

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“DESARROLLO TÉCNICO DE LÍNEAS DE PRODUCTOS PARA
LIMPIEZA Y CONTROL DE BIOFILMS EN LA INDUSTRIA
ALIMENTARIA PERUANA”**

**TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL GRADO
DE INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Presentado por:

JAVIER PIETRO URBINA PADILLA

Lima-Perú

2019

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

“DESARROLLO TÉCNICO DE LÍNEAS DE PRODUCTOS PARA LIMPIEZA Y CONTROL DE BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA PERUANA”

Presentado por:

JAVIER PIETRO URBINA PADILLA

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

**Ph. D. Luis Fernando Vargas Delgado
PRESIDENTE**

**Dra. Patricia Glorio Paulet
MIEMBRO**

**Mg. Sc. Jenny Valdez Arana
MIEMBRO**

**Dr. Marcial Ibo Silva Jaimes
ASESOR**

Lima-Perú

2019

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

| | PÁG. |
|--|----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. LIMPIEZA Y FÓRMULAS DETERSIVAS | 3 |
| 2.1.1. LIMPIEZA | 3 |
| 2.1.2. DETERGENTES | 4 |
| A. DEFINICIÓN Y PROPIEDADES | 4 |
| B. TIPOS DE DETERGENTES | 7 |
| 2.1.3. LIMPIEZA MEDIANTE PROYECCIÓN DE ESPUMA | 8 |
| 2.2. BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA | 9 |
| 2.2.1. DEFINICIÓN DE BIOFILM | 9 |
| 2.2.2. MORFOLOGÍA DE UN BIOFILM | 10 |
| 2.2.3. ETAPAS DE FORMACIÓN DE UN BIOFILM | 11 |
| A. ACONDICIONAMIENTO DEL SUSTRATO O SUPERFICIE | 11 |
| B. ADHESIÓN REVERSIBLE | 11 |
| C. ADHESIÓN IRREVERSIBLE O FIJACIÓN | 12 |
| D. MADURACIÓN | 13 |
| E. LIBERACIÓN Y DESAGREGACIÓN | 14 |
| 2.2.4. MECANISMOS DE AUTORREGULACIÓN DE UN BIOFILM | 15 |
| 2.2.5. FORMACIÓN DE BIOFILMS Y SUPERVIVENCIA MICROBIANA | 16 |
| A. DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES | 16 |
| B. RESISTENCIA A AGENTES BACTERICIDAS | 16 |
| C. INTERCAMBIO GENÉTICO Y CAMBIOS FENOTÍPICOS | 17 |
| D. EVITAR LA DESECACIÓN | 17 |
| 2.2.6. SUPERFICIES EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS Y ADHESIÓN DE BIOFILMS | 18 |
| 2.2.7. IMPACTO DE LOS BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA | 20 |

| | |
|---|-----------|
| III. METODOLOGÍA | 22 |
| 3.1. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ALCALINO | 22 |
| 3.2. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ÁCIDO | 27 |
| 3.3. APLICACIÓN DE BIOFINDER COMO DETECTOR DE BIOFILMS | 29 |
| 3.4. EVALUACIÓN DE BIOJET+ENZYJET COMO REMOVEDORES DE BIOFILMS EN SUPERFICIES DE PROCESAMIENTO DE QUESOS | 32 |
| 3.5. EVALUACIÓN DE REMOVEDORES ENZIMÁTICOS BIOCIP+TESIOCIP EN LA ELIMINACIÓN DE BIOFILMS EN CIRCUITO DE PASTEURIZACIÓN DE LECHE | 34 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 38 |
| 4.1. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ALCALINO | 38 |
| 4.2. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ÁCIDO | 44 |
| 4.3. EVALUACIÓN DE BIOFINDER COMO DETECTOR DE BIOFILMS | 48 |
| 4.4. EVALUACIÓN DE REMOVEDORES ENZIMÁTICOS ESPUMANTES BIOJET+ENZYJET | 58 |
| 4.5. EVALUACIÓN DE REMOVEDORES ENZIMÁTICOS NO ESPUMANTES BIOCIP+TESIOCIP | 61 |
| V. CONCLUSIONES | 64 |
| VI. RECOMENDACIONES | 65 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA | 66 |
| VIII. ANEXOS | 72 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | PÁG. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Tipos de suciedad en la industria alimentaria, su solubilidad y efecto del calor sobre la superficie en que se depositan | 3 |
| Tabla 2. Componentes de las formulaciones de detergentes y sus propiedades | 5 |
| Tabla 3. Funciones del biofilm y su relevancia en la supervivencia bacteriana | 18 |
| Tabla 4. Facilidad de <i>Legionella Pneumophila</i> para la formación de biofilms en diferentes materiales | 20 |
| Tabla 5. Criterios para la pre-selección de detergentes alcalinos | 24 |
| Tabla 6. Niveles de suciedad establecidos para evaluación de remoción de grasa de pescado | 26 |
| Tabla 7. Composición, modo de acción y frecuencia de aplicación recomendada de Biofinder | 30 |
| Tabla 8. Escala de calificación de nivel de contaminación (presencia de biofilm) de superficies según reacción con Biofinder | 31 |
| Tabla 9. Composición, modo de acción y frecuencia de aplicación de Biojet+Enzyjet | 32 |
| Tabla 10. Protocolo de limpieza de cuba quesera de la PPL con adición de etapa de limpieza enzimática | 33 |
| Tabla 11. Composición, modo de acción y frecuencia de aplicación de Biocip+Tensiocip | 34 |
| Tabla 12. Protocolo de limpieza de circuito de pasteurización de leche de la PPL con etapa adicional de limpieza enzimática | 36 |
| Tabla 13. Matriz de pre-selección de detergentes alcalinos | 38 |
| Tabla 14. Matriz comparativa y resultados de evaluación de detergentes alcalinos | 39 |

| | |
|--|----|
| Tabla 15. Resultados de prueba de remoción de grasa de pescado con Neogras Remove Pus | 42 |
| Tabla 16. Matriz comparativa y resultados de evaluación de detergente ácido | 44 |
| Tabla 17. Resultados de remoción de sarros en mayólicas con Neofoam Acid NT | 47 |
| Tabla 18. Resultados de aplicación de Biofinder en superficies de procesamiento de cárnicos | 49 |
| Tabla 19. Resultados de aplicación de Biofinder en superficies de procesamiento de lácteos | 53 |
| Tabla 20. Resultados de aplicación de Biofinder en superficies de proceso agroindustrial | 55 |
| Tabla 21. Resultados de aplicación de limpiadores enzimáticos Biojet y Enzyjet en desfogue de cuba quesera de la PPL | 58 |
| Tabla 22. Resultados de recuentos microbiológicos (BAMV, Coliformes, M y L) obtenidos en circuito de pasteurización de leche limpiado con removedores enzimáticos Biocip y Tensiocip | 62 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | PÁG. |
|---|-------------|
| Figura 1. Microfotografía SEM de una biopelícula de <i>L. Monocytogenes</i> en una tubería de PVC | 10 |
| Figura 2. Esquema de fuerzas químicas de adhesión reversible | 12 |
| Figura 3. Proceso de formación de un biofilm | 14 |
| Figura 4. Proceso de formación de biofilms fúngicos | 15 |
| Figura 5. Microfotografía de biofilm de <i>L. Monocytogenes</i> en cupón de acero 316 | 19 |
| Figura 6. Representación esquemática del proceso de biocorrosión realizado por bacterias sulfato reductoras | 21 |
| Figura 7. Equipos utilizados en la prueba de remoción de hongos en techos con detergentes alcalinos | 25 |
| Figura 8. Reacción de Biofinder en placa de acero inoculada con microorganismos | 29 |
| Figura 9. Presentación de Biofinder. | 30 |
| Figura 10. Removedores enzimáticos Biojet+Enzyjet | 33 |
| Figura 11. Removedores enzimáticos Biocip+Tensiocip | 35 |
| Figura 12. Esquema de circuito corto de pasteurización de leche de la PPL | 36 |
| Figura 13. Tiempo necesario para remover masa adherida en moldes de panificación en función del tiempo en inmersión en Neogras Remover Plus | 43 |
| Figura 14. Tanque pulmón con solución enzimática recirculada | 61 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | PÁG. |
|---|-------------|
| ANEXO 1. FICHA TÉCNICA NEOGRAS REMOVER PLUS | 73 |
| ANEXO 2. FICHA TÉCNICA NEOFOAMCLO2 REMOVER | 76 |
| ANEXO 3. FICHA TÉCNICA NEOFOAM ACID NT | 79 |
| ANEXO 4. FICHA TÉCNICA NEOACID 3339 | 81 |
| ANEXO 5. FICHA TÉCNICA BIOFINDER™ | 83 |
| ANEXO 6. FICHA TÉCNICA BIOJET+ENZYJET™ | 86 |
| ANEXO 7. FICHA TÉCNICA BIOCIP+TENSIOCIP™ | 89 |

RESUMEN

Una de las estrategias más importantes para garantizar la calidad sanitaria de los alimentos es la limpieza y desinfección. En esta línea, el conocimiento sobre los mecanismos de colonización de superficies por parte de las bacterias ha evolucionado llevándonos al concepto de biopelículas bacterianas o biofilm. Se hace entonces necesario una evolución a la par de los procedimientos, sustancias químicas y métodos de verificación de los procesos de higienización. El presente trabajo se desarrolló al desempeñar el cargo de Asesor Técnico-Comercial en PISAPIGS SA, empresa especializada en saneamiento, comprende en su primera parte la evaluación de fórmulas deterativas líquidas y su uso en espuma. Luego, se presentan estudios realizados para el desarrollo técnico de una innovadora línea de productos para la detección y eliminación de biofilms. Esta incluye el Biofinder, un spray para la detección rápida (menos de 30 s) de biofilms; y los Removedores Biojet+Enzyjet (espumantes) y Biocip+Tensiocip (no espumantes) formulados a base de mezclas enzimáticas y tensioactivos biodegradables diseñados para eliminar biofilms. Para la evaluación de Biofinder se estableció una escala de contaminación según como ocurría la reacción del producto y se evaluaron superficies de procesamiento de alimentos. El uso de este producto permitió una identificación rápida de puntos de contaminación en distintas líneas de proceso (lácteos, cárnicos y agroindustria) identificándose puntos ciegos de la limpieza. La evaluación de los removedores se hizo en las líneas de quesos y leche pasteurizada de la Planta Piloto de Leche (PPL) de la UNALM aplicando los procedimientos sugeridos por el fabricante y evaluando con el detector Biofinder o, para el caso del circuito CIP, con ensayos microbiológicos (mesófilos, coliformes y mohos y levaduras) la eliminación de los biofilms. Para las dos fórmulas (espumante y no espumante) se evidenció una disminución paulatina de la carga microbiana en las superficies tratadas tras aplicaciones en días consecutivos.

