_{[P]} + 0.673\text{Log St}_{[P]} \\ \text{Log St}_{[G]} &= -0.006\text{Ta}_{[P]} + 0.013\text{Ta}_{[G]} + 0.131\text{Hm}_{[P]} - 0.104\text{Hm}_{[G]} - 0.026\text{Tp}_{[P]} + 0.052\text{Tp}_{[G]} + \\ & 0.045t - 0.259\text{Log Am}_{[P]} + 0.210\text{Log Ps}_{[P]} + 0.023\text{Log Eb}_{[P]} + 0.969\text{Log St}_{[P]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{St}| &= -0.224\text{Ta}_{[P]} + 0.220\text{Ta}_{[G]} + 0.109\text{Hm}_{[P]} - 0.395\text{Hm}_{[G]} - 0.209\text{Tp}_{[P]} + 0.478\text{Tp}_{[G]} + \\ & 0.162t - 0.360\text{Log Am}_{[P]} + 0.384\text{Log Ps}_{[P]} + 0.066\text{Log Eb}_{[P]} + 0.686\text{Log St}_{[P]} \end{aligned}$$

Los coeficientes de correlación correspondientes a estas ecuaciones fueron  $R=0.937$ ,  $R=0.760$ ,  $R=0.947$  y  $R=0.826$  respectivamente.

De nuevo la  $T^a$  del producto es un factor importante a tener en cuenta en la etapa de eviscerado, con coeficiente de regresión significativo ( $p<0.05$ ). En esta ocasión, además de la contaminación inicial por St, con el coeficiente de regresión más elevado, también resultaron significativos los coeficientes de regresión de  $\text{Log Am}_{[P]}$ ,  $\text{Log Ps}_{[P]}$  y de la humedad en el punto final ([G]).

A continuación se realizaron pruebas para comparar medias entre grupos independientes con el fin de comprobar si existía diferencia significativa, en cuanto a la contaminación microbiológica superficial, entre los grupos de muestras obtenidos a partir de las variables de manipulación. La distribución de los datos siempre tuvo un comportamiento no normal excepto para las variables Log Am<sub>[G]</sub>, Log Ps<sub>[G]</sub> (pero no en los grupos p/e correspondientes a la variable de manipulación Ep, cuya distribución no fue normal) y Log Eb<sub>[G]</sub> en todos los grupos de muestras obtenidos. Los resultados obtenidos tras realizar la comparación de las muestras se presenta en la Tabla 20:

Tabla 20. Niveles de significación (p) del test *t*-Student y la Prueba U de Mann-Whitney, en su caso, para las variables independiente descanso, ducha en extractora, pollo acumulado, guantes y espalda/pechuga.

Variable dependiente	Descanso (a/d)	Ducha extractora (S/N)	Pollo acumulado (S/N)	Guantes (S/N)	Espalda/pechuga (e/p)
(±)Log  ΔAm	0.687	0.005	0.170	0.792	0.488
(±)Log  ΔPs	0.073	0.046	0.615	0.728	0.277
(±)Log  ΔEb	0.602	0.000	0.727	0.502	0.084
(±)Log  ΔSt	0.928	0.548	0.024	0.625	0.676
Log Am <sub>[E]</sub>	0.695	0.000	0.250	0.630	0.133
Log Ps <sub>[E]</sub>	0.084	0.000	0.755	0.288	0.089
Log Eb <sub>[E]</sub>	0.045	0.000	0.825	0.593	0.074
Log St <sub>[E]</sub>	0.787	0.910	0.015	0.409	0.320

En la tabla 20 se observa que la ducha de la extractora de buches ejerce una gran influencia sobre las variables microbiológicas Am, Ps, y Eb, ya que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el grupo de muestras 'S' y 'N' para las variables antes mencionadas, obteniéndose en todos los casos que las medias para dichas variables fueron menores en el grupo 'S'. Esto pone de manifiesto la importancia del lavado con agua a presión que existe en determinadas máquinas del proceso, arrastrando la contaminación de la superficie de las canales.

Otra variable de manipulación que ha dado lugar a diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos de muestras comparados es la variable "pollo acumulado". St presentó medias significativamente mayores cuando se acumulaba el pollo en la cinta transportadora.

Entre los grupos 'antes' y 'después' del descanso se obtuvo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la variable Eb, siendo, en esta ocasión, la media de

'antes' del descanso más pequeña que la media 'después' del descanso. Probablemente esto sea debido a que en esta etapa tienen lugar diferentes procesos, realizados la mayoría de ellos con máquinas, que con el paso del tiempo van acumulando suciedad (al ser el proceso de eviscerado puede existir mayor contaminación fecal, y quizás por ello sea Eb la variable afectada).

### Desplumado

Las canales, tras el escaldado ([S]), entran en la peladora. En esta etapa, una máquina arranca las plumas, y al final, limpia con una ducha los restos de plumas y suciedad superficial que puedan tener dichas canales. En este punto ([P]) se obtienen las canales sin plumas listas para ser evisceradas.

Las determinaciones físicas realizadas en esta etapa se tomó el tiempo (t, min.), la temperatura ambiental (Ta, °C) y la humedad ambiental (Hm, %) como factores del proceso, y la temperatura de la canal (Tp, °C) como factor del producto.

Las determinaciones realizadas son las siguientes:

- Variables microbiológicas: Log Am<sub>[S]</sub>, Log Am<sub>[P]</sub>, Log Ps<sub>[S]</sub>, Log Ps<sub>[P]</sub>, Log Eb<sub>[S]</sub>, Log Eb<sub>[P]</sub>, Log St<sub>[S]</sub>, Log St<sub>[P]</sub>
- Variables físicas: t, Ta<sub>[S]</sub>, Ta<sub>[P]</sub>, Hm<sub>[S]</sub>, Hm<sub>[P]</sub>, Tp<sub>[S]</sub>, Tp<sub>[P]</sub>

En el estudio de la contaminación superficial por Am, destacan aquellas ecuaciones en las que la variable dependiente e el incremento de los recuentos de Am ((±)Log |ΔAm|) y las variables independientes estaban formadas por la contaminación microbiológica inicial o por éstas junto con las variables físicas estudiadas (Tabla A2-24). A continuación se muestran ambas ecuaciones:

$$(\pm)\text{Log } |\Delta\text{Am}| = - 0.993\text{Log } Am_{[S]} + 0.025\text{Log } Ps_{[S]} + 0.005\text{Log } Eb_{[S]} + 0.018\text{Log } St_{[S]}$$

$$(\pm)\text{Log } |\Delta\text{Am}| = 0.064Ta_{[S]} + 0.022Ta_{[P]} - 0.042Hm_{[S]} + 0.015Hm_{[P]} - 0.014Tp_{[S]} + 0.015Tp_{[P]} + 0.009t - 1.023\text{Log } Am_{[S]} - 0.000\text{Log } Ps_{[S]} + 0.005\text{Log } Eb_{[S]} + 0.033\text{Log } St_{[S]}$$

Los coeficientes de correlación fueron muy elevados, R=0.991 y R=0.994 respectivamente. En estas ecuaciones se observa que la variable que influye, de forma significativa (p<0.01), sobre el incremento por Am es, en ambos casos, la propia contaminación inicial.

En el caso de la contaminación por Ps (Tabla A2-25), las variables

independientes que ejercieron mayor influencia sobre la contaminación en el punto [P] fueron: la contaminación inicial por Am, Ps y St y la temperatura ambiente en el punto [S]. Por lo tanto, la contaminación superficial de las canales a la salida del escaldado influye sobre la contaminación de éstas tras el desplumado. Las ecuaciones resultantes se detallan a continuación:

$$\begin{aligned} \text{Log Ps}_{[P]} &= 0.486\text{Log Am}_{[S]} + 0.222\text{Log Ps}_{[S]} + 0.228\text{Log Eb}_{[S]} - 0.229\text{Log St}_{[S]} \\ \text{Log Ps}_{[P]} &= 0.958\text{Ta}_{[S]} - 0.274\text{Ta}_{[P]} - 0.234\text{Hm}_{[S]} + 0.124\text{Hm}_{[P]} - 0.064\text{Tp}_{[S]} - 0.089\text{Tp}_{[P]} - 0.094t \\ \text{Log Ps}_{[P]} &= -0.178\text{Ta}_{[S]} + 0.590\text{Ta}_{[P]} - 0.162\text{Hm}_{[S]} + 0.029\text{Hm}_{[P]} - 0.092\text{Tp}_{[S]} - 0.142\text{Tp}_{[P]} - \\ & 0.029t + 0.439\text{Log Am}_{[S]} + 0.195\text{Log Ps}_{[S]} + 0.177\text{Log Eb}_{[S]} - 0.166\text{Log St}_{[S]} \end{aligned}$$

El estudio realizado con Eb dio lugar a algunas ecuaciones de regresión con coeficientes de correlación medios ( $R=0.6$ ) (Tabla A2-26). Éstas ecuaciones se describen a continuación:

$$\begin{aligned} (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}| &= -0.091\text{Log Am}_{[S]} + 0.196\text{Log Ps}_{[S]} - 0.541\text{Log Eb}_{[S]} - 0.197\text{Log St}_{[S]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{Eb}| &= -0.385\text{Ta}_{[S]} + 0.437\text{Ta}_{[P]} - 0.104\text{Hm}_{[S]} + 0.025\text{Hm}_{[P]} - 0.093\text{Tp}_{[S]} - 0.112\text{Tp}_{[P]} + \\ & 0.097t - 0.019\text{Log Am}_{[S]} + 0.179\text{Log Ps}_{[S]} - 0.464\text{Log Eb}_{[S]} - 0.250\text{Log St}_{[S]} \end{aligned}$$

De nuevo, es la variable microbiológica en estudio en el punto inicial ([S]) la que está más relacionada, y de forma significativa ( $p<0.01$ ), con Eb.

Con St los resultados son similares a los obtenidos anteriormente con Eb, pero en esta ocasión los coeficientes de correlación son mucho más elevados (Tabla A2-27). La variable que tiene más "peso", sobre la contaminación final por St o sobre el incremento de St durante el desplumado, es la contaminación inicial por este mismo microorganismo con coeficientes de regresión significativos. Los coeficientes de correlación para las ecuaciones que se describen a continuación fueron  $R=0.909$ ,  $R=0.948$ ,  $R=0.915$  y  $R=0.943$  respectivamente:

$$\begin{aligned} \text{Log St}_{[P]} &= -0.043\text{Log Am}_{[S]} - 0.010\text{Log Ps}_{[S]} - 0.104\text{Log Eb}_{[S]} + 0.949\text{Log St}_{[S]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{St}| &= 0.028\text{Log Am}_{[S]} - 0.025\text{Log Ps}_{[S]} + 0.021\text{Log Eb}_{[S]} - 0.955\text{Log St}_{[S]} \\ \text{Log St}_{[P]} &= -0.109\text{Ta}_{[S]} + 0.124\text{Ta}_{[P]} - 0.134\text{Hm}_{[S]} + 0.035\text{Hm}_{[P]} - 0.067\text{Tp}_{[S]} + 0.019\text{Tp}_{[P]} - \\ & 0.122t - 0.041\text{Log Am}_{[S]} - 0.027\text{Log Ps}_{[S]} - 0.105\text{Log Eb}_{[S]} + 0.920\text{Log St}_{[S]} \\ (\pm)\text{Log } |\Delta\text{St}| &= 0.044\text{Ta}_{[S]} - 0.004\text{Ta}_{[P]} - 0.049\text{Hm}_{[S]} - 0.075\text{Hm}_{[P]} - 0.038\text{Tp}_{[S]} - 0.024\text{Tp}_{[P]} - \\ & 0.116t + 0.032\text{Log Am}_{[S]} + 0.022\text{Log Ps}_{[S]} - 0.027\text{Log Eb}_{[S]} - 0.922\text{Log St}_{[S]} \end{aligned}$$

Así, con el planteamiento inverso aplicado al estudio de la cadena de



producción, y mediante la aplicación de técnicas de regresión y de análisis múltiple de la varianza, se ha podido comprobar que la contaminación microbiológica inicial de cada microorganismo ejerce una influencia significativa sobre la contaminación final del mismo en cada etapa, al igual que los factores físicos “temperatura del producto” y “temperatura del proceso”.

En cuanto a los factores de manipulación, se ha determinado que “descanso”, “guantes”, “engomillado” y “cajón” ejercen un efecto significativo sobre la etapa de embarquetado, “presencia de pollo español” en las etapas de ducha y enfriamiento en túnel de oreo, y la “ducha de la extractora buches” y el “pollo acumulado” sobre la etapa de eviscerado.

Asimismo, se ha puesto de manifiesto que todas aquellas operaciones que implican un lavado externo de las canales con agua a presión (desplumado, extractora de buches y lavado tras eviscerado) suponen un efecto significativo en la reducción de la carga microbiana.

## SISTEMA CONCÉNTRICO DE CONTROL POR TÉCNICAS ESTADÍSTICAS MULTIVARIANTES. APLICACIÓN A LA LOCALIZACIÓN DE PELIGROS: *Listeria monocytogenes*<sup>(1)(2)</sup>

### PELIGRO: LISTERIA

El género *Listeria* está integrado dentro del denominado “grupo de bacilos no esporulados grampositivos”, y en su clasificación se incluyen seis especies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. Ivanovii* (patógena en animales), *L. seeligeri*, *L. welshimeri* y *L. grayi*.

La virulencia de estas especies es variable. *Listeria monocytogenes* (Lm) es la única considerada “patógena emergente” para el hombre, y desde 1980 se sabe que este patógeno está asociado a los alimentos. Es un microorganismo de forma bacilar, no esporulado, móvil, grampositivo, anaerobio facultativo y catalasa positivo, que crece bien a temperatura de refrigeración.

Lm es un germen oportunista que ataca grupos de riesgo como mujeres embarazadas, recién nacidos, personas inmunodeprimidas y ancianos. Se piensa que incluso bajos recuentos de esta bacteria pueden causar la enfermedad en personas susceptibles (Lorber, 1990; Farber y Peterkin, 1991). La listeriosis, enfermedad causada al consumir alimentos contaminados por dicha bacteria, produce trastornos tales como meningitis, septicemias, encefalitis, infección del sistema nervioso central, abortos e incluso la muerte.

Lm se encuentra en animales sanos, especialmente ganado vacuno, ovejas y aves. También se encuentra dispersa en el medio ambiente, en tierra y en agua, en forraje conservado en silos, y en el alcantarillado. La abundancia de esta bacteria en la naturaleza hace que pueda estar presente en una amplia variedad de alimentos como leche, quesos, productos cárnicos, aves, ensaladas, pescados, mariscos, por lo que su control presenta una especial dificultad. El alimento puede ser contaminado en cualquier fase de la cadena alimentaria: producción, procesado, distribución o preparación para el consumo, ya que Lm puede ubicarse

---

(1) Parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en Food Control (Escudero-Gilete et al., 2006)

(2) El estudio recogido en este capítulo fue realizado en el matadero SADA Toledo

en determinados sitios de ésta y constituir un foco de contaminación (*Moreno et al., 1992*).

### Desarrollo

Una de las principales características de *Lm* es el amplio rango de condiciones ambientales en la que es capaz de crecer y desarrollarse.

Autores como *Cheroutre-Vialette et al. (1998)* han realizado estudios sobre el efecto de la actividad del agua y la variación de pH sobre *Lm*. Otros como *Bovill et al. (2000)* y *Bréand et al. (1998)* han estudiado el efecto de la temperatura.

Esta bacteria es psicrotrófica y crece bien a temperaturas de refrigeración, incluso puede desarrollarse alrededor de los 0 °C, aunque también es capaz de resistir temperaturas de hasta 44 °C (*Junttila et al., 1988; Walker et al., 1990; Rodríguez, 1992*). Puede crecer a pH entre 4.4 y 9.6 (*Farber et al., 1989; Buchanan et al., 1993; Mendonca et al., 1994*), sin embargo, el rango de pH óptimo va desde pH neutro a ligeramente alcalino (*Pearson y Marth, 1990; Glass y Doyle, 1989*). También puede crecer sin problemas en concentraciones del 10% de ClNa, sobreviviendo a valores de hasta el 20-30% (*Rodríguez, 1992*).

Estos microorganismos se encuentran sobre todo en los ambientes y superficies húmedas, y menos frecuentemente en los secos (suelos, lugares donde se estanca el agua, cintas transportadoras que retienen residuos, máquinas cortadoras, esponjas, cepillos, equipos de refrigeración, etc.) (*Moreno et al., 1992*).

Se ha demostrado que la presencia de *Lm* está relacionada con la microflora de origen, donde el lactobacilo parece ser el que posee mayor efecto antilisterial (*Farber y Peterkin, 1991; Katla et al., 2002*).

Todos estos factores, junto con el tipo de industria, deben tenerse en cuenta para la implantación de sistemas de control tales como el HACCP (*Moreno et al., 1992*). Las recomendaciones del National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (*ICMSF, 1991*) dicen que los siguientes aspectos: diseño de la fábrica, del equipo y de los utensilios, control de los procesos, higiene del personal, limpieza y desinfección, control de materias primas e ingredientes, control del ambiente de la fábrica, control de la humedad, etc., deben ser revisados, en la industria alimentaria, para un adecuado control de *Lm*.

La unión de las bacterias a los alimentos o a las superficies de contacto del proceso alimentario da lugar a serios problemas higiénicos y a pérdidas económicas debido al deterioro que se produce (*Holah y Kearney, 1992; Mattila-Sandholm y Wirtanen, 1992; Carpentier y Cerf, 1993*). Además, cada vez es mayor el número de patógenos alimentarios asociados a superficies de contacto, y *Lm* es uno de ellos (*Farber y Peterkin, 1991*).

*Lm* es capaz de colonizar las superficies de contacto y formar *biofilms*, que son fuente de contaminación potencial para los productos alimentarios (*Cox et al., 1989; Spurlock y Zottola, 1991; Blackman y Frank, 1993; Ronner y Wong, 1993; Sammarco et al., 1997*).

Un biofilm es una matriz de células biológicamente activas y sustancias extracelulares en asociación, reversible o irreversible, con una superficie sólida que puede ser de acero inoxidable, aluminio, cristal, teflón, nylon, etc. (*Forsythe y Hayes, 2002*). El papel de la adhesión bacteriana a las superficies ha sido estudiado muy profundamente en diferentes habitats (*Costerton et al., 1987; Zottola y Sasahara, 1994*). Los microorganismos se depositan inicialmente en la superficie y más tarde consiguen adherirse, crecer y multiplicarse para formar colonias, gracias a la formación de polímeros orgánicos. Estas masas de células son lo suficientemente grandes para atrapar restos inorgánicos y orgánicos (como proteínas de la leche y de la carne), nutrientes y otros microorganismos, para conducir a la formación del biofilm microbiológico. El efecto de las proteínas sobre la adhesión de *Lm* a superficies es variable dependiendo de qué proteína se trate (*Meadows, 1971; Speers y Gilmour, 1985; Helke et al., 1993; Al-Makhlafi et al., 1995*).

La formación de biofilms sobre superficies en la industria del pollo y otras carnes ofrece problemas considerables de contaminación cruzada especialmente en salas de despique y refrigerado, y tras el procesado (*Ganesh Kumar y Anand, 1998*).

El pH y la temperatura de la superficie de contacto influyen en el grado de adhesión del microorganismo. El efecto del pH en el grado de adhesión de *Lm* fue demostrado por *Herald y Zottola (1988)*.

Las bacterias dentro de los biofilms se hacen más resistentes a los compuestos antimicrobianos. Algunos estudios demuestran que desinfectantes como el ácido peracético, el cloruro de mercurio y el formaldehído no tienen efecto sobre los biofilms (*Carpentier y Cerf, 1993*). Se sabe que *Lm* unida a superficies que contactan con alimentos aumenta su resistencia a desinfectantes

convencionales como los compuestos de amonio cuaternario (*Mustapha y Liewen, 1989; Frank y Koffi, 1990*). La reducida eficacia de estos agentes contra los biofilms es debida a la incapacidad de penetrar completamente en el mismo y a la variación de las condiciones medioambientales de la superficie de contacto (*Huang et al., 1995*). También se ha comprobado la resistencia de los biofilms bacterianos a diferentes antibióticos (*Nickel et al., 1985; Widmer et al., 1990; Anwar et al., 1992*). Incluso algunos estudios con bacterias patógenas alimentarias indican que la resistencia contra varios desinfectantes es mayor en biofilms antiguos (mas de 24 horas) que en biofilms recientes (*Anwar et al., 1990; Frank y Koffi, 1990; Lee y Frank, 1991; Wirtanen y Mattila-Sandholm, 1992*)

### Eliminación

Los biofilms en la industria alimentaria pueden ser eliminados por métodos físicos, químicos y, recientemente, por medios biológicos (*Ganesh Kumar y Anand, 1998*). Dentro de los métodos químicos, la aplicación de monolaurina a bajas concentraciones es letal para Lm (*Oh y Marshall, 1992; 1993a; b*). Más tarde, estos mismos autores (*Oh y Marshall, 1995*), demostraron que este compuesto combinado con un tratamiento de calor (65°C durante 5 minutos) destruye totalmente los biofilms de Lm. También la interacción entre monolaurina y ácidos orgánicos como el ácido acético produce la inhibición de Lm (*Oh y Marshall, 1994, 1996*). En el año 2003 investigadores de la Universidad de Texas anunciaron que el sulfato de calcio acidificado podía reducir drásticamente la presencia de Lm en las superficies de la industria e incluso prevenir su reaparición (*FoodlineWeb News archive, 2003*). Los métodos físicos utilizados son tratamientos térmicos, cuya temperatura y tiempo de aplicación varía según el tipo de alimento (leche, huevos, carne cruda, carnes curadas con sal, pollo, etc.), y tratamiento con radiaciones ionizantes (*Otero et al., 1992*). Los métodos biológicos son los más novedosos, *Ganesh Kumar y Anand (1998)* citan una gran variedad de ellos. Se puede destacar el efecto del "nisin" (péptido antimicrobial) que disminuye la incidencia de Lm sobre las superficies de contaminación (*Daeschel et al., 1992; Otero et al., 1992; Bower et al., 1995*). También se ha probado la aplicación de bacteriocinas sobre material de embalaje para el biocontrol de Lm en carnes (*Ming et al., 1997*) y la actividad de algunas bacterias ácidolácticas como *Lactobacillus sake*, que produce una bacteriocina capaz de inhibir el crecimiento de Lm (*De Martinis y Franco, 1998; Djenane et al., 2005*).

Para la eliminación de Lm de los alimentos envasados al vacío se utiliza la pasteurización post envasado, aplicando alta temperatura durante un corto período de tiempo.

Existen otros tratamientos que se aplican a las canales, tales como:

- Eliminación del pelo químicamente (*Belk, 2000*)
- Descontaminación química en forma de spray. Algunos compuestos químicos utilizados son: ácidos orgánicos (acético y láctico), el acetato sódico, y el lactato sódico; lactoferrina activado por pepsinas gástricas, dando lactoferrin B, que inhibe o inactiva bacterias patógenas (*Velásquez, 2002; Gonçalves et al., 2005*).
- La utilización de sales como el fosfato trisódico es también eficaz para la eliminación de Lm de las canales de pollo. Es importante tener en cuenta las concentraciones de fosfato trisódico utilizadas y las zonas de piel muestreadas en los protocolos de descontaminación desarrollados en el sistema de control (*Capita et al., 2000; 2001; 2002a; 2002c; 2003; Gonçalves et al., 2005*).

En la Unión Europea (EU) no está permitido el uso de productos descontaminantes sobre carne. Únicamente está permitido el lavado con agua potable (*Capita et al., 2002b; Gonçalves et al., 2005*).

## PROCEDIMIENTO: SISTEMA CONCÉNTRICO

Actualmente, las industrias alimentarias dedican gran parte de sus recursos a asegurar la calidad de los productos elaborados, especialmente en cuanto a la calidad higiénico-sanitaria, debido a las importantes pérdidas económicas derivadas de las alteraciones microbiológicas, tanto de los alimentos como de su efecto sobre la salud de los consumidores. Los riesgos microbiológicos están presentes a lo largo de toda la cadena de producción.

Todo esto hace necesarias la prevención y la reducción de riesgos mediante la aplicación de medidas de control, así como conocer, en este caso, la prevalencia de *Listeria monocytogenes* (Lm) en los diferentes puntos de la cadena de producción alimentaria, desde la materia prima hasta su consumo (*Vitas et al., 2004*).

Además, para garantizar la validez de los datos, es muy importante que tanto los conocimientos que se adquieran sobre el microorganismo y la cadena

productiva, así como las decisiones que se tomen a raíz de ellos, estén basados en estudios rigurosos. En este sentido, es fundamental la aplicación de técnicas estadísticas.

Así, se plantea la aplicación de una metodología de estudio “concéntrico”, sistemática, fácil, rápida y fundamentada en la toma de decisiones basadas en resultados estadísticos, que resulta de gran utilidad para la localización de peligros en un proceso alimentario. Se trata de llevar a cabo una secuencia de operaciones y estudios estadísticos consecutivos, que van encaminados a acotar el peligro hasta localizarlo en una determinada etapa u operación de la cadena productiva.

El sistema se ha aplicado al caso concreto de la localización de la potencial presencia de un foco de Lm en las diferentes etapas de un matadero de aves, para controlar la difusión del microorganismo.

### **Proceso industrial**

Como ya se ha detallado, la producción de carne de ave comprende las etapas de sacrificio, escaldado, pelado, eviscerado y clasificado. Posteriormente, las canales se mantienen en refrigeración a 4 °C durante un tiempo variable, hasta que son procesadas en despiece y envasadas. Todo este proceso ha sido sometido a evaluación.

### **Diseño experimental**

El diseño del sistema de control concéntrico se basa en las siguientes fases:

- I) *División inicial del proceso*: En función de un determinado criterio, se divide la cadena de producción en bloques homogéneos de etapas de elaboración. Se toman muestras antes y después de cada uno de los bloques establecidos para determinar el parámetro (peligro) seleccionado en el estudio.
- II) *Selección/Rechazo de etapas*: En función de los resultados obtenidos, y mediante decisiones basadas en el tratamiento estadístico de los datos, se descartan, es decir, se eliminan del estudio aquellas etapas incluidas en los bloques donde no se hayan obtenido resultados positivos.
- III) *División de los bloques seleccionados*: Se realiza una nueva división de aquellos bloques de operaciones que han sido seleccionados en la fase II, en las etapas que lo componen. Nuevamente, se toman muestras antes y después de cada uno de los bloques o etapas.
- IV) *Selección/Rechazo de etapas*: De manera análoga, se aplican técnicas estadísticas a los datos obtenidos para ir acotando las etapas de incidencia.

Esta secuencia de fases se realiza tantas veces como sea necesario, hasta obtener como resultado una sola etapa o bloque en la que se den resultados positivos, indicando el punto de inicio en la aparición del peligro en el alimento.

En el lugar y el momento de la toma de muestra, también se miden diferentes variables físicas que, posteriormente, se considerarán su relación con la posible presencia del peligro objeto de estudio.

### Análisis de las muestras

Los análisis realizados fueron:

#### *Análisis microbiológicos*

- *Listeria monocytogenes*: mediante el sistema miniVIDAS®. La técnica utilizada es VIDAS *Listeria monocytogenes* (LMO), que es una técnica cualitativa que permite la determinación específica del antígeno de Lm en los productos alimentarios y en las muestras de medio ambiente. Esta técnica discrimina Lm de las especies no patógenas, tales como *L. innocua*, a menudo presente en los productos alimenticios.

#### *Análisis físicos:*

- Temperatura ambiente: utilizando un termohigrómetro digital portátil HI-93640 de HANNA® instruments (Eibar, España)
- Humedad ambiental: mediante el uso del termohigrómetro digital portátil HI-93640 de HANNA® instruments (Eibar, España)
- Temperatura de la canal: con un termómetro de sonda digital ELTH de HANNA® instruments (Eibar, España)
- pH de la canal: utilizando un pHmetro de sonda portátil 00-507-05 con electrodo de pH de penetración 52-32, de CRISON® Strumenti (Modena, Italia).

### Tratamiento estadístico de datos

La toma de decisiones en la ejecución de este sistema concéntrico se llevó a cabo mediante técnicas estadísticas uni y multivariantes tales como el *Test Chi-cuadrado*, utilizado cuando las variables en estudio son dicotómicas (toman sólo dos valores: 0 ó 1, positivo ó negativo, etc.) y no se ajustan a una distribución normal. Esta técnica es utilizada para comprobar si las diferencias entre grupos de muestras son significativas ( $p < 0.05$ ). También se aplicó la *Regresión Logística*,



utilizada cuando la variable dependiente presenta una dicotomía (0-1) y las variables independientes son continuas (aunque también pueden no serlo). Éste es el caso de la predicción de la presencia (Y=1) o ausencia (Y=0) de una característica, en función de un conjunto de variables explicativas.

## **APLICACIÓN: LOCALIZACIÓN DE *Listeria monocytogenes***

La aplicación del procedimiento se realiza en dos fases (etapas). El objetivo de la primera fase del estudio es acotar a una zona más reducida el estudio para luego profundizar en esta zona. Para ello, se realiza un muestreo general de toda la planta con el que poder deducir, al final de esta fase, dentro de qué bloque o etapa de la planta se puede asegurar con suficiente certeza que se localiza el foco de Lm, y continuar con una segunda fase en la que se haga un seguimiento del microorganismo en cuestión, dentro de dicha etapa.

### **PRIMERA FASE**

#### **División inicial del proceso**

Tras una fase previa de observación y conocimiento de la cadena de producción, se dividió el matadero en dos grandes bloques:

- 1) Sacrificio, eviscerado, clasificado y refrigerado: etapas de obtención de canales de ave
- 2) Despiece y embarquetado: etapas de procesado de las canales

En el primer bloque se realiza la actividad propia del matadero: se recepcionan las aves en el muelle de vivos, pasan por el sacrificio, a continuación el escaldado y pelado, e inmediatamente después son evisceradas, clasificadas y refrigeradas en un túnel de refrigeración estático. En el segundo bloque continúa la cadena de producción con el despiece casi totalmente automático de aves, y envasado.

Los puntos de muestreo fueron [P], [T] y [D] (Figura 78). En esta fase se tomaron 90 muestras (correspondientes a 30 muestras en cada punto) durante 5 días. Cada una estuvo formada por piel de 6 canales o mezcla de despiece de distintas canales. En la Tabla 21 se recoge la descripción de las muestras.

Tabla 21. Punto de muestreo y descripción de la muestra. Primera fase

Punto muestreo	Descripción	nº muestras	Unidad muestral
[P]	canal a la salida de la peladora	30	piel de 6 canales/muestra
[T]	canal a la salida del túnel de oreo	30	piel de 6 canales/muestra
[D]	canal tras el despiece	30	mezcla despieces <sup>(1)</sup> /muestra

(1) carne de filete pechuga, piel de ala, carne de contramuslo sin hueso y sin piel, y piel de jamoncito

Las muestras se tomaron en condiciones asépticas y se introdujeron en bolsas de plástico estériles para ser inmediatamente trasladadas al laboratorio en el que se realizó su análisis microbiológico. En cada punto se midieron los parámetros físicos (Tª ambiente y del producto, humedad ambiental y pH del producto).

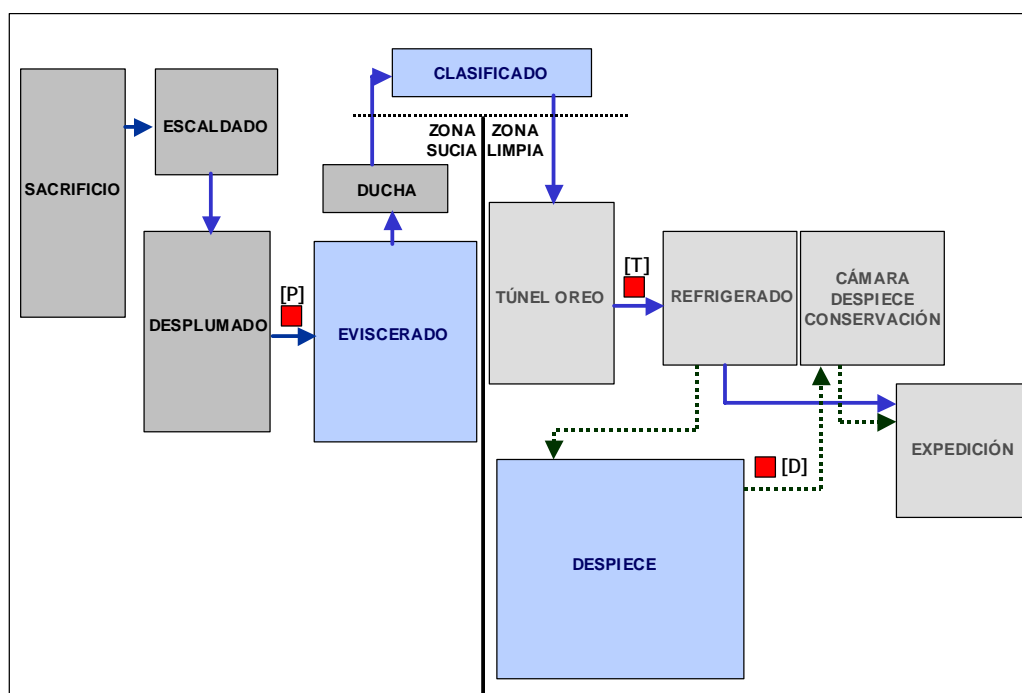


Figura 78. Esquema de los puntos de muestreo de la primera fase

En la Tabla 22 se muestra la frecuencia de presencia de Lm en los puntos estudiados en la cadena de producción, obteniéndose que un 28.8% del total de las muestras analizadas dieron resultados positivos. En el punto inicial de la cadena ([P], pollos recién desplumados), los análisis de todas las muestras dieron resultados negativos, lo que indica que dicho microorganismo no procedía de la superficie de las aves vivas, sino que se adquiere a lo largo del procesado en el

matadero. Sin embargo, en el siguiente punto estudiado ([T], tras el eviscerado, clasificado y refrigerado), se obtuvo un importante aumento en el porcentaje de resultados positivos (66.67%). Por último, tras el despiece [D], el porcentaje de resultados positivos fue sólo del 20%. Si se considera que la contaminación por *Lm* es a nivel superficial (Farber y Peterkin, 1991), este descenso en la frecuencia de casos positivos podría ser debido a que las muestras en este punto tienen un menor porcentaje de piel al estar formado por una mezcla de productos sin piel (carne de filetes de pechuga y contramuslos) y con piel (alas y jamoncitos).

Se observa una mayor frecuencia de casos positivos en aquellos puntos en los que la temperatura fue más baja. Concretamente, las muestras procedentes del punto [T], en el que la temperatura ambiental y del producto fue más baja, muestran el mayor porcentaje de *Lm* positivo. Esto podría ser debido a que a temperaturas medias existe una mayor presencia de microflora en el alimento, lo que supone una competencia para el desarrollo de *Lm* (Chasseignaux et al., 2002). Sin embargo, a temperaturas muy bajas, la microflora de origen es también baja y por tanto *Lm* tiene menos competencia para su mejor desarrollo. Por lo tanto, el crecimiento de *Lm* depende tanto de la temperatura ambiental como de la microflora inicial. Esta hipótesis es, además, apoyada por la naturaleza psicrotrófica de este microorganismo y su habilidad para unirse a las superficies y sobrevivir en ellas (Mafu et al., 1990a; Helke y Wong, 1994; Pearson y Marth, 1990; Maurice, 1994).

Tabla 22. Porcentaje de la presencia de *Listeria monocytogenes* y valor medio de los parámetros físicos medidos en los puntos estudiados en la primera fase

Variables	Puntos de toma de muestra		
	[P]	[T]	[D]
<i>Listeria monocytogenes</i> positivo (%)	0.00	66.70	20.00
Tª producto (°C)	42.86	2.86	10.01
pH producto (unidades pH)	6.24	6.17	6.07
Tª ambiente (°C)	21.03	5.59	18.90
Humedad ambiente (%)	77.97	64.05	62.75

Durante el despiece, en el que la temperatura ambiente fue elevada, debido a que en esa semana hubo problemas con el sistema de refrigeración, se observa una menor presencia de *Lm* que, probablemente, es debido a una menor existencia de piel en la muestra como ya se ha comentado, aunque también

influirá el aumento de la microflora (por el aumento de la temperatura) que compite con Lm.

En la Figura 79 se muestra la frecuencia de casos positivos de Lm a lo largo de cinco días consecutivos de muestreo. No se observan variaciones entre los distintos días, con la excepción del cuarto día, en el que se obtuvieron resultados negativos. Esto coincide precisamente con que ese día, a la salida del túnel hubo ausencia total de Lm y posteriormente, tras el despiece, siguió existiendo esta ausencia. Esto indica la influencia de los resultados en el punto [T] sobre los que se obtendrán en el punto [D].

Con estos resultados se podría concluir que la disminución de frecuencia de casos positivos de Lm en el despiece puede ser debida a que la muestra tiene parte de carne que no está contaminada, ya que el cuarto día, al tener tras el túnel, la piel no contaminada, tras el despiece la muestra de piel con carne sigue no contaminada.

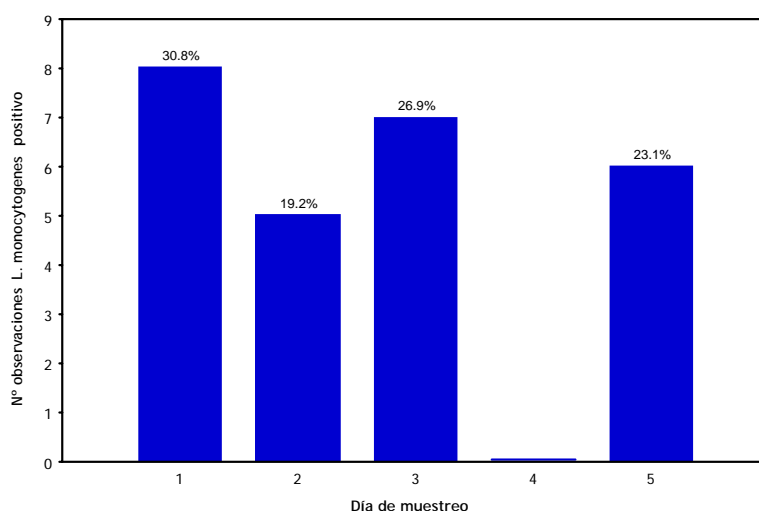


Figura 79. Presencia de *Listeria monocytogenes* los días de muestreo de la primera fase

### Selección/Rechazo de etapas

En el diseño del sistema concéntrico propuesto, la toma de decisiones seguras basadas en la aplicación de técnicas estadísticas de los datos es necesaria para seleccionar o rechazar las etapas. Así, para determinar la existencia de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en cuanto a la presencia de Lm entre los puntos de muestreo, se aplicó el test *Chi-cuadrado*. En la Tabla 23 se dan los valores de  $\chi^2$  y el nivel de significación ( $p$ ) para los diferentes pares de comparación. Se observan valores significativos ( $p < 0.01$ ) entre los diferentes pares de muestreo, siendo en sentido ascendente de frecuencia de casos positivos de Lm para los

pares [P]/[T] y [P]/[D] y en sentido descendente para [T]/[D].

Con estos resultados se puede afirmar que la aparición de Lm en las aves estudiadas ocurre en las etapas incluidas entre los puntos de muestreo [P] y [T], ya que a la salida de la peladora todos los resultados son negativos, mientras que tras el túnel de oreo se da un aumento significativo en la frecuencia de casos positivos. Por otro lado, las operaciones realizadas en la sala de despiece no suponen un aumento de casos positivos de Lm.

Por lo tanto, en base al diseño del sistema concéntrico propuesto, se selecciona como bloque de estudio para la segunda fase el grupo de operaciones comprendidas entre los puntos de muestreo [P] y [T], descartándose las etapas anteriores al desplumado y posteriores a la refrigeración en túnel de oreo.

Tabla 23. Test Chi-cuadrado para los puntos estudiados en la primera fase

Puntos	$\chi^2$	p
[P]/[T]	30.00	0.0000**
[T]/[D]	13.30	0.0003**
[P]/[D]	6.67	0.0098**

\*\*p<0.01

## SEGUNDA FASE

En esta fase, siguiendo el esquema o modelo concéntrico de estudio, y una vez acotada la zona del matadero, el objetivo fundamental es localizar la etapa que constituye el foco de dispersión del microorganismo, es decir, determinar en qué punto exactamente, previo a la salida del túnel de oreo y posterior a la peladora, aparece Lm.

### División de los bloques seleccionados

Las operaciones que engloban las etapas estudiadas en esta segunda fase llevan la siguiente secuencia: las canales, tras la peladora, cortapatatas, transferencia a la cadena limpia y decapitador, pasan a la sala de eviscerado en la que tienen lugar distintas etapas. En primer lugar, la canal pasa por la apertura de cloacas, la rajadora de cloacas y dobladora de cuellos. Luego una máquina realiza el eviscerado. A continuación una línea de operarios retira las vísceras y separa el hígado y el corazón de la molleja. La canal eviscerada pasa a la máquina que arrastra el cuello doblado, luego a la extractora de buches, a continuación se efectúa el lavado interior de la canal y el corte de la piel del cuello y,

posteriormente, pasa por una ducha con agua a presión y por la verificadora. Las canales se descuelgan de los ganchos que las conducen hasta este momento y caen por un canalón de recogida hasta una cinta transportadora. Una línea de operarios las recoge y las coloca en cajas, según su peso y destino. Una vez las canales son clasificadas en cajas, se introducen en el túnel de oreo estático, hasta alcanzar la temperatura de refrigeración (unos 4°C), tras lo cual, las cajas pasan a cámaras de refrigeración hasta su procesado o comercialización.

La zona de estudio (Figura 80) se dividió en diferentes bloques, tomando como puntos de muestreo [CC], [DC], [HM], [VR], [C] y [T]. En esta fase fueron analizadas 108 muestras (correspondientes a 18 muestras en cada punto) a lo largo de 3 días. Cada muestra estuvo formada por piel de pechuga de 6 canales. En la Tabla 24 se recoge la descripción de las muestras.

Tabla 24. Punto de muestreo y descripción de la muestra de producto. Segunda fase

Punto muestreo	Descripción	nº muestras	Unidad muestral
[CC]	canal a la salida del decapitador	18	piel de 6 canales/muestra
[DC]	canal a la salida del doblado de cuello	18	piel de 6 canales/muestra
[HM]	canal tras separar hígados y mollejas	18	piel de 6 canales/muestra
[VR]	canal tras la verificadora	18	piel de 6 canales/muestra
[C]	canal tras el clasificado	18	piel de 6 canales/muestra
[T]	canal a la salida del túnel de oreo	18	piel de 6 canales/muestra

En el punto de muestreo se midieron los parámetros físicos, se tomaron las muestras en condiciones asépticas y se introdujeron en bolsas de plástico estériles para ser trasladadas al laboratorio en el que se realizó su análisis microbiológico.

Por otro lado, se tomaron 12 muestras de las superficies de contacto implicadas para estudiar la relación con la presencia de Lm en el alimento. De esta manera, además, se evalúa la eficacia del sistema de limpieza, ya que la toma de muestra se llevó a cabo tras la limpieza de la sala, antes de comenzar la producción de cada día. Las muestras de superficie se tomaron de los siguientes puntos:

- máquina de apertura de cloaca
- soporte de la rajadora de cloaca
- rajadora de cloaca

- máquina de eviscerado automático
- ganchos
- verificadora
- canalón de recogida de canales descolgadas
- cinta transportadora de clasificado

En la Figura 80 se puede observar la localización, con respecto a los puntos de toma de muestras de productos, de la maquinaria cuya superficie fue muestreada.