PALABRAS CLAVES: Biopelículas bacterianas, detergentes, limpieza enzimática, limpieza en espuma, detección de biopelículas

ABSTRACT

One of the most important strategies to guarantee the sanitary quality of food is cleaning and disinfection. In this vein, knowledge about the mechanisms of surface colonization by bacteria has evolved leading to the concept of bacterial biofilms. It is then necessary an evolution along with the procedures, chemical substances and methods of verification of sanitation processes. This work was developed by serving as Technical-Commercial Advisor at PISAPIGS SA, a company specialized in sanitation, in its first part includes the evaluation of liquid detergent mixed and their use in foam. Then, studies carried out for the technical development of an innovative product line for the detection and elimination of biofilms are presented. This includes the Biofinder, a spray for rapid detection (less than 30 s) of biofilms; and Biojet + Enzyjet (foaming) and Biocip + Tensiocip (non-foaming) Removers formulated based on enzymatic mixtures and biodegradable surfactants designed to remove biofilms. For the Biofinder evaluation, a contamination scale was established according to how the product reaction occurred and food processing surfaces were evaluated. The use of this product allowed rapid identification of contamination points in different process lines (dairy, meat and agribusiness) identifying blind spots of cleaning. The evaluation of the removers was made in the cheese and pasteurized milk lines of the Pilot Milk Plant of the UNALM applying the procedures suggested by the manufacturer and evaluating with the Biofinder detector or, in the case of the CIP circuit, with Microbiological tests (mesophiles, coliforms and molds and yeasts) the elimination of biofilms. For the two mixtures (foaming and non-foaming) a gradual decrease of the microbial load on the treated surfaces after applications on consecutive days was evident.

KEY WORDS: Bacterial biofilms, detergents, enzymatic cleaning, foam cleaning, biofilm detection

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales componentes de la calidad de un producto alimenticio es el aspecto higiénico-sanitario, siendo así que el procesado de alimentos tiene, entre otros, el objetivo de fabricar productos seguros para el consumidor. En ese sentido, las bacterias son los agentes en que se centran los puntos críticos de control dada su capacidad de producir Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) con efectos que van desde gastroenteritis leve hasta la muerte (botulismo) pudiendo éstas aplicar mecanismos patológicos variados tales como: infección, secreción de exotoxinas y toxiinfección. Es así que los sistemas de aseguramiento y gestión de la inocuidad alimentaria tienen entre sus objetivos primordiales el control de estos agentes.

Las bacterias, con su gran capacidad adaptativa, son capaces de generar estructuras de resistencia para defenderse de las agresiones ambientales (tratamientos de higiene y desinfección) que les ejercemos. En esta línea, el estudio de los biofilms, agrupaciones de bacterias adheridas a una superficie y protegidas por una capa de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), ha sobrevenido en un campo de primordial relevancia para la garantía de la inocuidad en establecimientos de proceso de alimentos dado que se ha identificado la presencia de estas estructuras como una de las principales causas de contaminación microbiana ya que proveen una férrea protección a las bacterias, haciendo ineficaz la aplicación de los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES). La presencia de biofilms en un establecimiento de proceso de alimentos presenta consecuencias de índole sanitario, principalmente la ocurrencia de brotes de ETAs; asimismo tiene efectos negativos en el aspecto económico, siendo los principales: rechazo de producto terminado contaminado, demandas y pérdida de prestigio por ocurrencia de intoxicaciones, disminución de vida útil y tiempo de exposición en anaquel de productos frescos refrigerados (cárnicos principalmente) y deterioro de estructuras y equipos por biocorrosión.

En la industria alimentaria peruana es aún muy común el uso de métodos convencionales de limpieza y desinfección como la aplicación de detergentes en polvo no específicamente diseñados para uso en plantas de proceso y la aplicación por baldeado o aspersion de estos químicos, lo que demanda mucha mano de obra, tiempo y resulta a veces ineficaz en el control bacteriano. En esta línea, la presente memoria abarcará en un primer momento la selección de fórmulas deterativas líquidas para industria alimentaria y la evaluación de su eficacia con métodos modernos de aplicación como la proyección de espuma. Por otra parte, al momento en que se ejecutó la labor profesional no existía en el mercado peruano una línea de productos específicos para la detección y eliminación de biofilms. En tal sentido, la empresa PISAPIGS SA, donde se prestó el servicio profesional expuesto en la presente memoria, consideró conveniente desarrollar en el sector alimentario peruano la línea de productos para el control de biofilms de Itram Higiene (España). Esta incluye el spray detector rápido de biofilms, Biofinder™; y Removedores Enzimáticos para la eliminación de biofilms tanto en superficies abiertas como en circuitos cerrados.

El presente trabajo reúne experiencias de aplicación y uso del detector Biofinder™ en distintas industrias de los sectores proceso de alimentos (lácteos, cárnicos, etc.) y agroindustria (espárrago, frutas, palta, etc.) en Perú. Se pretende exponer la aplicación de este producto como una herramienta para identificación de puntos de contaminación, evaluación de los procedimientos de desinfección y auditoría interna en industrias de proceso de alimentos. Asimismo, se procura determinar las ventajas e idoneidad de su aplicación y limitaciones de este método, de forma tal que se determine la conveniencia y forma de incluirlo como método de evaluación en Programas de Higiene y Saneamiento. Se presentan también estudios de validación de efectividad de los Removedores Enzimáticos, que permitan fundamentar la importancia de incluirlos en el programa de higiene como medio de prevención y control específico de la presencia de biofilms en líneas de procesamiento. Todo lo anterior con el objetivo de generar conocimiento sobre nuevas herramientas para el control de la inocuidad en la industria alimentaria.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LIMPIEZA Y FÓRMULAS DETERSIVAS

2.1.1. Limpieza: Comprende todos los procesos implicados en la eliminación de suciedad de las superficies, pero que no le corresponden a la esterilización (Forsythe y Hayes, 2002). En este proceso la suciedad se suspende o disuelve generalmente en agua (ICMSF 1980).

En la industria alimentaria, la suciedad es de composición muy variada (carbohidratos simples y complejos, fibras, grasa, etc); está depende del tipo de materia prima que se procese. Según los componentes de ésta y la solubilidad de los mismos en agua, el grado de dificultad de remoción será variable (véase la Tabla 1).

Tabla 1: Tipos de suciedad en la industria alimentaria, su solubilidad, dificultad de remoción y efecto del calor sobre la superficie en que se deposita

| Tipo de suciedad | Características de solubilidad | Facilidad de remoción | Cambios inducidos por el calentamiento de las superficies |
|-------------------|--|-----------------------|---|
| Azúcar | Soluble en agua | Fácil | Caramelización, dificulta la limpieza |
| Grasa | Soluble en agua, soluble en álcalis | Difícil | Polimerización |
| Proteínas | Soluble en agua, soluble en álcalis, ligeramente soluble en ácidos | Muy difícil | Desnaturalización, dificulta la limpieza |
| Sales monovalente | Soluble en agua, soluble en ácidos | Fácil | Ninguna |
| Sales polivalente | Insoluble en agua, soluble en ácidos | Difícil | Interacciones con otros constituyentes, dificulta la limpieza |

FUENTE: Heldman y Lund (2007) como se citó en Bustamante (2014)

Según Mejia (2017) la eficacia del proceso puede ser mejorada mediante la aplicación de:

- Ciertas formas de energía como: fregado, duchado y agitación.
- Coadyudantes químicos que disminuyan la tensión superficial y, solubilizan, emulsionen, suspendan o precipiten distintas suciedades.

Herrera (2016) indica que a nivel fisicoquímico este proceso, en cuanto es realizado con sustancias deterativas comprende 3 etapas:

- **Mojado:** Comprende la penetración de la solución deterativa en el sustrato (suciedad) producto de la disminución de la tensión superficial por la acción de los tensioactivos presentes en la formulación.
- **Desplazamiento de la suciedad:** En esta etapa los componentes del detergente rompen o deshacen las fuerzas químicas y físicas que unen la suciedad a las superficies.
- **Separación de la suciedad de la superficie limpia:** Implica mecanismos por los cuales la solución deterativa mantiene dispersa la suciedad y se evita la re-deposición de la misma para luego arrastrarla.

2.1.2. Detergentes

a. Definición y propiedades

Son sustancias que modifican las propiedades físicas y químicas del agua, de forma que esta puede penetrar, desalojar y arrastrar residuos que se habían endurecido o fijado sobre las superficies. Son buenos agentes espumantes, humidificantes y emulsionantes (López y Berga, 2010).

Forsythe y Hayes (2002) indican que son propiedades deseables de un buen detergente:

1. Ser fácilmente solubles en agua a la temperatura necesaria.
2. No ser corrosivo con las superficies.
3. No ser irritante sobre la piel y ojos.
4. Biodegradable
5. De empleo económico.

6. Fácilmente arrastrable con agua.
7. Estable durante el almacenamiento.
8. Efectivo contra todo tipo de suciedad.

Los detergentes pueden ser formulados con compuestos químicos de acción diversa que pueden clasificarse en dos grupos: agentes de acción química como son las bases, sales, ácidos y secuestrantes los cuales van a reaccionar con componentes específicos de la suciedad; y agentes de acción fisicoquímica que son esencialmente agentes de superficie con propiedades: mojanter, emulsionantes, espumantes, dispersantes y antiespumantes (Vincent, 2002). En tal sentido, Clemente (2013) indica que las fórmulas de deterativas pueden incluir agentes:

- **Detersivos:** Al ser disueltos en agua facilitan la disolución de la suciedad.
- **Dispersantes:** Aumentan la estabilidad de partículas sólidas en suspensión.
- **Emulsificantes:** Facilitan la dispersión de gotas de componentes oleosos en una matriz acuosa.
- **Humectantes:** Favorecen el esparcimiento de un líquido sobre una superficie sólida e incrementa su velocidad de penetración.
- **Solubilizantes:** Incrementa la solubilidad aparente en el agua de cuerpos poco solubles.
- **Espumantes y antiespumantes:** Provocan o impiden la formación de espuma.

Es así que, la formulación de detergentes implica combinar distintos tensioactivos para dar lugar a un amplio espectro de acciones fisicoquímicas limpiadoras a un costo moderado. En la Tabla 2 se presentan algunos de los más usuales y sus propiedades.