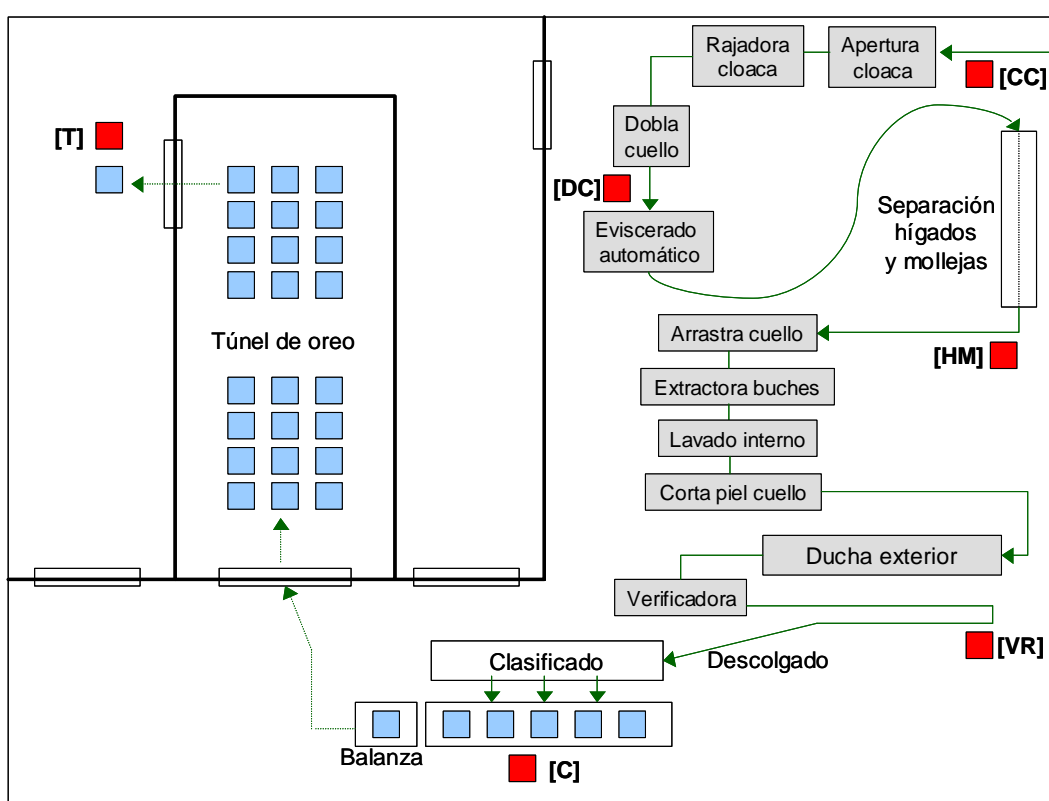


Figura 80. Esquema de los puntos de muestreo de producto de la segunda fase

Las muestras de superficie se tomaron con hisopos estériles y fueron inmediatamente trasladadas al laboratorio donde se realizó su análisis microbiológico.

En la Tabla 25 se muestran los resultados obtenidos en la segunda fase del estudio, en cuanto a la presencia de Lm así como los parámetros físicos, en los puntos seleccionados. Se observa que el 28% de las muestras de piel de canal analizadas dieron resultados positivos en la presencia de Lm. Hasta el momento en

que las canales son evisceradas, todos los resultados son negativos, lo que confirma la observación realizada en la primera fase, referida a la ausencia de Lm en superficie de las aves a la llegada al matadero. Tras esta etapa, la frecuencia de casos positivos va aumentando progresivamente: 11,1% en [HM], 22.2% en [VR] y 72.2% en [C]. Finalmente, estos niveles se mantienen en el túnel de oreo [T] (61.1%), debido a la naturaleza psicrotrofica del microorganismo.

Tabla 25. Segunda fase. Frecuencia y porcentaje de la presencia de *Listeria monocytogenes*, y valores medios de los parámetros físicos

Punto muestra	Lm positivo		T <sup>a</sup> producto (°C)	pH producto (unidades pH)	T <sup>a</sup> ambiente (°C)	Humedad ambiente (%)
	Nº Obs.	%				
[CC]	0	0.0	41.34	6.71	11.67	84.77
[DC]	0	0.0	41.23	6.53	9.73	92.11
[HM]	2	11.1	40.72	6.59	9.33	93.34
[VR]	4	22.2	39.17	6.58	7.59	93.79
[C]	13	72.2	38.40	6.64	7.54	88.82
[T]	11	61.1	4.95	6.33	3.22	81.28

Se observa una mayor frecuencia de positivos en los puntos en los que las temperaturas ambiental y del producto son más bajas, lo que coincide con datos obtenidos de la literatura (*Fernández y Blanco, 1992*). Además, como ya se citó en la fase anterior, se podría concluir que la microflora inicial a temperaturas bajas es menor y, por tanto, existe menos competencia entre Lm y otros microorganismos, dando lugar a un mejor desarrollo de Lm (*Chasseignaux et al., 2002*)

Los resultados obtenidos en el análisis de superficies fueron negativos, salvo en la verificadora (Figura 81a) y el canalón de recogida de canales descolgadas (Figura 81b), cuyos resultados fueron positivos. La ubicación de estas superficies coincide con los puntos de muestreo de canales en los que se dio un mayor aumento de la frecuencia de presencia de Lm ([VR] y [C]). Además, se pone de manifiesto la dificultad para hacer desaparecer, mediante sistemas de limpieza y desinfección, la contaminación de los equipos, posiblemente por la formación de biofilms (*Mustapha y Liewen, 1989; Anwar et al., 1990; Widmer et al., 1990; Lee y Frank, 1991; Anwar et al., 1992; Wirtanen y Mattila-Sandholm, 1992; Carpentier y Cerf, 1993*).





Figura 81. a) verificadora; b) Canalón de recogida de canales descolgadas

### Selección/Rechazo de etapas

Nuevamente, y con el objetivo de ir acotando las etapas de incidencia, se analizaron estadísticamente los datos obtenidos. Así, se realizaron comparaciones por parejas de puntos, mediante el Test *Chi-cuadrado*, para destacar diferencias significativas entre ellos, respecto a la variable ausencia/presencia de Lm. En la Tabla 26 se muestran los valores de  $\chi^2$  y el nivel de significación (p) para las diferentes parejas de puntos. En aquellos casos en que el valor de la  $\chi^2$  esperada fue menor de 5, se realizó un test exacto de *Fisher*.

El punto [CC] no se incluyó en el estudio por presentar resultados negativos (ausencia de Lm) en el 100% de los casos analizados, al igual que [DC], por lo que fue este último el que se consideró, a efectos del tratamiento estadístico, el punto inicial del estudio.

Como se observa en la Tabla 26, la variable Lm es capaz de discriminar entre los puntos [DC], [HM], [VR] y los puntos [C], [T] con niveles de significación  $p < 0.01$ . El valor de p es menor de 0.05 (diferencias significativas) entre [DC]/[VR] y [VR]/[T]. Sin embargo, los pares de puntos [DC]/[HM], [HM]/[VR] y [C]/[T] no difieren significativamente con respecto a la variable Lm. Se confirma así que la etapa diferenciadora en cuanto a la presencia de Lm es el clasificado, lo que coincide con la aparición de resultados positivos en las muestras de superficie.

Tabla 26. Test de la Chi-cuadrado para los puntos estudiados en la segunda fase

Puntos	$\chi^2$	p ( $\chi^2$ )	p (Fisher)
[DC]/[HM]	-	-	0.2429
[DC]/[VR]	-	-	0.0339*
[DC]/[C]	20.35	0.0000**	-
[DC]/[T]	15.84	0.0001**	-
[HM]/[VR]	-	-	0.3291
[HM]/[C]	13.83	0.0002**	-
[HM]/[T]	9.75	0.0018**	-
[VR]/[C]	9.03	0.0027**	-
[VR]/[T]	5.60	0.0180*	-
[C]/[T]	0.50	0.4795	-

\*p&lt;0.05; \*\*p&lt;0.01

Además, no existen diferencias significativas entre las muestras tomadas en los procesos previos ([DC]/[HM] y [HM]/[VR]) y los procesos posteriores ([C]/[T]). Por tanto, podrían existir biofilms lo suficientemente desarrollados en alguna de las superficies implicadas en el clasificado como para que la contaminación pase de éstas a las canales.

Así, en esta segunda fase, se consigue localizar el foco de Lm en una etapa específica de la cadena, concretamente en la etapa de clasificado, de una manera simple y estructurada, gracias la aplicación del sistema concéntrico propuesto.

### TERCERA FASE

En el lugar y el momento de toma de muestra también se realizaron medidas de variables físicas (temperatura del producto (Tp), pH del producto (pH), temperatura ambiente (Ta) y humedad ambiental (Hm)). Una vez localizado el peligro, y mediante la aplicación del método concéntrico, se trata de determinar la posible relación entre las variables físicas medidas y la presencia de dicho peligro (*L. monocytogenes*).

#### Estudio de regresión sobre los parámetros físicos

Con fines predictivos sobre la ausencia/presencia de Lm en función de las variables fisicoquímicas (T<sup>a</sup> del producto, pH del producto, T<sup>a</sup> ambiente, humedad ambiental), se aplicó la técnica de regresión logística para determinar cuál o cuáles de estas variables tiene mayor peso en la probabilidad de aparición del

microorganismo objeto de estudio. El análisis se realizó sobre un total de 167 casos válidos.

Se utilizó el método de regresión logística por pasos hacia adelante (“Forward Stepwise”), que introduce las variables explicativas una a una, comprobando que la nueva variable introducida aporta información válida.

Las pruebas “ómnibus” sobre los coeficientes del modelo indican si globalmente tiene sentido la regresión que se está realizando. En este caso mostraron niveles de significación ( $p < 0.05$ ), lo que indica que la regresión es interpretable.

En la Tabla 27 se recogen los porcentajes de clasificación correcta de casos, obteniéndose un global del 77.8 % de los casos clasificados correctamente, siendo el mayor porcentaje de aciertos para los casos negativos.

Tabla 27. Regresión logística. Matriz de clasificación de las muestras

Observado	Pronosticado			
	<i>L. monocytogenes</i>		Porcentaje correcto	
	Negativo	Positivo		
Lm	Negativo	104	14	88.1
	Positivo	23	26	53.1
Porcentaje global				77.8

Tabla 28. Variables introducidas en la ecuación por el modelo de regresión logística

	Variable	$\beta$	p
Paso 1	T <sup>a</sup> producto	-0.053	0.000
	constante	0.332	0.237
Paso 2	T <sup>a</sup> producto	-0.045	0.000
	T <sup>a</sup> ambiente	-0.105	0.001
	constante	1.312	0.002

Como puede verse en la Tabla 28, el modelo realiza dos pasos, en los que incorpora primero la variable Tp y posteriormente la variable Ta, ambas con un coeficiente de regresión estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ). Por lo tanto, la ecuación logística quedaría de la siguiente forma:

$$L = \ln \frac{p(1)}{1-p(1)} = 1.312 - 0.045(Tp) - 0.105(Ta)$$

La relación que existe entre la presencia de Lm y ambas temperaturas es inversa, es decir, cuando aumenta la temperatura disminuye la presencia de Lm y viceversa. Esto se debe a que las condiciones óptimas para reproducirse y formar biofilms son a temperaturas bajas en las que no existe competencia con otros microorganismos para crecer. Además, los mayores niveles de contaminación por Lm se dan en las etapas de temperaturas más bajas, tanto de producto como de ambiente, debido al carácter psicrótrófico del microorganismo. Así, una vez contaminada la canal por Lm, su presencia es capaz de aumentar a temperaturas bajas, de lo que se deduce la importancia de controlar y evitar la contaminación en las etapas previas a la refrigeración.

## **VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DESPIECE**

Para confirmar que efectivamente la sala de despiece no era un foco de contaminación, y además, realizar el estudio en condiciones de temperatura de despiece adecuadas (ya que durante la primera fase del estudio la temperatura de la sala de despiece fue elevada debido a una avería en el sistema de frío), se llevó a cabo un estudio específico en esta sala.

### **Descripción y división del proceso**

A la sala de despiece llegan las canales, transportadas desde la cámara de refrigeración y conservación de canales, para ser divididas en diferentes productos. La temperatura de esta sala oscila entre 8° y 10°C.

Las canales, distribuidas en cajas, entran en la sala de despiece. Manualmente son colgadas por las patas en la cadena automática de despiece y pasan por sucesivas etapas: eliminación de restos de plumas y separación de las alas, corte de muñón y del obispillo, corte de las alas y de la pechuga separándola de los traseros, obtención de filetes de pechuga en la línea de conos, y calibración automática de filetes. Los traseros avanzan en la cadena para la separación del espinazo, obtención de muslos, obtención de carne de los contramuslos y obtención de carne de jamoncito.

El objetivo es establecer, de forma previa, las etapas implicadas en la "contaminación" por Lm en el proceso de despiece. Se sigue como criterio la ejecución del planteamiento concéntrico, para lo que es necesario establecer puntos de muestreo que engloben todas las etapas posiblemente implicadas. Se

propone la toma de muestra por parejas de puntos, correspondiendo cada pareja al momento antes y después de una etapa determinada. Los puntos de muestreo por pareja fueron (1.1), (1.2), (2.1), (2.2), (3.1), (3.2), (4.1), (4.2), (5.1), (5.2), (6.1) y (6.2) (Figura 82). En esta fase fueron analizadas 216 muestras cuya descripción se recoge en la Tabla 29.

Tabla 29. Punto de muestreo y descripción de la muestra de producto. Sala despiece

Punto muestreo	Punto lugar	Descripción	N	Unidad muestral
(1.1)	[CJ]	Antes del colgado manual (en cajas)	19	Piel media canal
(1.2)	[CO]	Tras el corte del obispillo	19	Piel la otra media canal
(2.1)	[CO]	Tras el corte del obispillo	19	Piel media pechuga
(2.2)	[SP]	Tras separar pechugas de traseros	19	Piel la otra media pechuga
(3.1)	[SP]	Tras separar pechugas de traseros	19	Piel media pechuga
(3.2)	[FP]	Filetes pechugas tras línea de conos	19	Carne filete pech. contraria
(4.1)	[FP]	Filetes pechugas tras línea de conos	15	Carne filete de pechuga
(4.2)	[FC]	Filetes de pechuga tras calibración	15	Carne filete de pechuga
(5.1)	[ST]	Tras separar pechugas de traseros	18	Piel contramuslo y jamoncito
(5.2)	[CT]	Tras corte de carne de contramuslo	18	Carne contramuslo contrario
(6.1)	[CT]	Tras corte de carne de contramuslo	18	Carne de contramuslo
(6.2)	[CR]	Tras carne de contramuslo repasada	18	Carne de contramuslo

N: número de muestras

Asimismo, en cada punto de muestreo se realizaron las medidas físicas. Las muestras se tomaron en condiciones asépticas y se introdujeron en bolsas de plástico estériles para ser trasladadas al laboratorio en el que se realizó su análisis microbiológico.

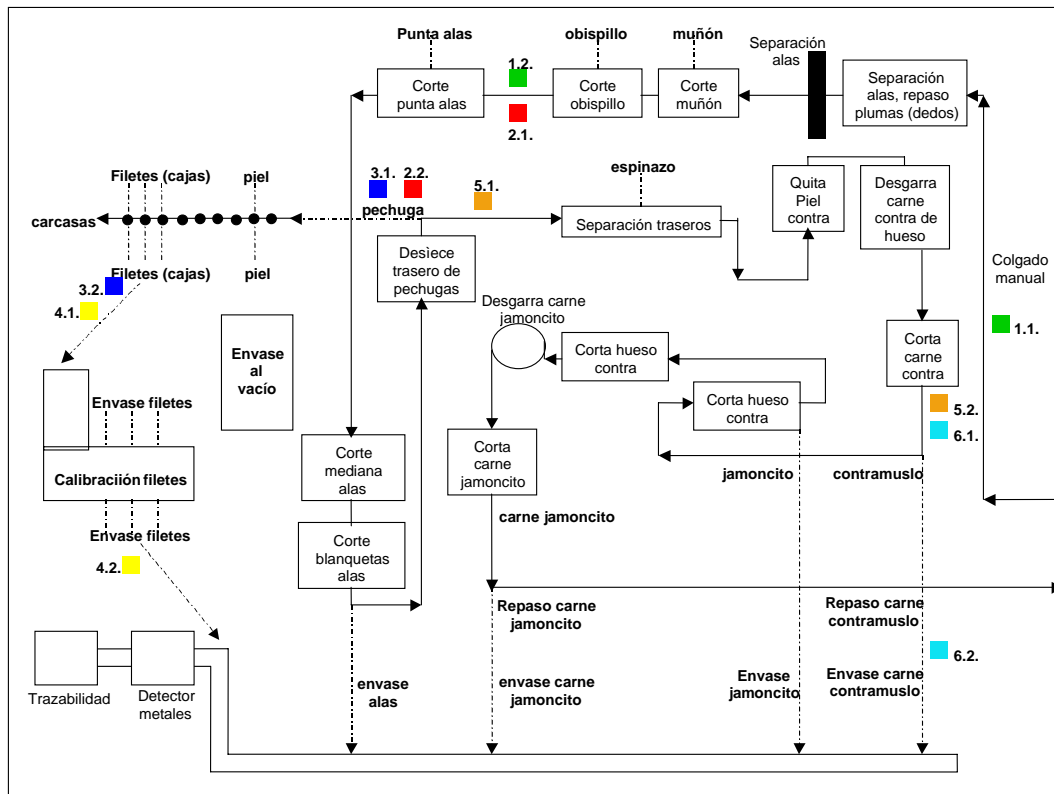


Figura 82. Esquema de los puntos de muestreo de producto en la sala de despiece

En el análisis inicial de los datos se observó que el 14.35% de las muestras analizadas estaban contaminadas por Lm.

De los 108 pares de muestras analizadas (antes y después de un proceso de despiece):

- 83 casos presentaron "ausencia" antes y después del proceso,
- 18 casos dieron "presencia" antes y "ausencia" después de un proceso, de las cuales 6 correspondieron a presencia en piel y ausencia en carne,
- 4 casos presentaron "ausencia" antes y "presencia" después del proceso,
- 3 casos dieron "presencia" antes y después del proceso.

En la Tabla 30 se observa el nivel de contaminación por Lm en los pares de puntos muestreados. En cada uno de ellos se detalla el número de observaciones, así como, el porcentaje correspondiente. A la entrada de la sala de despiece, la contaminación de las canales es baja en cuanto a la presencia de Lm (número de casos positivos). En general, se podría afirmar que en la sala de despiece prácticamente no se produce contaminación de las canales por Lm, y que el porcentaje de éstas que llega con resultados positivos es pequeño (36.8%).

Se observa un hecho curioso y es que, en todos los pares de puntos estudiados, la presencia de Lm se mantiene o disminuye. En el caso de los pares de puntos (3.1)/(3.2) (obtención de filetes de pechuga) y (5.1)/(5.2) (separación de traseros y obtención de carne de contramuslo) la disminución podría ser debida a que la muestra pasa de estar formada por piel a estar formada por carne. Sin embargo, en los casos de los pares de puntos (1.1)/(1.2) (separación de alas y corte de muñón y obispillo) y (2.1)/(2.2) (corte de alas y separación de trasero y pechuga) esta disminución, a priori, no tiene una explicación justificada, ya que estas etapas no realizan acciones de descontaminación. Cabría pensar que la bacteria no se encuentra distribuida uniformemente en la piel de la canal.

Estos resultados podrían indicar que las canales no se contaminan en la sala de despiece, sino que la contaminación que existe está presente en la canal a su llegada a esta cámara.

Tabla 30. Frecuencia y porcentaje de la presencia de *Listeria monocytogenes* en cada punto muestreado en la sala de despiece y el lugar en el que se ubica ese punto

Punto muestreo	<i>Listeria monocytogenes</i> Positivo (presencia)		Punto lugar	<i>Listeria monocytogenes</i> Positivo (presencia)	
	Observaciones	%		Observaciones	%
(1.1)	7	36.8	[CJ]	7	36.8
(1.2)	2	10.5	[CO]	9	23.7
(2.1)	7	36.8	[SP]	7	18.4
(2.2)	3	15.8	[FP]	1	2.9
(3.1)	4	21.1	[FC]	1	6.7
(3.2)	0	0.0	[ST]	3	16.7
(4.1)	1	6.7	[CT]	2	5.6
(4.2)	1	6.7	[CR]	1	5.6
(5.1)	3	16.7			
(5.2)	1	5.5			
(6.1)	1	5.6			
(6.2)	1	5.6			

En la Tabla se observa que existe un 36.8% de canales que llegan contaminadas a la sala. En los puntos siguientes ([CO] y [SP]), la presencia de Lm disminuye a porcentajes de 23.7% y 18.4%, respectivamente.

Los resultados obtenidos en la primera fase mostraron una disminución de la presencia de Lm entre la salida del túnel de oreo y las canales despiezadas, lo

que podría ser debido a que, tras el despiece, las muestras estaban formadas por piel y carne, y antes del despiece estaban formadas sólo por piel. En el presente estudio se ha confirmado que la presencia es mayor en muestras de piel que en músculo (Figura 83a) pues en los puntos donde la muestra estaba formada por carne ([FP], [FC], [CT] y [CR]) la presencia de Lm es muy baja.

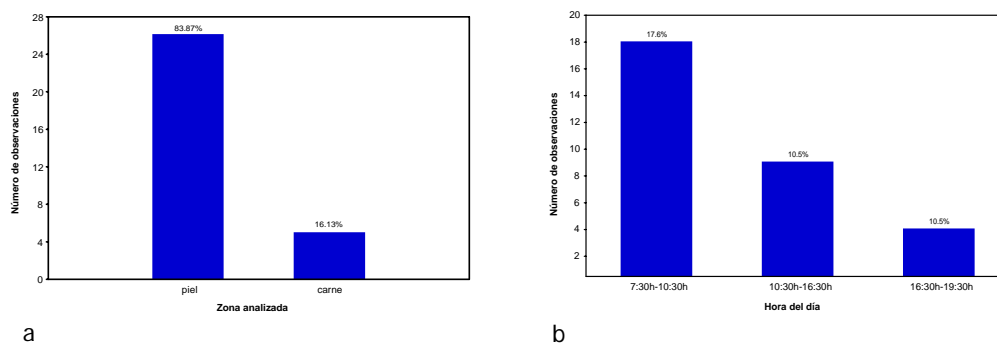


Figura 83. a) Presencia de Lm según la zona muestreada. Sala de despiece;  
b) Presencia de Lm a lo largo de la jornada laboral

El muestreo se realizó a diferentes horas del día (Figura 83b) para comprobar si una posible acumulación de suciedad a lo largo de la jornada laboral influye en la presencia de este microorganismo sobre las canales. Se observa que:

- 18 muestras de 102 (17.6%) fueron positivas antes de las 10:30h
- 8 muestras de 76 (10.5%) lo fueron entre las 10:30h y las 16:30h
- 4 muestras de 38 (10.5%) lo fueron entre las 16:30h y las 19:30h

Estos resultados no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0.05$ ), por lo que se deduce que la presencia de Lm no se ve afectada por el avance de las horas del día.

En la Tabla 31, en la que se muestran los parámetros físico-químicos medidos en el estudio, también se observa que los puntos en los que la contaminación por Lm es mayor son aquellos en los que el producto presenta las temperaturas más bajas, corroborando lo deducido en estudios anteriores (*Chasseignaux et al., 2002*). Sin embargo, coincide con que la muestra tomada en esos puntos está formada por piel, apareciendo nuevamente esta razón como factor condicionante de la contaminación (*Fernández y Blanco, 1992*).



Tabla 31. Media de los factores físicos medidos para cada punto (muestra y lugar) estudiado

Punto muestra	Tp (°C)	pH (u. pH)	Ta (°C)	Hm (%)	Punto lugar	Tp (°C)	pH (u. pH)	Ta (°C)	Hm (%)
(1.1)	2.61	6.29	11.05	69.22	[CJ]	2.61	6.29	11.05	69.22
(1.2)	2.83	6.36	10.66	71.39	[CO]	2.66	6.33	10.58	71.21
(2.1)	2.50	6.29	10.51	71.03	[SP]	2.88	6.31	10.09	72.62
(2.2)	2.84	6.31	10.30	72.22	[FP]	3.61	6.30	10.21	72.19
(3.1)	2.92	6.32	9.88	73.02	[FC]	4.45	6.39	10.53	68.35
(3.2)	3.64	6.26	9.60	74.12	[ST]	3.59	6.75	10.61	71.28
(4.1)	3.57	6.36	10.99	69.75	[CT]	4.51	6.81	10.29	72.77
(4.2)	4.45	6.39	10.53	68.35	[CR]	5.56	6.94	10.37	73.41
(5.1)	3.59	6.75	10.61	71.28					
(5.2)	4.76	6.79	10.30	72.56					
(6.1)	4.26	6.83	10.28	72.97					
(6.2)	5.56	6.94	10.37	73.41					

### Selección/Rechazo de etapas

A continuación se aplicaron las técnicas estadísticas a los datos obtenidos para determinar si entre los diferentes puntos de muestreo existía diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en cuanto a la presencia de Lm.

Se realizaron comparaciones por parejas de puntos, mediante el *test exacto de Fisher*. En la Tabla 32 se da el nivel de significación ( $p$ ) para las diferentes parejas de puntos. Sólo se observan diferencias significativas entre los grupos [SP] y [FP], es decir, entre la piel de pechuga y la carne de pechuga. Los puntos [CJ]/[CO], [CO]/[SP], [FP]/[FC], [ST]/[CT] y [CT]/[CR] no son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre sí con respecto a la variable Lm, ya que los niveles de significación fueron mayores de 0.05.

Tabla 32. *Test exacto de Fisher* para los puntos estudiados en la sala de despiece

Puntos	p
[CJ]/[CO]	0.2310
[CO]/[SP]	0.3896
[SP]/[FP]	0.0399*
[FP]/[FC]	0.5230
[ST]/[CT]	0.2001
[CT]/[CR]	0.7450

\* $p < 0.05$

Por lo tanto, en las instalaciones estudiadas, el despiece no constituye un proceso de riesgo por contaminación por Lm ya que las canales no adquieren este microorganismo en esta sala, en la mayoría de los casos. De 108 muestras analizadas antes y después de un proceso de despiece, sólo 4 muestras presentaron "ausencia" antes de un proceso y "presencia" después de ese proceso, por lo que se podría concluir que no existen biofilms lo suficientemente desarrollados en la maquinaria.

Por otro lado, las últimas muestras tomadas en el día no están significativamente más contaminadas que las tomadas a primera hora de la jornada, indicando que la presencia de este microorganismo no se ve afectada por el horario de la toma de muestra.

Y, por último, en las muestras de piel existe mayor presencia de Lm que cuando se trata de carne, es decir, la contaminación de las canales por Lm es a nivel superficial.

## OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS POR TÉCNICAS MULTIVARIANTES. LAVADO CON AGUA A PRESIÓN <sup>(1)</sup>

El proceso de obtención de carne fresca de ave está dividido en dos grandes secciones que podrían considerarse dos zonas básicas: la “zona sucia”, que comprende el sacrificio, sangrado, escaldado, desplumado y eviscerado, y la “zona limpia” en la que todos los procesos tienen lugar a baja temperatura y existen estrictos controles higiénicos. Al final de la primera zona, las canales de pollo suelen presentar altos niveles de contaminación microbiana en superficie debido a varios factores: suciedad debida a los retos de plumas y heces, contaminación cruzada que se produce a través del propio ambiente del proceso, y también a través de los manipuladores (*Thomas y McMeekin, 1980*). Tras el eviscerado, las canales se limpian, interna y exteriormente, con una ducha de agua a presión para obtener los siguientes objetivos: eliminar restos de sangre, plumas y suciedad de la superficie de la canal, reducir la contaminación superficial (*Siragusa, 1995*), y evitar que éstas se resequen durante la posterior etapa de enfriamiento con aire en el túnel de oreo (*Buxadé, 1985; Vaquerizo, 1991*).

Existen varios estudios sobre el efecto descontaminante de diferentes tratamientos empleados en la producción de carne (*Sakhare et al., 1999; Whyte, 2001; Bolton, 2002; Gill y Landers, 2003*). *Purnell et al. (2004)* comprobaron que un tratamiento con agua caliente (70 °C durante 40 segundos) sobre canales de pollo no perjudica la piel de éstas, y además, la contaminación por *Aerobios mesófilos, Enterobacteriaceae* y *Campylobacter* en la superficie de canales tratadas, y conservadas en condiciones de almacenamiento típicas, es más baja que en las canales control.

*Gill y Landers (2003)* observaron que, en una planta de procesado de carne de vaca, diferentes tratamientos sobre canales, tales como ácido láctico pulverizado o desinfección por aspiración y limpieza con agua caliente, eran generalmente poco efectivos sobre la contaminación microbiológica de éstas. El lavado reducía el número de bacterias cuando partían de un recuento inicial alto. La pasteurización con vapor o con agua caliente siempre era efectiva.

---

(1) Parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en *Journal of Food Engineering (Escudero-Gillete et al., 2005)*

La ducha o lavado con agua a presión es un proceso muy importante ya que limpia las canales y elimina gran cantidad de microorganismos antes de comenzar el proceso de enfriamiento en el túnel (*González-Miret et al., 1998; 2005*). Por ello, es a partir de la ducha donde comienza la llamada “zona limpia” de la cadena de producción. En esta zona todas las operaciones se realizan a bajas temperaturas para evitar nuevas contaminaciones.

La limpieza de las canales con agua a presión conlleva un consumo de agua muy elevado. El agua es un producto caro, y en ocasiones su abastecimiento es restringido. Además, desde el punto de vista medioambiental, el control del gasto de agua es muy importante. En este sentido, el Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, a través de la Unidad Administradora de Fondo Social Europeo y el Instituto Nacional del Empleo, en colaboración con la Red de Autoridades Ambientales, ha elaborado el manual de buenas prácticas ambientales para las industrias alimentarias, en el que se proponen más de veinte recomendaciones para el ahorro de agua.

El objetivo principal de este estudio ha sido determinar, mediante la utilización de técnicas estadísticas uni y multivariantes, la importancia de la cantidad de agua utilizada en la etapa de lavado con agua a presión en la producción de carne de ave, teniendo en cuenta el efecto que tiene la duración de la etapa y la presión del agua sobre la contaminación superficial final de las canales.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Ducha: técnica y proceso

La etapa objeto de estudio es el lavado con agua a presión (ducha) que tiene lugar una vez eviscerada la canal (Figura 84). Justo antes del lavado de las canales, éstas son colgadas por los muñones de los jamoncitos, de forma manual, en ganchos de acero inoxidable. La ducha mide 225 cm de largo, y en su interior se encuentran cuatro bloques de chorros con un total de 32 boquillas situadas en distintas direcciones, 28 laterales y 4 hacia arriba, para limpiar tanto la superficie como el interior de las canales. El tiempo de lavado de las canales es de 8 segundos (2 segundos por bloque). Los bloques 1 y 2 suman un total de 18 boquillas (16 laterales y 2 hacia arriba), en los que la presión de salida del agua es de 12-15 Kg/cm<sup>2</sup>. Los bloques 3 y 4 hacen un total de 14 boquillas (12 laterales y 2 hacia

arriba) con aproximadamente  $2 \text{ Kg/cm}^2$  de presión de salida del agua. En cuanto a las temperaturas medias implicadas en la etapa, la del agua de lavado es de unos  $17 \text{ }^\circ\text{C}$ , la ambiental se encuentra entre  $12\text{-}13 \text{ }^\circ\text{C}$ , y las canales entran en la ducha con una temperatura media de  $39 \text{ }^\circ\text{C}$  y salen a unos  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . La humedad relativa media es  $67\text{-}70\%$ .

La distribución del agua de la ducha está controlada por dos llaves: una controla el paso de agua a los bloques 1 y 2; otra controla el paso de agua a los bloques 3 y 4.

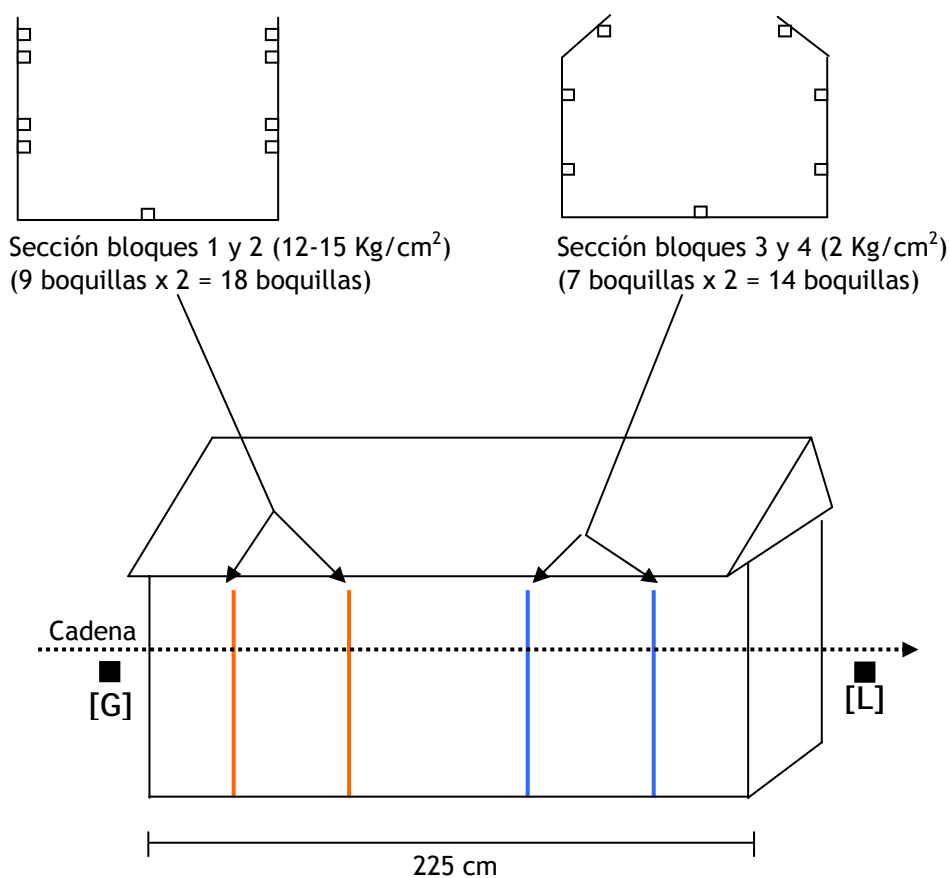


Figura 84. Etapa de lavado con ducha de agua a presión

### Muestras

Para el estudio se muestrearon 70 canales, dando lugar a un total de 140 muestras. Cada muestra estuvo formada por piel de pechuga de una canal, adecuadamente marcada para su correcto seguimiento en la cadena de producción. Cada canal fue muestreada en dos momentos diferentes del proceso: al terminar el eviscerado y una vez colgadas en los ganchos, antes de entrar en la ducha [G], y tras la ducha con agua a presión [L] (Figura 84).

Todas las muestras se tomaron en jornadas laborales normales para evaluar el proceso real. Sin embargo, para tener en cuenta todas las posibles situaciones, las llaves de paso fueron manipuladas de la siguiente forma (Tabla 33):

Tabla 33. Descripción de grupos de muestras

Grupo	Descripción grupo	Nº canales	Nº muestras
(A)	Ambas llaves de paso abiertas	37	74
(B)	Abierta sólo la llave que controla los bloques 1 y 2	17	34
(C)	Abierta sólo la llave que controla los bloques 3 y 4	16	32

Las muestras se tomaron de forma aséptica con pinzas y bisturí estériles, se recogieron en placas Petri y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde se procedió a su análisis.

### Análisis

En este estudio, para cada muestra se determinaron los siguientes parámetros microbiológicos: *Aerobios Mesófilos* (Am), *Pseudomonas* (Ps), *Enterobacteriaceae* (Eb) y *Staphylococcus* (St). Además de las variables microbiológicas, se midieron la temperatura ambiente, la de agua de ducha y de las canales, así como la humedad ambiental, con el propósito de conocer las condiciones físicas en las que se lleva a cabo el proceso.

### Tratamiento estadístico de datos

Mediante el test de Kolmogorof-Smirnov-Lilliefors se evaluó la normalidad de cada variable transformada. De acuerdo con los resultados, las técnicas estadísticas utilizadas para la comparación entre grupos de muestras relacionadas, [G] y [L], fueron el test de la *t* de Student y la prueba de Wilcoxon para muestras con y sin distribución normal, respectivamente, y un MANOVA de medidas repetidas para evaluar el efecto de varias variables dependientes a la vez.

Para la comparación entre grupos de muestras no relacionadas, (A), (B), y (C), se aplicó la prueba U de Mann-Whitney y el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (como alternativa al ANOVA de un factor).

Por último, para comprobar qué variables microbiológicas eran capaces de clasificar en diferentes grupos de muestras, se aplicó un análisis discriminante por pasos.

## RESULTADOS

Tabla 34. Logaritmo de la media de las variables microbiológicas antes y después de la etapa de lavado ([G]/[L]), para todas las muestras y por grupos de muestras (A/B/C)

Variable	Todas las muestras		(A)		(B)		(C)	
	[G]	[L]	[G]	[L]	[G]	[L]	[G]	[L]
Am	5.15	4.62	4.91	4.19	5.33	4.92	5.32	4.79
Ps	3.61	3.27	3.72	2.87	3.47	3.53	3.41	3.48
Eb	4.08	3.44	4.09	3.19	4.01	3.63	4.13	3.58
St	3.55	3.17	3.48	2.96	3.74	3.35	3.40	3.31

En la Tabla 34 se muestra el análisis descriptivo de los datos de recuento microbiológico, en los puntos [G] y [L] y para cada uno de los grupos que existen ((A), (B) y (C)). En ella se observa una disminución del recuento microbiano tras la etapa de ducha en todos los casos. En un estudio llevado a cabo por *Geornaras y Von Holy (2000)* en el que se realizaron muestreos en tres momentos de la jornada laboral, en 6 puntos de la cadena de producción de un matadero de pollos, se comprobó la disminución de la contaminación por Am tras el lavado con agua pulverizada.

Ps es la variables microbiológica menos afectada por esta etapa, con una disminución de 0.34 unidades de logaritmo. Esto puede ser debido a la naturaleza psicotrónica de este microorganismo ya que, a partir de la etapa de lavado con agua a presión, la temperatura comienza a descender por debajo de 20 °C (*Forsythe y Hayes, 2002*), y además, a que la contaminación por Ps inicial (en [G]) es baja. Estos resultados coinciden con los obtenidos por *González-Miret et al. (2005)* en un estudio realizado sobre canales en las etapas de lavado con agua a presión y refrigerado en túnel de oreo.

El recuento de St también presenta una ligera disminución (0.38 unidades logarítmicas) tras la etapa de ducha.

Las mayores reducciones se observan en aquellas canales que presentan valores iniciales de contaminación más elevados, lo que ocurre con Am y Eb. Eb es precisamente la variable microbiológica mas afectada por el lavado con agua a presión, con una disminución de 0.64 unidades de logaritmo. Nuevamente, estos resultados coinciden con estudios realizados sobre canales cuyo lavado se realizó con agua a presión que contenía diferentes niveles de cloro libre residual (*González-Miret et al., 1998*), en los que se puso de manifiesto el descenso de Eb

tras el lavado, incluso a concentraciones muy bajas de cloro, lo que permitió deducir la influencia del propio lavado con agua a presión.

El tratamiento inicial de los datos ya indica que la ducha es un paso necesario de la cadena de producción de carne de ave, previo a la refrigeración, ya que produce reducciones importantes de la contaminación microbiana superficial de las canales.

En la Tabla 34 también se pueden observar los valores medios de contaminación antes ([G]) y después ([L]) del lavado con agua a presión, para los tres grupos de muestras descritos ((A), (B), y (C)). La mayor disminución del recuento microbiológico para los cuatro microorganismos estudiados se observa para el caso en que están abiertas ambas llaves de paso ((A)), siendo menor para St (con una disminución de 0.52 unidades de logaritmo), y mayor para Eb, Ps y Am (disminuciones de 0.90, 0.85 y 0.72 unidades de logaritmo respectivamente).

En las opciones (B) y (C), Ps es la variable menos afectada por la etapa de ducha, produciéndose incluso pequeños aumentos. En un estudio realizado por *Allen et al. (2000)* sobre el aumento de Ps en la superficie de canales, se concluye que podría ser debido a la transferencia de este microorganismo desde el suelo, el ambiente del proceso o incluso desde los grilletes de la cadena, a través del agua pulverizada.

La Figura 85 muestra las diferencias de recuentos microbiológicos para los tres grupos de muestras estudiados ((A), (B) y (C)). Se observa una disminución similar en contaminación de las opciones (B) y (C) para Am y Eb. Sin embargo, sí tiene relevancia en St, ya que la reducción en el caso (B) es del 59.62% y en el caso (C) del 17.75%.

A la vista de estos resultados, se podría concluir:

- a) en cuanto a la presión del agua: la mayor presión de (B) con respecto a (C) no influye en las variables microbiológicas (Am) y (Eb), es decir, no son necesarias presiones superiores a 2 Kg/cm<sup>2</sup>. Luego el efecto sería el mismo si ambos bloques de la ducha se mantienen con presión a 2 Kg/cm<sup>2</sup>, que según los resultados obtenidos resulta una presión suficiente para la descontaminación superficial de las canales.
- b) respecto al tiempo de actuación del agua: todas las variables microbiológicas estudiadas se ven afectadas por el tiempo de exposición al agua, que es de 8 segundos en la situación (A) y 4 segundos en (B) y (C).
- c) St está afectado tanto por el tiempo de exposición como por la cantidad de agua.



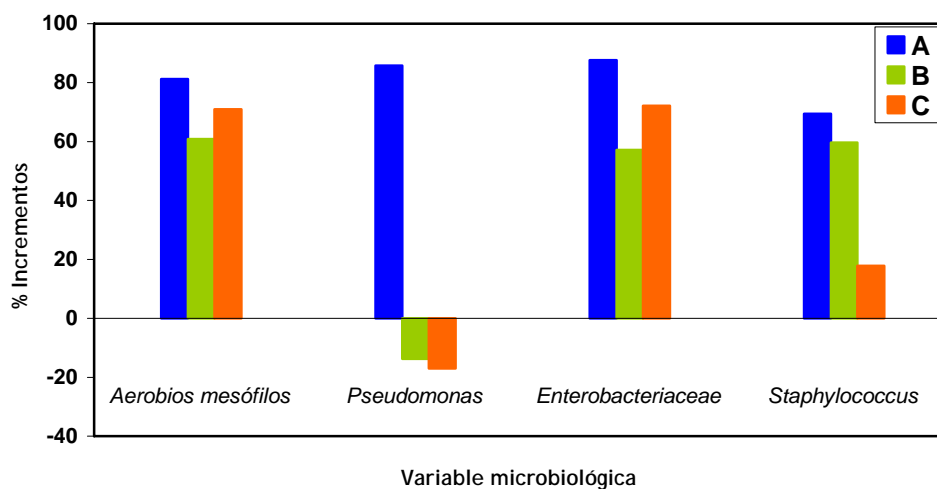


Figura 85. Diferencias de contaminación microbiológica para los grupos de muestras estudiados

Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors se evaluó la normalidad de cada una de las variables transformadas (la transformación fue tomar  $\log_{10}$ ), en cada punto ([G] y [L]) y para cada grupo de muestras ((A), (B) y (C)). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 35.

Tabla 35. Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $|D_{\max}|$ )

Variable	Todas las muestras		(A)		(B)		(C)	
	[G]	[L]	[G]	[L]	[G]	[L]	[G]	[L]
Log Am	0.070	0.151**	0.086	0.184**	0.143	0.110	0.151	0.108
Log Ps	0.083	0.135**	0.095	0.129	0.179	0.273**	0.239*	0.188
Log Eb	0.095	0.098	0.083	0.134	0.150	0.198	0.155	0.151
Log St	0.168	0.175**	0.214**	0.235**	0.276**	0.247**	0.175	0.200

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

Los valores de  $|D_{\max}|$ , que indican la diferencia entre la distribución muestral y la teórica, son no significativos (distribución normal) en todos los casos excepto Log St para los grupos (A) y (B), Log Am en el punto [L] del grupo (A), y en la etapa [L] del grupo (B) y en la etapa [G] del grupo (C) para Log Ps.

Para evaluar el efecto de la etapa de lavado con agua a presión sobre la contaminación superficial de las canales se llevó a cabo un test de la  $t$  de Student para muestras relacionadas ([G] y [L]) en el caso de la variable Log Eb cuya

distribución fue normal, y la prueba de Wilcoxon cuando las variables estudiadas (Log Am, Log Ps, Log St) no siguieron una distribución normal. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 36, donde se observa una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ) entre los puntos [G] y [L] para todas las variables microbiológicas estudiadas. Esto pone de manifiesto la relevancia de la etapa de la ducha y, por tanto, de su control, ya que la contaminación microbiana disminuye de forma significativa ( $p < 0.01$ ) debido a su efecto, por lo que debe ser considerada en la implantación del sistema de calidad.

Tabla 36. Nivel de significación ( $p$ ) para grupos de muestras relacionadas [G]/[L] para las variables microbiológicas estudiadas (Log Am, Log Ps, Log Eb, Log St)

Variables	Test $t$ grupos dependientes	Prueba de Wilcoxon
Log Am	-	0.000
Log Ps	-	0.000
Log Eb	0.000	-
Log St	-	0.000

Por otro lado, se aplicó el test de la  $t$  de Student, o la prueba de Wilcoxon para la comparación de muestras relacionadas por grupos ((A), (B), (C)). Así, en la Tabla 37 se observa que, en las muestras pertenecientes a la opción (A), es decir, con las dos llaves de paso abiertas, la media de todas las variables microbiológicas antes de la etapa de lavado fue significativamente diferente ( $p < 0.01$ ) a las obtenidas tras la ducha.

Para la opción (B), existen diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre [G] y [L] para las variables Log Am, Log Eb y Log St, aunque la diferencia no es significativa para la variable microbiológica *Ps*.

Para el grupo de muestras (C), se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para las variables Log Am y Log Eb, y no significativas para Log Ps y Log St.

Así, el efecto de la etapa de ducha es similar en los tres grupos de muestras ((A), (B) y (C)) para todas las variables microbiológicas estudiadas excepto para Log Ps.

Tabla 37. Nivel de significación ( $p$ ) para grupos de muestras relacionadas (A), (B) y (C) para las variables microbiológicas (Log Am, Log Ps, Log Eb, Log St). Comparación [G] frente a [L]

Comparación	Grupo muestras	Variable dependiente	Test- $t$ dependiente	Prueba Wilcoxon
[G]/[L]	(A)	Am	-	0.000
		Ps	0.000	-
		Eb	0.000	-
		St	-	0.000
	(B)	Am	0.004	-
		Ps	-	0.309
		Eb	0.001	-
		St	-	0.002
	(C)	Am	0.000	-
		Ps	-	0.307
		Eb	0.000	-
		St	0.086	-

Posteriormente, se realizó un análisis múltiple de la varianza de medidas repetidas, en el que se incluyeron las cuatro variables microbiológicas (Log Am, Log Ps, Log Eb y Log St) para la misma unidad muestral antes y después del lavado con ducha. Así, se puede hablar de dos factores ( $2 \times 4$ ) de medidas repetidas: lugar ([G] y [L]) y variable microbiológica (Log Am, Log Ps, Log Eb y Log St). El propósito fue establecer diferencias entre los puntos de muestreo y las variables microbiológicas, así como determinar la interacción entre este factor y las etapas (Norman y Streiner, 1996).

Tabla 38. Resultados del análisis de la varianza con dos factores de medidas repetidas: lugar y variables microbiológicas

Factor	F	$p$	$\eta^2$
Punto de muestreo	71.290	0.000	0.512
Variable microbiológica (VM)	123.900	0.000	0.646
Punto de muestreo x (VM)	5.711	0.001	0.077

En los resultados, mostrados en la Tabla 38, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre los puntos de muestreo, así como entre las variables microbiológicas (con el mayor tamaño del efecto,  $\eta^2$ ), y entre ambos factores. Mediante la comparación por parejas, el test de Bonferroni indicó que el punto de muestreo [G] presentaba una media significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el punto [L]. En la comparación entre pares de variables microbiológicas se encontró

que todas las medias eran significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre sí, excepto entre Log Ps y Log St. La variable microbiológica Log Am mostró el mayor valor de la media, seguida de Log Eb, mientras que la más pequeña fue Log St. Por otro lado, la comparación entre pares de puntos de muestreo para cada una de las variables microbiológicas indicó un descenso de todas las medias de las variables microbiológicas de forma significativa ( $p < 0.05$ ) entre los puntos [G] y [L], lo que pone de manifiesto el efecto de la ducha, al producirse un descenso notable de la carga microbiana.

En un MANOVA de medidas repetidas con dos factores (2x4: lugar x variable microbiológica), para cada uno de los grupos de muestras estudiados ((A), (B) y (C)), cuyos resultados se muestran en la Tabla 39, se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre los puntos de muestreo y entre las variables microbiológicas, para los tres grupos de muestras. Sin embargo, al analizar la interacción entre ambos factores (puntos de muestreo x variables microbiológicas), ésta resultó significativa ( $p < 0.05$ ) para la opción (A), pero no para (B) y (C). La comparación por parejas realizada mediante el test de Bonferroni indicó una media significativamente mayor ( $p < 0.01$ ) en [G] que en [L], para todos los grupos de muestras estudiados.

Para la opción (A) se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre Log Eb y Log St, y para la opción (C) entre Log Eb y el resto de variables microbiológicas. La comparación entre los pares de puntos de muestreo para cada una de las variables microbiológicas mostró una disminución significativa ( $p < 0.01$ ) para las medias de todas las variables microbiológicas estudiadas en el caso del grupo (A). Para el grupo (B) el resultado fue similar, excepto en la variable Log Ps, cuyo incremento no fue significativo. Por último, para la opción (C) sólo disminuyen de forma significativa ( $p < 0.01$ ) las medias de las variables Log Am y Log Eb entre los puntos [G] y [L].

Tabla 39. Resultados del MANOVA con dos factores de medidas repetidas: punto de muestreo y variables microbiológicas, en los tres grupos de muestras estudiados (A), (B) y (C)

Factor	(A)			(B)			(C)		
	F	p	$\eta^2$	F	p	$\eta^2$	F	p	$\eta^2$
Punto de muestreo	57.215	0.000	0.614	31.733	0.000	0.665	31.543	0.000	0.693
Variable microbiológica (VM)	61.943	0.000	0.632	22.867	0.000	0.588	87.349	0.000	0.862
Punto de muestreo x (VM)	3.295	0.023	0.084	2.719	0.055	0.145	2.411	0.080	0.147

Para determinar la existencia de diferencias entre las tres formas propuestas para lavar las canales ((A), (B), y (C)), se utilizaron los incrementos de cada una de las variables microbiológicas entre [L] y [G]. Para aproximar los datos a una distribución normal, se trabajó con las variables microbiológicas transformadas tomando el logaritmo decimal de los valores absolutos de los incrementos y poniéndoles a continuación los signos (+) o (-) como mera indicación del sentido del incremento.

$$\text{Log } (\Delta\text{Am}) = (\pm)\text{Log } |(\text{Am}_{[L]} - \text{Am}_{[G]})|$$

$$\text{Log } (\Delta\text{Ps}) = (\pm)\text{Log } |(\text{Ps}_{[L]} - \text{Ps}_{[G]})|$$

$$\text{Log } (\Delta\text{Eb}) = (\pm)\text{Log } |(\text{Eb}_{[L]} - \text{Eb}_{[G]})|$$

$$\text{Log } (\Delta\text{St}) = (\pm)\text{Log } |(\text{St}_{[L]} - \text{St}_{[G]})|$$

De nuevo, mediante el test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors, se evaluó la normalidad de cada una de las variables transformadas, en cada punto ([G] y [L]) y para cada grupo de muestras ((A), (B) y (C)). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 40, que recoge los valores de  $|D_{\max}|$ . Se obtienen valores significativos ( $p < 0.01$ ) en todos los casos excepto para Log ( $\Delta\text{Eb}$ ) en el grupo (A), lo que indica que en la mayoría de los casos los datos no muestran una distribución normal.

Tabla 40. Test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $|D_{\max}|$ )

Variable	(A)	(B)	(C)
Log ( $\Delta\text{Am}$ )	0.359**	0.343**	0.422**
Log ( $\Delta\text{Ps}$ )	0.278**	0.280**	0.258**
Log ( $\Delta\text{Eb}$ )	0.102	0.339**	0.299**
Log ( $\Delta\text{St}$ )	0.241**	0.250**	0.333**

\*\*  $p < 0.01$

Debido a la falta de normalidad de los datos, se llevó a cabo el test de Kruskal-Wallis para evaluar la existencia de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre varios grupos de muestras independientes ((A), (B) y (C)) en función de las variables microbiológicas propuestas anteriormente. Este test, también llamado ANOVA-1 no paramétrico, es considerado como un ANOVA de un factor con varias categorías ((A), (B) y (C)). En la Tabla 41 se observa que, entre los tres grupos de muestras estudiados, no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para ninguna de las variables microbiológicas excepto para Log ( $\Delta P_s$ ), cuyo nivel de significación fue 0.013 ( $p < 0.05$ ).

Tabla 41. Test de Kruskal-Wallis. Tres categorías: (A)/(B)/(C)

Variable dependiente	Nivel de significación (p)
Log ( $\Delta A_m$ )	0.523
Log ( $\Delta P_s$ )	0.013
Log ( $\Delta E_b$ )	0.453
Log ( $\Delta S_t$ )	0.346

Para determinar entre qué grupos se dan las diferencias anteriormente observadas, se tomaron los grupos por parejas y se realizó la prueba U de Mann-Whitney (considerada como un test de la  $t$  de Student para muestras independientes) con objeto de contrastar si la variable Log ( $\Delta P_s$ ) presenta diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre dos grupos independientes de muestras ((A)/(B), (B)/(C), (A)/(C)). Como resultado se obtuvo que entre los grupos (B) y (C) no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), sin embargo, entre las parejas (A) / (B) y (A) / (C) sí lo fueron ( $p < 0.01$  y  $p < 0.05$  respectivamente) (Tabla 42). Esto indica que la variable Log ( $\Delta P_s$ ) se ve afectada cuando se dan los siguientes factores: mayor tiempo (8 segundos) y mayor número de boquillas (32 boquillas). Sin embargo, no le afecta de forma significativa ( $p < 0.05$ ) la diferencia de presión ( $15/2 \text{ Kg/cm}^2$ ), ya que entre (B) y (C) no existe diferencia significativa.

Tabla 42. Prueba U de Mann-Whitney para la variables dependiente Log ( $\Delta P_s$ )

Grupos independientes	Nivel de significación (p)
(A)/(B)	0.007
(B)/(C)	0.734
(A)/(C)	0.042

Para el resto de parámetros (Log ( $\Delta$ Am), Log ( $\Delta$ Eb) y Log ( $\Delta$ St)), la operación de duchado de canales podría darse con las condiciones que reúne la opción C de este estudio, es decir, 14 boquillas de distribución del agua, con una presión de 2 Kg/cm<sup>2</sup> y una duración de la etapa de 4 segundos. De esta forma se podría conseguir un gran ahorro de agua, hecho muy importante en la industria alimentaria, como ya se ha reseñado. Sin embargo, Ps es un microorganismo importante que afecta al deterioro de la carne de ave y debe ser tenido en cuenta antes de modificar las condiciones de la etapa de ducha. Por lo tanto, en vista de los resultados obtenidos en todos los microorganismos, considerando Ps, la etapa de ducha propuesta sería: 32 boquillas de distribución de agua, todas ellas con 2 Kg/cm<sup>2</sup> de presión de salida del agua y una duración total de 8 segundos.

Por último, y para determinar la capacidad de discriminación de las variables consideradas, se realizó un análisis discriminante por pasos (SDA) (Tabachnick y Fidell, 1983; Jonhson, 2000; StatSoft, 2002). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 43, que recoge las variables con poder de discriminación significativo ( $p < 0.05$ ). Se observa que Log Eb es capaz de discriminar entre los puntos [G] y [L] con un nivel de significación  $p < 0.01$  ( $r = 0.597$ ). El modelo introdujo, además, la variable Log Am, aunque no de forma significativa.

Tabla 43. Resultados del Análisis Discriminante por pasos

Variable de agrupación	Variables independientes	Nivel de significación (p)	Correlación canónica
[G]/[L]	Log Eb	0.000	0.597
(A)/(B)/(C)	Log ( $\Delta$ Ps)	0.044	0.400
(A)/(B)	Log ( $\Delta$ Ps)	0.058	0.418
(B)/(C)	-	-	-
(A)/(C)	Log ( $\Delta$ Ps)	0.036	0.377

Se realizó, además, el análisis discriminante utilizando las variables “incremento de las contaminaciones microbiológicas” y, como se puede ver en la Tabla 43, la variable Log ( $\Delta$ Ps) es capaz de discriminar entre (A)/(B)/(C) y (A)/(C) con niveles significativos ( $p < 0.05$ ), aunque con correlaciones bajas (0.400 y 0.377). El resto de variables microbiológicas no fueron introducidas por el modelo de forma significativa ( $p < 0.05$ ). En el caso de la relación (B)/(C) no se encontró, entre las variables microbiológicas consideradas, alguna que tuviera suficiente capacidad

discriminatoria en las condiciones establecidas en el análisis.

Por lo tanto, sólo la variable Log ( $\Delta$ Ps) es capaz de establecer diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos de muestras estudiados ((A)/(B)/(C)), es decir, las diferentes posibilidades de llevar a cabo la etapa de ducha (cambios en tiempo, nº de boquillas y presión) sólo produce consecuencias microbiológicas en cuanto a Ps.



## OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS POR TÉCNICAS MULTIVARIANTES. DESPIECE Y CONSERVACIÓN <sup>(1)</sup>

En las plantas de procesamiento de carne fresca de ave, la obtención industrial de filetes de pechuga de pollo se puede llevar a cabo mediante un proceso de despiece manual o automático. En este segundo caso, las canales se conducen, en cajas de plástico, desde la cámara de refrigeración a la sala de despiece y embarquetado; una vez allí, las cajas se colocan sobre una cinta transportadora y los operarios cuelgan las canales manualmente, sujetas por las patas a los ganchos móviles, en la cadena de despiece automático. Como resultado de la operación en esta primera etapa del proceso, a la salida de la cadena se obtienen alas, pechugas, traseros, muslos, contramuslos y jamoncitos. Posteriormente, las pechugas (considerado como tal la carne junto con la carcasa) pasan a la cadena de despiece semiautomático, donde los operarios las colocan en conos de teflón y separan manualmente los filetes de la carcasa. Una parte de estos filetes se coloca en cajas con bolsas de plástico y se conserva a granel en la cámara de despiece y otra parte se embarqueta, es decir, se coloca ordenadamente en barquetas de poliestireno de distintos tamaños, para, posteriormente, ser envasados y etiquetados en la sala de etiquetado. De esta forma se conservan en la cámara de despiece, hasta su comercialización.

Mediante el estudio de diferentes factores que afectan a la cadena de producción, y por aplicación de técnicas estadísticas uni y multivariantes, se puede conseguir un profundo conocimiento del proceso, a partir del cual se tomarán las oportunas decisiones para el control y la adecuada comercialización de la carne fresca de ave (*González-Miret et al., 2001b*).

El estudio realizado, cuya secuencia se esquematiza en la Figura 86, forma parte de una serie de trabajos llevados a cabo en un matadero de aves, encaminados a diseñar, implantar y validar el sistema de autocontrol, y consiste en determinar si existe diferencia significativa en la conservación del producto entre dos posibilidades:

---

(1) Parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en *Alimentaria (Escudero et al., 2002)*

- despiezar la canal el mismo día del sacrificio y almacenar el producto despiezado (filetes de pechuga) 48h en cámara de despiece (conservación a granel y embarquetado)
- despiezar, tras una espera de 1 día de la canal en cámara de refrigerado, y almacenar el producto despiezado 24h en cámara de despiece (conservación a granel y embarquetado)

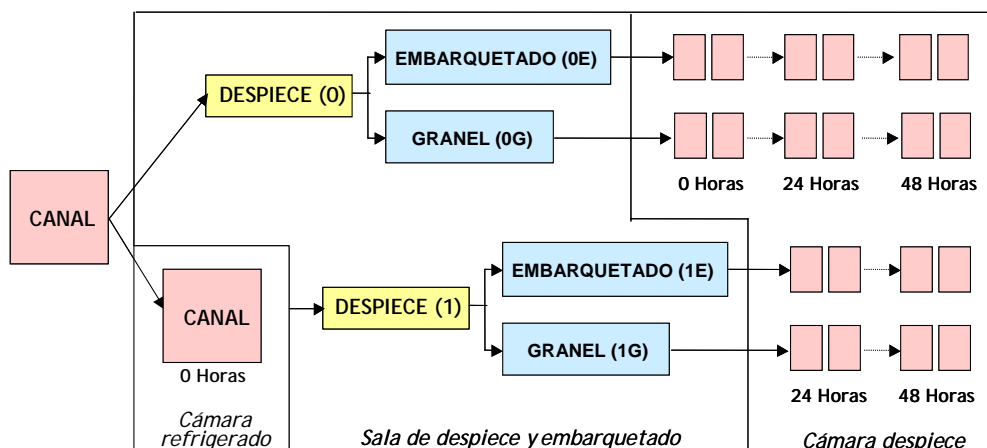


Figura 86. Esquema de la secuencia de procesos y grupos de muestras estudiados

## PARTE EXPERIMENTAL

### Muestras

Se ha analizado un total de 102 muestras procedentes de carne de filete de pechuga de canales de ave. Cada muestra estuvo constituida por carne de los dos filetes de pechuga que se obtienen de cada canal. Durante el proceso, los productos fueron debidamente marcados para su correcto seguimiento.

Todas las muestras se tomaron en la cámara de despiece [B], con diferencias en el tiempo transcurrido entre el sacrificio y el despiece, así como la conservación en cámara como producto a granel o producto embarquetado, con lo que se obtienen los siguientes grupos de muestras (Figura 86 y Tabla 44):

- Muestras tipo 0:** Las canales, una vez sacrificadas y refrigeradas en el túnel, pasan a ser despiezadas ese mismo día y los filetes de pechuga obtenidos corresponden a la unidad muestral en el tiempo 0. Esa misma unidad muestral se conserva en cámara de despiece durante 48 horas tomando muestras cada 24

horas para su seguimiento. Es decir, las muestras de tipo 0 corresponden a despiece el mismo día de sacrificio y permanencia en cámara de despiece durante un total de 48 h, con tomas de muestra a las 0, 24 y 48 h desde el sacrificio. A su vez, este grupo se subdivide en:

- Muestras 0G: Despiece el mismo día, conservación a granel
  - Muestras 0E: Despiece el mismo día, conservación embarquetado
- *Muestras tipo 1:* Las canales, una vez sacrificadas y refrigeradas, permanecen 1 día en cámara de refrigerado y, a continuación pasan a ser despiezadas. Los filetes de pechuga obtenidos corresponden a la unidad muestral en el tiempo 1 día. Esa misma unidad muestral se conserva en cámara de despiece durante 24 horas y se vuelve a tomar muestra de ella. Es decir, las muestras de tipo 1 corresponden al despiece a las 24 horas del sacrificio y conservación en cámara de despiece durante 24 h, con toma de muestras a las 24 y 48 h desde el sacrificio. Nuevamente, según sean o no envasadas, se dividen en:
    - Muestras 1G: Despiece tras un día desde el sacrificio, conservación a granel
    - Muestras 1E: Despiece tras un día desde el sacrificio, conservación embarquetado

Tabla 44. Clasificación de las muestras

Muestras	Momento de la toma de muestra desde el sacrificio		
	0 horas	24 horas	48 horas
<b>0G</b> (n=11)	Filete de pechuga granel	Filete de pechuga granel	Filete de pechuga granel
<b>0E</b> (n=9)	Filete de pechuga embarquetada	Filete de pechuga embarquetada	Filete de pechuga embarquetada
<b>1G</b> (n=12)	–	Filete de pechuga granel	Filete de pechuga granel
<b>1E</b> (n=9)	–	Filete de pechuga embarquetada	Filete de pechuga embarquetada

Se realizó el seguimiento de la misma unidad muestral en cada uno de los casos y puntos de muestreo. Las muestras se tomaron de forma aséptica con pinzas y bisturí estériles, se recogieron en placas Petri y se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde se procedió a su análisis.

## **Análisis**

### *Análisis microbiológico*

Para cada muestra se determinaron los siguientes parámetros microbiológicos: *Aerobios Mesófilos* (Am), *Pseudomonas* (Ps) y *Enterobacteriaceae* (Eb).

### *Análisis físico*

Con el propósito de conocer las condiciones físicas del proceso se midieron los siguientes parámetros: la temperatura ambiente de las cámaras de refrigeración y despiece ( $T_a$ , en °C), la temperatura del producto ( $T_p$ , en °C) y la humedad de las cámaras de refrigeración y despiece (Hu, en %).

### *Análisis estadístico*

Mediante el test de Kolmogorof-Smirnov-Lilliefors se evaluó la normalidad de cada variable transformada.

Las técnicas estadísticas utilizadas para la comparación entre grupos de muestras fueron: test de la  $t$  de Student para dos grupos de muestras independientes y dos grupos de muestras relacionadas (distribución normal), prueba U de Mann-Whitney para dos grupos de muestras independientes y prueba de Wilcoxon para dos grupos de muestras relacionadas (test no paramétrico), ANOVA de medidas repetidas para varios grupos de muestras relacionadas (distribución normal), prueba de Friedman para varios grupos de muestras relacionadas (test no paramétrico), Análisis Múltiple de la Varianza (MANOVA) para grupos de muestras independientes teniendo en cuenta varias variables dependientes a la vez (diferentes variables microbiológicas a la vez) y MANOVA de medidas repetidas para grupos de muestra relacionadas teniendo en cuenta varias variables dependientes a la vez.

Por otro lado, para comprobar qué variable microbiológica era capaz de clasificar en diferentes grupos de muestras, se aplicó un análisis discriminante por pasos (SDA).

## **Ensayos**

En primer lugar se han realizado 9 ensayos entre grupos no relacionados, resultantes de la comparación de los diferentes grupos de muestras en cuanto al momento de despiece, condiciones y tiempo de conservación (Tablas 45a y 45b):

Tabla 45a. Ensayos de comparación por momento de despiece (el mismo día del sacrificio o un día después)

Relación	Conservación	Tiempo	Ensayo	Comparación
Según el momento del despiece respecto al momento del sacrificio	granel	24h	Ensayo 1	0G <sub>24</sub> /1G <sub>24</sub>
		48h	Ensayo 2	0G <sub>48</sub> /1G <sub>48</sub>
	embarquetado	24h	Ensayo 3	0E <sub>24</sub> /1E <sub>24</sub>
		48h	Ensayo 4	0E <sub>48</sub> /1E <sub>48</sub>

Tabla 45b. Ensayos de comparación por modo de conservación (a granel o embarquetado)

Relación	Despiece	Tiempo	Ensayo	Comparación
Según el tipo de conservación a granel frente a embarquetada	El mismo día del sacrificio	0h	Ensayo 5	0G <sub>0</sub> /0E <sub>0</sub>
		24h	Ensayo 6	0G <sub>24</sub> /0E <sub>24</sub>
		48h	Ensayo 7	0G <sub>48</sub> /0E <sub>48</sub>
	1 día después del sacrificio	24h	Ensayo 8	1G <sub>24</sub> /1E <sub>24</sub>
		48h	Ensayo 9	1G <sub>48</sub> /1E <sub>48</sub>

También se han llevado a cabo ensayos de comparación entre diferentes tiempos (Tabla 46), dentro del mismo grupo de muestras (muestras relacionadas):

Tabla 46. Ensayos de comparación por tiempos de conservación en cada grupo de muestras

Grupo muestras	Tiempos relacionados	Comparación
0G	0h/24h	0G <sub>0</sub> /0G <sub>24</sub>
	24h/48h	0G <sub>24</sub> /0G <sub>48</sub>
	0h/48h	0G <sub>0</sub> /0G <sub>48</sub>
0E	0h/24h	0E <sub>0</sub> /0E <sub>24</sub>
	24h/48h	0E <sub>24</sub> /0E <sub>48</sub>
	0h/48h	0E <sub>0</sub> /0E <sub>48</sub>
1G	24h/48h	1G <sub>24</sub> /1G <sub>48</sub>
1E	24h/48h	1E <sub>24</sub> /1E <sub>48</sub>

Por último, se han realizado ensayos encaminados a encontrar las variables microbiológicas (Am, Ps, Eb) que ofrecen mayor poder de discriminación (análisis discriminante) entre los siguientes grupos de muestras:

- Momento del despiece con respecto al sacrificio (despiece inmediatamente después del sacrificio/despiece 1 día después del sacrificio): ensayos 1-4
- La forma de conservación (granel/embarquetado): ensayos 5-9
- Tiempo de conservación dentro de cada grupo de muestra: 0h/24h, 24h/48h, 0h/48h

## RESULTADOS

En la Tabla 47 se recogen los valores medios de contaminación para cada grupo de muestras en los distintos momentos de muestreo. Se observa un mayor recuento de Eb en el caso de los filetes de pechuga conservados embarquetados a las 24 h de conservación en cámara de despiece (0E<sub>24</sub>), frente a los conservados a granel (0G<sub>24</sub>). Según esto, a priori, parece aconsejable conservar a granel y no embarquetar hasta el momento en que el producto vaya a salir al mercado. Además, en la mayoría de las muestras, se produce un aumento de la contaminación por Eb a las 24 horas del sacrificio y a continuación una disminución a las 24 horas siguientes (tras 48 horas desde el sacrificio). De esta forma se confirma el efecto que las bajas temperaturas pueden producir sobre la contaminación por Eb, tal como se ha puesto de manifiesto anteriormente (González-Miret *et al.*, 2000).

También se puede observar un incremento de la contaminación por Ps en los cuatro grupos de muestras, lo que resulta un comportamiento previsible, ya que se trata de organismos psicrotrofos que se desarrollan bien a temperaturas bajas, tales como las que se dan durante la conservación en cámara.

En general, se puede decir que el producto recién despiezado se encuentra en condiciones higiénicas adecuadas respecto a Eb y Ps, con bajos niveles iniciales de contaminación.

En cuanto a Am, en las muestras de tipo (0) se observa una primera disminución de la contaminación tras 24 h en cámara para luego aumentar a las 24 h siguientes. No obstante, a pesar de producirse un aumento desde las 24 a las 48 horas, se podría considerar en caso de necesidad la posibilidad de mantener el producto hasta 48 horas en cámara sin riesgo higiénico, ya que este aumento es bastante leve. Por otro lado, en todos los casos, las muestras embarquetadas presentan mayores niveles de contaminación que las muestras a granel, ya que éstas reciben más manipulación al ser colocadas en las barquetas.

Tabla 47. Log de los valores medios de contaminación de los distintos grupos de muestras (0G/0E/1G/1E), a las 0, 24 y 48h, para los microorganismos Am, Ps y Eb.

Variable	Tiempo (h)	Grupo muestras			
		Despiece a las 0h sacrificio (0)		Despiece a las 24h sacrificio (1)	
		Granel (0G)	Embarquetado (0E)	Granel (1G)	Embarquetado (1E)
Am	0	3.512	3.592	-	-
	24	3.143	3.574	2.874	4.709
	48	3.421	3.687	3.510	4.654
Ps	0	1.888	2.508	-	-
	24	3.096	3.657	2.528	2.883
	48	3.445	2.878	3.347	3.179
Eb	0	2.571	2.095	-	-
	24	2.764	3.109	2.503	2.987
	48	2.447	2.764	2.716	2.509

Mediante el test de Kolmogorof-Smirnov-Lilliefors se evaluó la normalidad de cada variable transformada, en cada grupo de muestras, obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 48.

Tabla 48. Test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors ( $|D_{\max}|$ )

Variable	Tiempo (h)	Grupo muestras			
		Despiece a las 0h sacrificio (0)		Despiece a las 24h sacrificio (1)	
		Granel (0G)	Embarquetado (0E)	Granel (1G)	Embarquetado (1E)
Log Am	0	0.200	0.223	-	-
	24	0.207	0.185	0.290**	0.165
	48	0.175	0.180	0.173	0.202
Log Ps	0	0.446**	0.259	-	-
	24	0.172	0.215	0.344**	0.323**
	48	0.346**	0.277*	0.272*	0.335**
Log Eb	0	0.172	0.169	-	-
	24	0.148	0.130	0.184	0.178
	48	0.171	0.168	0.111	0.191

\*p&lt;0.05; \*\*p&lt;0.01

Todos los valores de  $D_{\max}$  que no son significativos indican que se acepta la hipótesis nula, es decir, es una distribución normal. En los casos 1G<sub>24</sub> para Am y 0G<sub>0</sub>, 0G<sub>48</sub>, 0E<sub>48</sub>, 1G<sub>24</sub>, 1G<sub>48</sub>, 1E<sub>24</sub> y 1E<sub>48</sub> para Ps, se obtuvieron  $D_{\max}$  significativas ( $p < 0.05$ ), por lo que en ellos se usaron técnicas estadísticas no paramétrica.

### Comparación entre grupos de muestras no relacionadas

Se realizaron diferentes ensayos de comparación entre grupos de muestras no relacionadas para comprobar si existía diferencia significativa entre momentos de despiece (inmediatamente después del sacrificio y 24 horas más tarde), y conservación del producto (a granel y embanquetado). Para realizar estas comparaciones se tuvieron en cuenta las variables dependientes (Log Am, Log Ps y Log Eb) por separado: test de la  $t$  de Student para grupos de muestras no relacionadas (distribución normal) y test U de Mann-Whitney (distribución no normal); y todas las variables dependientes a la vez: Análisis Múltiple de la Varianza (MANOVA).

En la Tabla 49 se recogen los niveles de significación ( $p$ ), correspondientes a la aplicación del test de la  $t$  de Student para grupos de muestras no relacionadas (distribución normal), test U de Mann-Whitney (distribución no normal) y MANOVA a los nueve ensayos descritos anteriormente. Se observa que únicamente existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el ensayo 3 (grupo 0E frente al grupo 1E a las 24 h del sacrificio) cuando se realiza el MANOVA con las tres variables microbiológicas a la vez. Sin embargo en el ensayo 1 (0G frente a 1G a las 24 h), en el ensayo 2 (0G frente a 1G a las 48 h) y en el ensayo 4 (0E frente a 1E a las 48 h) no se obtienen niveles significativos ( $p < 0.05$ ). Con estos resultados se deduce que no es significativamente diferenciador el hecho de procesar en despiece las canales el mismo día de sacrificio o bien hacerlo el día siguiente. Esto puede ser debido a que los factores que realmente podrían considerarse más importantes en la evolución microbiana, como son la manipulación en el despiece y la temperatura de conservación, no se modifican en ambos grupos de muestras, es decir, los procesos de despiece y conservación se realizan en las mismas condiciones de temperatura y manipulación en los dos grupos de muestras (0 y 1).

Por lo tanto, si el producto inicial recién despiezado tiene elevada contaminación, el producto final tras la conservación también presentará niveles altos de carga microbiana, no por un aumento durante la conservación sino por las propias condiciones microbiológicas iniciales.



Tabla 49. Nivel de significación (p) de los 9 ensayos realizados

Ensayo	Grupos de muestras	Variable dependiente	Test- <i>t</i> de grupos independientes	Prueba U de Mann-Whitney	MANOVA
1	0G <sub>24</sub> / 1G <sub>24</sub>	Log Am	-	0.781	0.439
		Log Ps	-	0.114	
		Log Eb	0.343	-	
2	0G <sub>48</sub> / 1G <sub>48</sub>	Log Am	0.727	-	0.769
		Log Ps	-	0.648	
		Log Eb	0.541	-	
3	0E <sub>24</sub> / 1E <sub>24</sub>	Log Am	0.489	-	0.021*
		Log Ps	-	0.267	
		Log Eb	0.327	-	
4	0E <sub>48</sub> / 1E <sub>48</sub>	Log Am	0.502	-	0.728
		Log Ps	-	0.387	
		Log Eb	0.532	-	
5	0G <sub>0</sub> / 0E <sub>0</sub>	Log Am	0.327	-	0.670
		Log Ps	-	0.414	
		Log Eb	0.774	-	
6	0G <sub>24</sub> / 0E <sub>24</sub>	Log Am	0.156	-	0.566
		Log Ps	0.596	-	
		Log Eb	0.454	-	
7	0G <sub>48</sub> / 0E <sub>48</sub>	Log Am	0.391	-	0.816
		Log Ps	-	0.505	
		Log Eb	0.955	-	
8	1G <sub>24</sub> / 1E <sub>24</sub>	Log Am	-	0.154	0.055
		Log Ps	-	0.781	
		Log Eb	0.705	-	
9	1G <sub>48</sub> / 1E <sub>48</sub>	Log Am	0.952	-	0.861
		Log Ps	-	0.625	
		Log Eb	0.878	-	

\*p&lt;0.05

En conclusión, el hecho de realizar el despiece inmediatamente después del sacrificio o tras 24 horas del mismo parece no tener relevancia sobre la evolución microbiana del producto frente a las buenas prácticas de manipulación y condiciones de conservación.

Tampoco se obtienen resultados significativos en los ensayos en los que se compara la conservación a granel frente a la conservación del producto ya embarquetado (ensayos 5-9). Así, a pesar de que la observación de los datos microbiológicos medios (Tabla 47) parece indicar como más recomendable la conservación del producto a granel, al aplicar las técnicas estadísticas se llega a la conclusión de que, mientras las condiciones de despiece, conservación y embarquetado sean las adecuadas, la contaminación microbiana no se verá afectada si el producto se conserva tanto a granel como embarquetado, aunque entre granel y embarquetado exista una manipulación más.

### **Comparación entre grupos de muestras relacionadas**

Los ensayos de comparación entre diferentes tiempos dentro del mismo grupo de muestras (muestras relacionadas) se basaron en el estudio de la evolución de la contaminación microbiana con el paso del tiempo.

Las variables microbiológicas (variables dependientes: Log Am, Log Ps y Log Eb) se determinaron para la misma unidad muestral a las 0, 24 y 48 horas cuando se despieza el mismo día del sacrificio y a las 24 y 48 horas cuando se despieza 1 día después del sacrificio. Con el fin de establecer si existen diferencias significativas entre estas observaciones repetidas dentro de cada grupo de muestras los análisis realizados fueron:

- dos grupos relacionados (0h/24h, 24h/48h, 0h/48h): test de la *t* de Student para grupos de muestras relacionadas (distribución normal) y prueba de Wilcoxon (test no paramétrico)
- más de dos grupos relacionados (0h/24h/48h): ANOVA de medidas repetidas (distribución normal) y prueba de Friedman (test no paramétrico)
- todas las variables dependientes a la vez: Análisis Múltiple de la Varianza (MANOVA) de medidas repetidas

Así, en el estudio se puede hablar de dos factores de medidas repetidas: el primero es el tiempo (tres niveles: 0, 24 y 48; o dos niveles: 24 y 48) y el segundo es la variable microbiológica (tres niveles: Log Am, Log Ps, Log Eb), lo que da un diseño 3 x 3 ó 2 x 3, respectivamente.

En la Tabla 50 se recogen los niveles de significación (*p*) de los test realizados en los distintos grupos. Se observa que la evolución de la carga microbiana en el tiempo no es significativa ( $p < 0.05$ ) en la mayoría de los casos estudiados. Esto coincide con estudios de vida útil realizados previamente sobre diferentes productos (*González-Miret, 2003*), en los que en la carne de pechuga los

niveles de contaminación por Am, Ps y Eb apenas se modificaban durante los dos primeros días de almacenamiento en cámara de refrigeración.

Sólo en el caso de la variable dependiente Log Eb para el grupo de muestras despiezadas el mismo día del sacrificio y conservadas en barquetas (grupo 0E) se obtuvo una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la evolución de la contaminación microbiana, principalmente un aumento significativo ( $p < 0.01$ ) de la contaminación por Eb tras 24 horas de conservación en cámara.

Tabla 50. Nivel de significación ( $p$ ) de los ensayos realizados para grupos de muestras relacionadas

Grupo muestra	Comparación	Variable depend.	Test- $t$ depend.	Prueba Wilcoxon	ANOVA medida repetida	Prueba Friedman	MANOVA medida repetida	
0G	0G <sub>0</sub> /0G <sub>24</sub>	Log Am	0.168	-	-	-	0.061	
		Log Ps	-	0.079	-	-		
		Log Eb	0.065	-	-	-		
	0G <sub>24</sub> /0G <sub>48</sub>	Log Am	0.552	-	-	-	0.832	
		Log Ps	-	0.594	-	-		
		Log Eb	0.439	-	-	-		
	0G <sub>0</sub> /0G <sub>48</sub>	Log Am	0.759	-	-	-	0.238	
		Log Ps	-	0.090	-	-		
		Log Eb	0.428	-	-	-		
	0G <sub>0</sub> /0G <sub>24</sub> /0G <sub>48</sub>	Log Am	-	-	-	0.583	-	0.276
		Log Ps	-	-	-	-	0.109	
		Log Eb	-	-	-	0.220	-	
0E	0E <sub>0</sub> /0E <sub>24</sub>	Log Am	0.855	-	-	-	0.060	
		Log Ps	0.074	-	-	-		
		Log Eb	0.004**	-	-	-		
	0E <sub>24</sub> /0E <sub>48</sub>	Log Am	0.575	-	-	-	0.745	
		Log Ps	-	0.944	-	-		
		Log Eb	0.223	-	-	-		
	0E <sub>0</sub> /0E <sub>48</sub>	Log Am	0.659	-	-	-	0.191	
		Log Ps	-	0.138	-	-		
		Log Eb	0.293	-	-	-		
	0E <sub>0</sub> /0E <sub>24</sub> /0E <sub>48</sub>	Log Am	-	-	-	0.867	-	0.167
		Log Ps	-	-	-	-	0.318	
		Log Eb	-	-	-	0.046*	-	
1G	1G <sub>24</sub> /1G <sub>48</sub>	Log Am	-	0.306	-	-	0.602	
		Log Ps	-	0.108	-	-		
		Log Eb	0.587	-	-	-		
1E	1E <sub>24</sub> /1E <sub>48</sub>	Log Am	0.365	-	-	-	0.250	
		Log Ps	-	0.916	-	-		
		Log Eb	0.532	-	-	-		

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$

### Análisis discriminante

Con el propósito de explorar la capacidad de las variables microbiológicas estudiadas para discriminar entre grupos de muestras se aplicó el análisis discriminante por pasos, se consideraron como variables independientes Log Am, Log Ps y Log Eb. Los estudios sobre los que se realizó el análisis fueron:

- ensayos 1 a 4: para comprobar qué variable microbiológica discrimina mejor en función del momento de despiece: mismo día del sacrificio (grupo 0) o el día siguiente (grupo 1).
- ensayos 5 a 9: para comprobar qué variable microbiológica discrimina mejor según el tipo de conservación: a granel (grupo G) o embarquetado (grupo E).
- ensayos entre diferentes tiempos dentro del mismo grupo de muestras: para comprobar qué variable microbiológica discrimina mejor según el tiempo de conservación: 0h, 24h y 48h.

Tabla 51. Resultados del análisis discriminante por pasos para los distintos estudios realizados con las variables independientes Log Am, Log Ps y Log Eb.

Grupo	Variable dependiente	Variabes independientes	p	Correlación canónica
E <sub>24</sub>	Despiece (0/1)	Log Ps	0.030	0.701
		Log Am	0.005	
		Log Eb	0.018	
1 <sub>24</sub>	Envasado (G/E)	Log Am	0.009	0.571
0E	Tiempo (0/24)	Log Eb	0.021	0.554

En la Tabla 51 se muestran los resultados obtenidos en los estudios en los que se encontraron variables con poder de discriminación significativo ( $p < 0.05$ ). En los ensayos 1, 2, 4, 5, 6, 7, y 9 no se encontró, entre las variables microbiológicas consideradas, alguna que tuviera capacidad discriminatoria, lo que coincide con los resultados obtenidos anteriormente para los ensayos 1 a 9.

Sin embargo, se observa que las tres variables microbiológicas son capaces de discriminar entre despiezar el mismo día de sacrificio o 24 horas después, dentro del grupo de muestras conservadas embarquetadas a las 24 horas (ensayo 3: 0E<sub>24</sub>/1E<sub>24</sub>), con niveles significativos ( $p < 0.01$  y  $p < 0.05$ ,  $r = 0.701$ ). En los ensayos 1 y 4 fue la variable Log Ps la elegida por el análisis discriminante por pasos para

discriminar entre los grupos 0 y 1, aunque no de forma significativa. Esto podría ser debido al efecto del frío sobre las pechugas despiezadas.

La variable Log Am es capaz de discriminar significativamente ( $p < 0.01$ ,  $r = 0.571$ ) entre conservar a granel o embarquetado, dentro del grupo de muestras despiezadas 24h después del sacrificio y con toma de muestras a las 24 horas (ensayo 8:  $1G_{24}/1E_{24}$ ). Además, en los ensayos 5 y 6 también fue Log Am la variable incluida por el modelo, aunque no de forma significativa, lo que puede deberse a que el envasado, que supone una manipulación extra con respecto al envasado a granel, puede influir en la contaminación por microorganismos Am, que se ven afectados por procesos de manipulación, siendo por ello indicadores de las condiciones higiénicas de la materia prima, y de la forma de manipulación durante su elaboración.

Para los estudios 2, 7 y 9, el modelo no produjo función de discriminación, con lo que, tras 48 horas desde el sacrificio, los grupos de muestras estudiados se comportan a nivel microbiológico de forma similar y por ello, las variables microbiológicas estudiadas no son capaces de discriminar entre grupos.

En los estudios de evolución con el tiempo dentro del mismo grupo de muestras, sólo la variable Log Eb es capaz de discriminar de forma significativa ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.554$ ) entre tiempo 0h y 24h dentro del grupo de muestra 0E (muestras despiezadas el mismo día de sacrificio y embarquetadas). El resto de variables microbiológicas no fueron incluidas en la función de discriminación.

### **Momento de despiece, condiciones y tiempo de conservación**

Según los valores medios de contaminación microbiana (Tabla 47), parece más recomendable conservar a granel y embarquetar cuando se va a comercializar. Sin embargo, el estudio estadístico de estos datos indicó que la diferencia entre estos grupos no resultó significativa.

En cuanto al momento de despiece con respecto al sacrificio, tampoco existen diferencias significativas entre los grupos 0 y 1 para la mayoría de los ensayos realizados, aunque parece ser más recomendable realizar el despiece a las 24 horas del sacrificio en lugar del despiece inmediatamente posterior y mantener el producto despiezado 24 horas.

Por otro lado, el producto recién despiezado presenta condiciones higiénico-sanitarias adecuadas, debido a que se acaba de eliminar la piel, donde se encontraba la mayor parte de la carga microbiana, por lo que la contaminación final es debida principalmente a la manipulación y conservación.

Finalmente se puede concluir que, la decisión sobre un despiece inmediato o no, puede ser tomada en el sistema en función de criterios de oportunidad, subjetivos, según las necesidades del propio proceso y/o comercialización ya que con respecto a criterios de contaminación microbiológica no parece tener gran relevancia el momento del despiece. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, en caso de necesitar demorar la comercialización, la mejor opción sería despiezar un día después del sacrificio y conservar a granel, para embarquetar inmediatamente antes de su comercialización.

Se han aplicado técnicas estadísticas paramétricas y no paramétricas sobre variables microbiológicas, físicas y de manipulación para el diseño de sistemas de control en el proceso de elaboración de carne fresca de ave, que han dado lugar a las siguientes conclusiones:

PRIMERA: De acuerdo con los sistemas de autocontrol previamente implantados en la empresa, se ha establecido una división del proceso en 2 fases y 8 etapas que ha resultado eficaz en el diseño experimental de los procedimientos de control propuestos.

SEGUNDA: A partir del estudio preliminar del proceso se ha verificado que:

- los animales vivos son el principal origen de la contaminación por aerobios mesófilos, enterobacterias y estafilococos,
- los recuentos de *Staphylococcus aureus* presentan una tendencia descendente, aunque con importantes variaciones a lo largo del proceso,
- en el clasificado se produce un aumento de los niveles de aerobios mesófilos, enterobacterias y *Pseudomonas*, debido al efecto de la manipulación y la contaminación cruzada,
- las bajas temperaturas de la cámara de conservación reducen los niveles de aerobios mesófilos en la carne de pechuga y producen un aumento de la contaminación por *Pseudomonas*, que depende del tiempo de almacenamiento.

TERCERA: Se ha comprobado la utilidad de técnicas de medidas repetidas, tales como el Análisis de la Varianza o la Prueba de Friedman, en el estudio de la influencia de cada etapa sobre la evolución de la contaminación microbiológica del producto. Las técnicas de Regresión y de Análisis Discriminante han demostrado ser herramientas útiles cuando el propósito es establecer factores de intervención y clasificación en el proceso.

CUARTA: El planteamiento experimental mediante un método inverso permite un conocimiento integral del sistema dirigido a la investigación de factores y puntos de control que aseguren productos finales de calidad óptima. Se ha evaluado la influencia de la contaminación microbiológica inicial sobre la contaminación final de cada etapa. La aplicación de este método ha permitido establecer que las

operaciones de desplumado, eviscerado, ducha y clasificado influyen significativamente en la calidad higiénica del producto final.