Tabla 2: Componentes de las formulaciones de detergentes y sus propiedades

| Detergente | | Poder | Poder | Poder | Poder | Poder | Corrosividad |
|---------------------|-------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| Clase | Componente | humectante | dispersante | disolvente | emulsificante | secuestrante | |
| Álcalis inorgánicos | Hidróxido de sodio | 1 | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| | Metasilicato sódico | 2 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 |
| Tensioactivos | Lauril sulfato sódico | 4 | 4 | 2 | 4 | 0 | 4 |
| | Sulfonatosódico | 4 | 4 | 2 | 4 | 0 | 4 |
| | Nonil-fenol-etoxilado | 4 | 4 | 2 | 4 | 0 | 4 |
| Secuestrantes | Pirofosfato tetrasódico | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 |
| | Hexametáfosfato sódico | 1 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 |

4 = Excelente; 3=Bueno; 2=Regular; 1=Pobre; 0=Sin actividad

0 equivale a muy corrosivo y 4 a no corrosivo

FUENTE: Adaptado de Forsythe y Hayes (2002)

b. Tipos de detergentes

Bonilla (2016) indica que existen 3 categorías para estos químicos según el pH:

b.1. Ácidos: Aquellos con un pH menor a 6, es decir una mayor presencia de iones hidronio. Actúan disolviendo los depósitos minerales provenientes de los alimentos, del agua y de las reacciones químicas entre los constituyentes de los alimentos y los iones presentes en el agua (Vincent, 2002). La eficacia de estos radica en que transforman sales insolubles en agua a sus formas hidrosolubles (Kiermeier, *et al.*, 2000), Estos ácidos pueden ser ácidos inorgánicos como el clorhídrico, sulfúrico y nítrico; sin embargo, estos son muy corrosivos y conllevan un riesgo de manipulación por lo que se han sustituido con ácidos más débiles como el fosfórico y el sulfámico. No obstante, en el caso de incrustaciones difíciles de remover se suelen aplicar concentraciones más bajas de ácido fuertes. Los detergentes ácidos generalmente incluyen en su formulación inhibidores de la corrosión y agentes humectantes para mejorar el efecto limpiador (Fosythe y Hayes, 2002). La inclusión de ácido fosfórico y nítrico en estas fórmulas permite la formación de una capa pasivante sobre el acero que protege de la reoxidación (Morán, 2017).

b.2. Neutros: Tienen un pH entre 6 y 8. Generalmente son detergentes multiuso y se aplican a superficies poco porosas que no se quieren dañar ya que cumplen principalmente una función mecánica. Se utilizan en procesos donde la suciedad no está muy incrustada, cuando se dispone de una buena acción mecánica, los tiempos de inmersión son largos o la suciedad es de fácil emulsión. Son muy aplicados en limpiezas manuales por su baja peligrosidad. Actualmente hay un desarrollo significativo de desengrasantes neutros considerados más ambientalmente amigables que los de pHs extremos (Moran, 2017).

b.3. Básicos (Alcalinos): Tienen un pH mayor a 8 por lo que predominan los iones oxidrilo. Son buenos para la remoción de materia orgánica especialmente la grasa. Suelen tener como base hidróxido de sodio (sosa) o de potasio, amoniaco y alcanolaminas y su poder limpiador estar basado en la capacidad saponificante y de neutralización de ácidos grasos de las bases. Las bases inducen la formación de jabones *in situ* y luego los

tensioactivos ejercen una acción emulsificante removiendo la suciedad (Vincent, 2002). El hidróxido de sodio tiene buenas propiedades disolventes y efecto bactericida, pero es corrosivo y peligroso de manipular por lo que suele combinarse con metasilicato sódico, un álcali no cáustico, que suprime el efecto corrosivo del hidróxido. Este último es un eficaz dispersante y emulsificante. Otros álcalis no cáusticos usualmente incluidos en estas fórmulas deterativas son el carbonato sódico y el fosfato trisódico por ser también buenos emulsificantes y saponificantes de bajo costo (Forsyte y Hayes, 2002). La alcalinidad de estos químicos induce la formación de precipitaciones calcáreas y magnésicas que se evidencian como un velo blanco sobre las superficies por lo que es recomendable que estas formulaciones incluyan secuestrantes y dispersantes de iones (Moran, 2017).

2.1.3. Limpieza mediante proyección de espuma

Para esta operación se utilizan equipos equipados con un Venturi para la aspiración del detergente y una bomba neumática. Estas bombas trabajan a un caudal aproximado de 900 l/h y una presión de 100 bar. Las soluciones de detergentes utilizadas deben ser fórmulas espumantes y usualmente se aplican en dosis de 3 a 5% para obtener una espuma consistente y estable (Zusant y Monslahuc, 2002). La aplicación de espuma para la limpieza en plantas de proceso alimenticio conlleva a muchos beneficios. Marriot *et al.* (2018) indican como los principales:

- Mejor eficacia de la limpieza dado el mayor tiempo de contacto del detergente (en forma de espuma) con la superficie a limpiar.
- Se pueden visualizar las áreas tratadas con detergente por lo que se evita la duplicación de trabajo.
- Permite la limpieza rápida de superficies de gran área.
- Los equipos son portátiles y transportables pudiéndose limpiar: techos, paredes, equipos de transporte, cintas, parte exterior de tuberías y contenedores.

2.2. BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

2.2.1. Definición de biofilm

El concepto de biofilm ha ido evolucionando con el avance de la investigación, desde su descubrimiento atribuido a Antony Van Leeuwenhoek, quien observó esta estructura utilizando un microscopio primitivo sobre la superficie de dientes (Dolan, 2002, como se citó en Hernández, 2016); hasta los estudios modernos actuales que permiten describir a niveles muy específicos los mecanismos de adhesión microbiana, que han ido incorporando elementos a la definición de biofilm dada la complejidad y variedad de los mecanismos de agregación de los organismos vivos.

Es así que inicialmente se consideraba la capacidad de formación de biofilms como una cualidad específica de las bacterias por lo que se los definía como una matriz biológicamente activa formada por células de una o varias especies y sustancias extracelulares en asociación con una superficie sólida, incluyendo superficies minerales, tejido vivos o muertos de animales y plantas, polímeros sintéticos, cerámicas y aleaciones de metales (Navia, *et al.*, 2010), que a su vez se encuentran encapsuladas en una matriz polimérica hidratada que se denomina colectivamente “sustancia polimérica extracelular” (EPS), siendo esta sintetizada por los propios microorganismos y de una composición compleja que comprende un 95% de agua junto a proteínas, ácidos nucleicos, minerales, etc. (Costerton, *et al.*, 1995; como se citó en Rios, 2013). Luego se amplió esta definición para incorporar al reino fungi encontrándose biopelículas formadas por levaduras dentro de una densa red de hifas y pseudo-hifas y asociadas a bacterias; por su lado los hongos filamentosos secretan hidrofobinas que unen la hifa a superficies hidrofóbicas formando estructuras más complejas hoy también consideradas como biofilms (Castrillón, *et al.*, 2013).

Actualmente una definición más aceptada es la de *biofouling* o bio-ensuciamiento que es la acumulación indeseable de contenido biótico sobre una superficie, incluyendo macro-algas e invertebrados como percebes y mejillones, y microorganismos (Characklis, 1990, como se citó en Hernández, 2016). En la Figura 1 se muestra una microfotografía de biofilm de

L. Monocytogenes donde se verifica lo prolífica que puede ser la replicación bacteriana en estas estructuras si las condiciones son adecuadas.

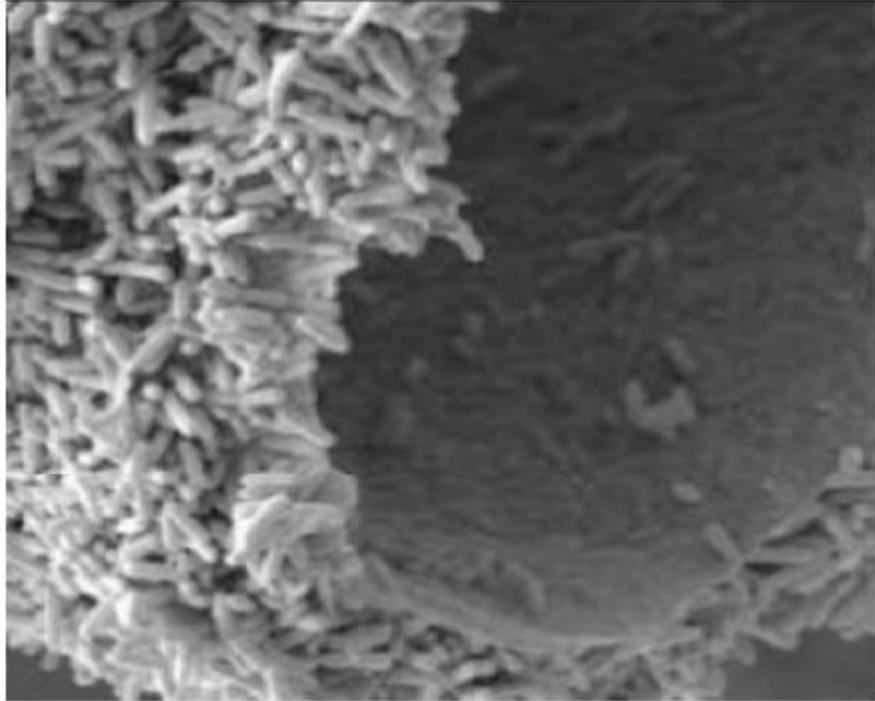


Figura 1: Microfotografía de SEM de una biopelícula de *L. Monocytogenes* en una tubería de PVC

FUENTE: Navia *et al.* (2010)

2.2.2. Morfología de un biofilm

Un biofilm está constituido básicamente por tres componentes: la masa celular, espacios intercelulares y la matriz extracelular que lo rodea. Puede presentar una sola especie o variedades de especies diferentes. En la actualidad se considera que todos los microorganismos son capaces de formar biofilms bajo las condiciones ambientales adecuadas siendo éstas un entorno hidratado y una mínima presencia de nutrientes para desarrollarse (Bonilla, 2007).

2.2.3. Etapas de formación de un biofilm

La formación de biofilms es un proceso gradual que involucra la ocurrencia de fenómenos fisicoquímicos de adhesión de las células a una superficie, formando micro-colonias por la activación de sus genes, con la producción de EPS y una subsecuente maduración de la biopelícula (Navia, *et al.*, 2010).

No existe un consenso general acerca del número de etapas que comprende la formación de un biofilm; sin embargo, en líneas generales se pueden definir las que siguen:

a. Acondicionamiento del sustrato o superficie

Consiste en la formación del microambiente adecuado para la adhesión celular, actualmente se ha evidenciado la formación de biofilms en diversidad de materiales: plásticos, vidrio, acero. Ocurre que al estar la superficie en contacto con agua la materia orgánica disuelta en esta se deposita formando una capa con propiedades físicas y químicas que facilitan la formación de biofilm. Del mismo modo la acción de aire y la humedad sobre el acero suscita la formación de óxido donde se ancla la suciedad orgánica y posteriormente el biofilm (Piera, 2003).

b. Adhesión reversible

Inicia con la aproximación de la bacteria al sustrato orgánico, puede darse por gravedad, difusión y/o dinámica del fluido en que se encuentra embebida la bacteria. Por otra parte, en ciertos casos, la célula bacteriana facilita el proceso aproximándose al sustrato mediante la motilidad que le dan sus flagelos (Navia, *et al.*, 2010). La naturaleza química de las adhesiones es un tema de amplio estudio comprendiendo fuerzas fisicoquímicas inespecíficas, débiles, no-covalentes y de corto alcance, del tipo Van der Waals, ácido-base, electrostáticas y electrofóbicas (Piera, 2003).

Este tipo de adhesión en un inicio se puede dar en un corto lapso de tiempo siendo que Van Haecke *et al.* (1990), como se citó en Ríos (2003), encontró que *Pseudomona Aeruginosa* requiere 30 segundos en contacto para adherirse a superficies de acero inoxidable; a su vez, Mittelman (1998) menciona que residuos presentes en la leche y sus derivados pueden absorberse a las superficies en un tiempo de 5 a 10 segundos, formando un film que facilita la adhesión bacteriana.