QUINTA: La temperatura y la humedad ambientales fueron los parámetros físicos con mayor influencia sobre la contaminación microbiológica durante el proceso. Los factores de manipulación "descanso", "guantes", "engomillado" y "cajón" tienen un efecto significativo en la etapa de embanquetado, la "presencia de pollo español" en las etapas de la ducha y el túnel de oreo, y la "ducha de la extractora buches" y el "pollo acumulado" en la etapa de eviscerado. Asimismo, se ha comprobado que todas aquellas operaciones que implican un lavado externo de las canales con agua a presión (desplumado, extractora de buches y lavado tras eviscerado) suponen un efecto significativo en la reducción de la carga microbiana.

SEXTA: El sistema de control concéntrico, basado en un método de selección/rechazo de fases y etapas mediante técnicas como la prueba Chi-cuadrado sobre variables dicotómicas, resulta de utilidad en la localización de factores de los que depende la calidad del producto.

SÉPTIMA: La aplicación de este método concéntrico ha permitido la localización, con un alto nivel de certidumbre, de un posible peligro en la cadena de producción, en concreto la ubicación de un foco de *Listeria monocytogenes* en la etapa de clasificado.

OCTAVA: En el túnel de oreo, se mantienen los niveles de contaminación por *L. monocytogenes*, debido a su naturaleza psicrotrófica. Mediante técnicas de regresión logística se ha confirmado que la temperatura ambiental y la del producto influyen de forma significativa sobre la presencia de este microorganismo en la superficie de las canales.

NOVENA: La optimización del proceso de lavado mediante técnicas multivariantes ha permitido verificar que la ducha con agua a presión tras el eviscerado produce un efecto descontaminante significativo, que es más acusado en los niveles de enterobacterias.



DÉCIMA: Mediante ensayos de intervención en la etapa de lavado con agua a presión, se ha establecido que los efectos sobre aerobios mesófilos, enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, no son significativamente diferentes entre las diferentes configuraciones de la ducha. Así, podría utilizarse la combinación de 14 boquillas de distribución de agua, a una presión de 2Kg/cm<sup>2</sup>, y una duración de la etapa de 4 segundos, con la consiguiente reducción del gasto de agua respecto al habitual en el proceso. Para conseguir una descontaminación significativa por *Pseudomonas* es necesaria la combinación de 32 boquillas durante 8 segundos a la misma presión.

UNDÉCIMA: Mediante la intervención en las etapas de despiece y conservación en cámara, se ha podido establecer que, en general, el momento del procesado no es significativo en los niveles de contaminación microbiológica del producto. Sólo en el caso de productos obtenidos por despiece y embarquetado el mismo día del sacrificio se produce un aumento significativo del nivel de enterobacterias tras 24 horas de almacenamiento en refrigeración.

## REFERENCIAS

- Al- Makhlafi, H.; Nasir, A.; McGuire, J.; Daeschel, M.A. (1995). Adhesion of *Listeria monocytogenes* to silica surfaces after sequential and competitive adsorption of bovine serum albumin and  $\beta$ -lactoglobulin. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 2013-2015.
- Allen, V.M.; Corry, J.E.L.; Burton, C.H.; Whyte, R.T.; Mead G.C. (2000). Hygiene aspects of modern poultry chilling. *International Journal of Food Microbiology*, 58, 39-48.
- Anwar, H.; Dasgupta, M.; Costerton, J.W. (1990). Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, 2043-2046.
- Anwar, H.; Strap, J.L.; Costerton, J.W. (1992). Eradicating of biofilm cells of *Staphylococcus aureus* with tobramycin and cephalexin. *Canadian Journal of Microbiology*, 38, 618-625.
- AOAC (1978). *Bacteriological Analytical Manual*. Association of Official Analytical Chemists. 5<sup>a</sup> ed. Washington D.C.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry*. Arlington, Virginia.
- AOAC (2004-2005). *Official Methods of Analysis*. 18th Edition on line.
- APHA (1972). *A National Food Protection Program*. American Public Health Association, Inc., Washington D.C.
- APHA. (1992). En: M. Speck (eds). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D.C. American Public Health Association, p. 914
- Asamblea General de las Naciones Unidas (1985). Resolución 39/248. Protección del consumidor. *Diario de las Naciones Unidas*, de 16 de abril.
- Baird-Parker, A.C. (1962). An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. *Journal of Applied Bacteriology*, 25, 12-19.
- Banwart, G.J. (1982). *Microbiología básica de los alimentos*. Editorial Bellaterra, Barcelona.
- Barendsz, A.W. (1998). Food Safety and total quality management. *Food Control*, 9, 163-170.

- Bauman, H.E. (1992). Introduction to HACCP. En: *HACCP: Principles and Applications*. M.D. Pearson & A.D. Corlett (ed.). Chapman & Hall, New York.
- Belk, K. E. (2000). Beef Decontamination Technologies. *National Cattlemens Beef Association*. [www.beef.org](http://www.beef.org)
- Bernard, D.; Gavin, A.; Scott, V.N. (1994). *The application of the HACCP systems to different sectors of the food industry*. FAO Food and Nutrition Paper 58.
- Bertrand, L.H. (1980). *Teoría y práctica del control de calidad*. 2ª edición. Ed. Hispano Europea, Barcelona.
- Bisaillon, J.R; Charlebois, R.; Feltmate, T.; Labbe, Y. (1997). HACCP, Statistical Process Control applied to post-mortem inspection and Risk Analysis in Canadian abattoirs. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 17, 150-155.
- Blackman, I.C.; Frank, J. (1996). Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces. *Journal of Food Protection*, 59, 827-831.
- Bolton, D.J.; Pearce, R.A.; Sheridan, J.J.; Blair, I.S.; McDowell, D.A.; Harrington, D. (2002). Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 893-902.
- Bongaerts, G; Severijnen, R.; Timmerman, H. (2005). Effect of antibiotics, prebiotics and probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. *Medial Hypotheses*, 64, 64-68.
- Boutrou, R.; Guéguen, M. (2005). Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 1-20.
- Bovill, R.; Bew, J.; Cook, N.; D'Agostino, M.; Wilkinson, N.; Baranyi, J. (2000). Predictions of growth for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* during fluctuating temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 157-165.
- Bower, C.K.; McGuire, J.; Daeschel, M.A. (1995). Suppression of *Listeria monocytogenes* colonization following adsorption of nisin onto silica surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 992-997.
- Bréand, S.; Fardel, G.; Flandrois, J.P.; Rosso, L.; Tomassone, R. (1998). Model of the influence of time and mild temperature on *Listeria monocytogenes* nonlinear survival curves. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 185-195.
- Bro, R.; van den Berg, F.; Thybo, A.; Andersen, C.M.; Jorgensen, B.M.; Andersen, H. (2002). Multivariate data analysis as a tool in advanced quality monitoring in the food production chain. *Trends in Food Science & Technology*, 13(6-7), 235-244.

- Broda, D.M.; DeLacey, K.M.; Bell, R.G.; Penney, N. (1996). Association of psychrotrophic *Clostridium* spp. With deep tissue spoilage of chilled vacuum-packed lamb. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 371-378.
- Bryan, F.L. (1982). Hazard analysis critical control point: epidemiological rationale and application to food service operations. *Journal of Environment Health*, 44, 7-14.
- Buchanan, R.L.; Golden, M.H.; Whiting, R.C. (1993). Differentiation of the effects of pH and lactic or acetic acid concentration on the kinetics of *Listeria monocytogenes* inactivation. *Journal of Food Protection*, 56, 474-478.
- Buxadé, C. (1985). Sacrificio y comercialización. En: *El pollo de carne*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Camps, M.; Pujol, M. (1997). La formación del personal en la industria alimentaria. *Alimentaria*, enero-febrero, 71-77.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Moreno, B.; García-Fernández, M.C. (2001). Assessment of Baird-Parker agar as screening test for determination of *Staphylococcus aureus* in poultry meat. *Journal of Microbiology*, 39, 321-325.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Arias, M.T.G.; Moreno, B.; García-Fernández, M.C. (2000). Note. Effect of trisodium phosphate on mesophilic and psychrotrophic bacterial flora attached to the skin of chicken carcasses during refrigerated storage. *Food Science and Technology International*, 6, 345-350.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; García-Arias, M.T.; García-Fernández, M.C.; Moreno, B. (1999). Aspectos de interés en la calidad microbiológica de la carne de pollo. *Eurocarne*, 73, 73-86.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; García-Fernández, M.C.; Moreno, B. (2001). Influence of strain and trisodium phosphate concentration on growth parameters of *Listeria monocytogenes* in vitro. *Letters in Applied Microbiology*, 32, 428-432.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; García-Fernández, M.C.; Moreno, B. (2002a). Review: Trisodium phosphate (TSP) treatment for decontamination of poultry. *Food Science and Technology International*, 8, 11-24.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Moreno, B.; García-Fernández, M.C. (2002b). Trisodium phosphate (TSP) decontamination as a means of removing spoilage bacteria from poultry: Legal implications. *Agrofood Industry Hi-Tech*, 13, 17-20.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Prieto, M.; García-Fernández, M.C.; Moreno, B. (2003). Effectiveness of trisodium phosphate against *Listeria*

- monocytogenes* excised and nonexcised chicken skin. *Journal of Food Protection*, 66, 61-64.
- Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Rodríguez-Pérez, R.; Moreno, B; García-Fernández, M.C. (2002c). Influence of poultry carcass skin site on the effectiveness of trisodium phosphate against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 65, 853-856.
- Carpentier, B.; Cerf, O. (1993). Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 499-511.
- Chasseignaux, E.; Gérault, P.; Toquin, M.T.; Salvat, G.; Colin, P.; Ermel, G. (2002). Ecology of *Listeria monocytogenes* in the environment of raw pork meat processing plants. *FEMS Microbiology Letters*, 210, 271-275.
- Cheroutre-Vialette, M.; Lebert, I.; Hebraud, M.; Labadie, J.C.; Lebert, A. (1998). Effects, of pH or  $a_w$  stress on growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 71-77.
- CODEX (1997). *Guidelines for the application of the Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) systems*. Codex Alimentarius Commission, ALINORM 97/13, Appendix II, Rome.
- Coleman, M.E.; Marks, H.M. (1999). Qualitative and quantitative risk assessment. *Food Control*, 10, 289-297.
- Collins, C.H.; Lyne, M. (1989). *Métodos Microbiológicos*. 5º ed. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Colomer, M.A. (1997). *Estadística en el control de calidad*. Ed. Universidad de Lleida, Lleida.
- Comisión de la Unión Europea (2004) Recomendación 2004/24/CE, de 19 de diciembre, relativa a un programa coordinado de control oficial de productos alimenticios para el año 2004. DOCE L 006 de 10 de enero.
- Comisión de las Comunidades Europeas (1980). Directiva 80/879/CEE, de 3 de septiembre de 1980, referente al mercado de inspección veterinaria de los embalajes grandes de carnes frescas de aves de corral. DOCE L 251, de 24 de septiembre.
- Comisión de las Comunidades Europeas (1994). Decisión 94/85/CE, de 16 de febrero de 1994, por la que se establece la lista de terceros países a partir de los cuales los Estados miembros autorizarán las importaciones de carne fresca de aves de corral. DOCE L 044, de 17 de febrero.
- Comisión de las Comunidades Europeas (1997). COM (1997) 176. *Libro verde sobre los principios generales de la legislación alimentaria*. Bruselas, 30 de abril.
- Comisión de las Comunidades Europeas (2000). COM (1999) 719 final. *Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria*. Bruselas, 12 de enero.

- Comisión de las Comunidades Europeas (2001). Decisión 2001/471/CE. Se establecen las normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos, de conformidad con la Directiva 64/433/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca, y con la Directiva 71/118/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral. *DOCE*, L 165, de 21 de junio.
- Commane, D.; Hughes, R.; Shortt, C; Rowland, I. (2005). The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1-2), 276-289.
- Conover, W.J. (1980). *Practical Nonparametric Statistics*. Ed. John Wiley & Sons, New York.
- Consejo de la Unión Europea (1971) Directiva 71/118/CEE, de 15 de febrero de 1971, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral. *DOCE* L 055, de 08 de marzo.
- Consejo de la Unión Europea (1980) Directiva 80/216/CEE, de 22 de enero de 1980, por la que se modifica la Directiva 71/118/CEE relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral. *DOCE* L 047, de 21 de febrero.
- Consejo de la Unión Europea (1985) Directiva 85/324/CEE, de 12 de junio de 1985, por la que se modifica la Directiva 71/118/CEE relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral. *DOCE* L 168, de 28 de junio.
- Consejo de la Unión Europea (1989) Directiva 89/397/CEE de 14 de junio, relativa al control oficial de los productos alimenticios. *DOCE* L186, de 30 de junio.
- Consejo de la Unión Europea (1993) Directiva 92/116/CEE, de 17 de diciembre de 1992, por la que se modifica y actualiza la Directiva 71/118/CEE relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca de aves de corral. *DOCE* L 062, de 15 de marzo.
- Consejo de la Unión Europea (1993) Directiva 93/43/CEE, de 14 de junio, relativa a la higiene de los productos alimenticios. *DOCE* L 175, de 19 de julio.
- Costerton, J.W.; Cheng, K.J.; Geesey, G.G.; Ladd, T.I.; Nickel, J.C.; Dasgupta, M.; Marrie, T.J. (1987). Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Review of Microbiology*, 41, 435-464.
- Cox, L.J.; Kleiss, T.; Cordier, J.L.; Crodelana, C.; Konkel, P.; Pedrazzini, C.; Beuner, R.; Siebenga, A. (1989). *Listeria* ssp. in food processing, non-food and domestic environments. *Food Microbiology*, 14, 297-304.
- Daeschel, M.A.; McGuire, J.; Al-Makhlafi, H. (1992). Antimicrobial activity of nisin adsorbed to hydrophilic and hydrophobic silicon surfaces. *Journal of Food Protection*, 55, 731-735.

- Dainty, R.H.; Mackey, B.M. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology Symposium*, suplement 73, 103S-114S.
- Davey, G.R. (1985). Food poisoning in New South Wales: 1977-84. *Food Technology in Australia*, 37(10), 453-456.
- De Boer, E. (1998). Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 43-53.
- De Martinis, E.C.P.; Franco, B.D.G.M. (1998). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in a pork product by a *Lactobacillus sake* strain. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 119-126.
- Delzenne, N.M.; Kok, N.N. (1999). Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidaemia in animal models. *Journal of Nutrition*, 129, 1467S-1470S.
- Djenane, D.; Martínez, L.; Blanco, D.; Yangüela, J.; Beltrán, J.A.; Roncalés, P. (2005). Effect of lactic acid bacteria on extension of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef steaks stored in CO<sub>2</sub>-rich atmosphere. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 405-412.
- Escudero-Gilete, M.L.; González-Miret, M.L.; Heredia, F.J. (2005). Multivariate study of the decontamination process as function of time, pressure and quantity of water used in washing stage after evisceration in poultry meat production. *Journal of Food Engineering*, 69, 245-251.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y el Ministerio de Sanidad y Consumo de España (2002). *Sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos. Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control*. Grupo Editorial Dirección de Información de la FAO, Roma.
- FAO/OMS (1993). *Directrices para la aplicación del Sistema de Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (HACCP)*. Comisión del Codex Alimentarius, FAO/OMS, Roma.
- Farber, J.M.; Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen. *Microbiology Reviews*, 55, 476-571.
- Farber, J.M.; Sanders, G.W.; Dunfield, S.; et al. (1989). The effect of various acidulants on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 9, 181-183.
- Fernández, J.F.; Blanco, M.M. (1992). Supervivencia y proliferación de *L. monocytogenes* en diversos tipos de alimentos. En: *Listeria en alimentos. Conferencia consenso*. Edita Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- Ferrer, B.; Dalmau, J. (2001). Alimentos funcionales: probióticos. *Acta Pediátrica Española*, 59(3), 150-155.

- Fiordaliso, M.; Kok, N.; Desoger, J.P.; Goethals, F.; Deboysen, D.; Roberfroid, M.; Delzenne, N. (1995). Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids, and cholesterol in serum and very low density lipoproteins in rats. *Lipids*, 30, 163-167.
- Flamm, G.; Glinsmann, W.; Kritchevsky, D.; Prosky, L.; Roberfroid, M. (2001). Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(5), 353-362.
- Fonnesbech Vogel, B.; Jørgensen, L.V.; Ojeniyi, B.; Huss, H.H.; Gram, L. (2001). Diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from cold-smoked salmon produced in different smokehouses as assessed by Random Amplified Polymorphic DNA analyses. *International Journal of Food Microbiology*, 65, 83-92.
- Forsythe, S.J.; Hayes, P.R. (2002). *Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Frank, J.F.; Koffi, R.A. (1990). Surface adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increase resistance to surfactant sanitizers and heat. *Journal of Food protection*, 53, 550-554.
- Furia, T.E.; Schenkel, A.G. (1968). New, Broad Spectrum Bacteriostat: 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether. *Soap & Chemical Specialties*, 44, 47-50 y 116-122.
- Ganesh Kumar, C.; Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 9-27.
- Geornaras, I.; Von Holy, A. (2000). Bacterial counts associated with poultry processing at different sampling times. *Journal of Basic Microbiology*, 40, 343-349.
- Gibson, G.R. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(2), 287-298.
- Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gill, C.O.; Landers, C. (2003). Microbiological effects of carcasses decontaminating treatments at four beef packing plants. *Meat Science*, 65, 1005-1011.
- Gill, C.O.; Rahn, K.; Sloan, K.; McMullen, L.M. (1997). Assessment of the hygienic performance of hamburger patty production processes. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 171-178.
- Giovannacci, I.; Queguiner, S.; Ragimbeau, C.; Salvat, G.; Vendevre, J.L.; Carlier, V.; Ermel, G. (2001). Tracing of *Salmonella* ssp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 131-147.



- Giraffa, G.; Rossetti, L. (2004). Monitoring of the bacterial composition of dairy starter cultures by RAPD-PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 237, 133-138.
- Gmeiner, M.; Kneifel, W.; Kulbe, K.D.; Wouters, R.; De Boever, P.; Nollet, L.; Verstraete, W..(2000). Influence of a symbiotic mixture consisting of *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and a fructooligosaccharide preparation on the microbial ecology sustained in a simulation of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME reactor). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 219-223.
- Gonçalves, A.C.; Almeida, R.C.C.; Alves, M.A.O.; Almeida, P.F. (2005). Quantitative investigation of the effects of chemical treatments in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken breast meat. *Food Control*, 16, 617-622.
- González-Miret, M.L (2003). *Diseño de un sistema de análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP) en un matadero de aves. Aplicación de la estadística multivariante*. Editorial Universidad de Sevilla, Sevilla.
- González-Miret, M.L., Alonso, S., Heredia, F.J. (2000). Sistemas Continuos de Control en la Producción de Alimentos (II). Efecto del refrigerado en el control de calidad de carne de ave. *Alimentaria*, marzo, 31-35.
- González-Miret, M.L., Escudero, M.L., Alonso, S.; Heredia, F.J. (2001b). Sistemas Continuos de Control en la Producción de Alimentos (III). Efecto del manipulado en el control de calidad de carne de ave. *Alimentaria*, marzo, 43-47.
- González-Miret, M.L.; Alonso, S.; Heredia, F.J. (1998). Sistemas Continuos de Control en la Producción de Alimentos. El nivel de cloro en el control de calidad de carne de ave. *Alimentaria*, noviembre, 91-97.
- González-Miret, M.L.; Escudero-Gilete, M.L.; Heredia, F.J. (2005). The establishment of critical control points at the washing and air chilling stages in poultry meat production using multivariate statistics. *Food Control*, en prensa.
- Gopal, P.K.; Prasad, J.; Gill, H.S. (2003). Effects of consumption of *Bifidobacterium lactis* HN019 (DR10<sup>TM</sup>) and galacto-oligosaccharides on the microflora of the gastrointestinal tract in human subjects. *Nutrition Research*, 23, 1313-1328.
- Gram, L.; Ravn, L.; Rasch, M.; Bruh, J.B.; Christensen, A.B.; Givskov, M. (2002). Food spoilage - Interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 79-97.
- Grau, F.H. (1986). Microbial ecology of meat and poultry. *Advances in meat research. Vol. 2 Meat and poultry microbiology*. A.M. Pearson & T.R. Dutson (ed.) Avi Publishing Company. Westport, Connecticut.

- Graw, L.; Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria - Problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 262-266.
- Grigg, N.P.; Daly, J.; Stewart, M. (1998). Case study: the use of statistical process control in fish product packaging. *Food Control*, 9, 289-297.
- Hansen, B.L. (1980). *Teoría y práctica del control de calidad*. 2ª edición, Editorial Hispano Europea, Barcelona.
- Harris, K.B.; Cross, H.R.; Acuff, G.R.; Webb, N.B. (1995). Risk analysis, HACCP and microbial criteria in meat and poultry system. En: *HACCP in meat, poultry and fish processing*. A.M. Pearson & T.R. Dutson (ed.). Blackie Academic and Professional, Londres.
- Havenaar, R.; Huis In't Veld, M.J.H. (1992). Probiotics: a general view. *Lactic acid bacteria in health and disease. Vol 1*. Elsevier Applied Science Publishers, Amsterdam.
- Hayes, G.D.; Scallan, A.J.; Wong, J.H.F. (1997). Applying statistical process control to monitor and evaluate the hazard analysis critical control point hygiene data. *Food Control*, 8(4), 173-176.
- Helke, D.M.; Wong, A.C.L. (1994). Survival and growth characteristic of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and Buna-N rubber. *Journal of Food Protection*, 57, 963-968.
- Herald, P.J.; Zottola, E.A. (1988). Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel surfaces at various temperatures and pH values. *Journal of Food protection*, 53, 1549-1552, 1562.
- Hoesl, C.E.; Altwein, J.E. (2005). The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *European Urology*, 47, 288-296.
- Holah, J.T.; Kearney, I.R. (1992). Introduction to biofilms in the food industry. En: *Biofilms-Science and Technology*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Hoorstra, E.; Notermans, S. (2001). Quantitative microbiological risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 21-29.
- Hozbor, M.C.; Saiz, A.I.; Yeannes, M.I.; Fritz, R. (2006). Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic ices storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *LWT*, 39, 99-104.
- Huang, C.T.; Yu, F.P.; McFeters, G.A.; Stewart, P.S. (1995). Nonuniform spatial patterns of respiratory activity within biofilms during disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 2252-2256.
- Hylla, S.; Gostner, A.; Dusel, G.; Anger, H.; Bartram, HP.; Christl, S.U.; Kasper, H.; Scheppach, W. (1998). Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 136-142.

- ICMSF (International Commission on Microbial Specifications for Foods) (1980). *Ecología microbiana de los alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- ICMSF (International Commission on Microbial Specifications for Foods) (1998). *Microorganisms in foods. Microbial ecology of food commodities*. Blackie Academic and Professional, Londres..
- ICMSF (International Commission on Microbial Specifications for Foods) (1991). *El Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos: su aplicación a las industrias de alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1986). *Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. University of Toronto Press, Toronto.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1997). Establishment of microbiological safety criteria for foods in international trade. *World Health Statistical Quarterly*, 50, 119-123.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (1983). *Ecología microbiana de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológico*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Jamuna, M.; Babusha, S.T.; Jeevaratnam, K. (2005). Inhibitory efficacy of nisin and bacteriocins from *Lactobacillus* isolates against food spoilage and pathogenic organisms in model and food systems. *Food Microbiology*, 22, 449-454.
- Jayani, R.S.; Saxena, S.; Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, 40, 2931-2944.
- Johnson, D.E. (2000). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. International Thomson Editores, Madrid.
- Junttila, J.; Niemela, S.; Hirn, J. (1988). Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic *Listeria*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65, 321-327.
- Katla, T.; Moretro, T.; Sveen, I.; Aasen, I.M.; Axelsson, L.; Rorvik L.M.; Naterstad, K. (2002). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in chicken cold cuts by addition of sakacin P and sakacin P-producing *Lactobacillus sakei*. *Journal of Applied Microbiology*, 93, 191-196.
- Katz, H.; Fuchs, K. Koefer, J. (1997). Three class plans as a monitoring procedure in HACCP systems. Comparison with current random sampling plans. *Fleischwirtschaft*, 77, 132-138.
- Khongsak, S.; Hourigan, J.A. (2002). The use of statistical process control (SPC) to enhance the validation of critical control points (CCPs) in shell egg washing. *Food Control*, 13, 263-273.

- Kleiss, T.; Van Schothorst, M.; Cordier, J.L.; Untermann, F. (1994). Staphylococci in a whey powder plant environment: an ecological survey as a contribution to HACCP studies. *Food Control*, 5, 196-199.
- Kusumaningrum, H.D.; Riboldi, G.; Hazeleger, W.C.; Beumer, R.R. (2003). Survival of foodborne pathogens on stainless surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 227-236.
- Lancete, G.A.; Tatini, S.R. (1992). *Staphylococcus aureus*. En: C. Vanderzant, y D.F. Splittstoesser (eds). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA, Washington, D.C. p. 533
- Lara, A.M. (2000). Contrastes de hipótesis basados en la Chi-cuadrado. *Estadística para ciencias biológicas y ciencias ambientales*. Ed. Proyecto Sur de Ediciones, S.L., Armilla (Granada)
- Leatherhead Food International (2003). New product for meat industry to fight *Listeria*. FoodlineWeb News Archive Editorial. <http://www.foodlineweb.co.uk>.
- Lee, S.H.; Frank, J.F. (1991). Inactivation of surface-adherent *Listeria monocytogenes*. Hypochlorite and heat. *Journal of Food Protection*, 54, 4-6.
- Lehallec, C.; Colin, P. (1979). Bacterial flora of poultry: changes due to variation in ecological conditions during processing and storage. *Archiv-fuer-Lebensmittelhygiene*, 30(3), 95-98.
- Lelieveld, H.L.M. (1994). HACCP and hygienic design. *Food Control*, 5(3), 140-144.
- Leroy, F.; De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 67-78.
- Lilliefors, H.W. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association*, 64, 399-402.
- López-Molina, D; Navarro-Martínez, M.D.; Rojas Melgarejo, F.; Hiner, A.N.P.; Chazarra, S.; Rodríguez-López, J.N. (2005). Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*, 66, 1476-1484.
- Lorber, B. (1990). Clinical listeriosis, implications for pathogenesis. En: *Foodborne listeriosis*. Society for Industrial Microbiology. Elsevier Science Publishing, Amsterdam.
- Loureiro, V.; Malfeito-Ferreira, M. (2003). Spoilage yeast in the wine industry. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 23-50.
- Mafu, A.A.; Roy, D.; Goulet, J.; Magny, P. (1990). Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel, glass, polypropylene and rubber surfaces after short contact times. *Journal of Food Protection*, 53, 742-746.

- Martín, A.; Luna, J.D. (2004). *Bioestadística para las Ciencias de la Salud*. Ediciones Norma - Capitel. Las Rozas, Madrid.
- Martín, Q. (2001). *Curso de tratamiento de datos con SPSS*. Ed. Hespérides, Salamanca.
- Martorell, P.; Fernández-Espinar, M.T.; Querol, A. (2005). Molecular monitoring of spoilage yeast during the production of candied fruit nougats to determine food contamination sources. *International Journal of Food Microbiology*, 101, 293-302.
- Matsuzaki, T (1998). Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 133-140.
- Matteuzzi, D.; Swennen, E.; Rossi, M.; Hartman, T. ; Lebet, V. (2004). Prebiotic effects of a wheat germ preparation in human healthy subjects. *Food microbiology*, 21, 119-124.
- Mattila-Sandholm, T.; Wirtanen, G. (1992). Biofilm formation in the food industry: a review. *Food Review International*, 57, 33-39.
- Maurice, J. (1994). The rise and rise of food poisoning. *New Science*, 144, 28-33.
- Mayes, T (1999). How can the principles of validation and verification be applied to hazard analysis?. *Food Control*, 10, 277-279.
- Meadows, P.S. (1971). The attachment of bacteria to solid surfaces. *Archives of Microbiology*, 75, 374-381.
- Mendonca, A.F.; Amoroso, T.L.; Knabel, S.J. (1994). Destruction of gram-negative food-borne pathogens by high pH involves disruption of the cytoplasmic membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 4009-4014.
- Ming, X.T.; Weber, G.H.; Ayres, J.W.; Sandine, W.E. (1997). Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. *Journal of Food Science*, 62, 413-415.
- Ministerio de la Presidencia (1994) R.D. 1904/1993, de 29 de octubre, por el que se establece las condiciones sanitarias de producción y comercialización de productos cárnicos y de otros determinados productos de origen animal. *B.O.E.* nº 36, de 11 de febrero.
- Ministerio de la Presidencia (1994). Real Decreto 2087/1994. Condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas de aves de corral. *B.O.E.* nº 301, de 17 de diciembre.
- Ministerio de la Presidencia (1996). Real Decreto 2207/1995. Normas de higiene relativas a los productos alimenticios. *B.O.E.*, nº 50, de 27 de febrero.
- Ministerio de la Presidencia (1999) R.D. 1334/1999, de 31 de julio, por el que se aprueba la Norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios. *B.O.E.* nº 202, de 24 de agosto.

- Ministerio de la Presidencia (2003). Real Decreto 140/2003. Criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. *B.O.E.* nº 45, de 7 de febrero.
- Ministerio de la Presidencia (2004) R.D. 2220/2004, de 26 de noviembre, por el que se modifica la norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 1334/1999, de 31 de julio. *B.O.E.* nº 286 de 27 de noviembre.
- Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría de Gobierno (1993) R.D. 50/1993, de 15 de enero, por el que se regula el control oficial de los productos alimenticios. *B.O.E.* nº 36, de 11 de febrero.
- Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno (1989). R.D. 644/1989. Se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria en materia de intercambio de carnes frescas de aves para el comercio intracomunitario, e importación de las mismas de terceros países, y las normas que hacen relación a los mataderos, salas de despiece y almacenes frigoríficos autorizados para dicho comercio. *B.O.E.* nº 140, de 13 de junio.
- Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno (1990). R.D. 1138/1990. Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público. *B.O.E.* nº 226 de 20 de septiembre.
- Ministerio de Sanidad y Consumo (1991) R.D. 1712/1991, de 29 de noviembre, sobre Registro General Sanitario de Alimentos. *B.O.E.* nº 290, de 4 de diciembre.
- Ministerio de Sanidad y Consumo (2000). Real Decreto 202/2000. Normas relativas a los manipuladores de alimentos. *B.O.E.* nº 48, de 25 de febrero.
- Montesi, A.; García-Albiach, R.; Pozuelo, M.J.; Pintado, C.; Goñi, I.; Rotger, R. (2005). Molecular and microbiological análisis of caecal microbiota in rats fed with diets suplementes either with prebiotics or probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 281-289.
- Montville, R. ; Chen, Y. ; Schaffner, D.W. (2002). Risk assessment of hand washing efficacy using literature and experimental data. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 305-313.
- Moreno, B.; García, M.C.; Sierra, M.L.; López, T.M.; García Armesto, M.R. (1992). Beneficios de las aplicaciones del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos para la prevención de la presencia de *Listeria* en las industrias de alimentos. En: *Listeria en alimentos. Conferencia consenso*. Edita Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- Mortimore, S.; Wallace, C. (1996). *HACCP: Enfoque práctico*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Moruzi, G.; Garthright, W.E.; Floros, J.D. (2000). Aseptic packaging machine pre-sterilisation and package sterilisation: statistical aspects of microbiological

- validation. *Food Control*, 11, 57-66.
- Mossel, D.A.A.; Visser, M.; Cornelissen, A.M.R. (1963). The examination of foods for Enterobacteriaceae using a test of the type generally adopted for the detection of salmonellae. *Journal of Applied Bacteriology*, 26, 444-452.
- Mossell, D.A.A.; Moreno, B. (1985). *Microbiología de los alimentos: fundamentos ecológicos*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Mustapha, A.; Liewen, M.B. (1989). Destruction of *Listeria monocytogenes* by sodium hypochlorite and quaternary ammonium sanitizers. *Journal of Food Protection*, 52, 306-311.
- NACMCF (U.S. National Advisory Committee on Microbial Criteria for Foods) (1992). Hazard Analysis Critical Control Point System. *International Journal of Food Microbiology* 16, 1-23.
- NACMCF (U.S. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods) (1998). Hazard Analysis and Critical Control Points principles and application guidelines. *Journal of Food Protection* 61, 1246-1259.
- Naes, T.; Baardseth, P.; Helgesen, H.; Isaksson, T. (1996). Multivariate techniques in the analysis of Meat Quality. *Meat Science*, 43, 135-149.
- Nandakumar, R.; Yoshimune, K.; Wakayama, M.; Moriguchi, M. (2003). Microbial glutaminase: biochemistry, molecular approaches and applications in the food industry. *Journal of Molecular Catalysis*, 23, 87-100.
- Nauta, M.J. (2002). Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible?. *International Journal of Food Microbiology* 73, 297-304.
- Nettles, C.G.; Barefoot, S.F. (1993). Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*, 56, 338-356.
- Nickel, J.C.; Wright, J.B.; Ruseska, J.; Marrie, T.J.; Whitfield, C.; Costerton, J.W. (1985). Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* colonizing a urinary catheter. *European Journal of Clinical Microbiology*, 4, 213-218.
- Nickerson, J.T.; Sinskey, A.J. (1978). *Microbiología de los alimentos y sus procesos de elaboración*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Nikolaou, E.; Soufleros, E.H.; Bouloumpasi, E.; Tzanetakis, N. (2006). Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains according to their oenological characteristics and vinification results. *Food microbiology*, 23, 205-211.
- Norman, G.R.; Streiner, D.L. (1996). *Bioestadística*. Mosby/Doyma Libros S.A., Times Mirror International Publishers, Madrid.
- Nortje, G.J.; Nel, L.; Jordaan, E.; Badenhorst, K; Goedhart, E.; Holzapel, W.H. (1990). The aerobic psychrotropic populations on meat and meat contact

- surfaces in a meat production system and on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 68, 335-344.
- Notermans, S.; Mead, G.C. (1996). Incorporation of elements of quantitative risk analysis in the HACCP system. *International Journal of Food Microbiology*, 30(1-2), 157-173.
- Oballe, J.; Rodríguez, F.; Domínguez, J.C. (2001). Portadores de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. *Alimentaria*, marzo, 33-34.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1992). Effect of pH on the minimum inhibitory concentration of monolaurin against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 55, 449-450.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1993a). Influence of temperature, pH and glycerol monolaurate on growth and survival of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 56, 744-749.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1993b). Antimicrobial activity of ethanol, glycerol monolaurate or lactic acid against *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 20, 239-246.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1994). Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *Journal of Food Protection*, 57, 1258-1261.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1995). Destruction of *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel using monolaurin and heat. *Journal of Food Protection*, 58, 251-255.
- Oh, D.H.; Marshall, D.L. (1996). Monolaurin and acetic acid inactivation of *Listeria monocytogenes* attached to stainless steel. *Journal of Food Protection*, 59, 249-252.
- Otero, A.; García-López, M.L.; Prieto, M.; Santos, J.; Sanz, J.J. (1992). Tratamientos físicos y químicos para el control de *Listeria*. En: *Listeria en alimentos. Conferencia consenso*. Edita Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- Overy, D.P.; Seifert, K.A.; Savard, M.E.; Frisvad, J.C. (2003). Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 69-77.
- Parlamento Europeo y del Consejo (2002). Reglamento (CE) nº 178/2002. Principios y requisitos generales de la legislación alimentaria, Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. *DOCE* L31, de 28 de enero.
- Pascual, M.R. (2000). *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. Editorial Díaz de Santos, S.A., Madrid.



- Pearson, A.M.; Dutson, T.R. (1986). *Meat and Poultry Microbiology*. Advances in Meat Research, vol.2. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Pearson, L.; Marth, E. (1990). *Listeria monocytogenes*-threat to a safe food supply: a review. *Journal of Dairy Science*, 73, 912-928.
- Pértegas Díaz, S.; Pita Fernández, S. (2001). La distribución normal. *Cuadernos de Atención Primaria*, 8, 268-274.
- Pirttijärvi, T.S.M.; Ahonen, L.M.; Maunuksela, L. M.; Salkinoja-Salonen, M.S. (1998). *Bacillus cereus* in a whey process. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 31-41.
- Presidencia del Gobierno (1967). Decreto 2484/1967. Aprobación del texto del Código Alimentario Español. *B.O.E.* nº 248, de 17 de octubre.
- Presidencia del Gobierno (1983) R.D. 1945/1983, de 22 de junio, regulador de las infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agroalimentaria *B.O.E* nº 168, de 15 de julio.
- Purnell, G.; Mattick, K.; Humphrey, T. (2004). The use of 'hot wash' treatments to reduce the number of pathogenic and spoilage bacteria on raw retail poultry. *Journal of Food Engineering*, 62, 29-36.
- Rafter, J. (2003). Probiotics and colon cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 849-859.
- Rastall, R.A.; Maitin, V. (2002). Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 490-496.
- Reddy, B.S.; Hamid, R.; Rao, C.V. (1997). Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis*, 18, 1371-1374.
- Reij, M.W.; Den Aantrekker, E.D. (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. *International Journal of Food Microbiology*, 91, 1-11.
- Reinders, D.R.; De Jonge, R.; Evers, E.G. (2003). A statistical method to determine whether micro-organisms are randomly distributed in a food matrix, applied to coliforms and *Escherichia coli* O157 in minced beef. *Food Microbiology*, 20, 297-303.
- Robach, M.C. (1996). Microbiological indicators for meat and poultry. *Institute of Food Technologists, Annual Meeting: book of abstracts*, p. 105 ISSN 1082-1236.
- Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver disease*, 34(2), S105-S110.

- Roberts, D.; Watson, G.N.; Gilbert, R.T. (1980). Contamination of meat. The effect of slaughter practices on the bacteriology of the red meat carcass. *Roy. Soc. Health J.*, 100, 3-9.
- Rodier, J. (1981). *Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales, agua de mar*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona.
- Rodríguez, E.F. (1992). El problema de la Listeriosis. En: *Listeria en alimentos. Conferencia consenso*. Edita Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- Rodríguez-Calleja, J.M.; García-López, M.L.; Santos, J.A.; Otero, A. (2005). Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. *Meat Science*, 70, 389-394.
- Ronner, A.B.; Wong, A.C.L. (1993). Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and Buna-N rubber. *Journal of Food Protection*, 56, 750-758.
- Russell, S.M. (1996). The effect of refrigerated and frozen storage on populations of mesophilic and coliform bacteria on fresh broiler chicken carcasses. *Poultry Science*, 75, 2057-2060.
- Sakhare, P.Z.; Sachindra, N.M.; Yashoda, K.P.; Narasimha Rao, D. (1999). Efficacy of intermittent decontamination treatments during processing in reducing the microbial load on broiler chicken carcass. *Food Control*, 10, 189-194.
- Samelis, J.; Kakouri, A.; Rementzis, J. (2000). The spoilage microflora of cured, cooked turkey breasts prepared commercially with or without smoking. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 133-143.
- Sammarco, M.L.; Ripabelli, G.; Ruberto, A.; Iannitto, G.; Grasso, G.M. (1997). Prevalence of *Salmonellae*, *Listeriae* and *Yersiniae* in the slaughterhouse environment and on work surfaces, equipment and workers. *Journal of Food Protection*, 60, 367-371.
- Schlundt, J. (2002). New directions in foodborne disease prevention. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 3-17.
- Scholz-Ahrens, K.E.; Schaafsma, G.; van den Heuvel, E.G.; Schrezenmeir, J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(suppl), 459S-464S.
- Schrezenmeir, J.; de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics - Approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 Suppl), 361S-364S.
- Senczek, D.; Stephan, R.; Untermann, F. 2000. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) typing of *Listeria* strains isolated from a meat processing plant over a 2-year period. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 155-159.

- Servin, A.L.; Coconnier, M.H. (2003). Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(5), 741-754.
- Siragusa, G.R. (1995). The effectiveness of carcass decontamination system for controlling the presence of pathogens on the surfaces of meat animal carcasses. *Journal of Food Safety*, 15, 229-238.
- Snijders, J.M.A.; Van Knapen, F. (2002). Prevention of human diseases by an integrated quality control system. *Livestock Production Science*, 76, 203-206.
- Sofos, J.N. (1994). Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products. Vol. 9. Advances in Meat Research*. A.M Pearson y T.R. Dutson (ed.) Blackie academic & Professional, London.
- Speers, J.G.S.; Gilmour, A. (1985). The influence of milk and milk components on the attachment of bacteria to farm dairy equipment surfaces. *Journal of Applied Bacteriology*, 59, 325-332.
- SPSS Inc. (2003). *Statistical Package for the Social Sciences*. SPSS v.11.5 for Windows. Chicago, IL.
- Spurlock, A.T.; Zottola, E.A. (1991). Growth and attachment of *Listeria monocytogenes* to cast iron. *Journal of Food Protection*, 54, 925-929.
- StatSoft Inc. (1995). Statistica for Windows v. 5.0. *Data analysis software system*. Tulsa, Oklahoma.
- StatSoft, Inc. (2006). *Electronic Statistics Textbook*. Tulsa, OK: StatSoft. WEB: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>.
- Sumnu, G. (2000). Quality control charts for storage of pears. *European Food Research Technology*, 211, 355-359.
- Tabachnick, B.G.; Fidell, L.S. (1983). *Using multivariate statistics*. Harper & Row Publishers, New York.
- Tahiri, I.; Makhoul, J.; Paquin, P.; Fliss, I. (2006). Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. *Food Research International*, 39, 98-105.
- Teitelbaum, J.E.; Walker, W.A. (2002). Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annual Review of Nutrition*, 22, 107-138.
- Thomas, C.J.; McMeekin, T.A. (1980). Contamination of broiler skin during commercial processing procedures: An electron microscopic study. *Applied Environmental Microbiology*, 40, 133-144.

- Thomas, L.V.; Clarkson, M.R.; Delves-Broughton (2000). *Natural food antimicrobial systems*. Nisin. In A.S. Naidu (ed.). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Todd, E.C.D. (2003) Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. *Meat Science*, 66, 33-43.
- Tompkin, R.B. (1983). Indicator organisms in meat and poultry products. *Food technology*, 37, 107-110.
- Tompkin, R.B. (1994). HACCP in meat and poultry industry. *Food Control*, 5(3), 522-525.
- Tuohy, K.M.; Probert, H.M.; Smejkal, C.W.; Gibson, G.R. (2003). Using probiotics and prebiotics improve gut health. *Drug Discovery Today*, 8(15), 692-700.
- U.S. Food & Drug Administration (2003). Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Center for Food Safety & Applied Nutrition Foodborne*. <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.html>
- Valls, J.L. (1994). Calidad del pollo: Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos en mataderos de aves. *Selecciones Avícolas*, enero, 32-48.
- Van der Spiegel, M.; Luning, P.A.; Ziggers, G.M.; Jongen, W.M.F. (2003). Towards a conceptual model to measure effectiveness of food quality systems. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 424-431.
- Vaquerizo, J.M. (1991). Sacrificio de las aves. En: *Producción de carne de pollo*. Real Escuela de Avicultura, España.
- Vaquerizo-Florez, J.M. (1991). Consideraciones higiénico-sanitarias de inspección del matadero. En: *Producción de carne de pollo*. Ed. Real Escuela de Avicultura, Barcelona.
- Velásquez Pereira, J.B. (2002). Alternativas para mejorar la inocuidad de los cárnicos. *Actualidad Alimentaria*, 4, Temas de Actualidad.
- Viljoen, B.C.; Lourens-Hattingh, A.; Ikalafeng, B.; Peter, G. (2003). Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. *Food Research International*, 36, 193-197.
- Virgili, R.; Parolari, G. (1991). Quality control in meat industry by multivariate statistics. The case of raw ham. *Meat Science*, 29, 83-96.
- Vitas, A.I.; Aguado, V.; Garcia-Jalon, I. (2004). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *International Journal of Food Microbiology*, 90, 349-356.
- Walker, S.J.; Archer, P.; Banks, J.G. (1990). Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 68, 157-162.
- Walls, I.; Chuyate, R. (2000). Spoilage of fruit juice by *Alicyclobacillus acidoaerophilus*. *Food Australia*, 52, 286-288.

- Whiting, R.C. (1995). Microbial modelling in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 467-494.
- Whyte, P.; Collins, J.D.; McGill, K.; Monahan, C.; O'Mahony, H. (2001) Quantitative investigation of the effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processing. *Journal of Food Protection*, 64, 179-183.
- Widmer, A.F.; Frei, R.; Rajacic, Z.; Zimmerli, W. (1990). Correlation between in vivo and in vitro efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections. *Journal of Infectious Diseases*, 162, 96-102.
- Wirtanen, G.; Mattila-Sandholm, T. (1992). Effect of the growth phase of foodborne biofilms on their resistance to a chlorine sanitizer. Part II. *Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie*, 25, 50-54.
- You, H.J.; Oh, DK.; Ji, G.E. (2004). Anticancerigenic effect of a novel chiroinositol-containing polysaccharide from *Bifidobacterium bifidum* BGN4. *FMES Microbiology Letters*, 240, 131-136.
- Young, R.J.; Huffman, S. (2003). Probiotic use in children. *Journal of Pediatric Health Care*, 17, 277-283.
- Zottola, E.A.; Sasahara, K.C. (1994). Microbial biofilms in the food industry-Should they be a concern? *International Journal of Food Microbiology*, 23, 125-148.

## APÉNDICE 1. PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRAS

1. Marcado de la canal en la cadena de producción



2. Descolgado de la canal en el punto de muestreo



3. Preparación de la canal (según el punto de muestreo)



4. Toma de muestras



5. Medida de parámetros fisicoquímicos



6. Transporte a laboratorio y análisis



## APÉNDICE 2. TABLAS DE DATOS

Tabla A2.1. Datos microbiológicos. Planta de Sevilla.

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
1	[E]	0	5825	11500	275	4.999	3.765	4.061	2.441
2	[E]	0	5700	8750	250	4.834	3.756	3.942	2.400
3	[E]	0	1550	18875	350	4.796	3.190	4.276	2.545
4	[E]	0	3800	875	1050	4.466	3.580	2.942	3.022
5	[E]	0	1150	425	1050	4.823	3.061	2.628	3.022
6	[E]	0	175	2700	4275	4.495	2.243	3.431	3.631
7	[E]	0	4575	875	875	4.261	3.660	2.942	2.943
8	[E]	0	75	2300	1700	4.512	1.875	3.362	3.231
9	[E]	0	725	3225	825	4.423	2.860	3.509	2.917
10	[E]	0	400	1775	300	4.834	2.602	3.249	2.479
11	[E]	0	325	2375	900	4.559	2.512	3.376	2.955
12	[E]	0	100	550	50	4.211	2.000	2.740	1.708
13	[E]	0	775	3500	225	4.613	2.889	3.544	2.354
14	[E]	0	1125	1175	25	4.455	3.051	3.070	1.415
15	[E]	0	200	1625	50	4.097	2.301	3.211	1.708
16	[E]	0	3275	975	1300	4.435	3.515	2.989	3.114
17	[E]	0	2750	2625	1475	4.371	3.439	3.419	3.169
18	[E]	0	9450	5000	1875	4.762	3.975	3.699	3.273
19	[E]	0	5600	2250	1675	4.934	3.748	3.352	3.224
20	[E]	0	10175	1100	675	3.978	4.008	3.041	2.830
21	[E]	0	6500	7925	1075	4.656	3.813	3.899	3.032
22	[E]	0	1825	2050	1100	4.509	3.261	3.312	3.042
23	[E]	0	2050	6225	0	4.658	3.312	3.794	0.000
24	[E]	0	2025	2925	0	4.230	3.306	3.466	0.000
25	[E]	0	2175	3675	17825	4.762	3.337	3.565	4.251
26	[E]	0	2525	2725	3125	4.970	3.402	3.435	3.495
27	[E]	0	150	975	300	4.000	2.176	2.989	2.479
28	[E]	0	4025	500	1525	4.423	3.605	2.699	3.184
29	[E]	0	4450	1650	50	4.813	3.648	3.217	1.708
30	[E]	0	7675	1100	550	4.385	3.885	3.041	2.741
31	[E]	0	775	700	0	4.799	2.889	2.845	0.000
32	[E]	0	875	575	0	5.154	2.942	2.760	0.000
33	[E]	0	8600	11300	0	5.965	3.934	4.053	0.000
34	[E]	0	1800	2700	0	5.187	3.255	3.431	0.000
35	[E]	0	350	4975	1975	4.806	2.544	3.697	3.296
36	[E]	0	1475	325	1675	4.915	3.169	2.512	3.224
37	[E]	0	2050	13500	1125	5.387	3.312	4.130	3.052
38	[E]	0	1075	3650	475	4.868	3.031	3.562	2.678
39	[E]	0	150	700	75	4.758	2.176	2.845	1.881
40	[E]	0	400	525	75	4.808	2.602	2.720	1.881
41	[E]	0	100	2625	2450	4.810	2.000	3.419	3.389
42	[E]	0	50	875	1025	4.720	1.699	2.942	3.011
43	[E]	0	300	5075	1700	4.871	2.477	3.705	3.231
44	[E]	0	825	2075	1300	4.742	2.916	3.317	3.114
45	[E]	0	225	175	900	6.182	2.352	2.243	2.955
46	[E]	0	400	875	1700	7.723	2.602	2.942	3.231
47	[E]	0	325	575	925	5.450	2.512	2.760	2.967
48	[E]	0	325	6725	1350	5.164	2.512	3.828	3.131



Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
49	[E]	Ø	1450	1725	0	4.402	3.161	3.237	0.000
50	[E]	Ø	1475	1175	0	4.636	3.169	3.070	0.000
51	[E]	Ø	4025	2675	200	4.845	3.605	3.427	2.303
52	[E]	Ø	1275	2300	0	4.522	3.106	3.362	0.000
53	[E]	Ø	2250	3650	26775	5.384	3.352	3.562	4.428
54	[E]	Ø	200	950	1850	4.423	2.301	2.978	3.267
55	[E]	Ø	1025	2375	8050	4.941	3.011	3.376	3.906
56	[E]	Ø	4700	4800	900	5.049	3.672	3.681	2.955
57	[E]	Ø	400	1350	2025	4.782	2.602	3.130	3.307
58	[E]	Ø	5350	1500	1175	4.708	3.728	3.176	3.070
59	[E]	Ø	225	4100	1875	4.583	2.352	3.613	3.273
60	[E]	Ø	125	1350	2525	4.947	2.097	3.130	3.402
61	[E]	Ø	900	4575	75	4.423	2.954	3.660	1.881
62	[E]	Ø	1250	1925	150	4.633	3.097	3.284	2.179
63	[E]	Ø	575	850	100	4.021	2.760	2.929	2.004
64	[E]	Ø	25	1075	0	3.966	1.398	3.031	0.000
65	[E]	Ø	600	700	50	4.342	2.778	2.845	1.708
66	[E]	Ø	400	1375	25	4.816	2.602	3.138	1.415
67	[E]	Ø	125	350	25	4.398	2.097	2.544	1.415
68	[E]	Ø	650	4575	0	4.906	2.813	3.660	0.000
69	[E]	Ø	1050	425	100	4.394	3.021	2.628	2.004
70	[E]	Ø	900	525	4175	4.888	2.954	2.720	3.621
71	[C]	Ø	4550	9800	0	5.134	3.658	3.991	0.000
72	[C]	Ø	5700	9900	50	4.970	3.756	3.996	1.708
73	[C]	Ø	200	700	0	4.389	2.301	2.845	0.000
74	[C]	Ø	1200	350	600	4.443	3.079	2.544	2.779
75	[C]	Ø	1425	825	750	4.525	3.154	2.916	2.876
76	[C]	Ø	775	1875	1925	4.585	2.889	3.273	3.285
77	[C]	Ø	750	3175	4275	4.631	2.875	3.502	3.631
78	[C]	Ø	100	3425	1250	4.980	2.000	3.535	3.097
79	[C]	Ø	100	1550	2100	4.362	2.000	3.190	3.322
80	[C]	Ø	725	1825	400	4.613	2.860	3.261	2.603
81	[C]	Ø	375	1525	150	4.568	2.574	3.183	2.179
82	[C]	Ø	900	200	175	4.352	2.954	2.301	2.246
83	[C]	Ø	450	1075	750	4.183	2.653	3.031	2.876
84	[C]	Ø	2050	2475	25	4.522	3.312	3.394	1.415
85	[C]	Ø	900	500	25	4.122	2.954	2.699	1.415
86	[C]	Ø	3300	4825	1000	4.459	3.519	3.683	3.000
87	[C]	Ø	1775	8300	1100	4.161	3.249	3.919	3.042
88	[C]	Ø	6575	2000	1000	4.716	3.818	3.301	3.000
89	[C]	Ø	6050	2000	1050	5.069	3.782	3.301	3.022
90	[C]	Ø	3050	2850	1075	4.301	3.484	3.455	3.032
91	[C]	Ø	2225	14600	1850	4.703	3.347	4.164	3.267
92	[C]	Ø	600	450	650	4.237	2.778	2.653	2.814
93	[C]	Ø	3100	4400	0	4.556	3.491	3.643	0.000
94	[C]	Ø	525	1300	0	4.495	2.720	3.114	0.000
95	[C]	Ø	1800	1800	3100	4.836	3.255	3.255	3.492
96	[C]	Ø	1500	2500	2050	4.515	3.176	3.398	3.312
97	[C]	Ø	825	375	850	4.169	2.916	2.574	2.930
98	[C]	Ø	7225	2800	1350	5.000	3.859	3.447	3.131
99	[C]	Ø	1300	650	250	4.740	3.114	2.813	2.400
100	[C]	Ø	1025	1825	100	4.267	3.011	3.261	2.004
101	[C]	Ø	525	1300	0	5.092	2.720	3.114	0.000
102	[C]	Ø	1425	1450	0	5.155	3.154	3.161	0.000

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
103	[C]	0	10625	24925	0	6.206	4.026	4.397	0.000
104	[C]	0	750	1600	0	5.359	2.875	3.204	0.000
105	[C]	0	325	1550	1850	4.966	2.512	3.190	3.267
106	[C]	0	325	3600	2250	4.801	2.512	3.556	3.352
107	[C]	0	1250	6000	2575	5.139	3.097	3.778	3.411
108	[C]	0	675	10825	525	5.106	2.829	4.034	2.721
109	[C]	0	325	625	125	5.021	2.512	2.796	2.100
110	[C]	0	1575	3100	25	4.810	3.197	3.491	1.415
111	[C]	0	200	1275	1750	4.712	2.301	3.106	3.243
112	[C]	0	175	1525	875	4.419	2.243	3.183	2.943
113	[C]	0	150	6100	1350	4.708	2.176	3.785	3.131
114	[C]	0	675	6425	2525	5.270	2.829	3.808	3.402
115	[C]	0	400	650	2200	5.571	2.602	2.813	3.343
116	[C]	0	175	700	650	7.734	2.243	2.845	2.814
117	[C]	0	625	225	2750	4.538	2.796	2.352	3.439
118	[C]	0	200	150	1300	4.844	2.301	2.176	3.114
119	[C]	0	4375	1250	0	4.641	3.641	3.097	0.000
120	[C]	0	475	600	250	4.752	2.677	2.778	2.400
121	[C]	0	19775	6150	0	4.722	4.296	3.789	0.000
122	[C]	0	300	375	0	4.190	2.477	2.574	0.000
123	[C]	0	1775	4100	17675	5.076	3.249	3.613	4.247
124	[C]	0	1850	1425	3300	4.371	3.267	3.154	3.519
125	[C]	0	975	1525	1425	4.695	2.989	3.183	3.154
126	[C]	0	175	3050	625	4.583	2.243	3.484	2.797
127	[C]	0	325	750	2200	4.884	2.512	2.875	3.343
128	[C]	0	1425	2175	1700	4.641	3.154	3.337	3.231
129	[C]	0	875	975	1700	4.699	2.942	2.989	3.231
130	[C]	0	200	1450	2600	4.736	2.301	3.161	3.415
131	[C]	0	650	4600	0	4.594	2.813	3.663	0.000
132	[C]	0	275	850	25	4.261	2.439	2.929	1.415
133	[C]	0	75	700	125	4.389	1.875	2.845	2.100
134	[C]	0	25	1225	50	4.190	1.398	3.088	1.708
135	[C]	0	325	1350	0	4.752	2.512	3.130	0.000
136	[C]	0	300	825	0	4.431	2.477	2.916	0.000
137	[C]	0	300	775	25	4.610	2.477	2.889	1.415
138	[C]	0	425	125	0	4.816	2.628	2.097	0.000
139	[C]	0	2450	1100	400	4.720	3.389	3.041	2.603
140	[C]	0	50	175	25	4.618	1.699	2.243	1.415
141	[C]	0	157150	2125	0	5.247	5.196	3.328	0.000
142	[C]	0	633700	12975	2400	5.784	5.802	4.113	7.784
143	[C]	0	24250	22450	250	4.944	4.385	4.351	5.525
144	[C]	0	875	675	0	4.577	2.943	2.830	0.000
145	[C]	0	725	1050	25	4.301	2.861	3.022	3.258
146	[C]	0	11575	2725	250	4.574	4.064	3.436	5.525
147	[C]	0	25275	1600	0	3.477	4.403	3.204	0.000
148	[C]	0	3425	4175	1775	4.750	3.535	3.621	7.482
149	[C]	0	500	875	50	4.488	2.700	2.943	3.932
150	[C]	0	38000	10500	0	5.112	4.580	4.021	0.000
151	[C]	0	4350	2925	33025	4.840	3.639	3.466	10.405
152	[C]	0	3125	3000	27100	5.234	3.495	3.477	10.207
153	[C]	0	4875	1150	50	4.936	3.688	3.061	3.932
154	[C]	0	5000	925	1925	4.970	3.699	2.967	7.563
155	[C]	0	825	325	2250	4.683	2.917	2.513	7.719
156	[C]	0	2200	1325	950	4.949	3.343	3.123	6.858

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
157	[C]	0	800	825	0	4.799	2.904	2.917	0.000
158	[C]	0	2725	3325	50	4.726	3.436	3.522	3.932
159	[C]	0	4250	1025	4925	4.712	3.628	3.011	8.502
160	[C]	0	600	500	1150	4.255	2.779	2.700	7.048
161	[C]	0	2600	900	675	4.660	3.415	2.955	6.516
162	[C]	0	325	50	725	4.114	2.513	1.708	6.588
163	[C]	0	1225	1000	3225	4.301	3.088	3.000	8.079
164	[C]	0	75	1375	5425	4.327	1.881	3.139	8.599
165	[C]	0	1025	2400	3850	5.042	3.011	3.380	8.256
166	[C]	0	50	200	2225	4.376	1.708	2.303	7.708
167	[C]	0	1425	700	4400	5.072	3.154	2.846	8.390
168	[C]	0	11300	13375	75	4.859	4.053	4.126	4.331
169	[C]	0	1125	3100	775	4.301	3.052	3.492	6.654
170	[C]	0	3100	850	75	4.402	3.492	2.930	4.331
171	[C]	0	400	875	550	4.660	2.603	2.943	6.312
172	[C]	0	375	450	75	4.011	2.575	2.654	4.331
173	[C]	0	50	5050	1325	4.224	1.708	3.703	7.190
174	[C]	0	250	1600	6100	4.754	2.400	3.204	8.716
175	[C]	0	75	1500	15125	3.929	1.881	3.176	9.624
176	[C]	0	150	375	25075	4.459	2.179	2.575	10.130
177	[C]	0	325	2325	1275	3.778	2.513	3.367	7.151
178	[C]	0	500	2325	1175	4.738	2.700	3.367	7.070
179	[C]	0	750	1350	0	3.796	2.876	3.131	0.000
180	[C]	0	50	125	25	3.875	1.708	2.100	3.258
181	[C]	0	100	350	0	4.550	2.004	2.545	0.000
182	[C]	0	275	2075	275	4.728	2.441	3.317	5.620
183	[C]	0	175	875	0	4.114	2.246	2.943	0.000
184	[C]	0	125	150	0	4.051	2.100	2.179	0.000
185	[C]	0	0	550	0	4.519	0.000	2.741	0.000
186	[C]	0	1450	2600	0	4.146	3.162	3.415	0.000
187	[C]	0	1800	500	2225	3.916	3.256	2.700	7.708
188	[C]	0	275	550	1575	3.778	2.441	2.741	7.363
189	[C]	0	1700	78850	0	5.238	3.231	4.897	0.000
190	[C]	0	2725	500	0	3.778	3.436	2.700	0.000
191	[C]	0	6050	450	575	4.920	3.782	2.654	6.356
192	[C]	0	6050	5225	0	4.628	3.782	3.718	0.000
193	[C]	0	25	4575	250	4.122	1.415	3.660	5.525
194	[C]	0	600	2525	275	3.574	2.779	3.402	5.620
195	[C]	0	350	525	13450	5.182	2.545	2.721	9.507
196	[C]	0	75	6500	100	4.079	1.881	3.813	4.615
197	[C]	0	4600	50	0	4.502	3.663	1.708	0.000
198	[C]	0	3900	2600	25	5.076	3.591	3.415	3.258
199	[C]	0	250	375	0	4.451	2.400	2.575	0.000
200	[C]	0	325	125	0	3.875	2.513	2.100	0.000
201	[C]	0	450	600	875	4.415	2.654	2.779	6.775
202	[C]	0	1450	3625	3150	4.267	3.162	3.559	8.055
203	[C]	0	1225	2200	4025	3.989	3.088	3.343	8.301
204	[C]	0	29775	2000	6300	5.121	4.474	3.301	8.748
205	[C]	0	700	275	25	4.279	2.846	2.441	3.258
206	[C]	0	1900	25	500	4.279	3.279	1.415	6.217
207	[C]	0	575	275	50	4.122	2.760	2.441	3.932
208	[C]	0	2500	950	1000	4.362	3.398	2.978	6.909
209	[C]	0	4375	11400	25	4.651	3.641	4.057	3.258
210	[C]	0	3225	750	275	4.347	3.509	2.876	5.620

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
211	[T]	0	2500	300	0	4.462	3.398	2.479	0.000
212	[T]	0	525	1250	400	4.352	2.721	3.097	2.603
213	[T]	0	450	7525	100	4.380	2.654	3.877	2.004
214	[T]	0	500	475	0	4.031	2.700	2.678	0.000
215	[T]	0	125	1100	0	4.322	2.100	3.042	0.000
216	[T]	0	2150	3575	250	3.966	3.333	3.553	2.400
217	[T]	0	3125	1150	0	3.966	3.495	3.061	0.000
218	[T]	0	1425	7700	2725	4.821	3.154	3.887	3.436
219	[T]	0	125	675	0	4.106	2.100	2.830	0.000
220	[T]	0	10500	11000	0	5.143	4.021	4.041	0.000
221	[T]	0	1450	1075	750	4.366	3.162	3.032	2.876
222	[T]	0	975	7125	1625	5.559	2.989	3.853	3.211
223	[T]	0	1775	1100	300	4.290	3.249	3.042	2.479
224	[T]	0	2475	1175	2025	4.610	3.394	3.070	3.307
225	[T]	0	525	500	200	4.284	2.721	2.700	2.303
226	[T]	0	7275	9850	2100	5.033	3.862	3.993	3.322
227	[T]	0	1825	1050	0	4.352	3.262	3.022	0.000
228	[T]	0	1175	2200	25	4.376	3.070	3.343	1.415
229	[T]	0	50	575	200	4.154	1.708	2.760	2.303
230	[T]	0	500	525	1550	4.041	2.700	2.721	3.191
231	[T]	0	450	2700	50	4.568	2.654	3.432	1.708
232	[T]	0	75	75	125	3.352	1.881	1.881	2.100
233	[T]	0	50	425	850	4.183	1.708	2.629	2.930
234	[T]	0	975	975	1425	4.435	2.989	2.989	3.154
235	[T]	0	250	2075	3450	3.954	2.400	3.317	3.538
236	[T]	0	1300	2625	39225	4.929	3.114	3.419	4.594
237	[T]	0	275	3175	5675	4.908	2.441	3.502	3.754
238	[T]	0	4525	7275	25	4.547	3.656	3.862	1.415
239	[T]	0	175	425	25	5.425	2.246	2.629	1.415
240	[T]	0	2075	3650	775	4.169	3.317	3.562	2.890
241	[T]	0	250	200	75	4.011	2.400	2.303	1.881
242	[T]	0	750	300	275	4.000	2.876	2.479	2.441
243	[T]	0	75	1100	1775	4.122	1.881	3.042	3.249
244	[T]	0	400	4500	625	3.813	2.603	3.653	2.797
245	[T]	0	700	4925	925	4.079	2.846	3.692	2.967
246	[T]	0	725	1800	2725	4.161	2.861	3.256	3.436
247	[T]	0	0	375	5450	4.419	0.000	2.575	3.736
248	[T]	0	250	1775	11075	4.495	2.400	3.249	4.044
249	[T]	0	50	1100	0	4.051	1.708	3.042	0.000
250	[T]	0	625	875	250	3.301	2.797	2.943	2.400
251	[T]	0	25	0	25	4.097	1.415	0.000	1.415
252	[T]	0	75	600	25	4.161	1.881	2.779	1.415
253	[T]	0	25	875	0	4.161	1.415	2.943	0.000
254	[T]	0	1250	700	0	3.720	3.097	2.846	0.000
255	[T]	0	50	250	0	4.845	1.708	2.400	0.000
256	[T]	0	250	150	0	4.389	2.400	2.179	0.000
257	[T]	0	150	1525	500	4.502	2.179	3.184	2.700
258	[T]	0	375	10325	900	5.028	2.575	4.014	2.955
259	[T]	0	75	1750	0	4.070	1.881	3.243	0.000
260	[T]	0	0	950	0	3.845	0.000	2.978	0.000
261	[T]	0	150	50	0	3.398	2.179	1.708	0.000
262	[T]	0	250	75	0	3.889	2.400	1.881	0.000
263	[T]	0	1150	4025	25	4.169	3.061	3.605	1.415
264	[T]	0	300	1175	0	4.161	2.479	3.070	0.000

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
265	[T]	0	1125	2925	1625	4.197	3.052	3.466	3.211
266	[T]	0	200	4375	375	4.541	2.303	3.641	2.575
267	[T]	0	0	25	0	4.594	0.000	1.415	0.000
268	[T]	0	50	0	0	3.966	1.708	0.000	0.000
269	[T]	0	0	1150	0	4.130	0.000	3.061	0.000
270	[T]	0	25	250	0	3.398	1.415	2.400	0.000
271	[T]	0	50	925	900	3.966	1.708	2.967	2.955
272	[T]	0	375	1750	425	4.000	2.575	3.243	2.629
273	[T]	0	275	1625	1150	4.230	2.441	3.211	3.061
274	[T]	0	0	125	1875	3.677	0.000	2.100	3.273
275	[T]	0	0	50	25	3.398	0.000	1.708	1.415
276	[T]	0	900	75	25	3.929	2.955	1.881	1.415
277	[T]	0	750	0	25	4.362	2.876	0.000	1.415
278	[T]	0	225	1025	575	4.301	2.354	3.011	2.760
279	[T]	0	1075	675	550	4.021	3.032	2.830	2.741
280	[T]	0	700	975	700	4.204	2.846	2.989	2.846
281	[T]	0	275	1675	75	4.079	2.441	3.224	1.881
282	[T]	0	275	1800	125	4.385	2.441	3.256	2.100
283	[T]	0	50	0	525	4.415	1.708	0.000	2.721
284	[T]	0	0	75	75	4.130	0.000	1.881	1.881
285	[T]	0	50	100	75	4.522	1.708	2.004	1.881
286	[T]	0	175	350	625	4.553	2.246	2.545	2.797
287	[T]	0	675	75	500	4.061	2.830	1.881	2.700
288	[T]	0	525	25	75	4.279	2.721	1.415	1.881
289	[T]	0	350	75	750	3.301	2.545	1.881	2.876
290	[T]	0	0	225	500	3.860	0.000	2.354	2.700
291	[T]								
292	[T]	0	3350	25	550	4.466	3.525	1.415	2.741
293	[T]	0	375	50	450	4.732	2.575	1.708	2.654
294	[T]								
295	[T]	0	275	325	625	4.230	2.441	2.513	2.797
296	[T]	0	50	0	875	4.204	1.708	0.000	2.943
297	[T]	0	175	125	300	3.845	2.246	2.100	2.479
298	[T]	0	25	25	1500	3.512	1.415	1.415	3.176
299	[T]	0	150	100	725	3.954	2.179	2.004	2.861
300	[T]	0	100	25	475	4.273	2.004	1.415	2.678
301	[T]	0	275	350	2275	4.237	2.441	2.545	3.357
302	[T]	0	25	125	100	3.796	1.415	2.100	2.004
303	[T]	0	600	750	2750	4.255	2.779	2.876	3.439
304	[T]	0	275	400	525	3.740	2.441	2.603	2.721
305	[T]	0	200	2800	100	4.451	2.303	3.447	2.004
306	[T]	0	2475	300	300	4.394	3.394	2.479	2.479
307	[T]	0	225	1100	1475	4.031	2.354	3.042	3.169
308	[T]	0	1825	150	200	4.000	3.262	2.179	2.303
309	[T]	0	375	150	800	4.154	2.575	2.179	2.904
310	[T]	0	25	700	200	4.051	1.415	2.846	2.303
311	[T]	0	1600	525	1050	4.138	3.204	2.721	3.022
312	[T]	0	75	5100	10625	4.568	1.881	3.708	4.026
313	[T]	0	425	400	2375	4.290	2.629	2.603	3.376
314	[T]	0	4150	675	2525	4.491	3.618	2.830	3.402
315	[T]	0	425	2075	7750	4.636	2.629	3.317	3.889
316	[T]	0	775	850	2375	4.498	2.890	2.930	3.376
317	[T]	0	5675	2975	1725	5.306	3.754	3.474	3.237
318	[T]	0	2475	650	1175	4.803	3.394	2.814	3.070

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
319	[T]	0	675	700	675	4.708	2.830	2.846	2.830
320	[T]	0	350	150	1075	4.106	2.545	2.179	3.032
321	[T]	0	425	125	4875	4.097	2.629	2.100	3.688
322	[T]	0	0	650	26075	4.376	0.000	2.814	4.416
323	[T]	0	125	575	3500	3.845	2.100	2.760	3.544
324	[T]	0	25	25	88750	5.164	1.415	1.415	4.948
325	[T]	0	0	575	775	4.114	0.000	2.760	2.890
326	[T]	0	2750	75	1350	4.683	3.439	1.881	3.131
327	[T]	0	325	250	1000	4.407	2.513	2.400	3.000
328	[T]	0	75	75	1500	4.509	1.881	1.881	3.176
329	[T]	0	600	750	10900	4.528	2.779	2.876	4.037
330	[T]	0	3000	2125	850	5.195	3.477	3.328	2.930
331	[T]	0	4350	7725	525	4.724	3.639	3.888	2.721
332	[T]	0	125	250	0	4.211	2.100	2.400	0.000
333	[T]	0	200	800	2025	4.122	2.303	2.904	3.307
334	[T]	0	1000	1475	3400	4.342	3.000	3.169	3.532
335	[T]	0	0	2500	1875	4.051	0.000	3.398	3.273
336	[T]	0	450	2950	5400	4.357	2.654	3.470	3.732
337	[T]	0	175	500	25	4.646	2.246	2.700	1.415
338	[T]	0	250	3000	0	4.628	2.400	3.477	0.000
339	[T]	0	350	1800	0	4.290	2.545	3.256	0.000
340	[T]	0	1700	875	0	4.097	3.231	2.943	0.000
341	[T]	0	2250	1350	6475	4.169	3.352	3.131	3.811
342	[T]	0	2525	3750	1625	4.470	3.402	3.574	3.211
343	[T]	0	3350	425	0	4.903	3.525	2.629	0.000
344	[T]	0	900	825	0	4.728	2.955	2.917	0.000
345	[T]	0	0	1850	25	4.439	0.000	3.267	1.415
346	[T]	0	450	1050	275	4.828	2.654	3.022	2.441
347	[T]	0	625	1350	11250	4.473	2.797	3.131	4.051
348	[T]	0	150	1775	17500	4.646	2.179	3.249	4.243
349	[T]	0	250	2275	7350	4.495	2.400	3.357	3.866
350	[T]	0	125	2925	1200	4.621	2.100	3.466	3.080
351	[L]	0	125	675	4725	5.012	2.100	2.830	3.674
352	[L]	0	75	175	125	3.677	1.881	2.246	2.100
353	[L]	0	250	300	475	4.498	2.400	2.479	2.678
354	[L]	0	150	1200	1475	4.544	2.179	3.080	3.169
355	[L]	0	75	775	450	4.541	1.881	2.890	2.654
356	[L]	0	1100	1225	1475	4.415	3.042	3.088	3.169
357	[L]	0	350	325	175	4.284	2.545	2.513	2.246
358	[L]	0	325	925	450	3.512	2.513	2.967	2.654
359	[L]	0	25	150	75	3.677	1.415	2.179	1.881
360	[L]	0	0	1150	675	4.813	0.000	3.061	2.830
361	[L]	0	975	200	100	3.978	2.989	2.303	2.004
362	[L]	0	8950	300	1225	4.169	3.952	2.479	3.088
363	[L]	0	125	75	150	4.470	2.100	1.881	2.179
364	[L]	0	525	25	100	4.435	2.721	1.415	2.004
365	[L]	0	50	50	1025	4.431	1.708	1.708	3.011
366	[L]	0	375	250	75	3.778	2.575	2.400	1.881
367	[L]	0	75	600	1150	4.183	1.881	2.779	3.061
368	[L]	0	450	775	1050	3.903	2.654	2.890	3.022
369	[L]	0	75	475	750	4.279	1.881	2.678	2.876
370	[L]	0	825	75	210000	5.377	2.917	1.881	5.322
371	[L]	0	125	175	1225	3.720	2.100	2.246	3.088
372	[L]	0	150	50	450	3.477	2.179	1.708	2.654

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
373	[L]	0	1375	675	1525	4.663	3.139	2.830	3.184
374	[L]	0	300	250	975	3.875	2.479	2.400	2.989
375	[L]	0	75	675	400	3.860	1.881	2.830	2.603
376	[L]	0	1325	250	1550	4.284	3.123	2.400	3.191
377	[L]	0	200	825	200	3.903	2.303	2.917	2.303
378	[L]	0	2450	1125	475	4.079	3.389	3.052	2.678
379	[L]	0	400	200	375	4.021	2.603	2.303	2.575
380	[L]	0	750	200	100	3.677	2.876	2.303	2.004
381	[L]	0	575	950	1050	4.273	2.760	2.978	3.022
382	[L]	0	0	7725	1100	4.290	0.000	3.888	3.042
383	[L]	0	275	2025	13275	4.801	2.441	3.307	4.123
384	[L]	0	25	875	3550	4.217	1.415	2.943	3.550
385	[L]	0	875	1525	700	4.261	2.943	3.184	2.846
386	[L]	0	150	275	1250	4.122	2.179	2.441	3.097
387	[L]	0	2800	225	25	4.415	3.447	2.354	1.415
388	[L]	0	1950	1250	525	4.714	3.290	3.097	2.721
389	[L]	0	1775	550	0	4.451	3.249	2.741	0.000
390	[L]	0	10950	275	250	4.605	4.039	2.441	2.400
391	[L]	0	300	300	1475	4.249	2.479	2.479	3.169
392	[L]	0	425	650	1950	4.439	2.629	2.814	3.290
393	[L]	0	325	50	4450	4.342	2.513	1.708	3.648
394	[L]	0	0	25	1900	3.720	0.000	1.415	3.279
395	[L]	0	250	150	2150	4.161	2.400	2.179	3.333
396	[L]	0	0	125	900	4.267	0.000	2.100	2.955
397	[L]	0	250	175	7775	4.845	2.400	2.246	3.891
398	[L]	0	650	450	775	4.197	2.814	2.654	2.890
399	[L]	0	100	800	2975	4.594	2.004	2.904	3.474
400	[L]	0	900	550	175	4.176	2.955	2.741	2.246
401	[L]	0	5100	1200	0	5.036	3.708	3.080	0.000
402	[L]	0	1175	625	0	4.217	3.070	2.797	0.000
403	[L]	0	6100	275	3050	4.792	3.785	2.441	3.484
404	[L]	0	450	2650	1600	4.161	2.654	3.423	3.204
405	[L]	0	600	900	2175	4.301	2.779	2.955	3.338
406	[L]	0	825	1100	30875	4.726	2.917	3.042	4.490
407	[L]	0	400	425	0	3.813	2.603	2.629	0.000
408	[L]	0	1175	850	0	4.423	3.070	2.930	0.000
409	[L]	0	200	350	0	3.903	2.303	2.545	0.000
410	[L]	0	75	1450	325	4.856	1.881	3.162	2.513
411	[L]	0	575	325	2150	4.296	2.760	2.513	3.333
412	[L]	0	825	525	2700	4.217	2.917	2.721	3.432
413	[L]	0	400	100	0	3.966	2.603	2.004	0.000
414	[L]	0	50	475	50	4.380	1.708	2.678	1.708
415	[L]	0	725	775	0	3.942	2.861	2.890	0.000
416	[L]	0	125	350	250	4.385	2.100	2.545	2.400
417	[L]	0	8100	1925	4100	4.610	3.909	3.285	3.613
418	[L]	0	650	2375	1300	3.916	2.814	3.376	3.114
419	[L]	0	300	4150	17550	4.470	2.479	3.618	4.244
420	[L]	0	825	6025	2650	4.427	2.917	3.780	3.423
421	[L]	0	1575	100	100	3.954	3.198	2.004	2.004
422	[L]	0	750	400	8350	4.583	2.876	2.603	3.922
423	[L]	0	1775	600	150	4.011	3.249	2.779	2.179
424	[L]	0	75	400	0	3.740	1.881	2.603	0.000
425	[L]	0	75	550	0	4.255	1.881	2.741	0.000
426	[L]	0	675	750	25	4.190	2.830	2.876	1.415

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
427	[L]	Ø	325	75	25	3.512	2.513	1.881	1.415
428	[L]	Ø	150	1325	50	4.615	2.179	3.123	1.708
429	[L]	Ø	4125	75	0	3.301	3.616	1.881	0.000
430	[L]	Ø	225	275	200	3.917	2.354	2.441	2.303
431	[L]	Ø	400	375	0	3.628	2.603	2.575	0.000
432	[L]	Ø	25	125	25	3.097	1.415	2.100	1.415
433	[L]	Ø	100	250	475	4.204	2.004	2.400	2.678
434	[L]	Ø	75	2075	0	4.243	1.881	3.317	0.000
435	[L]	Ø	500	25	0	3.628	2.700	1.415	0.000
436	[L]	Ø	150	1600	700	4.000	2.179	3.204	2.846
437	[L]	Ø	0	50	300	2.700	0.000	1.708	2.479
438	[L]	Ø	25	0	100	3.352	1.415	0.000	2.004
439	[L]	Ø	0	50	0	3.097	0.000	1.708	0.000
440	[L]	Ø	225	1550	0	3.574	2.354	3.191	0.000
441	[L]	0	1850	225	0	0.000	3.267	2.354	0.000
442	[L]	Ø	25	125	0	4.154	1.415	2.100	0.000
443	[L]	Ø	0	0	0	2.876	0.000	0.000	0.000
444	[L]	Ø	1075	3225	325	4.585	3.032	3.509	2.513
445	[L]	Ø	450	150	0	4.197	2.654	2.179	0.000
446	[L]	Ø	1725	450	100	4.041	3.237	2.654	2.004
447	[L]	Ø	1650	600	25	4.021	3.218	2.779	1.415
448	[L]	Ø	125	100	2650	4.776	2.100	2.004	3.423
449	[L]	Ø	0	0	575	4.011	0.000	0.000	2.760
450	[L]	Ø	1100	7225	450	4.553	3.042	3.859	2.654
451	[L]	Ø	325	100	0	3.243	2.513	2.004	0.000
452	[L]	Ø	25	30950	12450	4.701	1.415	4.491	4.095
453	[L]	Ø	1975	725	375	4.419	3.296	2.861	2.575
454	[L]	Ø	425	300	250	3.978	2.629	2.479	2.400
455	[L]	Ø	2600	900	375	4.031	3.415	2.955	2.575
456	[L]	Ø	12650	1425	0	4.679	4.102	3.154	0.000
457	[L]	Ø	9200	25050	275	5.087	3.964	4.399	2.441
458	[L]	Ø	8525	2400	0	4.815	3.931	3.380	0.000
459	[L]	Ø	7550	2200	0	4.684	3.878	3.343	0.000
460	[L]	Ø	14225	25	100	5.727	4.153	1.415	2.004
461	[L]	Ø	20600	8425	37075	5.162	4.314	3.926	4.569
462	[L]	Ø	22150	6750	1350	5.255	4.345	3.829	3.131
463	[L]	Ø	700	800	5200	4.515	2.846	2.904	3.716
464	[L]	Ø	2400	475	1125	4.451	3.380	2.678	3.052
465	[L]	Ø	3225	10325	12975	5.055	3.509	4.014	4.113
466	[L]	Ø	575	4725	1650	4.773	2.760	3.674	3.218
467	[L]	Ø	275	2750	1300	4.327	2.441	3.439	3.114
468	[L]	Ø	325	4250	4350	4.332	2.513	3.628	3.639
469	[L]	Ø	400	1125	4425	4.938	2.603	3.052	3.646
470	[L]	Ø	575	875	9275	4.427	2.760	2.943	3.967
471	[L]	Ø	300	2900	6100	4.342	2.479	3.463	3.785
472	[L]	Ø	725	1450	2625	4.211	2.861	3.162	3.419
473	[L]	Ø	600	2250	100	4.724	2.779	3.352	2.004
474	[L]	Ø	1175	2900	25	4.415	3.070	3.463	1.415
475	[L]	Ø	125	500	350	3.929	2.100	2.700	2.545
476	[L]	Ø	375	425	1525	4.491	2.575	2.629	3.184
477	[L]	Ø	800	6125	3150	4.327	2.904	3.787	3.498
478	[L]	Ø	125	2250	1125	4.631	2.100	3.352	3.052
479	[L]	Ø	450	1375	3525	4.932	2.654	3.139	3.547
480	[L]	Ø	775	200	2275	4.722	2.890	2.303	3.357



Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
481	[L]	0	1250	2975	375	5.002	3.097	3.474	2.575
482	[L]	0	12350	4275	1000	4.826	4.092	3.631	3.000
483	[L]	0	25	1675	275	4.435	1.415	3.224	2.441
484	[L]	0	1000	10150	1225	4.681	3.000	4.007	3.088
485	[L]	0	50	1850	250	4.484	1.708	3.267	2.400
486	[L]	0	350	4600	925	4.845	2.545	3.663	2.967
487	[L]	0	400	4025	1525	4.580	2.603	3.605	3.184
488	[L]	0	725	8850	2500	5.008	2.861	3.947	3.398
489	[L]	0	350	1575	2425	4.943	2.545	3.198	3.385
490	[L]	0	600	8825	1800	4.919	2.779	3.946	3.256
491	[G]	0	725	625	100	3.720	2.861	2.797	2.004
492	[G]	0	350	6425	650	3.677	2.545	3.808	2.814
493	[G]	0	275	10425	6000	5.145	2.441	4.018	3.778
494	[G]	0	2550	34100	700	4.633	3.407	4.533	2.846
495	[G]	0	27200	19600	25	5.108	4.435	4.292	1.415
496	[G]	0	9225	18200	3650	5.283	3.965	4.260	3.562
497	[G]	0	3275	3375	575	4.491	3.515	3.528	2.760
498	[G]	0	3375	19325	3150	5.057	3.528	4.286	3.498
499	[G]	0	5425	3150	3625	4.824	3.734	3.498	3.559
500	[G]	0	52300	14550	6050	5.449	4.719	4.163	3.782
501	[G]	0	11000	2425	3700	4.874	4.041	3.385	3.568
502	[G]	0	225	10900	14900	5.047	2.354	4.037	4.173
503	[G]	0	100	1225	475	4.243	2.004	3.088	2.678
504	[G]	0	2600	28275	7500	5.234	3.415	4.451	3.875
505	[G]	0	1475	925	0	3.544	3.169	2.967	0.000
506	[G]	0	900	6625	225	4.224	2.955	3.821	2.354
507	[G]	0	600	2575	750	4.204	2.779	3.411	2.876
508	[G]	0	9875	16150	15300	5.236	3.995	4.208	4.185
509	[G]	0	14475	20150	14975	5.609	4.161	4.304	4.175
510	[G]	0	1250	10150	0	4.697	3.097	4.007	0.000
511	[G]	0	5625	4000	0	4.815	3.750	3.602	0.000
512	[G]	0	9325	10900	0	4.636	3.970	4.037	0.000
513	[G]	0	3200	7025	0	4.946	3.505	3.847	0.000
514	[G]	0	900	4675	725	4.462	2.955	3.670	2.861
515	[G]	0	6250	6050	475	4.903	3.796	3.782	2.678
516	[G]	0	200	700	750	3.875	2.303	2.846	2.876
517	[G]	0	750	2250	750	4.439	2.876	3.352	2.876
518	[G]	0	350	47675	3125	4.097	2.545	4.678	3.495
519	[G]	0	50	16100	4450	4.884	1.708	4.207	3.648
520	[G]	0	0	45000	3425	4.971	0.000	4.653	3.535
521	[G]	0	4825	2975	250	4.559	3.684	3.474	2.400
522	[G]	0	800	45000	1000	5.089	2.904	4.653	3.000
523	[G]	0	8925	18000	1525	5.108	3.951	4.255	3.184
524	[G]	0	875	6825	400	4.366	2.943	3.834	2.603
525	[G]	0	4150	6775	725	4.732	3.618	3.831	2.861
526	[G]	0	13550	9550	25	5.468	4.132	3.980	1.415
527	[G]	0	6175	15325	125	5.401	3.791	4.185	2.100
528	[G]	0	5750	13275	0	5.169	3.760	4.123	0.000
529	[G]	0	3525	10100	25	4.924	3.547	4.004	1.415
530	[G]	0	11950	5925	1375	5.307	4.077	3.773	3.139
531	[G]	0	7500	21575	2475	5.576	3.875	4.334	3.394
532	[G]	0	9450	20525	2025	5.741	3.975	4.312	3.307
533	[G]	0	425	2750	2500	4.559	2.629	3.439	3.398
534	[G]	0	750	4300	10025	4.754	2.876	3.634	4.001

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
535	[G]	0	3725	7325	11750	5.259	3.571	3.865	4.070
536	[G]	0	375	22000	1900	4.879	2.575	4.342	3.279
537	[G]	0	1125	6575	3425	4.724	3.052	3.818	3.535
538	[G]	0	175	6575	8200	4.718	2.246	3.818	3.914
539	[G]	0	300	4250	8225	5.100	2.479	3.628	3.915
540	[G]	0	475	13225	11300	4.995	2.678	4.121	4.053
541	[G]	0	225	3875	7000	4.306	2.354	3.588	3.845
542	[G]	0	1300	24350	3075	5.982	3.114	4.387	3.488
543	[G]	0	300	2550	275	4.628	2.479	3.407	2.441
544	[G]	0	775	11050	400	5.266	2.890	4.043	2.603
545	[G]	0	575	725	2375	4.646	2.760	2.861	3.376
546	[G]	0	450	2875	2625	4.701	2.654	3.459	3.419
547	[G]	0	475	24600	4225	4.959	2.678	4.391	3.626
548	[G]	0	350	2775	3475	4.599	2.545	3.443	3.541
549	[G]	0	3550	20150	925	5.152	3.550	4.304	2.967
550	[G]	0	500	8550	325	5.280	2.700	3.932	2.513
551	[G]	0	4000	36600	2900	6.050	3.602	4.563	3.463
552	[G]	0	5050	15250	1050	5.340	3.703	4.183	3.022
553	[G]	0	275	9850	725	4.943	2.441	3.993	2.861
554	[G]	0	8625	19050	2625	5.124	3.936	4.280	3.419
555	[G]	0	775	10475	3775	5.016	2.890	4.020	3.577
556	[G]	0	1225	13550	4050	4.857	3.088	4.132	3.608
557	[G]	0	1025	6975	2750	5.751	3.011	3.844	3.439
558	[G]	0	1425	10125	33050	5.613	3.154	4.005	4.519
559	[G]	0	475	1875	5275	4.978	2.678	3.273	3.722
560	[G]	0	825	17275	2125	4.996	2.917	4.237	3.328
561	[G]	0	50	3125	0	4.332	1.708	3.495	0.000
562	[G]	0	12500	6575	250	5.019	4.097	3.818	2.400
563	[G]	0	350	600	0	4.273	2.545	2.778	0.000
564	[G]	0	4150	3050	0	4.357	3.618	3.484	0.000
565	[G]	0	3575	2572	10025	5.790	3.553	3.410	4.001
566	[G]	0	1725	75	0	5.274	3.237	1.875	0.000
567	[G]	0	1650	5000	2025	4.473	3.218	3.699	3.307
568	[G]	0	2125	6675	525	5.076	3.328	3.824	2.721
569	[G]	0	12275	15275	0	5.838	4.089	4.184	0.000
570	[G]	0	275	1950	0	4.967	2.441	3.290	0.000
571	[G]	0	2350	9750	250	5.487	3.371	3.989	2.400
572	[G]	0	1000	6350	325	4.357	3.000	3.803	2.513
573	[G]	0	675	1750	2125	4.728	2.830	3.243	3.328
574	[G]	0	575	925	100	3.889	2.760	2.966	2.004
575	[G]	0	175	450	0	3.760	2.246	2.653	0.000
576	[G]	0	0	200	0	4.011	0.000	2.301	0.000
577	[G]	0	925	375	3725	4.653	2.967	2.574	3.571
578	[G]	0	325	2075	2450	4.763	2.513	3.317	3.389
579	[G]	0	525	2125	4875	5.116	2.721	3.327	3.688
580	[G]	0	1400	4500	4350	4.932	3.146	3.653	3.639
581	[G]	0	50	3025	5800	4.839	1.708	3.481	3.764
582	[G]	0	150	5800	725	5.023	2.179	3.763	2.861
583	[G]	0	1050	6975	6225	5.391	3.022	3.844	3.794
584	[G]	0	25	3725	300	5.500	1.415	3.571	2.479
585	[G]	0	175	23250	10325	5.280	2.246	4.366	4.014
586	[G]	0	200	10575	2200	5.089	2.303	4.024	3.343
587	[G]	0	525	2775	4850	5.223	2.721	3.443	3.686
588	[G]	0	125	2325	5525	5.067	2.100	3.366	3.742