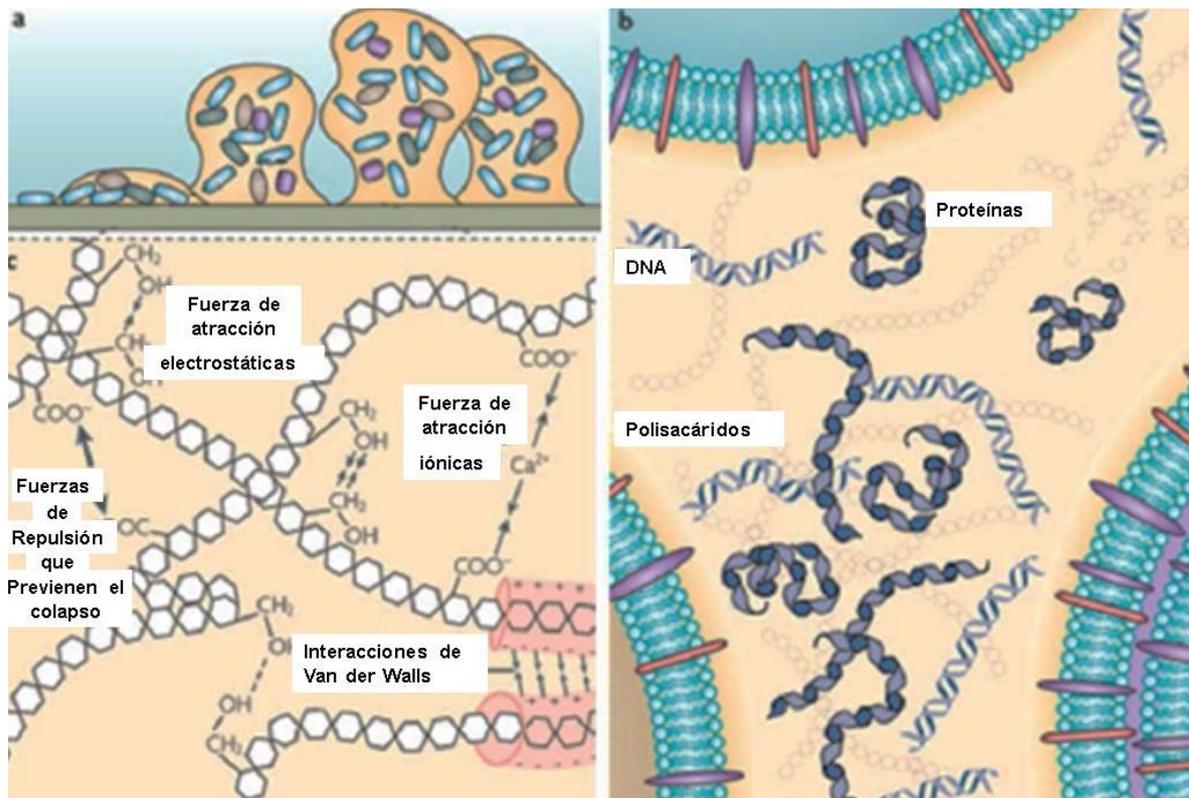


Figura 2: Esquema de fuerzas químicas de adhesión reversible

FUENTE: Hernández (2016)

c. Adhesión irreversible o fijación

Se da cuando un grupo de células inmovilizadas son inicialmente absorbidas reversiblemente y luego se absorben mediante apéndices físicos (pilis, fimbrias y flagelos) que superan las fuerzas repulsivas de la doble capa eléctrica, este tipo de uniones toman entre 20 min a 4 horas en formarse a 20 °C; sin embargo, son tan fuertes que impiden la remoción de colonias de un sustrato o superficie aplicando protocolos y químicos de

higiene tradicionales (Navia, *et al.*, 2010). Se da también como proceso característico de esta etapa la síntesis inicial de EPS (sustancias poliméricas extracelulares) y la formación de microcolonias que interactúan entre si y se desplazan dentro de la matriz, excepto las de la capa más interior (Hernández, 2016).

Algunos autores cuestionan esta división de etapas de adhesión ya que en la realidad muchos de los procesos característicos para cada fase se dan en ciertos momentos en simultáneo por lo que se prefiere más hablar de una adhesión pasiva, fuerzas intermoleculares débiles donde las células mantienen aún un movimiento browniano; y una adhesión activa mediante orgánulos o estructuras celulares y con síntesis de EPS (Navia, *et al.*, 2010).

d. Maduración

Consiste en la formación de glicocalix, las condiciones de resistencia ganadas durante la fase de adhesión propician el ambiente para el crecimiento y división celular fabricándose una mezcla de polímeros polianiónicos que permite la unión de las células entre ellas y a la superficie (Piera, 2003). Es así que se van formando estructuras complejas tipo torres y champiñón con canales y poros libres de biomasa que permiten el flujo de nutrientes. La matriz sintetizada es de composición compleja y difiere entre especies además de ser variable según las condiciones de crecimiento. Además de agua se compone de polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos que las mismas células producen y excretan (Hernández, 2016).

Entre los principales glucósidos que componen la matriz se hallan: glicoproteínas, glucosa, fructuosa, manosa y N-acetilglucosamina; otros componentes también comúnmente encontrados son los fosfolípidos y ácido teicoico (Chimielevisky y Frank, 2003, como se citó en Piera, 2003). De esta forma, al final del proceso de maduración del biofilm, sólo en 5 a 25% está compuesto por biomasa celular y el restante 95 a 75% lo compone la matriz de EPS.

e. Liberación o desagregación

La colonia en división continua (fase exponencial), libera periódicamente algunas células como consecuencia del stress del medio en que se encuentran o debido a que algunas células dejan de producir exo-polisacáridos (se detiene la expresión de ciertos genes) y son liberadas al medio donde colonizarán nuevas superficies con mayor facilidad gracias a la reserva de nutrientes con que son desagregadas (Bonilla, 2007). Este desprendimiento se da mediante mecanismos enzimáticos que rompen las EPS para la liberación de células viables que colonizarán luego sustrato fresco, ejemplos de estos mecanismos son la alginato liasa de *Pseudomonas Fluorecens* y *Pseudomonas Aeruginosa*, la N-acetil-heparosan liasa por *E. Coli* y la hialurodinasa por *Streptococcus Equi* (Navia, et al., 2010).

La formación de un biofilm es un proceso dinámico es así que entre etapa y etapa la cantidad de células viables va variando; siendo que se ha determinado que en un biofilm incipiente el 80% de células son viables, en cambio en un biofilm maduro solo un 50% (Piera, 2003).

En la Figura 3 se aprecia la representación esquemática de estos procesos que al liberarse una célula planctónica o un fragmento completo de biofilm se ocurren nuevamente permitiendo a los microorganismos dispersarse en el ambiente ya sea este un medio natural o una línea de proceso industrial alimentario.



Figura 3: Proceso de formación de un biofilm bacteriano

FUENTE: Bonilla (2007)

En el caso de las levaduras, el proceso es muy similar estando minuciosamente descrito por Ramage *et al.* (2001), como se citó en Castrillón (2013), quien indica que para *C. Albicans* la fase de adhesión temprana se da entre las primeras 8 a 11 horas, la fase intermedia (adhesión irreversible) entre las 13 y 30 horas y la maduración entre las 38 y 72 horas. En el caso de los mohos filamentosos en la fase de maduración o crecimiento celular se dan los procesos de desarrollo micelial y gemación de hifas, como se aprecia esquemáticamente en la Figura 4.

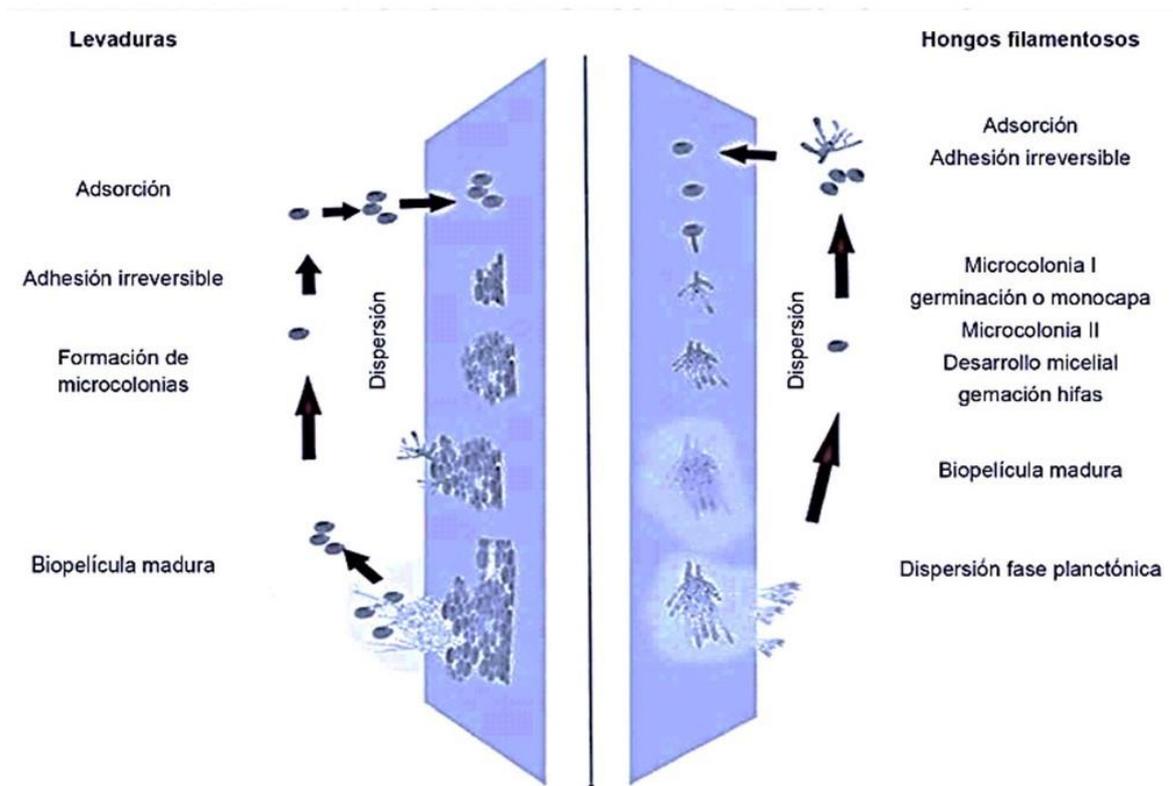


Figura 4: Procesos de formación de biofilms fúngicos

FUENTE: Castrillón (2013)

2.2.4. Mecanismos de autoregulación de un biofilm

Un trabajo pionero realizado en *Pseudomona Aeruginosa* demostró que la formación de biofilms se regula por autoinducción o Quorum Sensing, mecanismo que consiste en la acumulación en el medio de una sustancia (inductor) en el medio y que permite al microorganismo detectar la densidad poblacional existente. En bacterias Gram (-) el

inductor es acil-homoserina lactona, mientras que en bacterias Gram (+) el autoinductor son péptidos (Ramos, 2007), además de estos dos mecanismo (inductores) mencionados hay uno tercero observado en bacterias Gram (-) y Gram (+) donde interviene un compuesto denominado autoinductor 2 (AI-2) que es producido por la enzima LuxS (Hardie, *et al.*, 2003, como se cita en Hernández, 2016).