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
589	[G]	0	150	3400	75	5.069	2.179	3.531	1.881
590	[G]	0	575	3600	25	5.215	2.760	3.556	1.415
591	[G]	0	22625	25875	30625	5.606	4.355	4.413	4.486
592	[G]	0	30550	38225	13675	6.440	4.485	4.582	4.136
593	[G]	0	1975	5500	550	5.316	3.296	3.740	2.741
594	[G]	0	725	42650	850	5.390	2.861	4.630	2.930
595	[G]	0	750	6500	0	5.618	2.876	3.813	0.000
596	[G]	0	6600	17700	0	5.739	3.820	4.248	0.000
597	[G]	0	825	37475	0	4.885	2.917	4.574	0.000
598	[G]	0	135500	13600	0	5.480	5.132	4.134	0.000
599	[G]	0	15875	45000	2775	5.577	4.201	4.653	3.443
600	[G]	0	1975	74400	2150	5.437	3.296	4.872	3.333
601	[G]	0	1350	56200	16900	6.044	3.131	4.750	4.228
602	[G]	0	19900	131050	22475	5.963	4.299	5.117	4.352
603	[G]	0	675	6075	0	5.296	2.830	3.784	0.000
604	[G]	0	1875	5800	0	4.996	3.273	3.763	0.000
605	[G]	0	6700	32300	2800	5.605	3.826	4.509	3.447
606	[G]	0	3025	7650	16700	5.498	3.481	3.884	4.223
607	[G]	0	275	1725	700	5.420	2.441	3.237	2.846
608	[G]	0	50	25	825	5.350	1.708	1.398	2.917
609	[G]	0	9925	24200	7150	5.896	3.997	4.384	3.854
610	[G]	0	5800	30125	7875	5.535	3.764	4.479	3.896
611	[G]	0	2300	8975	725	5.117	3.362	3.953	2.861
612	[G]	0	4900	55550	1325	5.237	3.690	4.745	3.123
613	[G]	0	5200	77300	0	5.694	3.716	4.888	0.000
614	[G]	0	182750	4575	0	5.702	5.262	3.660	0.000
615	[G]	0	1775	10925	0	4.815	3.249	4.038	0.000
616	[G]	0	18800	5150	0	5.057	4.274	3.712	0.000
617	[G]	0	3275	7500	7875	5.147	3.515	3.875	3.896
618	[G]	0	425	3000	4275	4.898	2.629	3.477	3.631
619	[G]	0	3600	10150	50	5.020	3.556	4.006	1.708
620	[G]	0	2125	10425	3875	5.538	3.328	4.018	3.588
621	[G]	0	2400	24425	4125	5.433	3.380	4.388	3.616
622	[G]	0	7375	33375	66025	6.171	3.868	4.523	4.820
623	[G]	0	7950	15275	13125	5.548	3.900	4.184	4.118
624	[G]	0	1175	10075	450	5.510	3.070	4.003	2.654
625	[G]	0	6750	19550	25	6.200	3.829	4.291	1.415
626	[G]	0	2575	54500	0	5.887	3.411	4.736	0.000
627	[G]	0	17250	24850	0	5.639	4.237	4.395	0.000
628	[G]	0	1300	20400	8000	5.508	3.114	4.310	3.903
629	[G]	0	3250	15000	4750	5.096	3.512	4.176	3.677
630	[G]	0	1325	3250	950	5.355	3.123	3.512	2.978
631	[P]	0	4700	5225	0	4.893	3.672	3.718	0.000
632	[P]	0	2075	1275	575	4.380	3.317	3.106	2.760
633	[P]	0	850	450	0	4.176	2.930	2.653	0.000
634	[P]	0	25	4550	0	4.615	1.415	3.658	0.000
635	[P]	0	250	725	350	4.607	2.400	2.860	2.545
636	[P]	0	100	25	50	4.695	2.004	1.398	1.708
637	[P]	0	25	7850	0	4.312	1.415	3.895	0.000
638	[P]	0	50	500	75	3.813	1.708	2.699	1.881
639	[P]	0	25	875	0	4.385	1.415	2.942	0.000
640	[P]	0	125	325	0	4.011	2.100	2.512	0.000
641	[P]	0	950	425	50	4.249	2.978	2.628	1.708
642	[P]	0	19700	5475	25	4.844	4.294	3.738	1.415

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
643	[P]	0	325	400	800	4.290	2.513	2.602	2.904
644	[P]	0	325	400	525	4.041	2.513	2.602	2.721
645	[P]	0	0	600	275	4.097	0.000	2.778	2.441
646	[P]	0	0	900	0	3.916	0.000	2.954	0.000
647	[P]	0	675	925	1100	4.097	2.830	2.966	3.042
648	[P]	0	1900	1325	1575	5.402	3.279	3.122	3.198
649	[P]	0	225	350	3325	4.726	2.354	2.544	3.522
650	[P]	0	175	1325	1100	4.597	2.246	3.122	3.042
651	[P]	0	375	6650	1900	5.076	2.575	3.823	3.279
652	[P]	0	500	11725	2225	4.857	2.700	4.069	3.348
653	[P]	0	375	525	375	5.135	2.575	2.720	2.575
654	[P]	0	0	8925	4150	4.742	0.000	3.951	3.618
655	[P]	0	550	2925	2300	4.856	2.741	3.466	3.362
656	[P]	0	700	9050	12125	5.297	2.846	3.957	4.084
657	[P]	0	275	500	1075	4.522	2.441	2.699	3.032
658	[P]	0	250	450	25	3.574	2.400	2.653	1.415
659	[P]	0	0	300	575	4.683	0.000	2.477	2.760
660	[P]	0	0	200	25	4.615	0.000	2.301	1.415
661	[P]	0	75	6050	26950	4.789	1.881	3.782	4.431
662	[P]	0	150	8175	4550	4.900	2.179	3.912	3.658
663	[P]	0	75	2150	525	4.784	1.881	3.332	2.721
664	[P]	0	150	3175	875	4.949	2.179	3.502	2.943
665	[P]	0	400	1275	0	4.738	2.603	3.106	0.000
666	[P]	0	113500	950	0	5.478	5.055	2.978	0.000
667	[P]	0	475	6125	0	4.942	2.678	3.787	0.000
668	[P]	0	6150	5550	0	5.154	3.789	3.744	0.000
669	[P]	0	2075	16950	1500	5.374	3.317	4.229	3.176
670	[P]	0	1075	74750	1700	5.314	3.032	4.874	3.231
671	[P]	0	1275	17675	10075	5.309	3.106	4.247	4.003
672	[P]	0	725	8150	5675	5.237	2.861	3.911	3.754
673	[P]	0	200	1800	0	4.744	2.303	3.255	0.000
674	[P]	0	525	525	0	4.885	2.721	2.720	0.000
675	[P]	0	300	3425	1800	4.914	2.479	3.535	3.256
676	[P]	0	825	1150	1625	4.740	2.917	3.061	3.211
677	[P]	0	75	875	1725	5.272	1.881	2.942	3.237
678	[P]	0	50	100	600	5.078	1.708	2.000	2.779
679	[P]	0	1325	3825	1500	4.941	3.123	3.583	3.176
680	[P]	0	4125	6875	150	4.829	3.616	3.837	2.179
681	[P]	0	3025	4250	275	4.918	3.481	3.628	2.441
682	[P]	0	6650	55000	525	5.241	3.823	4.740	2.721
683	[P]	0	325	3450	0	5.094	2.513	3.538	0.000
684	[P]	0	5975	1100	0	4.881	3.776	3.041	0.000
685	[P]	0	375	500	0	4.754	2.575	2.699	0.000
686	[P]	0	303750	5875	0	5.916	5.483	3.769	0.000
687	[P]	0	900	1175	1650	4.451	2.955	3.070	3.218
688	[P]	0	750	325	2650	4.720	2.876	2.512	3.423
689	[P]	0	125	825	25	4.588	2.100	2.916	1.415
690	[P]	0	800	700	75	4.371	2.904	2.845	1.881
691	[P]	0	1200	675	0	4.217	3.080	2.829	0.000
692	[P]	0	450	475	9600	4.914	2.654	2.677	3.982
693	[P]	0	150	1800	25	4.947	2.179	3.255	1.415
694	[P]	0	825	10400	100	5.103	2.917	4.017	2.004
695	[P]	0	175	3225	25	4.785	2.246	3.509	1.415
696	[P]	0	150	14150	0	5.223	2.179	4.151	0.000

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
697	[P]	0	525	2150	0	5.386	2.721	3.332	0.000
698	[P]	0	1175	8475	7400	5.004	3.070	3.928	3.869
699	[P]	0	2300	9275	3450	4.957	3.362	3.967	3.538
700	[P]	0	425	950	25	4.522	2.629	2.978	1.415
701	[P]	0	1425	7050	500	5.343	3.154	3.848	2.700
702	[P]	0	3400	63950	100	5.496	3.532	4.806	2.004
703	[P]	0	3900	7875	8975	5.297	3.591	3.896	3.953
704	[P]	0	15550	15675	18475	5.560	4.192	4.195	4.267
705	[P]	0	1500	28250	25	5.439	3.176	4.451	1.415
706	[P]	0	2975	5750	0	5.924	3.474	3.760	0.000
707	[P]	0	5025	68250	50	5.541	3.701	4.834	1.708
708	[P]	0	1350	21500	25	5.161	3.131	4.332	1.415
709	[P]	0	1675	10175	24650	5.524	3.224	4.008	4.392
710	[P]	0	2000	9000	62125	5.508	3.301	3.954	4.793
711	[P]	0	950	10025	25275	5.728	2.978	4.001	4.403
712	[P]	0	2400	4600	13100	5.547	3.380	3.663	4.117
713	[P]	0	1450	98750	650	5.968	3.162	4.995	2.814
714	[P]	0	9950	6250	1075	5.979	3.998	3.796	3.032
715	[P]	0	17325	72000	0	6.123	4.239	4.857	0.000
716	[P]	0	1175	70250	0	5.435	3.070	4.847	0.000
717	[P]	0	6225	54250	50	5.528	3.794	4.734	1.708
718	[P]	0	7800	34750	350	5.491	3.892	4.541	2.545
719	[P]	0	28775	15250	175	5.621	4.459	4.183	2.246
720	[P]	0	30425	62500	150	5.435	4.483	4.796	2.179
721	[P]	0	1475	31000	5625	5.872	3.169	4.491	3.750
722	[P]	0	4050	12750	4850	5.451	3.608	4.106	3.686
723	[P]	0	8500	24500	24575	5.937	3.929	4.389	4.391
724	[P]	0	4025	28250	387000	5.993	3.605	4.451	5.588
725	[P]	0	5325	3750	175	5.106	3.726	3.574	2.246
726	[P]	0	2500	20000	150	5.792	3.398	4.301	2.179
727	[P]	0	1750	5250	525	5.337	3.243	3.720	2.721
728	[P]	0	10775	15500	400	5.813	4.032	4.190	2.603
729	[P]	0	5375	12000	975	5.553	3.730	4.079	2.989
730	[P]	0	12275	64500	1400	5.808	4.089	4.810	3.146
731	[P]	0	250	750	275	5.327	2.400	2.876	2.441
732	[P]	0	475	500	0	4.352	2.678	2.700	0.000
733	[P]	0	3425	5000	350	5.385	3.535	3.699	2.545
734	[P]	0	6375	5000	350	5.284	3.805	3.699	2.545
735	[P]	0	800	3000	125	5.106	2.904	3.477	2.100
736	[P]	0	2125	4750	1750	4.978	3.328	3.677	3.243
737	[P]	0	600	22000	8375	5.190	2.779	4.342	3.923
738	[P]	0	150	14750	20075	4.000	2.179	4.169	4.303
739	[P]	0	925	11750	9625	5.407	2.967	4.070	3.983
740	[P]	0	1050	4500	2575	5.347	3.022	3.653	3.411
741	[P]	0	600	11000	17700	5.398	2.779	4.041	4.248
742	[P]	0	425	5250	4350	5.273	2.629	3.720	3.639
743	[P]	0	1775	250	0	4.699	3.249	2.400	0.000
744	[P]	0	975	3500	0	5.021	2.989	3.544	0.000
745	[P]	0	700	3250	3050	5.051	2.846	3.512	3.484
746	[P]	0	225	125750	13950	5.837	2.354	5.100	4.145
747	[P]	0	200	489000	0	5.944	2.303	5.689	0.000
748	[P]	0	150	19500	0	3.875	2.179	4.290	0.000
749	[P]	0	625	18500	2750	4.176	2.797	4.267	3.439
750	[P]	0	125	1000	4825	4.477	2.100	3.000	3.684

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
751	[P]	0	450	50250	20475	6.100	2.654	4.701	4.311
752	[P]	0	1100	1750	3875	4.796	3.042	3.243	3.588
753	[P]	0	1025	2000	7075	4.512	3.011	3.301	3.850
754	[P]	0	725	1085500	18850	7.570	2.861	6.036	4.275
755	[P]	0	50	4250	5900	4.653	1.708	3.628	3.771
756	[P]	0	125	12500	7275	4.097	2.100	4.097	3.862
757	[P]	0	475	7750	10825	4.000	2.678	3.889	4.034
758	[P]	0	25	10000	5275	4.829	1.415	4.000	3.722
759	[P]	0	3800	12000	10675	4.544	3.580	4.079	4.028
760	[P]	0	300	11000	14050	5.041	2.479	4.041	4.148
761	[P]	0	125	250	4050	4.477	2.100	2.400	3.608
762	[P]	0	125	1750	1375	5.070	2.100	3.243	3.139
763	[P]	0	150	1750	775	4.439	2.179	3.243	2.890
764	[P]	0	100	129500	6225	5.559	2.004	5.112	3.794
765	[P]	0	425	3500	2250	4.813	2.629	3.544	3.352
766	[P]	0	1100	18500	1825	5.161	3.042	4.267	3.262
767	[P]	0	700	7250	9325	5.070	2.846	3.860	3.970
768	[P]	0	650	8750	4000	4.929	2.814	3.942	3.602
769	[P]	0	1675	10250	6675	6.035	3.224	4.011	3.825
770	[P]	0	850	3750	3300	4.720	2.930	3.574	3.519
771	[S]	0	1175	4100	2100	6.860	3.070	3.613	3.322
772	[S]	0	75	5375	1150	6.795	1.881	3.730	3.061
773	[S]	0	10775	64425	182400	6.517	4.032	4.809	5.261
774	[S]	0	775	325950	402500	6.468	2.890	5.513	5.605
775	[S]	0	25	9250	0	6.423	1.415	3.966	0.000
776	[S]	0	100	11000	350	6.627	2.004	4.041	2.545
777	[S]	0	900	10500	50	6.466	2.955	4.021	1.708
778	[S]	0	100	2000	75	6.312	2.004	3.301	1.881
779	[S]	0	3000	30000	62050	7.679	3.477	4.477	4.793
780	[S]	0	600	10000	83825	7.288	2.779	4.000	4.923
781	[S]	0	100	6250	56550	7.744	2.004	3.796	4.752
782	[S]	0	250	56750	933500	7.593	2.400	4.754	5.970
783	[S]	0	24900	172500	6125	7.065	4.396	5.237	3.787
784	[S]	0	0	18000	29925	7.238	0.000	4.255	4.476
785	[S]	0	425	1750	0	6.981	2.629	3.243	0.000
786	[S]	0	25	2750	0	6.992	1.415	3.439	0.000
787	[S]	0	17425	65000	36700	7.189	4.241	4.813	4.565
788	[S]	0	10425	7250	125	6.736	4.018	3.860	2.100
789	[S]	0	3250	8500	4175	6.708	3.512	3.929	3.621
790	[S]	0	19250	88000	4700	7.017	4.284	4.944	3.672
791	[S]	0	50	55500	76975	7.049	1.708	4.744	4.886
792	[S]	0	0	27500	173000	6.978	0.000	4.439	5.238
793	[S]	0	50	10000	98850	6.949	1.708	4.000	4.995
794	[S]	0	0	52250	43800	7.018	0.000	4.718	4.641
795	[S]	0	0	29750	2275	6.780	0.000	4.474	3.357
796	[S]	0	100	17750	125	6.447	2.004	4.249	2.100
797	[S]	0	275	8500	1325	6.716	2.441	3.929	3.123
798	[S]	0	300	5000	6800	6.907	2.479	3.699	3.833
799	[S]	0	800	25500	559000	6.959	2.904	4.407	5.747
800	[S]	0	25	33000	4125	7.209	1.415	4.519	3.616
801	[S]	0	0	2750	25	6.197	0.000	3.439	1.415
802	[S]	0	0	750	0	6.041	0.000	2.876	0.000
803	[S]	0	950	39000	4600	6.419	2.978	4.591	3.663
804	[S]	0	3725	36250	29500	6.237	3.571	4.559	4.470

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
805	[S]	0	3275	31250	25350	6.580	3.515	4.495	4.404
806	[S]	0	2325	50250	43425	7.097	3.367	4.701	4.638
807	[S]	0	150	7500	101600	6.306	2.179	3.875	5.007
808	[S]	0	950	1250	360500	6.398	2.978	3.097	5.557
809	[S]	0	300	4750	7025	6.636	2.479	3.677	3.847
810	[S]	0	2175	188250	80475	6.495	3.338	5.275	4.906
811	[S]	0	2225	94250	20125	6.651	3.348	4.974	4.304
812	[S]	0	3525	85500	38125	6.550	3.547	4.932	4.581
813	[S]	0	0	2750	0	5.602	0.000	3.439	0.000
814	[S]	0	50	750	0	5.574	1.708	2.876	0.000
815	[S]	0	0	30250	354500	6.860	0.000	4.481	5.550
816	[S]	0	275	12000	250500	5.778	2.441	4.079	5.399
817	[S]	0	75	30750	50	5.778	1.881	4.488	1.708
818	[S]	0	1750	11000	0	0.000	3.243	4.041	0.000
819	[S]	0	3250	14000	21550	4.398	3.512	4.146	4.333
820	[S]	0	550	17500	258000	4.699	2.741	4.243	5.412
821	[S]	0	750	169750	505000	6.041	2.876	5.230	5.703
822	[S]	0	100	17250	161550	5.720	2.004	4.237	5.208
823	[S]	0	1450	25250	231000	6.538	3.162	4.402	5.364
824	[S]	0	250	68000	956000	7.379	2.400	4.833	5.980
825	[S]	0	0	23000	117400	6.580	0.000	4.362	5.070
826	[S]	0	0	5750	29550	4.398	0.000	3.760	4.471
827	[S]	0	150	3000	9975	0.000	2.179	3.477	3.999
828	[S]	0	100	32250	32750	0.000	2.004	4.509	4.515
829	[S]	0	0	504000	124325	6.041	0.000	5.702	5.095
830	[S]	0	200	1000	64475	0.000	2.303	3.000	4.809
831	[S]	0	0	10000	12625	6.411	0.000	4.000	4.101
832	[S]	0	0	0	2900	6.502	0.000	0.000	3.463
833	[S]	0	0	3250	6725	6.146	0.000	3.512	3.828
834	[S]	0	0	22750	69925	6.568	0.000	4.357	4.845
835	[S]	0	0	5500	25475	6.079	0.000	3.740	4.406
836	[S]	0	0	10000	40050	6.146	0.000	4.000	4.603
837	[S]	0	25	1500	32275	6.249	1.415	3.176	4.509
838	[S]	0	400	6500	10425	5.628	2.603	3.813	4.018
839	[S]	0	175	5250	37500	5.942	2.246	3.720	4.574
840	[S]	0	0	2000	7825	6.130	0.000	3.301	3.894
841	[D]	0	0	0		0.000	0.000	0.000	
842	[D]	0	575	0		2.700	2.760	0.000	
843	[D]	0	0	2465		3.720	0.000	3.392	
844	[D]	0	0	102		2.400	0.000	2.015	
845	[D]	0	125	857		3.565	2.100	2.934	
846	[D]	0	0	117		4.280	0.000	2.074	
847	[D]	0	0	5		2.100	0.000	.778	
848	[D]	0	0	0		2.603	0.000	0.000	
849	[D]	0	150	467		3.760	2.179	2.671	
850	[D]	0	0	40		2.179	0.000	1.613	
851	[D]	0	0	45		2.814	0.000	1.663	
852	[B]	0	150	1675		0.00	2.18	3.22	
853	[B]	0	75	125		2.40	1.88	2.10	
854	[B]	0	0	1040		2.70	0.00	3.02	
855	[B]	0	0	208		2.76	0.00	2.32	
856	[B]	0	25	2058		3.35	1.41	3.31	
857	[B]	0	75	48		3.82	1.88	1.69	
858	[B]	0	25	5		1.41	1.41	0.78	

Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
859	[B]	2	0	140		1.41	0.00	2.15	
860	[B]	2	12275	513		3.47	4.09	2.71	
861	[B]	3	825	18		2.68	2.92	1.27	
862	[B]	3	275	558		3.24	2.44	2.75	
863	[B]	2	0	65		1.41	0.00	1.82	
864	[B]	0	0	20		2.00	0.00	1.32	
865	[B]	2	0	475		2.80	0.00	2.68	
866	[B]	0	0	53		2.30	0.00	1.73	
867	[B]	0	750	190		3.06	2.88	2.28	
868	[B]	0	4750	968		3.71	3.68	2.99	
869	[B]	0	300	575		3.13	2.48	2.76	
870	[B]	3	0	38		3.07	0.00	1.59	
871	[B]	0	21775	385		3.94	4.34	2.59	
872	[B]	0	0	8		3.85	0.00	0.93	
873	[B]	0	3100	305		3.53	3.49	2.49	
874	[D]	2	25	230		2.51	1.41	2.36	
875	[D]	0	25	68		2.70	1.41	1.84	
876	[D]	0	25	48		2.00	1.41	1.69	
877	[D]	0	0	0		2.88	0.00	0.00	
878	[D]	0	0	140		4.26	0.00	2.15	
879	[D]	0	0	20		3.60	0.00	1.32	
880	[D]	3	0	8		3.57	0.00	0.93	
881	[D]	0	75	300		3.49	1.88	2.48	
882	[D]	3	2750	308		3.64	3.44	2.49	
883	[B]	2	0	6270		3.38	0.00	3.80	
884	[B]	3	0	275		2.25	0.00	2.44	
885	[B]	3	950	733		3.86	2.98	2.87	
886	[B]	2	0	48		2.44	0.00	1.69	
887	[B]	3	100	540		3.07	2.00	2.73	
888	[B]	0	3100	448		3.94	3.49	2.65	
889	[B]	0	75	33		2.40	1.88	1.53	
890	[B]	0	34800	3128		4.11	4.54	3.50	
891	[B]	0	1850	90		2.65	3.27	1.96	
892	[B]	0	75	315		3.06	1.88	2.50	
893	[B]	9	0	78		2.99	0.00	1.89	
894	[B]	5	525	1748		2.76	2.72	3.24	
895	[B]	0	475	30		2.90	2.68	1.49	
896	[B]	3	950	2623		3.76	2.98	3.42	
897	[B]	3	325	0		4.05	2.51	0.00	
898	[B]	0	3275	185		4.27	3.52	2.27	
899	[B]	2	1175	200		3.64	3.07	2.30	
900	[B]	2	0	45		2.10	0.00	1.66	
901	[D]	0	0	0		0.00	0.00	0.00	
902	[D]	0	0	925		2.40	0.00	2.97	
903	[D]	0	0	0		0.00	0.00	0.00	
904	[D]	3	0	748		3.25	0.00	2.87	
905	[D]	0	0	118		2.98	0.00	2.07	
906	[D]	0	3250	83		2.78	3.51	1.92	
907	[D]	0	0	8		2.70	0.00	0.93	
908	[D]	0	25	638		2.70	1.41	2.81	
909	[D]	5	25	620		3.22	1.41	2.79	
910	[D]	3	0	38		2.25	0.00	1.59	
911	[D]	0	25	383		2.98	1.41	2.58	
912	[D]	0	725	268		3.20	2.86	2.43	



Muestra	Lugar	Am	Ps	Eb	St	Log Am	Log Ps	Log Eb	Log St
913	[B]	0	0	0		0.00	0.00	0.00	
914	[B]	0	5050	238		3.88	3.70	2.38	
915	[B]	0	550	5		2.00	2.74	0.78	
916	[B]	0	0	503		4.19	0.00	2.70	
917	[B]	0	0	0		1.88	0.00	0.00	
918	[B]	0	0	153		2.51	0.00	2.19	
919	[B]	0	50	45		3.33	1.71	1.66	
920	[B]	0	0	45		3.10	0.00	1.66	
921	[B]	0	1500	728		3.61	3.18	2.86	
922	[B]	0	450	23		2.35	2.65	1.37	
923	[B]	0	5850	2468		3.59	3.77	3.39	
924	[B]	0	13200	2040		3.55	4.12	3.31	
925	[D]	0	0	4625		3.55	0.00	3.67	
926	[D]	0	25	85		2.78	1.41	1.93	
927	[D]	0	0	675		4.76	0.00	2.83	
928	[D]	0	0	3		2.00	0.00	0.54	
929	[D]	0	25	5		2.40	1.41	0.78	
930	[D]	0	0	50		2.00	0.00	1.71	
931	[D]	0	4175	1888		5.40	3.62	3.28	
932	[D]	0	0	10		3.28	0.00	1.04	
933	[D]	0	2650	1390		5.16	3.42	3.14	
934	[B]	0	0	23		2.18	0.00	1.37	
935	[B]	0	0	38		2.40	0.00	1.59	
936	[B]	0	0	3		0.00	0.00	0.54	
937	[B]	0	25	88		2.72	1.41	1.95	
938	[B]	0	0	15		2.48	0.00	1.20	
939	[B]	0	0	3		2.00	0.00	0.54	
940	[B]	0	775	690		3.47	2.89	2.84	
941	[B]	0	6625	1023		5.39	3.82	3.01	
942	[B]	0	6175	1023		5.19	3.79	3.01	

Tabla A2.2. Datos físicos y de manipulación. Planta de Sevilla.

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
1	[E]	7.0		8.0						d					S	N	N	
2	[E]	7.0		8.5						d					S	N	N	
3	[E]	7.0		8.5						d					N	S	N	
4	[E]	7.0		13.8						d					N	S	N	
5	[E]	7.0		12.1						d					N	N	N	
6	[E]	7.0		9.4						d					N	N	N	
7	[E]	7.0		8.4						d					N	N	N	
8	[E]	8.0		11.7						d					N	S	N	
9	[E]	8.0		12.0						d					N	S	N	
10	[E]	8.0		9.8		10.0				d					S	N	S	
11	[E]	8.0		6.7						d					S	N	S	
12	[E]	7.0		7.7						d					N	N	N	
13	[E]	7.0		9.7						d					N	N	N	
14	[E]	7.0		7.2						a					S	N	N	
15	[E]	7.0		6.2						a					S	N	N	
16	[E]	7.0		9.1		10.0				d					S	S	N	
17	[E]	7.0		9.2		10.0				d					S	S	N	
18	[E]	8.0		8.8		5.25				a					S	N	S	
19	[E]	8.0		8.9		5.25				a					S	N	S	
20	[E]	7.0		8.0		7.00				a					S	N	S	
21	[E]	7.0		4.1		3.29				a					S	N	N	
22	[E]	7.0		4.4		3.29				a					S	N	N	
23	[E]	7.0		8.8		7.23				d					S	N	N	
24	[E]	7.0		9.0		7.23				d					S	N	N	
25	[E]	8.0		8.1		7.00				d					S	N	S	
26	[E]	9.0		10.2		6.15				d					S	N	S	
27	[E]	9.0		10.7		6.15				d					S	N	S	
28	[E]	7.0		10.4		6.08				a					S	N	S	
29	[E]	9.0		9.8						d					S	N	N	
30	[E]	9.0		12.0						d					S	N	N	
31	[E]	7.6	32.1	9.7	5.87	3.37				a					S	N	N	
32	[E]	7.6	32.1	9.5	6.20	3.37				a					S	N	N	
33	[E]	7.6	32.1	7.8	5.90	3.37				a					S	N	N	
34	[E]	7.6	32.1	10.4	5.91	3.37				a					S	N	N	
35	[E]	6.2	53.6	5.8	6.48	5.23				a					S	N	N	
36	[E]	6.2	53.6	7.1	5.94	5.23				a					S	N	N	
37	[E]	6.2	53.6	5.4	5.76	5.23				a					S	N	N	
38	[E]	6.2	53.6	5.6	6.25	5.23				a					S	N	N	
39	[E]	8.6	48.3	3.1	6.10	1.21				a					S	S	N	
40	[E]	8.6	48.3	3.4	6.57	1.21				a					S	N	N	
41	[E]	6.9	63.9	5.6	6.50	3.11				d					S	S	N	
42	[E]	6.9	63.9	4.0	5.97	3.11				d					S	S	N	
43	[E]	6.9	63.9	3.4	6.33	3.11				d					S	S	N	
44	[E]	6.9	63.9	3.3	6.41	3.11				d					S	S	N	
45	[E]	7.2	59.8	3.8	5.75	4.47				a					S	S	N	
46	[E]	7.2	59.8	3.7	5.76	4.47				a					S	S	N	
47	[E]	7.2	59.8	3.5	6.02	4.47				a					S	S	N	
48	[E]	7.2	59.8	3.0	5.77	4.47				a					S	S	N	
49	[E]	6.7	51.7	9.6	6.25	4.49				a					S	N	S	
50	[E]	6.7	51.7	10.4	5.79	4.49				a					S	N	S	
51	[E]	6.7	51.7	10.0	6.20	4.49				a					S	N	S	
52	[E]	6.7	51.7	10.1	5.92	4.49				a					S	N	S	

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
53	[E]	6.3	65.8	6.2	5.82	3.50				d					S	S	N	
54	[E]	6.3	65.8	5.8	5.83	3.50				d					S	S	N	
55	[E]	6.3	65.8	4.8	5.93	3.50				d					S	N	N	
56	[E]	6.3	65.8	5.9	5.76	3.50				d					S	S	N	
57	[E]	5.4	58.6	5.2	6.42	3.19				a					N	N	N	
58	[E]	5.4	58.6	5.3	6.32	3.19				a					N	N	N	
59	[E]	5.4	58.6	5.9	6.05	3.19				a					N	N	N	
60	[E]	5.4	58.6	5.5	6.37	3.19				a					N	N	N	
61	[E]	4.4	56.4	4.7	5.79	8.27				d					N	N	S	
62	[E]	4.4	56.4	4.3	5.97	8.27				d					N	N	S	
63	[E]	4.4	56.4	4.7	6.02	8.27				d					N	N	S	
64	[E]	4.4	56.4	4.7	6.50	8.27				d					N	N	S	
65	[E]	6.0	53.3	6.4	6.14	5.22				a					S	S	N	
66	[E]	6.0	53.3	5.5	6.33	5.22				a					S	S	N	
67	[E]	6.0	53.3	5.6	5.90	5.22				a					S	S	N	
68	[E]	6.0	53.3	5.6	6.15	5.22				a					S	S	N	
69	[E]	5.9	63.6	5.6	5.80	4.05				a					S	S	S	
70	[E]	5.9	63.6	4.7	6.06	4.05				a					S	S	S	
71	[C]	1.0		9.2														
72	[C]	1.0		9.5														
73	[C]	1.0		7.5														
74	[C]	3.0		13.7														
75	[C]	3.0		12.4														
76	[C]	2.0		8.8														
77	[C]	2.0		7.7														
78	[C]	2.0		12.1														
79	[C]	2.0		13.0														
80	[C]	0.0		11.4														
81	[C]	0.0		7.5														
82	[C]	1.0		7.6														
83	[C]	1.0		9.7														
84	[C]	1.0		7.6														
85	[C]	1.0		6.0														
86	[C]	1.0		9.1														
87	[C]	1.0		9.0														
88	[C]	1.0		9.2														
89	[C]	1.0		9.1														
90	[C]	1.0		9.5														
91	[C]	-1.0		5.1														
92	[C]	-1.0		3.6														
93	[C]	0.0		8.6														
94	[C]	0.0		9.1														
95	[C]	1.0		8.2														
96	[C]	-1.0		11.7														
97	[C]	-1.0		11.7														
98	[C]	1.0		11.1														
99	[C]	1.0		10.4														
100	[C]	1.0		12.0														
101	[C]	1.0	34.0	9.6	6.01													
102	[C]	1.0	34.0	10.7	6.15													
103	[C]	1.0	34.0	8.8	5.82													
104	[C]	1.0	34.0	10.7	5.78													
105	[C]	-1.0	58.1	5.8	6.19													

M	I	Físicos						Manipulación										
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
106	[C]	-1.0	58.1	7.4	6.14													
107	[C]	-1.0	58.1	5.7	5.94													
108	[C]	-1.0	58.1	5.4	6.35													
109	[C]	2.0	35.0	3.5	6.23													
110	[C]	2.0	35.0	2.8	6.18													
111	[C]	0.0	42.5	4.2	6.60													
112	[C]	0.0	42.5	4.1	6.40													
113	[C]	0.0	42.5	3.5	6.12													
114	[C]	0.0	42.5	3.8	6.41													
115	[C]	0.0	53.0	3.6	5.85													
116	[C]	0.0	53.0	3.5	6.00													
117	[C]	0.0	53.0	3.5	6.20													
118	[C]	0.0	53.0	3.5	5.86													
119	[C]	1.0	46.4	10.6	6.38													
120	[C]	1.0	46.4	11.5	6.03													
121	[C]	1.0	46.4	11.1	6.01													
122	[C]	1.0	46.4	11.0	6.06													
123	[C]	1.0	55.3	6.7	5.95													
124	[C]	1.0	55.3	6.2	5.83													
125	[C]	1.0	55.3	5.0	6.11													
126	[C]	1.0	55.3	6.3	5.75													
127	[C]	1.0	57.5	5.1	6.24													
128	[C]	1.0	57.5	5.5	6.45													
129	[C]	1.0	57.5	6.4	5.85													
130	[C]	1.0	57.5	5.4	6.38													
131	[C]	-1.0	50.6	5.1	5.95													
132	[C]	-1.0	50.6	4.8	6.01													
133	[C]	-1.0	50.6	5.1	6.15													
134	[C]	-1.0	50.6	5.2	6.33													
135	[C]	0.0	46.3	6.8	5.93													
136	[C]	0.0	46.3	5.9	6.31													
137	[C]	0.0	46.3	6.2	6.05													
138	[C]	0.0	46.3	6.6	6.25													
139	[C]	-1.0	43.0	5.8	6.14													
140	[C]	-1.0	43.0	4.6	6.09													
141	[C]	1.0		8.0		9.56				d	S							
142	[C]	2.0				7.39				d	S							
143	[C]	3.0		13.4		6.00				a	S							
144	[C]	3.0		9.6		13.00				d	N							
145	[C]	3.0				6.30				d	S							
146	[C]	5.0		13.5		10.30				a	S							
147	[C]	4.0		15.1		8.42				d	N							
148	[C]	7.0		15.9		8.44				a	S							
149	[C]	3.0		9.7		14.00				d	S							
150	[C]	2.0		10.5		10.00				d	S							
151	[C]	2.0		13.7		9.55				d	S							
152	[C]	4.0		12.9		10.20				d	N							
153	[C]	1.0		10.7		10.20				d	N							
154	[C]	3.0		10.8		12.50				d	S							
155	[C]	2.0		11.0		54.30				a	N							
156	[C]	3.0		14.5		11.40				d	S							
157	[C]	5.0		14.8		9.15				d	S							
158	[C]	6.0		15.4		7.31				d	S							

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
159	[C]	5.0		18.0		13.00				d	S							
160	[C]	5.0		17.3		11.10				d	S							
161	[C]	2.0		12.2		10.50				a	S							
162	[C]	2.0		10.7		10.40				a	S							
163	[C]	3.0		10.8		52.00				a	S							
164	[C]	3.0		9.2		52.50				a	S							
165	[C]	3.0		11.6		44.30				a	S							
166	[C]	3.0		8.3		44.00				a	S							
167	[C]	3.0		10.7		56.00				a	S							
168	[C]	1.0		5.5		10.50				a	S							
169	[C]	1.0		5.2		9.59				a	S							
170	[C]	1.0		9.8		9.30				a	S							
171	[C]	0.0	53.8	5.7		7.40		1.57		d	N							
172	[C]	0.0	53.8	3.5		7.40		1.21		d	N							
173	[C]	-1.0	50.4	7.1		6.48		1.94		d	S							
174	[C]	-1.0	50.4	8.1		6.48		2.32		d	S							
175	[C]	-1.0	52.2	9.2		11.10		2.21		d	N							
176	[C]	-1.0	52.2	9.7		11.10		2.05		d	N							
177	[C]	-1.0	45.7	8.1		5.09		1.96		a	N							
178	[C]	-1.0	45.7	4.9		5.09		1.23		a	N							
179	[C]	0.0	50.2	7.6		5.17		1.87		a	S							
180	[C]	0.0	50.2	6.4		5.17		1.75		a	S							
181	[C]	0.0	78.0	1.1		4.36		0.95		a	N							
182	[C]	0.0	78.0	1.3		4.36		0.91		a	N							
183	[C]	1.0	51.0	7.2		3.38		2.20		a	S							
184	[C]	1.0	51.0	4.8		3.38		1.54		a	S							
185	[C]	-1.0	38.4	3.7		4.47		1.25		d	S							
186	[C]	-1.0	38.4	3.9		4.47		1.54		d	S							
187	[C]	0.0	53.3	7.2		17.40		1.51		a	S							
188	[C]	0.0	53.3	8.8		3.15		2.02		d	S							
189	[C]	-1.0	42.8	7.7		4.49		1.63		a	S							
190	[C]	-1.0	42.8	8.0		4.49		2.58		a	S							
191	[C]	-1.0	44.6	8.7		9.23		2.31		d	S							
192	[C]	-1.0	64.5	6.5		22.40		1.53		d	S							
193	[C]	1.0	67.2	8.1		5.27		1.89		a	S							
194	[C]	1.0	67.2	9.3		5.27		2.11		a	S							
195	[C]	-1.0	50.8	5.9		6.41		2.03		d	S							
196	[C]	-1.0	50.8	9.6		6.41		2.71		d	S							
197	[C]	-1.0	44.5	6.2		5.35		1.55		d	S							
198	[C]	-1.0	44.5	5.1		9.15		1.59		d	S							
199	[C]	0.0	60.2	4.8		6.00		1.52		a	N							
200	[C]	0.0	60.2	5.2		11.00		1.70		a	N							
201	[C]	0.0	46.8	7.2		5.14		1.77		a	S							
202	[C]	0.0	46.8	6.6		8.50		1.92		a	S							
203	[C]	1.0	58.4	6.5		5.28		1.81		a	S							
204	[C]	1.0	58.4	5.1		8.50		1.21		a	S							
205	[C]	-1.0	55.0	5.3		6.30		1.50		d	S							
206	[C]	-1.0	55.0	7.5		8.00		1.82		d	S							
207	[C]	-1.0	55.0	5.1		6.40		1.48		d	S							
208	[C]	1.0	51.5	5.2		4.18		1.56		a	S							
209	[C]	1.0	51.5	5.6		3.30		1.71		a	S							
210	[C]	1.0	51.5	4.4		9.09		1.26		d	S							
211	[T]	16.0																

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
212	[T]	14.0		14.4														
213	[T]	14.0		13.6														
214	[T]	16.0		10.0														
215	[T]	16.0		16.0														
216	[T]	15.0		13.8														
217	[T]	15.0		16.1														
218	[T]	20.0		15.0														
219	[T]	19.0		7.6														
220	[T]	20.0		11.0														
221	[T]	21.0		13.7														
222	[T]	20.0		12.7														
223	[T]	20.0		11.7														
224	[T]	21.0		11.2														
225	[T]	19.0		10.6														
226	[T]	20.0		15.5														
227	[T]	21.0		15.2														
228	[T]	21.0		16.1														
229	[T]	20.0		18.4														
230	[T]	20.0		17.7														
231	[T]	20.0		11.1														
232	[T]	20.0		13.0														
233	[T]	21.0		11.7														
234	[T]	21.0		8.6														
235	[T]	21.0		9.8														
236	[T]	21.0		8.1														
237	[T]	21.0		9.7														
238	[T]	18.0		5.3														
239	[T]	18.0		6.2														
240	[T]	18.0		9.4														
241	[T]	10.0	55.8	5.5	6.54													
242	[T]	10.0	55.8	2.8	6.15													
243	[T]	11.0	54.0	8.0	6.30													
244	[T]	11.0	54.0	5.0	6.36													
245	[T]	12.0	52.3	11.8	6.53													
246	[T]	12.0	52.3	9.8	6.35													
247	[T]	11.0	51.7	7.8	6.17													
248	[T]	11.0	51.7	5.9	6.57													
249	[T]	12.0	50.4	7.9	6.33													
250	[T]	12.0	50.4	3.3	6.45													
251	[T]	12.0	61.7	1.1	5.91													
252	[T]	12.0	61.7	1.3	5.69													
253	[T]	13.0	54.6	9.0	6.03													
254	[T]	13.0	54.6	6.1	6.01													
255	[T]	13.0	36.9	5.2	6.27													
256	[T]	13.0	36.9	2.2	6.53													
257	[T]	13.0	56.1	8.9	6.14													
258	[T]	11.0	54.5	11.0	6.48													
259	[T]	14.0	58.1	9.7	6.74													
260	[T]	14.0	58.1	7.5	6.42													
261	[T]	9.0	52.8	7.1	6.38													
262	[T]	9.0	52.8	5.1	5.93													
263	[T]	13.0		10.1	6.22													
264	[T]	13.0	52.5	11.1	6.52													