2.2.5. Formación de biofilms y supervivencia microbiana

La formación del biofilm aporta a la bacteria una amplia gama de beneficios que facilitan su supervivencia, entre ellos:

a. Disponibilidad de nutrientes

La formación de las EPS incrementa la capacidad de retención de nutrientes del medio, ya que se “atrapan o adhieren” a la red formada o son atraídas debido al intercambio iónico ocurrido dentro de la matriz, asimismo al “incorporarse” nuevos individuos (celulas plactonicas) al biofilm las nuevas bacterias podrán utilizar nutrientes que otras rechacen y además, mediante la secreción de exoenzimas, llevar nutrientes complejos a formas más simples y bioquímicamente disponibles para otros individuos carentes de las enzimas necesarias (Piera, 2003).

b. Resistencia a agentes bactericidas

En líneas generales se afirma que la formación de un biofilm incrementa en 100 veces la resistencia microbiana a los biocidas (Fosythe y Hayes, 2002). Este incremento en la resistencia se da por los siguientes efectos: reducción de acceso del desinfectante a las bacterias, interacción química entre el desinfectante y la biopelícula, modulación del microambiente, producción de enzimas de degradación e intercambio de genes (plásmidos) de resistencia dentro del biofilm (Porcel, 2013). Las EPS pueden estar asociadas a iones metálicos o cationes bivalentes. Puede tener carga neutra o carga polianiónica, lo que les permite interactuar con distintos antimicrobianos de forma que estos puedan quedar atrapados en la matriz sin capacidad de actuar sobre las bacterias dentro del biofilm

(Nazar, 2017). Otro factor a considerar es el tipo de biofilm siendo que cuanto el biofilm es mixto (multiespecie), como son los más comúnmente hallados, el nivel de resistencia es mayor que en un biofilm monoespecie; siendo elementos también a considerar: el tipo de especies asociadas, condiciones ambientales como la temperatura y el tipo de biocida: un ejemplo es la asociación de *Bacillus Cereus* con *Clostridium Perfringes* que al asociarse aumenta su resistencia al dióxido de cloro y al glutaraldehído (Lindsay, *et al.*, 2002, como se citó en Hernández, 2010). Es así que en ocasiones se desarrollan mezclas de desinfectantes que combinados pueden ya tener un efecto sobre el biofilm, como por ejemplo la mezcla de peróxido de hidrógeno con etanol y fluconazol se demostró es eficaz en remoción de biofilms de *C. Albicans* y *C. Parapsilosis* (Nett, 2008, como se citó en Castrillón, 2003).

c. Intercambio genético y cambios fenotípicos

Se ha demostrado que las bacterias en biofilm poseen una expresión génica diferente respecto a sus contrapartes plactónicas, originando bacterias fenotípicamente distintas hasta en un 30% de genes expresados distintamente. Por otra parte, dentro de la matriz los individuos intercambian material genético incluyendo: plásmidos (ácido dextrorribonucleico extracromosómico), enzimas y otras moléculas. Estos plásmidos son generalmente de resistencia (a biocidas y antibióticos) e inductores que facilitan a organismos receptores la formación de biofilm (Nazar, 2017).

d. Evitar la desecación

Un biofilm está compuesto entre 95 y 97% de agua, ello debido a que las EPS ligan una parte y el resto queda embebida dentro de canales, donde actúan como solvente de nutrientes y exoenzimas, se evita entonces el drenaje de células y otros efectos negativos de la pérdida de agua (Potts, 1994, como se citó en Hernández, 2010).

En la Tabla 3 se resumen las ventajas que aporta a la supervivencia bacteriana la formación de una biopelícula

Tabla 3: Funciones del biofilm bacteriano y su relevancia para la supervivencia bacteriana

| Función | Relevancia para el Biofilm | Componente de la matriz |
|-------------------------------------|---|--|
| Adhesión | Permite la unión inicial de células planctónicas a sustratos y la adhesión a lo largo del tiempo de todo el conjunto de biofilm | Polisacáridos, proteínas, Ácido dexociribonucleico (DNA) y moléculas anfifílicas |
| Agregación | Permite la formación de puentes entre células, la inmovilización temporal de poblaciones, el reconocimiento célula-célula y el aumento de la densidad celular | Polisacáridos. Proteínas y DNA |
| Barrera protectora | Confiere resistencia específica y no específica durante los procesos de infección y tratamientos antimicrobianos. | Polisacáridos y proteínas |
| Actividad enzimática | Permite la digestión de macromoléculas exógenas y la degradación de las EPS, dando lugar a la dispersión de células. | Proteínas y enzimas |
| Intercambio de información genética | Facilita la transferencia horizontal de material genético entre las células del biofilm | DNA |
| Reserva energética | Almacenan el exceso de carbono | Polisacáridos |

FUENTE: Adaptado por Hernández (2016) de Fleming y Wingender (2010)

2.2.6. Superficies en el procesamiento de alimentos y adhesión de biofilms

En general se afirma que los biofilms tienden a desarrollarse en superficies ásperas e hidrófobas (Rios, 2013). Adentuji y Isola (2011), como se citó en Hernandez (2016), estudiaron la formación de biofilms sobre madera, vidrio y acero inoxidable concluyendo que: por su porosidad la madera era el material más propenso a la formación de biofilms, en contraposición el vidrio al ser liso era el menos propenso. En el acero, se estudiaron los de calidad AISI 304 y AISI 316 que son los más usuales en industria alimentaria, se observaron que no eran inmunes al deterioro interviniendo también en la formación de biofilms factores como la presencia de ralladuras y el acabado (troquelado, pulido, revestimiento), observaron que en los mínimos puntos de acanalamiento del troquelado

ocurría adhesión bacteriana. En cuanto al pulido Schilliceberg y Yaron (2013) utilizando microscopía de fuerza atómica demostraron que los pulidos con alúmina o electropulido disminuían la adhesión de *S. Typhimurium* en cuchillas de corte respecto al pulido en arena o versus la muestra sin pulir. En la Figura 5 se aprecia un cupón de acero inoxidable (AISI 316) poblado por *L. Monocytogenes* (células en rosado) que se aloja justamente en los surcos del material.

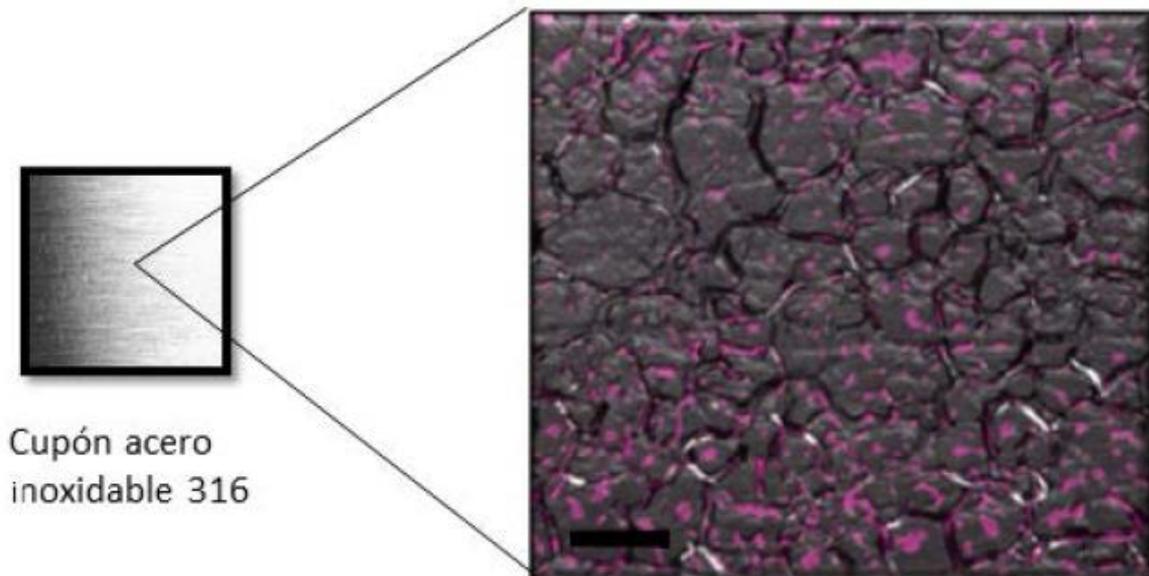


Figura 5: Microfotografía de biofilm de *L. Monocytogenes* en cupón de acero

FUENTE: Hernández (2016)

Otros factores a tomar en cuenta son la afinidad química a retener sustancias alimenticias orgánicas, como por ejemplo la leche que es un sustrato acondicionante común en teflón y acero. Asimismo, muchas bacterias tienen afinidad por las superficies hidrofílicas (Rios 2013). Es así que en la Tabla 4 se muestra la facilidad de formación de biofilms de *Legionella Pneumophila* en distintos materiales, la mayoría de estos presentes en la industria alimentaria tanto en equipos, infraestructura como vestimenta (guantes de látex).

Tabla 4: Facilidad de *Legionella Pneumophila* para la formación de biofilms en diferentes materiales

| FACILIDAD | MATERIAL |
|------------------|---------------------|
| Mínima | Vidrio |
| | Acero inoxidable |
| | Polipropileno |
| | PVC clorado |
| | PVC no plastificado |
| | Polietileno |
| | Etileno-propileno |
| Máxima | Latex |

FUENTE: Rogers *et al.* (1994) como se citó en Ríos (2013)

2.2.7. Impacto de los biofilms en la industria alimentaria

Actualmente se considera que la presencia de biofilms es la principal causa de contaminación en el producto final, lo que en consecuencia puede traer consigo pérdidas económicas por el rechazo del producto al no cumplir estadares microbiológicos mínimos o por disminución de la vida útil prevista para el alimento. Asimismo pueden generarse impactos de índole sanitaria de esta implicados microorganismos patógenos. (Piera, 2003).