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
265	[T]	13.0	52.5	8.9	6.60													
266	[T]	13.0	74.4	11.7	5.95													
267	[T]	13.0	59.2	5.6	6.66													
268	[T]	13.0	59.2	5.3	5.94													
269	[T]	12.0	79.6	7.2	6.64													
270	[T]	12.0	79.6	3.4	6.71													
271	[T]	13.0	61.1	7.5	6.02													
272	[T]	13.0	61.1	6.1	6.27													
273	[T]	13.0	78.1	4.7	6.45													
274	[T]	13.0	78.1	5.5	6.13													
275	[T]	9.0	63.7	5.1	5.93													
276	[T]	9.0	63.7	6.6	6.55													
277	[T]	9.0	63.7	6.7	6.69													
278	[T]	10.0	59.2	5.9	6.31													
279	[T]	10.0	59.2	7.5	6.18													
280	[T]	10.0	59.2	7.3	6.27													
281	[T]			7.9		91.00	0.8		1.03		N							
282	[T]			11.7		91.00	0.8		1.35		N							
283	[T]	14.0		14.3		90.00	1.6		1.96		N							
284	[T]	14.0		11.0		90.00	1.6		1.75		N							
285	[T]	14.0		6.7		81.00	-1.8		1.41		N							
286	[T]	14.0		7.9		81.00	-1.8		1.87		N							
287	[T]	13.0		7.5		84.00	-0.6		1.85		N							
288	[T]	13.0		6.2		83.00	-0.6		1.30		N							
289	[T]			10.3		86.00	5.8		1.50		N							
290	[T]	12.0		3.7		84.00	-1.5		1.44		N							
291	[T]						1.9				N							
292	[T]	12.0		7.6		85.00	1.9		1.39		N							
293	[T]	14.0		8.4		99.00	2.8		1.68		N							
294	[T]						1.8				N							
295	[T]	14.0		9.6		85.00	1.8		1.53		N							
296	[T]	14.0		14.0		85.00	1.8		1.76		N							
297	[T]	13.0		9.4		95.00	4.3		1.79		N							
298	[T]	13.0		8.9		96.00	4.3		1.87		N							
299	[T]	13.0		8.1		96.00	4.3		1.72		N							
300	[T]	13.0		9.0		85.00	2.7		1.66		N							
301	[T]	15.0		6.3		103.00	-1.2		2.14		S							
302	[T]	15.0		8.8		101.00	-1.2		2.17		S							
303	[T]	15.0		4.2		103.00	-2.3		1.48		N							
304	[T]	15.0		5.6		102.00	-2.3		1.61		N							
305	[T]	15.0		1.9		99.00	-2.8		1.32		N							
306	[T]	15.0		3.2		96.00	-2.8		1.47		N							
307	[T]	13.0		3.8		98.00	-2.6		1.43		N							
308	[T]	13.0		3.4		98.00	-2.6		1.59		N							
309	[T]	13.0		3.9		94.00	-2.9		1.57		N							
310	[T]	13.0		3.4		93.00	-2.9		1.36		N							
311	[T]	8.0	68.1	4.9	6.45	102.00	0.9		1.32		N							
312	[T]	13.0	71.2	3.9	6.15	94.00	0.9		1.14		S							
313	[T]	13.0	71.2	5.1	6.14	94.00	4.0		1.46		S							
314	[T]	13.0	71.2	5.3	6.05	94.00	4.0		1.51		S							
315	[T]	13.0	71.2	6.8	6.26	94.00	4.0		1.50		S							
316	[T]	10.3	66.8	7.2	6.17	98.00	4.0		1.72		S							
317	[T]	10.3	66.8	12.3	6.19	98.00	0.6		1.85		S							

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
318	[T]	10.3	66.8	6.8	6.76	98.00	0.6		1.25		S							
319	[T]	10.3	66.8	8.2	6.22	98.00	0.6		1.64		S							
320	[T]	8.5	76.9	7.7	6.17	111.00	0.6		1.60		S							
321	[T]	8.5	76.9	8.8	6.06	111.00	0.5		1.87		S							
322	[T]	8.5	76.9	7.8	6.48	111.00	0.5		1.64		S							
323	[T]	8.5	76.9	7.4	6.13	111.00	0.5		1.51		S							
324	[T]	8.0	72.5	10.3	6.28	90.00	0.5		1.46		N							
325	[T]	8.0	72.5	8.5	6.28	90.00	-2.1		1.52		N							
326	[T]	8.0	72.5	8.2	6.30	89.00	-2.1		1.32		N							
327	[T]	8.0	72.5	9.5	6.26	89.00	-2.1		1.37		N							
328	[T]	14.0	69.8	3.9	6.73	92.00	-2.1		1.42		S							
329	[T]	14.0	69.8	8.3	6.71	92.00	2.0		1.63		S							
330	[T]	10.0	68.4	6.0	6.11	94.00	2.0		1.44		N							
331	[T]	10.0	68.4	7.1	6.75	94.00	3.0		1.52		N							
332	[T]	10.0	74.5	7.1	6.83	96.00	3.0		1.51		N							
333	[T]	10.0	74.5	7.5	6.04	96.00	-1.6		1.22		N							
334	[T]	9.5	76.3	7.3	6.20	96.00	-1.6		1.25		N							
335	[T]	9.5	76.3	7.8	6.44	96.00	-1.6		1.34		N							
336	[T]	12.0	60.6	7.9	6.22	95.00	-1.6		1.47		S							
337	[T]	12.0	60.6	7.1	6.14	95.00	-0.8		1.22		S							
338	[T]	12.0	65.4	5.9	6.55	94.00	-0.8		1.35		N							
339	[T]	12.0	65.4	6.8	6.62	94.00	-0.8		1.53		N							
340	[T]	13.0	62.7	3.2	6.64	92.00	-0.8		1.09		N							
341	[T]	13.0	62.7	8.8	6.60	92.00	-1.4		1.97		N							
342	[T]	11.0	61.1	13.4	6.61	91.00	-1.4		1.91		S							
343	[T]	11.0	61.1	10.1	6.64	91.00	5.3		1.02		S							
344	[T]	11.0	65.3	14.6	6.67	91.00	5.3		1.96		S							
345	[T]	11.0	65.3	10.3	6.48	91.00	5.3		1.15		S							
346	[T]	13.0	68.6	7.5	6.34	95.00	5.3		1.27		S							
347	[T]	13.0	68.6	8.3	6.28	95.00	1.5		1.47		S							
348	[T]	13.0	71.2	12.5	6.50	95.00	1.5		2.13		S							
349	[T]	13.0	71.2	14.0	6.38	95.00	1.5		2.08		S							
350	[T]	8.0	68.1	4.9	6.18	102.00	1.5		1.25		N							
351	[L]			42.8														
352	[L]			43.3														
353	[L]			34.2														
354	[L]			42.3														
355	[L]			33.7														
356	[L]			38.3														
357	[L]			37.0														
358	[L]			36.2														
359	[L]			37.4														
360	[L]			35.2														
361	[L]			39.3														
362	[L]			37.9														
363	[L]			38.1														
364	[L]			34.9														
365	[L]			35.6														
366	[L]			36.7														
367	[L]			40.2														
368	[L]			39.7														
369	[L]			39.2														
370	[L]			39.9														



M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
371	[L]			39.7														
372	[L]			40.1														
373	[L]			38.8														
374	[L]			39.1														
375	[L]			37.3														
376	[L]			36.3														
377	[L]			39.6														
378	[L]			41.0														
379	[L]			38.2														
380	[L]			37.7														
381	[L]	11.5	56.2	35.7	6.10													
382	[L]	11.5	56.2	38.0	6.22													
383	[L]	5.3	75.1	34.3	6.11													
384	[L]	5.3	75.1	33.3	6.21													
385	[L]	5.3	75.1	34.3	6.13													
386	[L]	5.3	75.1	37.9	6.36													
387	[L]	7.3	68.2	34.5	5.92													
388	[L]	7.3	68.2	38.5	6.01													
389	[L]	7.3	68.2	36.3	6.33													
390	[L]	7.3	68.2	34.9	6.43													
391	[L]	6.1	73.1	38.7	5.90													
392	[L]	6.1	73.1	38.8	6.23													
393	[L]	6.1	73.1	39.0	6.37													
394	[L]	6.1	73.1	36.0	6.25													
395	[L]	6.0	67.2	32.3	6.15													
396	[L]	6.0	67.2	35.1	6.42													
397	[L]	6.0	67.2	27.1	6.06													
398	[L]	6.0	67.2	36.4	5.86													
399	[L]	14.7	60.0	39.4	6.45													
400	[L]	14.7	60.0	38.8	6.38													
401	[L]	9.9	54.4	36.7	6.03													
402	[L]	9.9	54.4	33.5	6.39													
403	[L]	8.7	66.9	39.6	6.34													
404	[L]	8.7	66.9	39.0	6.20													
405	[L]	8.7	66.9	38.8	6.18													
406	[L]	8.7	66.9	41.3	6.57													
407	[L]	15.0	63.5	39.6	5.99													
408	[L]	15.0	63.5	39.6	6.13													
409	[L]	13.0	70.0	39.9	6.38													
410	[L]	13.0	70.0	39.8	5.90													
411	[L]	12.3	74.2	37.2	5.97													
412	[L]	12.3	74.2	41.2	6.32													
413	[L]	14.3	65.8	40.8	6.06													
414	[L]	14.3	65.8	36.2	6.69													
415	[L]	13.3	74.7	40.1	6.40													
416	[L]	13.3	74.7	38.9	6.25													
417	[L]	15.8	67.6	36.6	6.49													
418	[L]	15.8	67.6	38.7	6.03													
419	[L]	14.4	72.9	42.2	6.36													
420	[L]	14.4	72.9	40.8	6.17													
421	[L]	16.3	58.5	36.0		20.00					N							A
422	[L]	10.1	72.6	39.8		8.00		15.2			S							A
423	[L]	10.1	62.6	37.4		15.00		15.2			N							A



M	I	Físicos							Manipulación										
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh	
477	[L]	11.8	65.1	35.3		7.00		18.4											C
478	[L]	12.8	63.0	27.9		10.00		18.1											C
479	[L]	12.8	63.0	37.8		10.00		18.1											C
480	[L]	12.8	63.0	33.5		10.00		18.1											C
481	[L]	10.5	65.9	35.9		10.00		18.1											C
482	[L]	10.5	65.9	36.2		10.00		18.1											C
483	[L]	10.5	65.9	37.3		10.00		18.1											C
484	[L]	13.1	65.9	39.0		9.00		18.5											B
485	[L]	12.9	65.9	39.0		9.00		18.5											B
486	[L]	12.9	65.9	39.0		9.00		18.5											B
487	[L]	12.9	70.1	39.8		9.00		18.5											B
488	[L]	12.9	70.1	39.1		9.00		18.5											B
489	[L]	12.9	70.1	39.0		9.00		18.5											B
490	[L]	11.1	69.6	39.4		11.00		16.1											A
491	[G]			37.9															
492	[G]			35.0															
493	[G]			37.6															
494	[G]			37.2															
495	[G]			37.3															
496	[G]			36.4															
497	[G]			36.8															
498	[G]			37.3															
499	[G]			37.5															
500	[G]			37.8															
501	[G]			33.2															
502	[G]			38.6															
503	[G]			38.3															
504	[G]			39.3															
505	[G]			40.5															
506	[G]			38.4															
507	[G]			39.3															
508	[G]			37.4															
509	[G]			31.7															
510	[G]			34.7															
511	[G]			36.6															
512	[G]			37.7															
513	[G]			35.6															
514	[G]			41.3															
515	[G]			37.3															
516	[G]			39.7															
517	[G]			39.9															
518	[G]			37.9															
519	[G]			39.3															
520	[G]			36.6															
521	[G]			35.4															
522	[G]			41.0															
523	[G]			30.1															
524	[G]			36.5															
525	[G]			37.3															
526	[G]			38.7															
527	[G]			39.8															
528	[G]			37.6															
529	[G]			41.7															

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
530	[G]			39.2														
531	[G]			39.6														
532	[G]			40.0														
533	[G]			40.7														
534	[G]			40.2														
535	[G]			40.1														
536	[G]			39.3														
537	[G]			40.3														
538	[G]			36.0														
539	[G]			41.3														
540	[G]			42.1														
541	[G]			41.5														
542	[G]			42.9														
543	[G]			41.3														
544	[G]			39.7														
545	[G]			40.3														
546	[G]			39.4														
547	[G]			39.3														
548	[G]			27.9														
549	[G]			41.5														
550	[G]			37.3														
551	[G]			38.6														
552	[G]			40.1														
553	[G]			40.0														
554	[G]			41.3														
555	[G]			41.1														
556	[G]			41.0														
557	[G]			41.9														
558	[G]			41.8														
559	[G]			40.2														
560	[G]			41.6														
561	[G]	15.1	78.1	41.0						a		N	S					N
562	[G]	16.2	75.9	39.6		8.41				d		N	S					N
563	[G]	15.3	76.5	39.0		7.50				d		N	S					S
564	[G]	15.9	80.0	37.9		7.02				d		N	S					S
565	[G]	17.2	73.6	40.7		6.45				a		S	S					N
566	[G]	15.9	78.3	39.0		6.29				a		S	S					S
567	[G]	20.9	69.1	41.5		7.15				d		N	S					S
568	[G]	19.4	78.9	38.8		7.44				d		N	S					S
569	[G]	21.0	76.6	40.5		7.45				a		N	S					S
570	[G]	19.8	78.5	39.7		7.21				a		N	S					S
571	[G]	20.3	74.6	37.4		7.43				d		N	S	P				S
572	[G]	17.5	74.4	40.0		7.38				d		N	S	P				N
573	[G]	20.8	77.8	40.0		7.50				d		N	S	P				N
574	[G]	19.1	83.1	40.8		7.54				d		N	S	P				N
575	[G]	17.8	64.8	39.2		7.36				a		N	S	e				S
576	[G]	18.3	68.8	39.0		7.22				a		N	S	P				S
577	[G]	17.5	62.5			7.29				a		S	S	P				S
578	[G]	17.2	76.2	41.2		7.16				a		S	S	e				S
579	[G]	19.9	74.3	40.5		7.40				a		N	S	e				S
580	[G]	19.1	79.5	38.8		7.35				a		S	S	e				S
581	[G]	19.4	72.6	37.5		8.05				d		N	S	P				S
582	[G]	18.1	77.5	35.2		8.14				d		N	S	P				S

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
583	[G]	18.2	79.6	39.0		8.10				d		N	S	P			S	
584	[G]	18.5	84.3	37.7		7.58				d		N	S	P			S	
585	[G]	21.3	72.0	40.1		6.35				a		N	S	e			S	
586	[G]	20.3	71.6	38.2		6.19				a		N	S	P			S	
587	[G]	21.4	68.8	37.1		7.52				d		S	S	P			S	
588	[G]	19.3	74.4	38.2		7.30				d		S	S	P			S	
589	[G]	17.3	70.9	35.8		7.20				a		N	S	e			S	
590	[G]	15.7	79.6	39.7		6.30				d		S	S	e			S	
591	[G]	16.5	76.5	42.0		7.11				a		S	S	e			S	
592	[G]	14.9	84.1	40.6		6.27				d		N	S	e			S	
593	[G]	17.0	70.2	39.9		6.50				a		N	S	P			S	
594	[G]	16.0	75.5	42.0		6.46				a		N	N	e			S	
595	[G]	15.9	78.5	41.9		6.53				a		N	N	P			S	
596	[G]	15.7	79.1	40.2		6.50				a		N	N	P		N		
597	[G]	18.5	71.3	41.9		6.45				d		N	N	e			S	
598	[G]	16.5	75.4	42.1		6.40				d		N	N	e			S	
599	[G]	16.5	79.1	40.5		6.50				d		N	N	e			S	
600	[G]	16.3	80.1	43.5		7.15				d		S	N	e			S	
601	[G]	18.5	72.3	42.0		6.45				d		S	N	e			S	
602	[G]	18.5	79.0	41.7		6.40				d		S	N	e		N		
603	[G]	18.3	77.0	42.3		8.11				d		S	N	P			S	
604	[G]	17.6	81.8	41.3		6.38				d		N	N	P			S	
605	[G]	17.6	71.7	39.2		7.57				d		S	N	P		N		
606	[G]	17.3	73.0	41.3		6.46				d		N	N	P		N		
607	[G]	19.7	78.0	38.7		7.28				a		N	N	e			S	
608	[G]	19.2	80.7	39.7		7.26				a		N	N	e			S	
609	[G]	18.6	81.3	40.4		7.28				a		N	N	P			S	
610	[G]	18.6	83.2	39.9		7.26				a		N	N	e			S	
611	[G]	21.8	79.5	43.1		6.28				d		N	N	e			S	
612	[G]	21.7	82.5	41.7		6.30				d		N	N	e			S	
613	[G]	20.2	76.8	40.8		6.59				d		N	N	e			S	
614	[G]	19.3	80.9	42.1		6.39				d		N	N	e			S	
615	[G]	19.0	77.9	39.8		6.50				a		N	N	e			S	
616	[G]	18.5	83.9	42.3		6.49				a		N	N	e			S	
617	[G]	17.8	74.6	39.2		7.36				d		N	N	P		N		
618	[G]	17.8	76.8	40.2		7.08				d		N	N	e			S	
619	[G]	17.4	82.3	40.8		7.02				d		N	N	e			S	
620	[G]	17.1	82.7	41.9		7.15				d		N	N	e			S	
621	[G]	18.0	73.9	41.5		6.27				a		N	N	e			S	
622	[G]	17.9	80.3	40.1		6.26				a		N	N	e			S	
623	[G]	17.9	66.8	40.1		6.42				d		S	N	e			S	
624	[G]	16.9	72.2	40.3		6.47				d		S	N	e			S	
625	[G]	16.8	75.7	40.8		6.39				d		N	N	e			S	
626	[G]	17.9	62.9	39.9		6.46				d		N	N	P			S	
627	[G]	15.8	72.8	40.9		6.39				d		N	N	P		N		
628	[G]	18.7	71.8	40.8		6.25				a		N	N	e		N		
629	[G]	17.5	77.4	39.8		6.30				a		N	N	e			S	
630	[G]	16.1	79.1	41.2		6.38				a		N	N	e			S	
631	[P]	15.2	80.1															
632	[P]	23.8	66.2															
633	[P]	20.1	71.5	43.4														
634	[P]	15.8	80.3	43.2														
635	[P]	20.1	72.7	43.2														

M	I	Físicos						Manipulación										
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
636	[P]	17.3	78.0	42.7														
637	[P]	23.6	69.6	43.5														
638	[P]	20.2	78.1	42.9														
639	[P]	21.1	74.3	42.3														
640	[P]	20.5	76.1	42.6														
641	[P]	25.4	68.5	42.7														
642	[P]	20.1	78.0	42.4														
643	[P]	23.8	71.4	42.9														
644	[P]	20.1	81.3	43.8														
645	[P]	21.1	76.0	44.2														
646	[P]	18.8	78.6	42.5														
647	[P]	23.5	75.0															
648	[P]	19.8	84.1	43.5														
649	[P]	22.7	78.1	43.3														
650	[P]	21.1	84.1	41.9														
651	[P]	24.6	74.4	43.6														
652	[P]	24.0	77.0	43.3														
653	[P]	20.8	85.5	43.3														
654	[P]	20.5	88.2	43.3														
655	[P]	21.0	75.1	43.8														
656	[P]	20.0	81.2	39.2														
657	[P]	26.8	72.3	42.2														
658	[P]	21.1	81.2	42.3														
659	[P]	21.0	71.1	44.4														
660	[P]	18.1	86.0	43.7														
661	[P]	19.9	76.2	42.4														
662	[P]	15.3	86.0	42.5														
663	[P]	21.5	71.4	42.8														
664	[P]	17.8	83.8	43.8														
665	[P]	17.8	86.9	42.9														
666	[P]	18.2	87.7	42.3														
667	[P]	21.4	80.6	44.7														
668	[P]	20.0	85.5	44.3														
669	[P]	19.6	88.7	42.0														
670	[P]	19.5	92.2	45.4														
671	[P]	22.1	75.6	42.9														
672	[P]	19.7	82.6	42.9														
673	[P]	23.0	82.2	44.8														
674	[P]	20.5	87.2	42.3														
675	[P]	23.2	81.1	43.3														
676	[P]	18.5	81.6	42.7														
677	[P]	22.6	76.2	42.6														
678	[P]	20.9	84.9	43.4														
679	[P]	19.4	85.5	43.5														
680	[P]	19.4	87.6	42.8														
681	[P]	23.9	83.3	44.5														
682	[P]	23.9	83.2	43.0														
683	[P]	23.6	79.9	42.8														
684	[P]	20.5	87.7	42.9														
685	[P]	25.0	71.9	41.7														
686	[P]	19.2	86.0	42.7														
687	[P]	20.7	71.7	42.5														
688	[P]	21.1	82.8	42.6														

M	I	Físicos						Manipulación										
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
689	[P]	18.4	87.5	42.0														
690	[P]	18.3	88.5	43.6														
691	[P]	19.3	80.9	42.9														
692	[P]	19.5	86.4	41.1														
693	[P]	21.5	80.8	42.7														
694	[P]	19.7	87.2	43.0														
695	[P]	18.6	88.0	43.0														
696	[P]	23.8	73.7	42.3														
697	[P]	20.6	85.2	41.9														
698	[P]	23.3	72.7	43.8														
699	[P]	18.9	83.0	41.0														
700	[P]	17.5	84.8	42.1														
701	[P]	24.9	100.5	41.5		1.07												
702	[P]	24.4	105.0	42.5		1.15												
703	[P]	24.4	105.0	42.6		1.15												
704	[P]	24.9	92.0	42.8		0.52												
705	[P]	24.9	92.0	41.3		0.52												
706	[P]	24.0	76.3	43.5		1.10												
707	[P]	24.0	76.3	43.2		1.10												
708	[P]	23.9	85.0	42.9		1.10												
709	[P]	23.9	85.0	42.9		1.10												
710	[P]	23.0	80.1	42.0		1.06												
711	[P]	23.0	80.1	40.0		1.06												
712	[P]	22.9	82.5	41.7		1.01												
713	[P]	22.9	82.5	43.1		1.01												
714	[P]	23.6	82.1	39.5		1.11												
715	[P]	23.6	82.1	42.6		1.11												
716	[P]	23.9	102.8	42.8		1.06												
717	[P]	23.9	102.8	43.0		1.06												
718	[P]	19.5	77.6	38.6		1.01												
719	[P]	19.5	77.6	41.5		1.01												
720	[P]	20.4	72.7	42.9		1.06												
721	[P]	20.4	72.7	43.0		1.06												
722	[P]	21.6	88.5	42.7		0.55												
723	[P]	20.8	82.7	41.2		1.05												
724	[P]	20.9	85.8	40.5		1.02												
725	[P]	20.9	85.8	42.3		1.02												
726	[P]	21.8	67.5	43.4		0.58												
727	[P]	21.8	67.5	42.9		0.58												
728	[P]	21.0	73.0	41.3		1.05												
729	[P]	21.0	73.0	42.3		1.05												
730	[P]	21.5	66.5	42.7		0.57												
731	[P]	21.5	66.5	43.0		0.57												
732	[P]	15.3	77.3	40.0		1.09												
733	[P]	15.3	77.3	41.4		1.09												
734	[P]	15.8	71.2	39.6		0.58												
735	[P]	15.8	72.2	40.1		1.09												
736	[P]	16.6	76.4	43.2		1.10												
737	[P]	16.3	76.9	42.2		1.09												
738	[P]	15.2	79.8	41.7		1.10												
739	[P]	14.6	79.6	42.2		1.12												
740	[P]	12.9	91.3	38.6		0.58												
741	[P]	12.5	91.1	40.6		0.59												

M	I	Físicos					Manipulación											
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
742	[P]	16.0	92.3	42.1		1.05												
743	[P]	15.8	91.2	40.4		1.04												
744	[P]	18.1	90.4	42.8		1.14												
745	[P]	17.6	90.9	41.9		1.08												
746	[P]	17.8	77.2	41.8		1.13												
747	[P]	17.6	79.8	41.7		1.11												
748	[P]	19.1	77.2	40.7		1.04												
749	[P]	19.1	77.2	40.1		1.04												
750	[P]	15.2	78.5	39.7		1.03												
751	[P]	15.6	78.5	41.8		1.05												
752	[P]	15.1	78.5	41.6		1.04												
753	[P]	15.6	78.5	42.2		1.04												
754	[P]	15.6	78.5	41.8		1.04												
755	[P]	15.6	78.5	43.9		1.04												
756	[P]	15.6	78.5	41.5		1.04												
757	[P]	15.9	82.3	37.4		1.04												
758	[P]	16.2	85.1	41.2		1.01												
759	[P]	17.1	85.3	39.7		1.03												
760	[P]	17.2	87.2	41.0		1.03												
761	[P]	17.4	80.0	38.6		1.03												
762	[P]	12.5	82.7	42.5		1.12												
763	[P]	13.1	83.4	41.0		1.13												
764	[P]	12.0	86.2	41.0		1.12												
765	[P]	12.9	88.1	42.4		1.12												
766	[P]	12.4	88.5	33.2		1.12												
767	[P]	12.0	84.7	42.2		1.13												
768	[P]	12.1	87.5	42.0		1.04												
769	[P]	11.4	90.2	41.9		1.13												
770	[P]	12.1	92.0	41.4		1.14												
771	[S]	26.2	86.3	42.1														
772	[S]	25.3	86.3	43.2														
773	[S]	25.3	86.3	42.4														
774	[S]	25.1	89.8	42.1														
775	[S]	25.1	89.8	42.0														
776	[S]	26.4	84.6	43.4														
777	[S]	26.4	84.6	42.8														
778	[S]	25.9	90.3	43.1														
779	[S]	25.9	90.3	42.2														
780	[S]	25.2	82.9	42.7														
781	[S]	25.2	82.9	41.8														
782	[S]	24.4	90.6	42.1														
783	[S]	24.4	90.6	42.6														
784	[S]	25.5	84.3	42.0														
785	[S]	25.5	84.3	41.7														
786	[S]	26.2	113.9	42.7														
787	[S]	26.2	113.9	42.1														
788	[S]	22.5	84.3	41.9														
789	[S]	22.5	84.3	43.0														
790	[S]	18.8	83.9	43.7														
791	[S]	18.8	83.9	42.5														
792	[S]	21.8	88.6	41.8														
793	[S]	22.2	84.8	42.0														
794	[S]	22.1	86.8	42.2														



M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
795	[S]	22.1	86.8	44.0														
796	[S]	22.4	82.2	42.8														
797	[S]	22.4	82.2	43.3														
798	[S]	22.0	80.4	41.8														
799	[S]	22.0	80.4	42.8														
800	[S]	22.6	82.9	42.1														
801	[S]	22.6	82.9	42.4														
802	[S]	17.7	87.3	43.2														
803	[S]	17.7	87.3	42.7														
804	[S]	18.1	76.6	42.9														
805	[S]	18.1	76.6	42.3														
806	[S]	18.0	83.1	42.4														
807	[S]	18.0	83.1	42.4														
808	[S]	15.2	77.0	42.0														
809	[S]	15.2	77.0	43.4														
810	[S]	15.5	83.6	42.1														
811	[S]	15.5	83.6	42.4														
812	[S]	16.4	93.2	42.1														
813	[S]	16.4	93.2	41.2														
814	[S]	19.5	92.1	42.1														
815	[S]	19.5	92.1	42.3														
816	[S]	18.0	81.2	42.3														
817	[S]	18.0	81.2	42.9														
818	[S]	17.4	91.5	43.6														
819	[S]	17.4	91.5	42.5														
820	[S]	16.2	89.9	42.1														
821	[S]	16.2	89.9	42.2														
822	[S]	16.2	89.9	42.4														
823	[S]	17.2	89.9	42.1														
824	[S]	17.2	89.9	43.5														
825	[S]	16.8	89.9	42.9														
826	[S]	16.8	89.9	42.4														
827	[S]	15.2	75.3	42.7														
828	[S]	14.2	76.8	42.7														
829	[S]	14.2	76.8	42.8														
830	[S]	15.9	81.7	41.3														
831	[S]	15.9	81.7	42.6														
832	[S]	10.7	70.3	42.9														
833	[S]	10.7	70.3	43.8														
834	[S]	10.5	80.7	43.2														
835	[S]	10.5	80.7	43.3														
836	[S]	10.5	80.7	43.1														
837	[S]	11.4	74.0	42.2														
838	[S]	11.4	74.0	43.0														
839	[S]	10.2	82.6	42.2														
840	[S]	10.2	82.6	42.7														
841	[D]	8.0	32.1	5.0														
842	[D]	8.0	32.1	7.6														
843	[D]	7.0	32.1	11.3														
844	[D]	7.0	32.1	10.6														
845	[D]	7.0	53.6	10.8														
846	[D]	7.0	53.6	11.7														
847	[D]	7.0	53.6	10.7														

M	I	Físicos						Manipulación										
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
848	[D]	7.0	53.6	11.6														
849	[D]	8.0	48.3	9.8														
850	[D]	8.0	48.3	9.3														
851	[D]	7.0	63.9	7.8														
852	[B]	4.0	47.2	4.3														
853	[B]	4.0	47.2	4.2														
854	[B]	4.0	58.8	3.8														
855	[B]	4.0	58.8	4.1														
856	[B]	4.0	58.8	3.7														
857	[B]	4.0	58.8	4.5														
858	[B]	4.0	58.8	3.9														
859	[B]	4.0	58.8	4.6														
860	[B]	3.0	55.0	3.2														
861	[B]	3.0	55.0	3.6														
862	[B]	3.0	55.0	3.7														
863	[B]	3.0	39.5	4.1														
864	[B]	3.0	39.5	4.1														
865	[B]	2.0	44.6	3.9														
866	[B]	2.0	44.6	3.9														
867	[B]	2.0	44.6	4.3														
868	[B]	2.0	44.6	4.1														
869	[B]	2.0	44.6	4.0														
870	[B]	2.0	44.6	4.1														
871	[B]	3.0	51.1	4.7														
872	[B]	3.0	51.1	3.6														
873	[B]	3.0	51.1	5.3														
874	[D]	7.0	63.9	9.2														
875	[D]	7.0	63.9	7.7														
876	[D]	7.0	63.9	7.3														
877	[D]	7.0	59.8	6.8														
878	[D]	8.0	59.8	8.8														
879	[D]	9.0	59.8	6.1														
880	[D]	9.0	59.8	7.7														
881	[D]	7.0	51.7	6.3														
882	[D]	9.0	51.7	7.9														
883	[B]	1.0	55.0	3.8														
884	[B]	0.0	55.0	3.6														
885	[B]	0.0	55.0	3.8														
886	[B]	2.0	57.8	3.3														
887	[B]	2.0	57.8	4.8														
888	[B]	2.0	57.8	4.7														
889	[B]	3.0	57.8	3.7														
890	[B]	3.0	57.8	4.0														
891	[B]	3.0	57.8	3.5														
892	[B]	3.0	51.1	3.2														
893	[B]	3.0	51.1	3.0														
894	[B]	3.0	51.1	3.2														
895	[B]	3.0	53.1	3.5														
896	[B]	3.0	53.1	3.2														
897	[B]	3.0	53.1	3.1														
898	[B]	3.0	53.1	3.1														
899	[B]	3.0	53.1	3.2														
900	[B]	3.0	53.1	3.1														

M	I	Físicos							Manipulación									
		Ta	Hm	Tp	pH	t	Tt	TH <sub>2</sub> O	Peso	Ds	Pe	Pa	De	Ep	Eg	Cj	Gu	Dh
901	[D]	9.0	51.7	1.7														
902	[D]	7.6	51.7	4.3														
903	[D]	7.6	65.8	4.2														
904	[D]	7.6	65.8	3.7														
905	[D]	7.6	65.8	6.9														
906	[D]	6.2	65.8	3.6														
907	[D]	6.2	58.6	3.1														
908	[D]	6.2	58.6	3.6														
909	[D]	6.2	58.6	6.0														
910	[D]	8.6	58.6	3.8														
911	[D]	8.6	56.4	4.8														
912	[D]	6.9	56.4	6.7														
913	[B]	2.0	44.3	2.9														
914	[B]	2.0	47.2	4.0														
915	[B]	2.0	47.2	4.0														
916	[B]	2.0	58.8	4.3														
917	[B]	2.0	58.8	4.5														
918	[B]	2.0	58.8	4.1														
919	[B]	3.0	55.0	3.9														
920	[B]	3.0	55.0	4.0														
921	[B]	2.0	55.0	4.5														
922	[B]	4.0	57.8	3.2														
923	[B]	2.0	57.8	4.0														
924	[B]	0.0	57.8	6.6														
925	[D]	6.9	56.4	7.9														
926	[D]	6.9	56.4	4.6														
927	[D]	6.9	53.3	4.8														
928	[D]	7.2	53.3	8.2														
929	[D]	7.2	53.3	7.5														
930	[D]	7.2	53.3	5.1														
931	[D]	7.2	63.6	9.2														
932	[D]	6.7	63.6	4.9														
933	[D]	6.7	56.4	6.2														
934	[B]	0.0	57.8	4.5														
935	[B]	1.0	57.8	3.9														
936	[B]	3.0	57.8	3.6														
937	[B]	3.0	55.0	3.2														
938	[B]	3.0	55.0	3.1														
939	[B]	4.0	55.0	3.3														
940	[B]	4.0	58.8	3.2														
941	[B]	4.0	58.8	3.3														
942	[B]	4.0	58.8	3.3														

Tabla A2.3. Datos microbiológicos y físicos. Planta de Toledo.

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
1	[P]	-	42.3	6.39	19.8	77.1
2	[P]	-	44.1	6.21	20.6	78.3
3	[P]	-	42.7	6.44	21.0	76.1
4	[P]	-	43.6	6.33	21.5	72.6
5	[P]	-	43.3	6.34	21.8	72.4
6	[P]	-	43.4	6.53	22.0	70.6
7	[T]	+	3.8	5.84	11.9	51.3
8	[T]	+	5.5	6.29	10.4	59.9
9	[T]	+	3.3	6.09	9.3	59.3
10	[T]	+	5.4	6.18	8.6	61.2
11	[T]	+	4.6	6.17	8.8	64.6
12	[T]	+	2.6	6.25	9.1	66.1
13	[D]	+	12.7	6.05	19.5	61.7
14	[D]	-	10.6	6.20	19.6	61.8
15	[D]	-	11.7	6.04	19.8	61.6
16	[D]	-	9.0	6.10	19.8	60.9
17	[D]	-	11.2	6.11	19.9	61.2
18	[D]	+	9.9	6.09	19.9	61.3
19	[P]	-	42.6	6.31	21.3	76.9
20	[P]	-	42.2	6.27	22.0	74.7
21	[P]	-	42.2	6.43	23.3	82.3
22	[P]	-	42.5	6.10	23.6	80.6
23	[T]	-	1.1	6.40	6.5	52.8
24	[T]	+	1.0	6.33	6.5	44.5
25	[T]	+	2.0	6.58	6.0	65.9
26	[T]	+	5.4	6.17	6.1	70.9
27	[T]	-	3.8	6.20	7.9	70.1
28	[T]	+	4.6	6.23	7.5	57.8
29	[D]	+	12.6	6.03	19.5	62.0
30	[D]	-	11.0	5.97	19.0	64.1
31	[D]	-	10.4	6.17	18.1	63.8
32	[D]	-	10.3	6.10	18.6	65.5
33	[D]	-	10.1	5.96	18.4	68.8
34	[D]	-	10.6	6.18	18.4	69.1
35	[P]	-	42.0	6.15	19.2	81.5
36	[P]	-	41.6	6.24	18.4	84.4
37	[P]	-	43.5	6.02	19.2	87.8
38	[P]	-	43.3	6.02	18.8	86.1
39	[P]	-	43.7	6.34	19.0	87.1
40	[P]	-	43.9	6.19	19.3	88.6
41	[P]	-	43.6	6.00	19.6	89.6
42	[P]	-	43.6	6.26	19.4	89.3
43	[T]	+	0.5	5.79	11.1	52.8
44	[T]	+	0.8	5.83	8.6	58.2
45	[T]	+	2.0	5.88	8.1	67.9
46	[T]	+	1.0	5.97	8.1	70.9
47	[T]	+	3.1	5.86	9.2	71.9
48	[T]	+	3.3	6.05	8.6	68.7
49	[D]	+	10.3	6.44	19.6	60.0
50	[D]	-	9.3	6.32	19.6	60.0
51	[D]	-	8.7	6.25	19.0	59.7
52	[D]	-	10.1	6.13	19.0	59.7
53	[D]	-	10.8	6.16	18.7	61.3

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
54	[D]	-	11.4	6.00	18.7	61.3
55	[P]	-	42.8	6.14	21.1	67.9
56	[P]	-	42.9	6.09	21.5	71.4
57	[P]	-	42.7	6.11	21.7	69.0
58	[P]	-	43.0	6.14	22.6	73.9
59	[P]	-	43.4	6.13	23.8	73.8
60	[P]	-	43.1	6.22	22.6	70.0
61	[T]	-	2.0	6.41	1.8	65.0
62	[T]	-	1.7	6.29	1.0	68.8
63	[T]	-	3.2	6.31	0.4	71.8
64	[T]	-	2.1	6.21	0.0	75.3
65	[T]	-	0.1	6.29	-0.2	77.6
66	[T]	-	2.1	6.14	-0.2	78.5
67	[D]	-	9.5	5.97	18.2	62.0
68	[D]	-	8.2	6.12	18.2	62.0
69	[D]	-	8.6	6.16	18.0	64.1
70	[D]	-	10.1	6.01	18.0	64.1
71	[D]	-	7.8	6.03	17.8	64.6
72	[D]	-	7.2	5.93	17.8	64.6
73	[P]	-	42.7	6.33	21.2	69.5
74	[P]	-	42.3	6.32	21.4	73.3
75	[P]	-	42.3	6.25	21.6	73.1
76	[P]	-	42.0	6.29	21.8	75.2
77	[P]	-	42.6	6.29	22.4	78.3
78	[P]	-	42.0	6.30	19.4	87.6
79	[T]	+	1.8	6.27	8.8	39.6
80	[T]	+	1.4	6.13	2.9	54.6
81	[T]	-	3.9	6.28	1.0	63.3
82	[T]	-	3.3	6.25	0.3	67.9
83	[T]	+	6.0	6.29	0.0	71.0
84	[T]	+	4.2	6.06	-0.3	73.3
85	[D]	-	11.0	4.75	18.9	60.0
86	[D]	-	11.1	6.23	18.9	60.1
87	[D]	-	10.0	6.18	18.9	62.5
88	[D]	-	8.1	6.16	18.9	66.5
89	[D]	+	8.8	6.09	19.1	64.1
90	[D]	+	9.3	6.19	19.1	64.1
91	[CC]	-	40.8	6.60	13.3	74.5
92	[CC]	-	40.8	6.50	12.8	77.5
93	[CC]	-	40.8	6.60	12.1	78.5
94	[CC]	-	40.9	6.60	12.4	78.8
95	[CC]	-	40.7	6.50	12.4	79.4
96	[CC]	-	41.0	6.50	12.3	80.2
97	[DC]	-	41.0	6.40	11.6	82.5
98	[DC]	-	41.1	6.50	10.5	85.1
99	[DC]	-	40.9	6.50	10.5	88.1
100	[DC]	-	40.7	6.50	10.1	88.5
101	[DC]	-	41.4	6.40	10.1	91.6
102	[DC]	-	41.2	6.50	10.3	89.0
103	[HM]	-	40.8	6.50	9.6	87.9
104	[HM]	-	40.1	6.60	9.4	89.2
105	[HM]	-	41.1	6.40	9.2	88.2
106	[HM]	-	40.6	6.60	9.3	87.6
107	[HM]	-	40.4	6.40	9.2	86.0

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
108	[HM]	-	40.7	6.60	9.1	87.0
109	[VR]	-	36.7	6.30	9.3	75.1
110	[VR]	-	38.4	6.40	7.2	85.0
111	[VR]	+	38.7	6.50	6.6	85.6
112	[VR]	-	38.8	6.70	6.5	87.0
113	[VR]	-	38.8	6.50	6.4	86.1
114	[VR]	-	38.4	6.60	6.1	86.1
115	[C]	+	37.2	6.60	8.5	82.1
116	[C]	+	38.2	6.70	9.1	80.6
117	[C]	+	38.1	6.70	9.3	78.9
118	[C]	+	39.3	6.50	9.4	78.5
119	[C]	+	39.0	6.50	9.6	76.1
120	[C]	+	38.1	6.30	9.8	74.6
121	[T]	+	3.8	6.20	5.8	43.9
122	[T]	+	5.5	6.20	3.7	84.3
123	[T]	+	3.1	6.40	2.1	87.1
124	[T]	+	1.2	6.30	0.9	90.0
125	[T]	+	3.6	6.10	1.0	92.2
126	[T]	+	5.1	6.00	0.5	92.0
127	[CC]	-	41.3	6.46	10.1	83.6
128	[CC]	-	41.6	6.53	10.1	83.1
129	[CC]	-	41.3	6.40	10.5	88.4
130	[CC]	-	41.7	6.40	10.1	87.0
131	[CC]	-	41.4	6.30	10.8	90.0
132	[CC]	-	41.6	6.50	10.1	90.6
133	[DC]	-	41.9	6.60	10.1	97.2
134	[DC]	-	41.0	6.50	9.5	96.7
135	[DC]	-	40.8	6.40	8.9	94.8
136	[DC]	-	41.4	6.60	8.6	95.8
137	[DC]	-	40.8	6.60	8.3	97.8
138	[DC]	-	41.1	6.30	8.2	98.2
139	[HM]	-	39.6	6.50	9.4	100.2
140	[HM]	-	40.1	6.30	9.6	98.3
141	[HM]	+	40.7	6.50	9.3	98.9
142	[HM]	-	40.3	6.40	9.4	95.0
143	[HM]	-	39.7	6.50	9.2	98.4
144	[HM]	-	40.3	6.40	9.2	103.4
145	[VR]	+	39.3	6.30	9.1	105.0
146	[VR]	-	39.6	6.50	8.3	99.6
147	[VR]	-	39.7	6.40	8.1	104.0
148	[VR]	+	38.6	6.40	8.3	103.0
149	[VR]	+	39.3	6.60	7.4	106.0
150	[VR]	-	39.0	6.60	7.8	103.0
151	[C]	+	37.6	6.60	6.4	100.0
152	[C]	+	37.7	6.50	5.6	101.0
153	[C]	+	39.4	6.60		
154	[C]	+	36.7	6.50	5.3	101.8
155	[C]	+	35.3	6.40	4.9	101.4
156	[C]	-	34.2	6.60	5.0	102.0
157	[T]	+	4.8	6.50	7.1	76.7
158	[T]	-	3.6	6.40	5.0	78.0
159	[T]	-	5.9	6.50	4.9	79.0
160	[T]	+	5.7	6.40	3.5	82.6
161	[T]	-	6.0	6.90	2.1	84.1

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
162	[T]	-	5.1	6.80	2.0	85.5
163	[CC]	-	40.8	6.60	13.3	74.5
164	[CC]	-	42.2	7.30	12.3	86.0
165	[CC]	-	41.7	7.20	12.2	87.0
166	[CC]	-	41.7	7.20	12.3	86.8
167	[CC]	-	41.7	7.00	12.1	92.0
168	[CC]	-	41.5	7.10	12.2	90.6
169	[CC]	-	41.4	7.10	12.0	92.0
170	[DC]	-	41.2	6.60		
171	[DC]	-	41.7	6.70		
172	[DC]	-	41.3	6.40		
173	[DC]	-	41.2	6.60		
174	[DC]	-	41.3	6.50		
175	[DC]	-	42.1	6.90		
176	[HM]	-	41.7	6.80		
177	[HM]	-	41.6	6.80		
178	[HM]	+	40.7	6.90		
179	[HM]	-	41.6	6.80		
180	[HM]	-	41.5	6.80		
181	[HM]	-	41.5	6.90		
182	[VR]	-	39.3	6.80		
183	[VR]	-	39.5	6.80		
184	[VR]	-	40.3	6.90		
185	[VR]	-	40.0	6.80		
186	[VR]	-	40.2	6.70		
187	[VR]	-	40.5	6.70		
188	[C]	-	40.4	6.90		
189	[C]	-	39.6	6.90		
190	[C]	+	40.2	6.90		
191	[C]	-	40.1	6.90		
192	[C]	-	39.8	6.70		
193	[C]	+	40.3	6.80		
194	[T]	-	5.8	6.30		
195	[T]	-	5.7	6.30		
196	[T]	+	5.5	6.20		
197	[T]	-	6.8	6.10		
198	[T]	+	6.0	6.20		
199	[T]	+	5.9	6.20		
200	[CJ]	-	2.4	5.77	9.3	65.9
201	[CO]	-	2.9	5.74	9.6	70.1
202	[CO]	+	3.2	5.80	11.2	53.0
203	[SP]	-	4.1	5.89	10.6	72.4
204	[SP]	-	3.9	6.04	10.6	72.4
205	[FP]	-	5.7	5.80	10.2	71.4
206	[FP]	-	3.8	6.00	10.2	71.4
207	[FC]	-	5.3	6.18	9.4	70.3
208	[ST]	-	4.9	6.30	9.1	76.8
209	[CT]	-	4.2	6.29	9.3	79.1
210	[CT]	-	3.6	6.09	9.3	79.1
211	[CR]	-	5.7	6.20	10.2	76.6
212	[CJ]	+	2.1	5.84	10.1	71.2
213	[CO]	-	2.3	5.92	9.1	76.9
214	[CO]	-	1.6	5.69	9.1	76.1
215	[SP]	-	1.9	6.01	9.9	76.0