Por otra parte, la presencia de biofilms en las superficies de una línea de porcesamiento de alimentos puede interferir en distintos procesos y causar daños a los equipos. En sistemas de transporte de fluidos puede obstruir las tuberías incrementando el gasto energético; así también, la formación de biofilms en intercambiadores de calor y torres de refrigeración pueden reducir la transferencia de calor y en consecuencia la eficiencia del proceso y un incremento de la probabilidad de desviaciones en la operación (Kurmand y Anad, 1998, como se citó en Téllez, 2010). Asimismo otros efectos negativos en el aspecto tecnológico, ligados a la presencia de biofilms son la oclusión de placas y membranas filtrantes en las industrias y de bebidas y la formación de biocorrosión por la generación de ácidos de un biofilm sobre una superficie metálica (Hernández, 2010), este último efecto se da por la acción metabólica de bacterias sulfato reductoras y depende también de las características de la superficie metálica a la que este adherida (Ramos, 2017). Otras bacterias también pueden estar implicadas en este problema, en general todas capaces de producir

III. METODOLOGÍA

3.1. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ALCALINO

3.1.1. Materiales

a. *Para la preselección de detergentes*

- Fichas técnicas (FT) y hojas de seguridad (MSDS) de los distintos detergentes a evaluar propuestos por el proveedor Neodeter.

b. *Para la prueba comparativa de detergentes en remoción de hongos en techos*

- Detergentes al evaluar: Neogras Remove Plus (formulado a base de: hidróxido de sodio, docecil bencil sulfonato de sodio, nonil fenol etoxilato y otros componentes) y Neofoam CLO2 Remove (formulado a base de: hidróxido de sodio, clorito de sodio, dodecil bencil sulfonato de sodio, nonil fenol etoxilato y otros componentes).
- Superficie a limpiar: techos de calamina con moho negro.
- Dosificador de espuma Lafferty de 20 Gal (USA)
- Compresor industrial de 7 Bar
- Hidrolavadora Katcher.
- Balde, jarra y cuchara para preparar la solución
- Escoba telescópica
- Cámara fotográfica

c. *Para la prueba de remoción de grasa de pescado en línea de congelados con Neogras Remove Plus*

- Detergente Neogras Remove Plus
- Equipo espumador Gloria de 5 L (Alemania)
- Compresor portátil de 3 bar
- Balde, jarra y cuchara para preparar la solución
- Mangueras para suministrar agua de enjuague
- Escobillas.

d. *Para la prueba de limpieza de moldes de horneado de acero y aluminio con Neogras Remove Plus*

- Detergente Neogras Remove Plus.
- Tina de acero inoxidable de 400 L con serpentín de calentamiento.
- Balde, jarra y cuchara para preparar la solución
- Escobilla y paño abrasivo.
- Cronómetro.

3.1.2. Métodos

a. Preselección de detergentes alcalinos

Se elaboró un cuadro comparativo con la información de las fichas técnicas (FT) y hojas de seguridad (MSDS) brindadas por el proveedor de los distintos detergentes de su línea evaluando criterios excluyentes, aquellos que descartan un detergente para ser usado en industria alimentaria y criterios de discernimiento que permiten diferenciar aspectos beneficiosos. En la Tabla 5 se presentan las características y criterios que se tomaron en cuenta. En los Anexos 1 y 2 se presentan las fichas técnicas de los detergentes Neogras Remove Plus y Neofoam CLO2 Remove respectivamente, estas fórmulas resultaron preseleccionadas acorde con los criterios de la Tabla 5.

Tabla 5: Criterios para pre-selección de detergente alcalino para la industria alimentaria

| CRITERIOS EXCLUYENTES | CRITERIOS NO EXCLUYENTES |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Tensioactivos no listados por el FDA (o no declarado)• Olor fuerte• Color fuerte• Nivel de espuma bajo o medio. | <ul style="list-style-type: none">• pH (>12 se considera más peligroso de manipular)• Biodegradabilidad parcial (Bio)• Poder desinfectante (CLO)• Inclusión de secuestrantes en la fórmula (Sec) |

b. Prueba comparativa de detergentes en remoción de hongos en techos

Para la evaluación se tomaron fotos del estado inicial y final del techo de calamina con hongos a limpiar; luego de la aplicación del protocolo de limpieza. Para cada detergente se preparó una solución al 5% usando agua a temperatura de ambiente y se aplicó en los techos por proyección de espuma con el equipo Lafferty (USA). Luego, se dejó actuar por 10 min la espuma, se restregó utilizando una escoba telescópica y se enjuago con agua a presión repasando dos veces con la hidrolavadora. Para la evaluación, se pidió al responsable de calidad de planta y 2 operarios de limpieza que escribieran en un papel que porcentaje (en base a múltiplos de 10%) de la superficie cubierta por los hongos les parecía, a simple vista, que había sido removida por cada detergente. Se reporta el promedio aproximado, en base a múltiplos de 10, de los porcentajes indicados por cada evaluador. En la Figura 7 se pueden visualizar los equipos utilizados en la prueba.

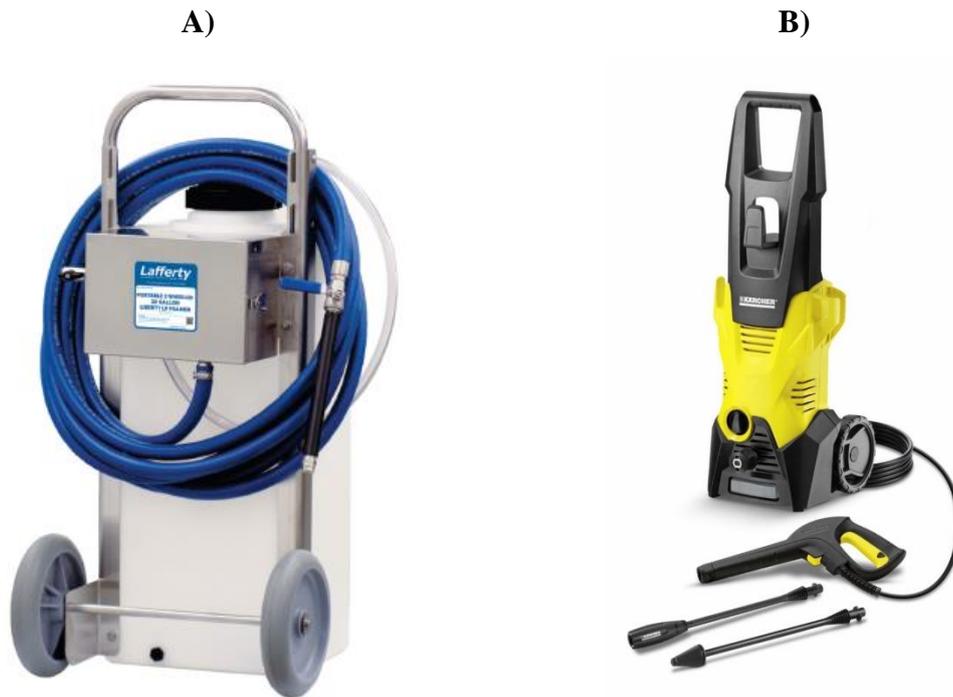


Figura 7. Equipos utilizados en prueba de remoción de hongos en techos con limpiadores alcalinos A) Dosificador de espuma Lafferty; B) Hidrolavadora

c. Remoción de grasa de pescado en línea de congelado

Se preparó una solución al 5% del detergente Neogras Remover Plus y se aplicó con un equipo de proyección de espuma en una sección de la superficie del soporte de una faja de transporte de pescado con una carga significativa de materia grasa. Luego de 10 min se realizó un escobillado en una mitad de la porción de superficie seleccionada y en la otra mitad no con fines comparativos. Se enjuagó el detergente utilizando mangueras a presión atmosférica.

La evaluación final fue táctil, la efectuaron tres evaluadores (responsable de calidad y 02 operarios de limpieza) quienes clasificaron el nivel de suciedad (grasa) según los criterios indicados en la Tabla 6.

Tabla 6: Niveles de suciedad (grasa) establecidos para evaluación de detergente alcalino en limpieza de fajas de transporte de pescado

| NIVEL DE SUCIEDAD | DESCRIPTOR (PERCEPCIÓN TÁCTIL) |
|--------------------------|--|
| Alto | La superficie es grasosa al tacto en la mayor parte (más del 50%) de su extensión. |
| Moderado | La superficie es grasosa al tacto en ciertas zonas de su extensión. |
| Bajo | La superficie no se siente grasosa al tacto en más del 90% de su extensión. |

Se reporta para la situación sin escobillado y con escobillado el descriptor más frecuente (2 de 3 o 3 de 3).

d. *Eliminación de suciedad adherida en moldes de panificación*

Se preparó una solución al 2% de Neogras Remover Plus con agua a 85 °C en tinas de acero inoxidable enchaquetadas. Luego se sumergieron los moldes de aluminio siendo estos retirándose 4 en tiempos de 05, 10, 12 y 15 min, posteriormente se sometieron a escobillado hasta remover la mayor parte de los restos de masa impregnada (el cliente tenía establecido un nivel de limpieza aceptable verificado visualmente) anotándose el tiempo promedio (03 moldes por cada tiempo de inmersión) en minutos para lograr esto, considerando una aproximación por exceso pasado los 30 s (0.5 min). En otra tina se preparó una solución de detergente con las mismas condiciones de concentración y temperatura y se sumergieron moldes de acero. Estos se retiraron a los 10 y 15 min y se sometieron a escobillado anotándose los tiempos promedios (nuevamente 03 moldes por cada tiempo de inmersión) necesarios para el restregado.

3.2. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ÁCIDO

3.2.1. Materiales

a. *Para la preselección de detergentes*

- FT y MSDS de detergentes propuestos por el proveedor

b. *Evaluación de detergente ácido en remoción de óxido en ganchos*

- Muestra de detergente Neofam Acid NT (detergente ácido a base de ácido nítrico, ácido alquil bencil sulfónico y otros componentes)
- Ganchos
- Balde de 20 L, jarras, vaso medidor.
- Cámara fotográfica.

c. *Evaluación de detergente ácido en remoción de óxido en mayólicas*

- Muestra de detergente Neofam Acid NT
- Equipo espumador Gloria de 5 L (Alemania)
- Esponja abrasiva
- Mayólicas con óxido
- Cámara fotográfica

3.2.2. Métodos

a. *Selección de detergente ácido*

En base a las fichas técnicas dadas por el proveedor se seleccionó aquellas que tuvieran como base más de un ácido (los detergentes solo a base de ácidos fuertes como el nítrico tienen mayores riesgos de manipulación) y presentaran tensioactivos biodegradables en su composición. Luego de esta preselección las formulaciones consideradas fueron:

- Neoacid 3339
- Neofeam Acid NT

Se elaboró un cuadro comparativo en base a las fichas técnicas de estos (véase Anexos 3 y 4) para evaluar las características técnicas de estos detergentes. Se observó que la mayoría de problemas de corrosión y formación que tenían los clientes eran en piezas de metales blandos (fierro negro, fierro dulce, cobre, etc.). Dado que solo el Neofeam Acid NT es compatible con estos materiales se seleccionó éste para la prueba de campo.

b. *Evaluación de detergente ácido en remoción de óxido en ganchos*

La evaluación del detergente ácido se llevó a cabo en una planta de cárnicos en la cual tenían problemas de óxido en ganchos móviles de colgado de canales. La pieza se mantuvo en inmersión por 15 min en una solución al 3% del detergente preparada con agua a 60 °C. Se hizo un escobillado de la pieza a los 7 min y al final del tratamiento.

Se tomaron fotos del estado antes y después del tratamiento de la rondana y se pidió al responsable de calidad de planta y 2 operarios de limpieza que escribieran en un papel que porcentaje (en múltiplos de 10%) de la superficie corroída les parecía, a simple vista, que había sido removida luego del tratamiento. Se reporta el promedio aproximado en base a múltiplos de 10% de los porcentajes indicados por cada evaluador.

c. *Evaluación del detergente ácido en remoción de óxido en mayólicas*

Se prepararon dos soluciones a concentraciones de 3 y 5 % de NEOFOAM ACID NT y se aplicaron con un equipo espumador en dos mayólicas fuertemente manchadas con óxido. Luego de 5 min de contacto se restregó con una esponja abrasiva para mejorar la remoción y finalmente se enjuagó con agua de red. Se tomaron fotos del estado inicial y final de las mayólicas.