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
216	[SP]	-	3.1	6.12	9.4	77.1
217	[FP]	-	3.7	5.95	9.2	76.4
218	[FP]	-	5.1	6.24	10.1	65.8
219	[FC]	-	5.2	6.51	10.9	68.9
220	[ST]	-	2.1	6.77	9.1	75.8
221	[CT]	-	4.2	6.46	9.4	76.5
222	[CT]	-	4.8	6.63	9.1	76.1
223	[CR]	-	6.6	6.66	9.8	75.1
224	[CJ]	+	2.4	6.38	11.8	63.9
225	[CO]	-	3.0	6.29	10.8	68.5
226	[CO]	-	1.7	6.09	10.8	68.5
227	[SP]	-	1.9	6.15	8.5	75.8
228	[SP]	-	3.6	5.89	9.0	77.9
229	[FP]	-	4.9	5.86	9.0	76.4
230	[FP]	-	3.4	6.85	10.8	72.8
231	[FC]	-	2.3	6.60	9.8	72.8
232	[ST]	-	3.8	6.53	9.2	75.0
233	[CT]	-	6.2	6.57	9.4	74.4
234	[CT]	-	4.3	6.72	9.1	74.3
235	[CR]	-	7.4	6.37	10.0	74.2
236	[CJ]	-	0.9	6.19	9.9	73.2
237	[CO]	-	1.4	6.36	9.6	74.2
238	[CO]	-	1.4	6.02	9.6	73.9
239	[SP]	-	2.2	5.87	9.6	73.2
240	[SP]	-	1.6	5.89	9.5	73.6
241	[FP]	-	1.9	6.33	9.2	74.1
242	[FP]	-	4.3	6.53	11.1	73.3
243	[FC]	-	5.7	6.54	10.1	70.0
244	[ST]	+	2.1	6.24	9.2	73.1
245	[CT]	+	4.0	6.44	8.6	77.3
246	[CT]	-	4.5	6.46	9.2	75.3
247	[CR]	+	5.8	6.54	9.1	75.3
248	[CJ]	-	2.5	6.05	11.9	59.8
249	[CO]	+	2.1	6.05	11.5	70.4
250	[CO]	-	2.4	6.10	11.1	69.6
251	[SP]	-	3.1	5.96	11.9	69.5
252	[SP]	+	2.6	5.68	10.1	69.4
253	[FP]	-	3.1	5.76	9.5	73.0
254	[FP]	+	3.3	5.78	10.8	72.0
255	[FC]	-	4.2	5.52	10.1	68.2
256	[ST]	-	4.1	5.60	10.5	70.8
257	[CT]	-	4.3	6.23	9.9	70.6
258	[CT]	-	3.6	6.13	9.1	73.2
259	[CR]	-	4.5	6.21	8.9	73.1
260	[CJ]	-	3.5	6.15	11.1	69.2
261	[CO]	-	3.3	6.81	10.9	75.2
262	[CO]	-	2.2	6.67	9.8	77.9
263	[SP]	+	2.9	6.56	9.5	79.2
264	[SP]	-	2.6	6.52	9.4	79.6
265	[FP]	-	2.3	6.56	9.4	79.6
266	[FP]	-	3.1	6.13	9.3	79.1
267	[FC]	-	5.2	6.61	8.4	75.6
268	[ST]	-	3.7	6.97	14.2	67.4
269	[CT]	-	4.9	6.95	13.2	69.9



Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
270	[CT]	-	6.1	6.79	14.0	68.2
271	[CR]	-	6.2	6.81	13.1	65.2
272	[CJ]	+	1.8	6.43	9.3	82.1
273	[CO]	-	2.2	6.62	9.1	79.2
274	[CO]	-	1.1	6.23	9.0	83.8
275	[SP]	-	1.3	6.37	8.9	81.6
276	[SP]	+	2.1	6.64	8.1	81.9
277	[FP]	-	1.8	6.48	8.6	82.2
278	[FP]	-	3.2	6.48	8.6	81.3
279	[FC]	-	4.1	6.45	9.1	75.9
280	[ST]	-	5.2	7.15	12.9	65.8
281	[CT]	-	7.1	7.26	11.6	70.3
282	[CT]	-	4.8	7.14	11.3	70.8
283	[CR]	-	4.8	7.43	11.0	72.3
284	[CJ]	-	1.4	6.53	13.3	68.6
285	[CO]	-	1.3	6.42	12.3	66.3
286	[CO]	+	0.8	6.57	11.3	68.6
287	[SP]	+	1.5	6.41	10.3	71.4
288	[SP]	-	1.4	6.53	10.0	72.1
289	[FP]	-	5.1	6.41	9.4	76.0
290	[FP]	-	2.6	5.84	9.2	77.0
291	[FC]	-	4.2	5.65	8.8	75.6
292	[ST]	-	4.6	7.01	11.1	72.5
293	[CT]	-	4.3	6.88	10.9	73.1
294	[CT]	-	4.6	7.21	10.8	73.3
295	[CR]	-	6.3	7.43	10.8	73.1
296	[CJ]	-	1.7	6.45	9.9	77.1
297	[CO]	-	2.8	6.50	9.5	75.0
298	[CO]	+	2.3	6.29	9.2	77.1
299	[SP]	-	2.0	6.31	9.2	76.8
300	[SP]	-	1.6	6.45	9.0	77.1
301	[FP]	-	3.2	6.27	8.9	78.2
302	[FP]	-	3.2	6.56	10.3	73.0
303	[FC]	+	3.8	6.52	9.3	73.9
304	[CJ]	-	2.7	6.47	11.1	56.5
305	[CO]	-	2.9	6.44	11.0	58.1
306	[CO]	+	2.3	6.12	11.1	59.6
307	[SP]	+	2.3	5.96	10.9	55.6
308	[SP]	-	2.6	6.04	10.3	59.8
309	[FP]	-	3.0	5.76	10.4	60.5
310	[FP]	-	3.3	5.95	11.1	54.2
311	[FC]	-	3.6	5.97	10.1	57.1
312	[ST]	-	3.1	5.93	10.6	61.6
313	[CT]	-	5.1	5.74	10.2	61.9
314	[CT]	-	4.8	6.10	9.4	64.4
315	[CR]	-	6.7	6.37	10.1	65.2
316	[CJ]	-	2.8	5.82	10.3	66.9
317	[CO]	-	3.3	5.63	11.3	67.6
318	[CO]	-	3.5	5.80	12.1	67.5
319	[SP]	-	3.1	5.79	13.4	61.4
320	[SP]	-	4.0	5.91	12.1	59.4
321	[FP]	-	3.6	5.70	11.3	64.0
322	[FP]	-	2.7	5.69	11.4	62.0
323	[FC]	-	4.1	5.92	11.5	53.5

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
324	[ST]	-	3.6	7.20	11.6	63.2
325	[CT]	-	5.8	7.17	10.4	64.6
326	[CT]	-	3.0	7.20	10.2	65.3
327	[CR]	-	4.2	7.31	10.4	67.4
328	[CJ]	+	2.8	6.59	10.9	69.0
329	[CO]	-	2.9	6.53	11.2	67.1
330	[CO]	-	3.1	6.94	10.2	66.3
331	[SP]	-	2.7	6.94	10.0	66.9
332	[SP]	-	2.2	6.55	9.8	67.5
333	[FP]	-	2.3	6.60	9.1	69.8
334	[FP]	-	2.2	7.48	10.3	68.4
335	[FC]	-	3.4	7.43	10.6	66.4
336	[ST]	-	3.6	6.77	10.0	66.9
337	[CT]	-	3.2	6.71	11.5	64.3
338	[CT]	-	4.2	6.96	11.9	64.1
339	[CR]	-	4.5	7.06	11.7	65.0
340	[CJ]	-	4.2	6.37	15.8	57.6
341	[CO]	-	3.6	6.48	16.5	58.5
342	[CO]	-	2.5	6.78	15.5	57.5
343	[SP]	-	3.3	6.93	13.9	60.6
344	[SP]	-	3.6	6.60	12.6	64.1
345	[FP]	-	5.8	6.54	11.1	68.0
346	[FP]	-	3.1	6.41	16.2	59.1
347	[FC]	-	4.6	6.42	15.9	60.0
348	[ST]	-	3.7	7.00	15.1	59.5
349	[CT]	-	5.1	7.00	13.0	63.8
350	[CT]	-	3.6	7.37	12.5	65.3
351	[CR]	-	5.8	7.54	11.6	68.4
352	[CJ]	-	1.7	6.51	10.5	71.0
353	[CO]	-	2.3	6.83	9.9	75.1
354	[CO]	-	3.2	6.30	9.9	74.9
355	[SP]	-	3.2	6.34	9.8	74.4
356	[SP]	-	2.6	6.60	9.8	73.5
357	[FP]	-	1.2	6.50	9.4	74.6
358	[FP]	-	5.3	6.59	16.2	59.9
359	[FC]	-	6.5	6.63	15.9	60.0
360	[ST]	-	3.8	6.93	11.4	69.1
361	[CT]	-	5.2	6.90	11.2	71.3
362	[CT]	-	5.7	7.01	11.4	74.2
363	[CR]	-	6.1	6.98	12.1	73.6
364	[CJ]	-	4.3	5.75	11.8	65.5
365	[CO]	-	4.3	5.83	10.1	73.8
366	[CO]	+	4.2	5.99	10.1	73.9
367	[SP]	-	5.2	6.00	10.0	73.1
368	[SP]	-	3.6	6.18	9.8	75.5
369	[FP]	-	4.3	6.21	9.4	77.0
370	[FP]	-	5.0	6.89	9.3	77.0
371	[FC]	-	4.6	6.83	8.1	77.1
372	[ST]	-	2.9	6.90	8.8	77.9
373	[CT]	-	4.3	6.81	9.1	79.1
374	[CT]	-	4.1	6.69	9.1	79.5
375	[CR]	-	4.3	6.93	9.0	83.1
376	[CJ]	+	3.2	6.79	10.3	79.3
377	[CO]	-	3.2	6.77	9.6	78.0

Muestra	Lugar	Lm	Tp	pH	Ta	Hm
378	[CO]	+	3.1	6.56	9.5	78.5
379	[SP]	-	3.2	6.52	9.3	79.0
380	[SP]	-	3.1	6.35	9.2	79.2
381	[FP]	-	4.2	6.63	9.1	78.3
382	[ST]	+	3.3	6.95	8.9	78.6
383	[CT]	-	5.1	7.10	9.0	79.3
384	[CT]	-	3.7	6.84	9.3	79.1
385	[CR]	-	5.1	7.11	10.2	82.1
386	[CJ]	+	3.1	6.54	10.5	75.8
387	[CO]	-	3.2	6.54	9.8	76.1
388	[CO]	+	2.7	6.60	9.1	76.1
389	[SP]	-	3.1	6.69	9.5	77.0
390	[SP]	+	3.4	6.78	9.4	77.2
391	[FP]	-	4.1	6.48	9.4	77.4
392	[ST]	-	3.6	7.12	9.4	77.5
393	[CT]	-	5.1	7.05	9.3	77.1
394	[CT]	+	4.6	6.96	9.6	77.1
395	[CR]	-	5.7	7.05	9.1	77.3
396	[CJ]	+	2.8	6.34	9.8	77.0
397	[CO]	+	3.0	6.39	9.6	75.8
398	[CO]	-	3.0	6.55	9.6	75.8
399	[SP]	-	3.2	6.61	9.5	75.8
400	[SP]	+	4.1	6.52	9.5	76.0
401	[FP]	-	4.1	6.42	9.5	76.1
402	[ST]	+	3.3	7.06	9.6	76.0
403	[CT]	-	4.4	7.30	9.4	76.1
404	[CT]	-	3.3	7.21	9.5	76.8
405	[CR]	-	5.7	7.41	9.6	76.3
406	[CJ]	-	3.3	6.59	12.3	65.5
407	[CO]	-	3.7	6.77	11.1	70.6
408	[CO]	-	3.2	6.46	11.4	71.0
409	[SP]	-	3.7	6.50	11.0	72.5
410	[SP]	-	3.8	6.73	10.1	74.1
411	[FP]	-	4.8	6.63	10.3	75.3
412	[ST]	-	3.3	7.03	10.2	75.6
413	[CT]	-	3.2	7.35	10.0	77.4
414	[CT]	-	3.3	7.41	10.2	77.4
415	[CR]	-	4.6	7.46	10.0	78.1
416	SP	-				
417	SP	-				
418	SP	-				
419	SP	-				
420	SP	-				
421	SP	-				
422	SP	-				
423	SP	-				
424	SP	-				
425	SP	+				
426	SP	-				
427	SP	+				

## APÉNDICE 2. ECUACIONES DE REGRESIÓN

### EMBARQUETADO

Tabla A2.4. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de embarquetado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[E]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[C]</sub>	0.903**		-0.277*	
Log Ps <sub>[C]</sub>	-0.004	0.890**	-0.001	0.405*
Log Eb <sub>[C]</sub>	-0.068		-0.179	
Log St <sub>[C]</sub>	0.053		0.192	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.260		-0.155	
Ta <sub>[E]</sub>	0.581*		0.110	
Hm <sub>[C]</sub>	0.499*		0.044	
Hm <sub>[E]</sub>	-0.408	0.717**	0.597*	0.578
Tp <sub>[C]</sub>	-0.131		0.112	
Tp <sub>[E]</sub>	-0.096		0.083	
pH <sub>[C]</sub>	-0.160		0.081	
pH <sub>[E]</sub>	-0.064		-0.206	
t	-0.295		-0.168	
Ta <sub>[C]</sub>	0.029		-0.330	
Ta <sub>[E]</sub>	0.332*		0.294	
Hm <sub>[C]</sub>	0.295		0.313	
Hm <sub>[E]</sub>	0.096		0.409	
Tp <sub>[C]</sub>	-0.377		-0.433	
Tp <sub>[E]</sub>	0.279		0.380	
pH <sub>[C]</sub>	-0.013	0.932**	0.066	0.713
pH <sub>[E]</sub>	-0.111		-0.316	
t	0.065		-0.354	
Log Am <sub>[C]</sub>	0.789**		-0.465*	
Log Ps <sub>[C]</sub>	-0.003		0.163	
Log Eb <sub>[C]</sub>	-0.073		-0.095	
Log St <sub>[C]</sub>	-0.123		-0.242	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.5. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de embarquetado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[E]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[C]</sub>	-0.008		-0.036	
Log Ps <sub>[C]</sub>	0.602**	0.688**	-0.365**	0.328
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.141		0.201	
Log St <sub>[C]</sub>	-0.071		0.011	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.336		-0.199	
Ta <sub>[E]</sub>	0.140		-0.178	
Hm <sub>[C]</sub>	0.058		0.177	
Hm <sub>[E]</sub>	0.038	0.666*	-0.119	0.432
Tp <sub>[C]</sub>	1.134		-0.475	
Tp <sub>[E]</sub>	-0.564		0.479	
pH <sub>[C]</sub>	-0.363		-0.047	
pH <sub>[E]</sub>	0.010		-0.124	
t	-0.211		0.003	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.224		-0.163	
Ta <sub>[E]</sub>	-0.149		-0.062	
Hm <sub>[C]</sub>	0.248		0.459	
Hm <sub>[E]</sub>	0.024		-0.048	
Tp <sub>[C]</sub>	0.606		0.431	
Tp <sub>[E]</sub>	-0.338	0.738*	-0.232	0.649
pH <sub>[C]</sub>	-0.055		0.026	
pH <sub>[E]</sub>	-0.208		-0.226	
t	-0.380		-0.283	
Log Am <sub>[C]</sub>	0.094		0.086	
Log Ps <sub>[C]</sub>	0.298		-0.720**	
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.225		0.276	
Log St <sub>[C]</sub>	-0.324		-0.332	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.6. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de embarquetado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[E]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[C]</sub>	-0.058		-0.010	
Log Ps <sub>[C]</sub>	-0.038		0.035	
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.588**	0.565**	-0.588**	0.579**
Log St <sub>[C]</sub>	-0.098		-0.059	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.195		0.250	
Ta <sub>[E]</sub>	-0.032		0.171	
Hm <sub>[C]</sub>	0.263		0.181	
Hm <sub>[E]</sub>	-0.060		0.136	
Tp <sub>[C]</sub>	1.241	0.383	-0.589	0.294
Tp <sub>[E]</sub>	-1.076		0.603	
pH <sub>[C]</sub>	-0.342		0.002	
pH <sub>[E]</sub>	0.327		-0.076	
t	-0.225		0.392	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.121		0.068	
Ta <sub>[E]</sub>	0.011		0.105	
Hm <sub>[C]</sub>	0.337		0.287	
Hm <sub>[E]</sub>	0.060		0.042	
Tp <sub>[C]</sub>	1.143		-0.365	
Tp <sub>[E]</sub>	-1.057		0.489	
pH <sub>[C]</sub>	-0.228	0.504	-0.141	0.642
pH <sub>[E]</sub>	0.194		0.098	
t	-0.192		0.102	
Log Am <sub>[C]</sub>	0.029		0.054	
Log Ps <sub>[C]</sub>	-0.030		-0.086	
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.361		-0.567**	
Log St <sub>[C]</sub>	-0.209		-0.059	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.7. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de embarquetado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[E]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[C]</sub>	-0.013		0.052	
Log Ps <sub>[C]</sub>	0.004	0.890**	0.055	0.158
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.135*		0.028	
Log St <sub>[C]</sub>	0.879**		-0.122	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.291*		0.232	
Ta <sub>[E]</sub>	-0.167		0.037	
Hm <sub>[C]</sub>	0.407**		-0.463*	
Hm <sub>[E]</sub>	0.186	0.935**	0.746**	0.577
Tp <sub>[C]</sub>	-1.047*		-1.170	
Tp <sub>[E]</sub>	0.656		1.302	
pH <sub>[C]</sub>	-0.131		-0.645*	
pH <sub>[E]</sub>	-0.062		0.378	
t	-0.656**		0.302	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.218		0.080	
Ta <sub>[E]</sub>	-0.085		0.042	
Hm <sub>[C]</sub>	0.283		-0.083	
Hm <sub>[E]</sub>	0.321*		0.814*	
Tp <sub>[C]</sub>	-0.997		-1.045	
Tp <sub>[E]</sub>	0.702	0.926**	1.075	0.613
pH <sub>[C]</sub>	-0.194		-0.428	
pH <sub>[E]</sub>	0.053		0.247	
t	-0.418*		-0.078	
Log Am <sub>[C]</sub>	0.009		0.192	
Log Ps <sub>[C]</sub>	0.107		-0.206	
Log Eb <sub>[C]</sub>	0.081		0.135	
Log St <sub>[C]</sub>	0.144		-0.710*	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

## CLASIFICADO

Tabla A2.8. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de clasificado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[C]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[T]</sub>	0.225		-0.593**	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.275*	0.372	0.209	0.579**
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.172		-0.084	
Log St <sub>[T]</sub>	0.071		0.179	
Ta <sub>[T]</sub>	0.004		-0.227	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.322		-0.018	
Hm <sub>[T]</sub>	0.213		0.229	
Hm <sub>[C]</sub>	-0.217	0.485	-0.075	0.492
Tp <sub>[T]</sub>	0.196		-0.209	
Tp <sub>[C]</sub>	-0.316		-0.045	
pH <sub>[C]</sub>	-0.098		-0.088	
Peso	-0.277		-0.103	
t	0.055		0.087	
Ta <sub>[T]</sub>	0.118		-0.070	
Ta <sub>[C]</sub>	-0.426		-0.309	
Hm <sub>[T]</sub>	0.207		0.192	
Hm <sub>[C]</sub>	-0.220		-0.069	
Tp <sub>[T]</sub>	0.424		0.296	
Tp <sub>[C]</sub>	-0.380	0.564	-0.301	0.803**
pH <sub>[C]</sub>	-0.104		-0.102	
Peso	-0.424		-0.456	
t	-0.033		-0.078	
Log Am <sub>[T]</sub>	-0.328		-0.769**	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.170		0.223	
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.062		0.192	
Log St <sub>[T]</sub>	0.079		0.127	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01



Tabla A2.9. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de clasificado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[C]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[T]</sub>	0.233		-0.593**	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.270*	0.442**	0.209	0.579
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.032		-0.084	
Log St <sub>[T]</sub>	-0.355**		0.179	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.086		-0.227	
Ta <sub>[C]</sub>	0.261		-0.018	
Hm <sub>[T]</sub>	0.230		0.229	
Hm <sub>[C]</sub>	-0.547*		-0.075	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.164	0.580	-0.209	0.492
Tp <sub>[C]</sub>	0.203		-0.045	
pH <sub>[C]</sub>	-0.007		-0.088	
Peso	-0.369		-0.103	
t	0.338		0.087	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.149		-0.070	
Ta <sub>[C]</sub>	0.437*		-0.309	
Hm <sub>[T]</sub>	0.143		0.192	
Hm <sub>[C]</sub>	-0.552**		-0.069	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.169		0.296	
Tp <sub>[C]</sub>	0.270		-0.301	
pH <sub>[C]</sub>	0.022	0.691	-0.102	0.803
Peso	-0.266		-0.456	
t	0.388		-0.078	
Log Am <sub>[T]</sub>	0.159		-0.769**	
Log Ps <sub>[T]</sub>	-0.203		0.223	
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.234		0.192	
Log St <sub>[T]</sub>	-0.172		0.127	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.10. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de clasificado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[C]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[T]</sub>	0.170		-0.014	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.061		-0.046	
Log Eb <sub>[T]</sub>	0.349*	0.442**	-0.311*	0.397*
Log St <sub>[T]</sub>	-0.128		-0.119	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.003		-0.033	
Ta <sub>[C]</sub>	0.157		-0.232	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.137		0.077	
Hm <sub>[C]</sub>	-0.029		-0.051	
Tp <sub>[T]</sub>	0.265	0.472	-0.155	0.412
Tp <sub>[C]</sub>	-0.417		0.354	
pH <sub>[C]</sub>	-0.350		-0.270	
Peso	0.432		-0.414	
t	0.152		-0.215	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.060		-0.036	
Ta <sub>[C]</sub>	0.298		-0.124	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.208		0.113	
Hm <sub>[C]</sub>	0.015		-0.072	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.028		-0.210	
Tp <sub>[C]</sub>	-0.650		0.550	
pH <sub>[C]</sub>	-0.311	0.608	-0.290	0.514
Peso	0.901		-0.453	
t	0.329		-0.226	
Log Am <sub>[T]</sub>	0.304		0.161	
Log Ps <sub>[T]</sub>	-0.121		0.046	
Log Eb <sub>[T]</sub>	0.014		-0.272	
Log St <sub>[T]</sub>	0.334		-0.165	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.11. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de clasificado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[C]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[T]</sub>	0.049		-0.071	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.005	0.876**	0.012	0.115
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.054		0.044	
Log St <sub>[T]</sub>	0.883**		-0.094	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.174		0.181	
Ta <sub>[C]</sub>	0.039		0.098	
Hm <sub>[T]</sub>	0.048		-0.086	
Hm <sub>[C]</sub>	0.079		0.324	
Tp <sub>[T]</sub>	0.076	0.431	-0.095	0.486
Tp <sub>[C]</sub>	-0.593		0.177	
pH <sub>[C]</sub>	-0.057		0.268	
Peso	-0.269		0.154	
t	-0.014		0.271	
Ta <sub>[T]</sub>	0.055		0.248	
Ta <sub>[C]</sub>	0.001		0.090	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.050		-0.021	
Hm <sub>[C]</sub>	0.133		0.305	
Tp <sub>[T]</sub>	0.013		-0.132	
Tp <sub>[C]</sub>	0.265		0.269	
pH <sub>[C]</sub>	0.067	0.877**	0.246	0.515
Peso	0.009		0.137	
t	0.067		0.239	
Log Am <sub>[T]</sub>	-0.062		0.037	
Log Ps <sub>[T]</sub>	0.103		0.171	
Log Eb <sub>[T]</sub>	-0.101		-0.140	
Log St <sub>[T]</sub>	0.821		0.036	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

## TÚNEL DE OREO

Tabla A2.12. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de refrigerado en túnel.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[T]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[L]</sub>	0.209		-0.520**	
Log Ps <sub>[L]</sub>	-0.005		-0.072	
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.208	0.418*	0.112	0.617**
Log St <sub>[L]</sub>	-0.366**		-0.219	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.142		-0.065	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.162		-0.156	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.287		0.040	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.237		-0.098	
Tp <sub>[L]</sub>	0.185		0.355	
Tp <sub>[T]</sub>	0.250	0.414	0.066	0.561
pH <sub>[L]</sub>	-0.257		-0.161	
pH <sub>[T]</sub>	-0.284		-0.214	
Tt	0.427*		0.324	
Peso	0.063		0.085	
t	-0.401		-0.473	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.118		-0.222	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.118		-0.033	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.247		0.120	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.206		-0.142	
Tp <sub>[L]</sub>	0.170		0.144	
Tp <sub>[T]</sub>	0.249		0.186	
pH <sub>[L]</sub>	-0.251		-0.037	
pH <sub>[T]</sub>	-0.306	0.660	-0.171	0.794*
Tt	0.371		0.091	
Peso	0.092		-0.002	
t	-0.346		-0.217	
Log Am <sub>[L]</sub>	0.021		-0.448*	
Log Ps <sub>[L]</sub>	-0.132		-0.184	
Log Eb <sub>[L]</sub>	-0.013		0.350	
Log St <sub>[L]</sub>	-0.161		-0.358	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.13. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de refrigerado en túnel.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[T]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[L]</sub>	0.094		-0.000	
Log Ps <sub>[L]</sub>	0.343**	0.390*	-0.476**	0.489**
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.010		-0.068	
Log St <sub>[L]</sub>	-0.098		-0.013	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.094		-0.114	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.121		-0.289	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.179		0.044	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.608		-0.228	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.129		0.098	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.058	0.628	-0.191	0.446
pH <sub>[L]</sub>	-0.082		-0.179	
pH <sub>[T]</sub>	-0.209		-0.071	
Tt	0.229		0.247	
Peso	0.211		0.267	
t	-0.150		-0.420	
Ta <sub>[L]</sub>	0.124		0.163	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.075		-0.140	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.312		-0.079	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.633**		-0.557**	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.075		-0.092	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.391		-0.178	
pH <sub>[L]</sub>	-0.192		-0.272	
pH <sub>[T]</sub>	-0.266	0.777*	0.051	0.790*
Tt	0.307		0.372*	
Peso	0.626**		0.293	
t	-0.130		0.075	
Log Am <sub>[L]</sub>	0.445*		0.230	
Log Ps <sub>[L]</sub>	-0.074		-0.597**	
Log Eb <sub>[L]</sub>	-0.456*		-0.384	
Log St <sub>[L]</sub>	0.122		0.299	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.14. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de refrigerado en túnel.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[T]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[L]</sub>	0.096		0.056	
Log Ps <sub>[L]</sub>	0.069		0.159	
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.447**	0.523**	-0.390**	0.489**
Log St <sub>[L]</sub>	-0.225		-0.265*	
Ta <sub>[L]</sub>	0.126		-0.048	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.101		-0.484	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.172		0.116	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.086		-0.527*	
Tp <sub>[L]</sub>	0.467		0.120	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.120	0.583	0.016	0.593
pH <sub>[L]</sub>	-0.058		0.079	
pH <sub>[T]</sub>	-0.248		-0.103	
Tt	0.157		0.067	
Peso	0.309		0.072	
t	-0.335		-0.151	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.002		0.022	
Ta <sub>[T]</sub>	-0.143		-0.485*	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.059		0.202	
Hm <sub>[T]</sub>	-0.144		-0.237	
Tp <sub>[L]</sub>	0.333		0.336	
Tp <sub>[T]</sub>	0.005		-0.270	
pH <sub>[L]</sub>	0.010		0.084	
pH <sub>[T]</sub>	-0.237	0.781*	-0.264	0.751
Tt	0.054		0.096	
Peso	0.220		0.314	
t	-0.284		-0.540*	
Log Am <sub>[L]</sub>	0.160		0.144	
Log Ps <sub>[L]</sub>	0.198		0.338	
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.513**		-0.337	
Log St <sub>[L]</sub>	-0.169		-0.289	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.15. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de refrigerado en túnel.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[T]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[L]</sub>	-0.187		-0.203	
Log Ps <sub>[L]</sub>	0.031	0.769**	-0.013	0.336
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.144		0.119	
Log St <sub>[L]</sub>	0.813**		-0.251	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.245		0.132	
Ta <sub>[T]</sub>	0.097		-0.140	
Hm <sub>[L]</sub>	0.032		-0.109	
Hm <sub>[T]</sub>	0.349		0.144	
Tp <sub>[L]</sub>	0.268		0.120	
Tp <sub>[T]</sub>	-0.136	0.707*	-0.215	0.389
pH <sub>[L]</sub>	-0.018		-0.240	
pH <sub>[T]</sub>	-0.336		0.018	
Tt	-0.159		0.229	
Peso	0.439		0.249	
t	-0.193		0.029	
Ta <sub>[L]</sub>	-0.333		0.073	
Ta <sub>[T]</sub>	0.052		-0.036	
Hm <sub>[L]</sub>	-0.248		-0.096	
Hm <sub>[T]</sub>	0.103		0.125	
Tp <sub>[L]</sub>	0.191		0.009	
Tp <sub>[T]</sub>	0.108		-0.182	
pH <sub>[L]</sub>	-0.136		-0.176	
pH <sub>[T]</sub>	-0.240	0.835**	0.044	0.509
Tt	0.068		0.117	
Peso	0.165		0.208	
t	-0.051		0.183	
Log Am <sub>[L]</sub>	-0.145		-0.285	
Log Ps <sub>[L]</sub>	0.099		-0.095	
Log Eb <sub>[L]</sub>	0.064		0.090	
Log St <sub>[L]</sub>	0.657**		-0.155	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

## DUCHA

Tabla A2.16. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de lavado en ducha.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[L]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[G]</sub>	0.368*		-0.747**	
Log Ps <sub>[G]</sub>	-0.210	0.504**	0.002	0.768**
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.161		-0.055	
Log St <sub>[G]</sub>	0.100		0.068	
Ta	-0.287*		0.085	
Hm	-0.038	0.666**	0.350**	0.582**
Tp <sub>[G]</sub>	0.537**		0.275*	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.465**		0.096	
TH <sub>2</sub> O	0.021		-0.122	
t	0.016		0.282*	
Ta	-0.233*		-0.064	
Hm	-0.011	0.051	0.686**	0.755**
Tp <sub>[G]</sub>	0.479**	0.149		
Tp <sub>[L]</sub>	-0.432**	0.000		
TH <sub>2</sub> O	-0.053	-0.071		
t	0.038	0.035		
Log Am <sub>[G]</sub>	0.174	-0.847**		
Log Ps <sub>[G]</sub>	0.005	0.080		
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.079	0.144		
Log St <sub>[G]</sub>	0.082	0.129		

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01



Tabla A2.17. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de lavado en ducha.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[L]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[G]</sub>	0.421*		0.142	
Log Ps <sub>[G]</sub>	0.078	0.385*	-0.513**	0.485**
Log Eb <sub>[G]</sub>	-0.272		-0.161	
Log St <sub>[G]</sub>	-0.168		-0.116	
Ta	-0.135		-0.312**	
Hm	-0.112	0.527**	-0.145	0.595**
Tp <sub>[G]</sub>	0.335		0.338**	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.297		-0.278*	
TH <sub>2</sub> O	-0.330		-0.274*	
t	-0.031		0.021	
Ta	-0.256*	0.657**	-0.189	0.708**
Hm	-0.014		-0.152	
Tp <sub>[G]</sub>	0.150		0.256*	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.247		-0.265*	
TH <sub>2</sub> O	-0.343*		-0.414**	
t	-0.001		0.032	
Log Am <sub>[G]</sub>	0.442**		0.192	
Log Ps <sub>[G]</sub>	0.173		-0.399**	
Log Eb <sub>[G]</sub>	-0.316*		-0.188	
Log St <sub>[G]</sub>	-0.030		0.043	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.18. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de lavado en ducha.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[L]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[G]</sub>	0.416**		0.113	
Log Ps <sub>[G]</sub>	-0.356**		-0.105	
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.254	0.580**	-0.985**	0.932**
Log St <sub>[G]</sub>	-0.025		0.066	
Ta	-0.281*		-0.071	
Hm	-0.086		-0.145	
Tp <sub>[G]</sub>	0.421**	0.525**	0.072	0.252
Tp <sub>[L]</sub>	-0.265*		0.039	
TH <sub>2</sub> O	0.039		-0.147	
t	0.046		-0.168	
Ta	-0.145		0.040	
Hm	-0.036		0.008	
Tp <sub>[G]</sub>	0.290*		0.079	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.116		-0.058	
TH <sub>2</sub> O	-0.028	0.640**	0.042	0.932**
t	-0.027		0.007	
Log Am <sub>[G]</sub>	0.286		0.071	
Log Ps <sub>[G]</sub>	-0.247		-0.073	
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.256		-0.967**	
Log St <sub>[G]</sub>	0.013		0.062	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.19. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de lavado en ducha.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[L]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[G]</sub>	-0.016		-0.199	
Log Ps <sub>[G]</sub>	-0.253*	0.748**	-0.108	0.804**
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.076		0.197	
Log St <sub>[G]</sub>	0.627**		0.553**	
Ta	-0.305**		-0.065	
Hm	0.029	0.630**	-0.359**	0.507**
Tp <sub>[G]</sub>	0.518**		0.066	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.314*		-0.000	
TH <sub>2</sub> O	0.089		-0.458**	
t	-0.129		0.020	
Ta	-0.245**	0.848**	-0.186	0.690**
Hm	-0.076		-0.362	
Tp <sub>[G]</sub>	0.396		0.039	
Tp <sub>[L]</sub>	-0.267**		0.073	
TH <sub>2</sub> O	-0.133**		-0.253	
t	-0.213*		0.117	
Log Am <sub>[G]</sub>	-0.199		0.371**	
Log Ps <sub>[G]</sub>	-0.108		0.098	
Log Eb <sub>[G]</sub>	0.197*		0.088	
Log St <sub>[G]</sub>	0.553**		0.377**	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

## EVISCERADO

Tabla A2.20. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de eviscerado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[G]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[P]</sub>	0.411**		-0.021	
Log Ps <sub>[P]</sub>	-0.020	0.431*	-0.284*	0.488**
Log Eb <sub>[P]</sub>	-0.110		-0.191	
Log St <sub>[P]</sub>	0.187		0.284*	
Ta <sub>[P]</sub>	0.423*		0.241	
Ta <sub>[G]</sub>	-0.281		-0.099	
Hm <sub>[P]</sub>	0.346*	0.522**	0.095	0.386
Hm <sub>[G]</sub>	0.079		0.177	
Tp <sub>[P]</sub>	0.006		-0.172	
Tp <sub>[G]</sub>	-0.020		-0.014	
t	-0.410*		-0.294	
Ta <sub>[P]</sub>	0.439*		0.608**	
Ta <sub>[G]</sub>	-0.334		-0.470**	
Hm <sub>[P]</sub>	0.349		0.309	
Hm <sub>[G]</sub>	0.040		-0.006	
Tp <sub>[P]</sub>	0.030	0.630**	-0.012	0.610**
Tp <sub>[G]</sub>	0.047		0.326	
t	-0.426*		-0.154	
Log Am <sub>[P]</sub>	0.009		-0.369*	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.005		-0.212	
Log Eb <sub>[P]</sub>	-0.048		-0.312*	
Log St <sub>[P]</sub>	0.371**		0.335**	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.21. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de eviscerado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[G]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[P]</sub>	0.064		-0.034	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.315*	0.482**	-0.328*	0.353
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.176		-0.020	
Log St <sub>[P]</sub>	-0.200		0.019	
Ta <sub>[P]</sub>	0.121		0.060	
Ta <sub>[G]</sub>	-0.294		-0.657**	
Hm <sub>[P]</sub>	-0.163		-0.312	
Hm <sub>[G]</sub>	0.184	0.632**	0.113	0.622**
Tp <sub>[P]</sub>	-0.338**		-0.244	
Tp <sub>[G]</sub>	0.514**		0.491**	
t	-0.109		0.235	
Ta <sub>[P]</sub>	0.038		0.432*	
Ta <sub>[G]</sub>	-0.276		-0.442*	
Hm <sub>[P]</sub>	-0.192		0.056	
Hm <sub>[G]</sub>	0.170		0.128	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.229		-0.221	
Tp <sub>[G]</sub>	0.368*	0.660**	0.461**	0.581*
t	-0.123		-0.097	
Log Am <sub>[P]</sub>	-0.010		-0.212	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.142		-0.520**	
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.206		-0.017	
Log St <sub>[P]</sub>	-0.130		0.087	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.22. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de eviscerado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[G]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[P]</sub>	0.149		0.223	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.012	0.695**	0.465**	0.570**
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.607**		-0.415**	
Log St <sub>[P]</sub>	-0.081		0.121	
Ta <sub>[P]</sub>	0.450*		0.153	
Ta <sub>[G]</sub>	-0.162		-0.055	
Hm <sub>[P]</sub>	0.261	0.584**	-0.236	0.613**
Hm <sub>[G]</sub>	0.086		0.077	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.042		-0.330*	
Tp <sub>[G]</sub>	0.176		0.510**	
t	-0.407**		-0.207	
Ta <sub>[P]</sub>	0.321			
Ta <sub>[G]</sub>	-0.122		-0.048	
Hm <sub>[P]</sub>	0.131		-0.140	
Hm <sub>[G]</sub>	0.080		-0.029	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.097		-0.246	
Tp <sub>[G]</sub>	0.170	0.751**	0.430**	0.676**
t	-0.227		-0.239	
Log Am <sub>[P]</sub>	-0.018		-0.033	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.028		0.266*	
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.522**		-0.267*	
Log St <sub>[P]</sub>	0.070		0.069	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.23. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de eviscerado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[G]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[P]</sub>	-0.199**		-0.405**	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.182**	0.937**	0.441**	0.760**
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.045		0.174	
Log St <sub>[P]</sub>	0.943**		0.673**	
Ta <sub>[P]</sub>	-0.065		-0.100	
Ta <sub>[G]</sub>	0.209		0.256	
Hm <sub>[P]</sub>	0.065		0.017	
Hm <sub>[G]</sub>	-0.041	0.214	-0.164	0.471*
Tp <sub>[P]</sub>	-0.115		-0.394**	
Tp <sub>[G]</sub>	0.013		0.339*	
t	0.096		0.168	
Ta <sub>[P]</sub>	-0.066		-0.224	
Ta <sub>[G]</sub>	0.013		0.220	
Hm <sub>[P]</sub>	0.131		0.109	
Hm <sub>[G]</sub>	-0.104		-0.395**	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.026		-0.209*	
Tp <sub>[G]</sub>	0.052	0.947**	0.478**	0.826**
t	0.045		0.162	
Log Am <sub>[P]</sub>	-0.259**		-0.360**	
Log Ps <sub>[P]</sub>	0.210**		0.384**	
Log Eb <sub>[P]</sub>	0.023		-0.066	
Log St <sub>[P]</sub>	0.969**		0.686**	

\* p<0.05

\*\* p<0.01

## DESPLUMADO

Tabla A2.24. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Am. Etapa de desplumado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Am <sub>[P]</sub>		(±) Log  ΔAm	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[S]</sub>	0.334**		-0.993**	
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.099	0.448**	0.025	0.991**
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.021		0.005	
Log St <sub>[S]</sub>	0.187		0.018	
Ta <sub>[S]</sub>	0.992*		-1.099*	
Ta <sub>[P]</sub>	-0.348		0.766	
Hm <sub>[S]</sub>	-0.338*		0.455**	
Hm <sub>[P]</sub>	0.056	0.624**	-0.260	0.519*
Tp <sub>[S]</sub>	-0.156		0.183	
Tp <sub>[P]</sub>	0.176		-0.170	
t	-0.019		-0.014	
Ta <sub>[S]</sub>	0.118		0.064	
Ta <sub>[P]</sub>	0.184		0.022	
Hm <sub>[S]</sub>	-0.333*		-0.042	
Hm <sub>[P]</sub>	0.053		0.015	
Tp <sub>[S]</sub>	-0.240*		-0.014	
Tp <sub>[P]</sub>	0.140	0.714**	0.015	0.994**
t	0.035		0.009	
Log Am <sub>[S]</sub>	0.449**		-1.023**	
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.113		-0.000	
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.154		-0.005	
Log St <sub>[S]</sub>	-0.079		0.033	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01



Tabla A2.25. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Ps. Etapa de desplumado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Ps <sub>[P]</sub>		(±) Log  ΔPs	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[S]</sub>	0.486**		0.204	
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.222*	0.616*	-0.491**	0.582**
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.228		-0.066	
Log St <sub>[S]</sub>	-0.229*		-0.133	
Ta <sub>[S]</sub>	0.958*		-0.131	
Ta <sub>[P]</sub>	-0.274	0.641**	0.510	0.448
Hm <sub>[S]</sub>	-0.234		-0.352*	
Hm <sub>[P]</sub>	0.124		0.117	
Tp <sub>[S]</sub>	-0.064		0.182	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.089		0.076	
t	-0.094		-0.023	
Ta <sub>[S]</sub>	-0.178		0.724**	
Ta <sub>[P]</sub>	0.590	0.196		
Hm <sub>[S]</sub>	-0.162	-0.232		
Hm <sub>[P]</sub>	0.029	-0.056		
Tp <sub>[S]</sub>	-0.092	0.115		
Tp <sub>[P]</sub>	-0.142	0.038		
t	-0.029	-0.047		
Log Am <sub>[S]</sub>	0.439**	0.116		
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.195	-0.548**		
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.177	-0.085		
Log St <sub>[S]</sub>	-0.166	-0.052		

\* p<0.05

\*\* p<0.01

Tabla A2.26. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica Eb. Etapa de desplumado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log Eb <sub>[P]</sub>		(±) Log  ΔEb	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[S]</sub>	0.059		-0.091	
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.274*	0.410*	0.196	0.632**
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.224		-0.541**	
Log St <sub>[S]</sub>	-0.206		-0.197	
Ta <sub>[S]</sub>	-0.769		-0.129	
Ta <sub>[P]</sub>	1.058*		0.209	
Hm <sub>[S]</sub>	0.120	0.430	-0.142	0.253
Hm <sub>[P]</sub>	-0.003		0.018	
Tp <sub>[S]</sub>	-0.068		-0.041	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.032		-0.056	
T	0.074		0.211	
Ta <sub>[S]</sub>	-1.055*			
Ta <sub>[P]</sub>	1.264**		0.437	
Hm <sub>[S]</sub>	0.027		-0.104	
Hm <sub>[P]</sub>	0.013		0.025	
Tp <sub>[S]</sub>	0.037		-0.093	
Tp <sub>[P]</sub>	-0.037	0.536*	-0.112	0.635**
T	0.084		0.097	
Log Am <sub>[S]</sub>	0.120		-0.019	
Log Ps <sub>[S]</sub>	0.293*		0.179	
Log Eb <sub>[S]</sub>	0.146		-0.464**	
Log St <sub>[S]</sub>	-0.015		-0.250	

\* p&lt;0.05

\*\* p&lt;0.01

Tabla A2.27. Ecuaciones de regresión lineal múltiple para la variable microbiológica St. Etapa de desplumado.

Variable independiente	Variable dependiente			
	Log St <sub>[P]</sub>		(±) Log  ΔSt	
	β	R	β	R
Log Am <sub>[S]</sub>	-0.043		0.028	
Log Ps <sub>[S]</sub>	-0.010	0.909**	-0.025	0.948**
Log Eb <sub>[S]</sub>	-0.104		0.021	
Log St <sub>[S]</sub>	0.949**		-0.955**	
Ta <sub>[S]</sub>	-0.378		0.181	
Ta <sub>[P]</sub>	0.047		0.082	
Hm <sub>[S]</sub>	-0.300*	0.634**	0.083	0.348
Hm <sub>[P]</sub>	0.081		-0.084	
Tp <sub>[S]</sub>	-0.516**		0.112	
Tp <sub>[P]</sub>	0.125		-0.061	
t	0.045		-0.148	
Ta <sub>[S]</sub>	-0.109			
Ta <sub>[P]</sub>	0.124		-0.004	
Hm <sub>[S]</sub>	-0.134		-0.049	
Hm <sub>[P]</sub>	0.035		-0.075	
Tp <sub>[S]</sub>	-0.067		-0.038	
Tp <sub>[P]</sub>	0.019	0.915**	-0.024	0.943**
t	-0.122		-0.116*	
Log Am <sub>[S]</sub>	-0.041		0.032	
Log Ps <sub>[S]</sub>	-0.027		0.022	
Log Eb <sub>[S]</sub>	-0.105		-0.027	
Log St <sub>[S]</sub>	0.920**		-0.922**	

\* p<0.05

\*\* p<0.01