3.3. APLICACIÓN DE BIOFINDER™ COMO DETECTOR DE BIOFILMS

3.3.1. Materiales

- **Biofinder™:** Es un spray detector rápido de biofilms compuesto por: blanqueantes oxigenados (peróxido de hidrógeno), tensioactivos aniónicos y no iónicos (alcoholes etoxilados) y fosfonatos. El reactivo se pulveriza sobre las superficies a evaluar y de haber presencia de biofilms ocurrirá formación de espuma producto de una reacción enzimática entre el peróxido presente en el reactivo y la enzima catalasa de los microorganismos catalasa positivos presentes en la superficie. En la Figura 8 se aprecia cómo se visualiza una reacción negativa y positiva con este producto.
- Guantes de latex
- Superficies de procesamiento de alimentos (industria cárnica, láctea y agroindustria)
- Paño para remover Biofinder™
- Cámara fotográfica

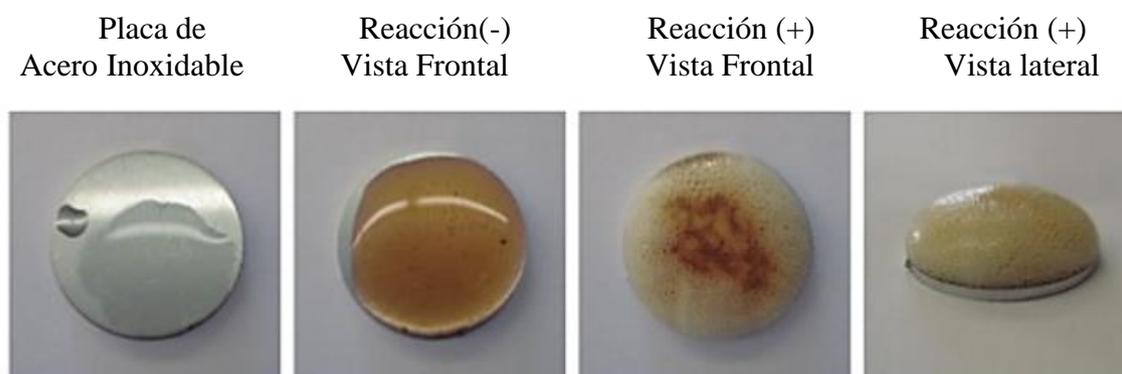


Figura 8: Reacción de Biofinder™ en placa de acero

En la Tabla 7 se presenta información declarada por el proveedor en su Ficha Técnica (véase Anexo 5) respecto a la composición y modo de aplicación de Biofinder™.

Tabla 7: Composición, modo de acción y frecuencia de aplicación recomendada de Biofinder™

| PRODUCTO/FUNCIÓN | COMPOCISIÓN | MODO DE APLICACIÓN/DOSIS | FRECUENCIA |
|--|--|--|--|
| BIOFINDER™: Reactivo para detección rápida de biofilms | Mezcla de fosfonatos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos y blanqueantes oxigenados. | Pulverizar el reactivo sobre la superficie a analizar (equipos, infraestructura, guantes). De haber presencia de biofilms se <u>formará una espuma blanca</u> copiosa en menos de 30 s y se mantendrá por 10 min. Límite mínimo de detección: 10⁴ cel/cm² | Semanal o incluso diaria. 500 ml de Biofinder rinde 100 análisis rápidos. |

En la Figura 9 se muestra la presentación en que se comercializa Biofinder™.



Figura 9: Presentación de Biofinder™

5.3.2. Métodos

Para la evaluación de Biofinder™ como detector de biofilms se propuso establecer una escala de calificación de limpieza de superficies, respecto a la presencia de biofilms, de 0 a 3 basada en la inmediatez en que ocurre la reacción y la copiosidad de la espuma formada, ya que estos factores están correlacionados con la densidad bacteriana que conforma el biofilm como lo comprobaron Álvarez *et al.* (2016). En la Tabla 8 se presenta los niveles de la escala establecida y los descriptores correspondientes a cada nivel.

Tabla 8: Escala de calificación de nivel de contaminación (formación de biofilm) de superficies según reacción con Biofinder™

| NIVEL DE CONTAMINACIÓN | PUNTAJE | DESCRIPTOR |
|-------------------------------|----------------|--|
| Alto | 0 | Reacción instantánea con Biofinder™, formación de espuma densa y copiosa inmediatamente luego de la aplicación |
| Medio | 1 | Reacción observable antes de 30 segundos de haber aplicado Biofinder™, espuma dispersa y copiosa |
| Bajo | 2 | Reacción observable luego de más de 30 segundos de haber aplicado Biofinder™, espuma dispersa poco copiosa. |
| Muy bajo | 3 | No se observa formación de espuma luego de 1 min de haber aplicado Biofinder™. |

Teniendo como base esta escala se procedió a evaluar distintas superficies (equipos, mesones, utensilios, pisos, paredes, etc.) de distintos materiales (acero, fierro, cemento, plástico, poliuretano, etc.) en 03 líneas tipos de líneas de proceso distintas:

- Plantas de procesamiento de cárnicos (embutidos, lonjeados, avícolas, etc.).
- Plantas de procesamiento agroindustrial (espárrago, palta).
- Plantas de procesamiento de lácteos.

Se registró el tipo de superficie o equipo, la calificación obtenida según la escala indicada en la Tabla 8 y la fotografía de esta luego de la aplicación de Biofinder™.

3.4. EVALUACIÓN DE BIOJET+ENZYJET™ COMO REMOVEDORES DE BIOFILMS EN SUPERFICIE DE PROCESAMIENTO DE QUESOS

3.4.1. Materiales

- **Biojet+Enzijet™:** Mezcla formulada a base de enzimas (α -amilasa, proteasas, lipasas y ribonucleasas) y tensioactivos biodegradables espumantes (subtilisina y otros) diseñada para la remoción de biofilms en superficies abiertas.
- Detergente en polvo industrial
- Hipoclorito de sodio
- Dosificador de espuma Gloria 5 L (Alemania)
- Biofinder™
- Vaso medidor, jarras y baldes.
- Mangueras

En la Tabla 9 se resumen, en base a la FT del producto (véase Anexo6), la composición, modo de aplicación y frecuencia recomendada de aplicación de estos.

Tabla 9 Composición, modo de aplicación y frecuencia recomendada de uso de los removedores enzimáticos Biojet+EnzyJet™

| PRODUCTO/FUNCIÓN | COMPOCISIÓN | MODO DE APLICACIÓN/DOSIS | FRECUENCIA |
|--|---|---|--|
| BIOJET+ENZYJET™: Mezcla enzimática espumante (para superficies abiertas) | BIOJET™: Enzimas y estabilizantes. | Aplicar con <u>equipo espumador</u> luego del aclarado del detergente convencional. Diluir en agua entre <u>45 y 55°C</u> (óptimo de las enzimas) mezclando | Tratamiento curativo: 3 a 5 días consecutivos. |
| | ENZYJET™: tensioactivos neutros y biodegradables, secuestrantes y estabilizantes | <u>BIOJET™ y ENZYJET™</u> a dosis de <u>2 y 10 ml/L</u> respectivamente. Mantener un tiempo de contacto de <u>15 min.</u> | Tratamiento Preventivo: Quincenal. |

En la Figura 10 se muestra la presentación en que se distribuyen estos removedores.



Figura 10: Removedores enzimáticos Biojet+Enzyjet™

3.4.2. Métodos

Se realizó en la Planta Piloto de Leche de la UNALM. Se seleccionó como superficie de estudio el desfogue de la cuba quesera ya que dio una reacción claramente positiva al aplicar Biofinder™.

Para la evaluación de los removedores enzimáticos se incluyó en el protocolo de higienización un paso intermedio de remoción de biofilms quedando este procedimiento como se presenta en la Tabla 10.

Tabla 10: Protocolo de limpieza de cuba quesera de la PPL con adición de la etapa de limpieza enzimática

| ETAPA | QUÍMICO | DOSIS | MODO DE APLICACIÓN |
|--|--------------------------------|---------------------------------|---|
| Enjuague Limpieza alcalina | Detergente industrial en polvo | 2% | Aplicación con paños y esponjas |
| Enjuague Limpieza enzimática | Biojet+EnzyJet™ | Biojet™: 0.2% Enzyjet™: 1.0% | Dilución en agua a 45 y 55 °C, aplicación con equipo dosificador de espuma y tiempo de contacto de 15 min |
| Enjuague Desinfección | Hipoclorito de sodio | 200 ppm | Pulverización. Tiempo de contacto 10 min. |

Luego de haber realizado el protocolo de limpieza se evaluó la presencia de biofilms mediante la aplicación de Biofinder™ asignando la calificación correspondiente según lo establecido en la Tabla 8. La aplicación del protocolo de limpieza indicado en la Tabla 10 y posterior verificación de la presencia de biofilm con Biofinder™ se realizó en días consecutivos hasta que la superficie obtuviera una calificación de 3 (no se forma espuma al aplicar Biofinder™). Se llevó un registro fotográfico de cada evaluación.

3.5. EVALUACIÓN DE REMOVEDORES ENZIMÁTICOS BIOCIP+TENSIOCIP™ EN LA REMOCIÓN DE BIOFILMS EN LÍNEA DE PASTEURIZACIÓN DE LECHE

3.5.1. Materiales

- ***Biocip+Tensiocip™***: Mezcla formulada a base de enzimas ((α -amilasa, proteasas, lipasas y ribonucleasas) y tensioactivos biodegradables (péptidos) no espumantes diseñada para la remoción de biofilms en circuitos cerrados (CIP).
- Ácido nítrico 2%
- Soda caustica 5%
- Agua a 50, 72 y 90 °C
- Sección de circuito de pasteurización de leche.
- Placas Petrifilm para Bacterias Aerobias Mesófilas, Coliformes, Mohos y Levaduras.
- Hisopo, gel refrigerante, cámara térmica para muestras, incubadora.

En la Tabla 11 se resume, en base a la FT del producto (véase Anexo 7), la composición y modo de aplicación de los removedores Biocip+Tensiocip™ declarada por Itram Higiene.

Tabla11: Composición, modo y frecuencia de aplicación de Biocip+Tensiocip™

| PRODUCTO/FUNCIÓN | COMPOCISIÓN | MODO DE APLICACIÓN/DOSIS | FRECUENCIA |
|--|--|---|--|
| BIOCIP+TENSIOCIP™: Mezcla enzimática no espumante (para circuitos CIP) | BIOCIP™: Enzimas y estabilizantes. TENSIOCIP™: tensioactivos neutros y biodegradables, secuestrantes y estabilizantes | Luego del aclarado del detergente ácido, preparar en un tanque pulmon una solución de BIOCIP y TENSIOCIP™ a dosis de <u>0.5 y 2 ml/L</u> de agua respectivamente. Recircular a 45-55°C por 30 min. | Tratamiento curativo: 3 a 5 días consecutivos. Tratamiento Preventivo: Quincenal o semanal. |

En la Figura 11 se muestra la presentación de los removedores Biocip+Tensiocip™.



Figura 11: Presentación de Removedores Biocip+Tensiocip™

3.5.2. Métodos

La evaluación de los removedores enzimáticos Biocip y Tensiocip™ se realizó en el circuito de pasteurización de leche de la PPL-UNALM, en la Figura 12 se muestra un esquema de esta línea de procesamiento.

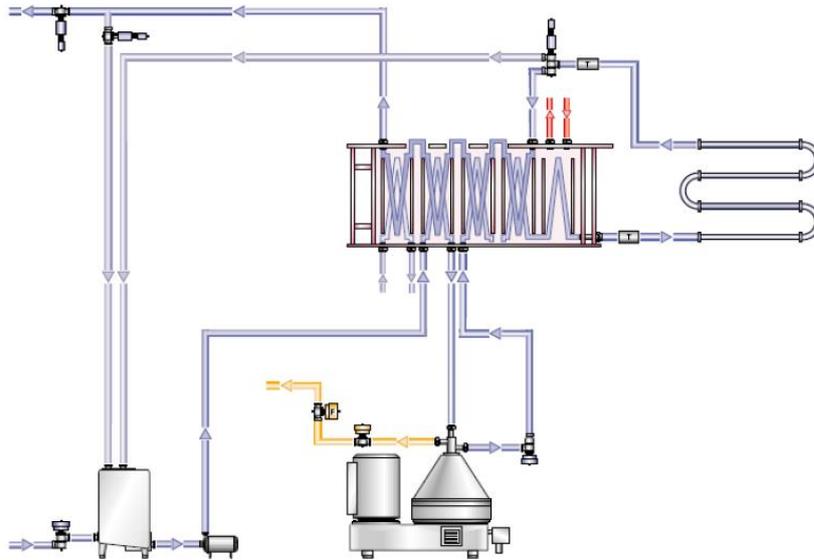


Figura 12. Esquema del circuito corto de pasteurización de la planta de leche de la UNALM

La porción del circuito que se evaluó (higienizó) fue aislada cerrando y abriendo valvulas. Esta inicia en un tanque pulmón desde donde se bombean las soluciones de limpieza las que se circulan hacia los siguientes equipos: homogenizador, pasteurizador de placas y tubo de retención, el cual da a la embolsadora. El circuito de pasteurización cuenta con un sistema de regeneración del calor en el cual se recircula la leche pasteurizada para usarla como fluido de pre-calentamiento; asimismo este sistema permite el uso de la leche fría como fluido para el pre-enfriamiento de la leche pasteurizada. La higienización del sistema se realizó aplicando el protocolo descrito en la Tabla 12 el cual corresponde al protocolo habitual de higienización incrementando el paso de la limpieza enzimática.

Para la evaluación de la mezcla de removedores enzimáticos Biocip+Tensiocip™ se aplicó el protocolo descrito en días consecutivos y se realizó muestreos microbiológicos antes de

Tabla 12: Protocolo de limpieza de circuito de pasteurización de la planta de leche La Molina con etapa adicional de limpieza enzimática.

| ETAPA | QUÍMICO | TEMPERATURA (°C) | TIEMPO (min) |
|---------------------|---|-----------------------------|---------------------|
| Enjuague | Agua | 20 | 15 |
| Lavado alcalino | Soda caustica (5%) | 72 | 20 |
| Enjuague | Agua | 20 | 15 |
| Lavado ácido | Ácido nítrico (2%) | 72 | 20 |
| Enjuague | Agua | 20 | 15 |
| Limpieza Enzimática | Biocip™ (0.05%)+ Tensiocip™ (0.25%) | 50 | 15 |
| Enjuague | Agua | 20 | 10 |
| Esterilización | Agua | 90 | 15 |

la limpieza enzimática y después de la desinfección cada día de evaluación. Se consideró hacer muestreos mediante hisopado en dos puntos (codos) del circuito; uno antes del pasteurizador (P1) y otro después del pasteurizador (P2).

Los análisis microbiológicos fueron realizados por el laboratorio de control de calidad de la PPL, estos fueron: bacterias aerobias mesófilas viables (BAMV), coliformes (Col) y mohos y levaduras (M y L) se llevaron a cabo mediante los procedimientos indicados en la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas (MINSA 2017) aprobada por RM 461-2007/MINSA. La aplicación de los removedores enzimáticos se realizó en días consecutivos hasta obtener conteos inferiores a 10 ufc/ hisopo que corresponde al parámetro establecido por la mencionada Guía Técnica.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ALCALINO

En la Tabla 13 se presenta la evaluación que se hizo a partir de las FT de los detergentes propuestos por el proveedor para ser distribuidos por PISAPIGS SA.

Tabla13: Matriz de preselección de detergentes alcalinos.

| DETERGENTE | Criterios excluyentes | | | | Criterios no excluyentes | | | |
|------------------------|-----------------------|----------------|-----------------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Espuma | Olor | Color | FDA | pH | CLO | Bio | Sec |
| Biolavajilla H7 | Media-Alta | Neutro | Verde | Si | 7.0+/-0.5 | No | Sí | No |
| Neoclean LV | Media-Alta | lavanda | Celeste | No | 8.5+/-0.5 | No | Sí | No |
| Neodegreaser | Media | Frutal | Rosado | No | 8.5+/-0.5 | No | Sí | No |
| Neofoam CLO2 | Muy alta | Neutro | Neutro | Si | 12.5+/-0.5 | Sí | No | Sí |
| Neogras CF 40 | Media | Neutro | Neutro | Si | 9.0+/-0.5 | No | Sí | Sí |
| Neogras remover | Alta | Neutro | Neutro | Si | 12+/-0.5 | No | Sí | Sí |
| Neorol CT | Media-Alta | Cítrico | Amarillo | No | 12.5+/-0.5 | No | Sí | Sí |
| Neosep CLO2 | Baja | Neutro | Neutro | No | 12+/-0.5 | Sí | No | Sí |

Rojo: Criterio excluyente incumplido

Amarillo: No incumple ningún criterio excluyente

Como se verifica en la Tabla 13 varios de los detergentes fueron descartados por no tener un nivel medio-alto o alto de espuma ya que se deseaba implementar los protocolos incluyendo el uso de dosificadores de espuma los cuales son equipos que requieren detergentes espumantes y a dosis de 3 a 5% (Zusatz y Monlahuc, 2002). Por otra parte, algunos contenían olores o colores fuertes los que son inadecuados para línea de proceso ya que podrían impregnarse al alimento constituyendo una contaminación química (Valencia y Arroyo, 2014, como se cita en Arias, 2018). Finalmente, algunos de los detergentes no indicaban en la ficha técnica que los tensoactivos que los constituían fueran listados por el FDA lo que no permite asegurar su categoría de Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS), por lo que no era

conveniente su distribución. En base a lo anterior dicho y según la información presentada en la matriz se concluye que los detergentes que reúnen características adecuadas para ser aplicados en industria alimentaria son Neogras Remove Plus y Neofoam CLO2 Remove.

Luego de haber realizado la preselección de detergentes alcalinos a nivel documentario se procedió a realizar una prueba comparativa de eficacia en una empresa productora de vinos la cual tenía problemas de formación de hongos en los techos de calamina de su sala de fermentación, ello debido al constante flujo de humedad en el área. Se aplicaron los detergentes Neogras Remove Plus y Neofoam CLO2 Remove en espuma mediante los procedimientos descritos en el punto b del subcapítulo 5.1.2. del presente reporte. En la Tabla 14 se presentan las fotos del estado antes y después de la aplicación de los limpiadores evaluados y el nivel de remoción según la apreciación del personal de calidad y limpieza de la empresa donde se realizó el trabajo.

Tabla 14: Matriz comparativa y resultados de evaluación de detergentes alcalinos

| MATRIZ COMPARATIVA | |
|---|--|
| TIPO: ALCALINO ESPUMANTE | |
| NEOGRAS REMOVE PLUS | NEOFOAM CLO2 REMOVE |
| <ul style="list-style-type: none"> • Formulado a base de: hidróxido de sodio, docecil bencil sulfonato de sodio, nonil fenol etoxilato y otros componentes • Nivel de espuma: Alta • Sin acción desinfectante. • % Alcalinidad: 13 +/- 1 • Formulado con tensioactivos biodegradables • Incluye aditivos inhibidores de corrosión | <ul style="list-style-type: none"> • Formulado a base de: hidróxido de sodio, clorito de sodio, docecil bencil sulfonato de sodio, nonil fenol etoxilato y otros componentes • Nivel de espuma: Muy alta • Acción desinfectante (mínimo 16000 ppm de oxiclors) • % Alcalinidad: 11 +/- 0.1 • No indica en la FT la presencia de tensioactivos biodegradables. |

Continuación

Prueba comparativa: **Remoción de hongos en techos de calamina**

Dosis: 5%, Método de aplicación: Espuma (Equipo Lafferty), Tiempo de contacto: 10 min

Se restregó con escoba telescópica y se enjuagó con agua a presión.

Enjuague: 2 repasos con hidrolavadora

NEOGRAS REMOVER PLUS

NEOFOAM CLO2 REMOVER

Estado inicial



Estado luego de la aplicación:



Conclusión: Neogras Remover Plus tuvo una mejor acción removedora (un **90%** del moho adherido) y se pudo enjuagar con facilidad. Neofoam CLO2 Remover elimino un **50%** del moho adherido y requirió más agua de enjuague. Por lo que se recomendó la primera formula mencionada para la remoción de hongos en techos de calamina.

Al realizar la comparación de los detergentes en base solo a la información de las fichas técnicas y hojas de seguridad, se podría pensar que la fórmula Neofoam CLO2 Remover es

la más conveniente dado que cuenta también con función desinfectante; sin embargo, esto no es necesariamente así ya que los detergentes-desinfectantes son menos efectivos que sus componentes por separado por el hecho de que parte de la materia orgánica de la suciedad absorbe el desinfectante por lo que este tipo de productos es recomendado solo para la limpieza de suciedades ligeras (Forsythe y Hayes, 2002), el cual no es el caso. Los resultados de la prueba de campo muestran que la fórmula detergente denominada Neogras Remove Plus tuvo un mejor efecto removedor que la denominada Neofam CLO2 Remove. Considerando que los componentes detergentes básicos de las dos formulaciones son los mismos al parecer la principal variación en cuanto a tensioactivos de una formulación a otra es la proporción de hidróxido de sodio que en el Neogras Remove Plus ha de ser mayor por lo que es superior en 2 puntos de alcalinidad a la otra fórmula (véase los Anexos 1 y 2). Herrera (2016) indica que el hidróxido de sodio tiene un alto poder detergente al solubilizar proteínas y grasas por hidrólisis y peptidización respectivamente, ello pudo redundar en una mejor efectividad en este tipo de suciedad ya que las micelas fúngicas son básicamente proteicas. Por otra parte, la fórmula clorada al tener un mayor nivel de espuma requería un mayor gasto agua de enjuague, esto es indeseable según lo manifiesta Villatoro (2008) quien indica que algunos limpiadores como la soda, ciertos ácidos y microbicidas fuertes tienen efecto tóxico y de no enjuagarse con facilidad constituirían un peligro químico a la producción. Al parecer esta fórmula presentaba una mayor proporción de Nonil-fenol etoxilato ya que según Forsythe y Hayes (2012) este componente tiene una enjuagabilidad “regular” inferior a la del dodecil-bencil sulfonato de sodio (el otro componente de la formulación).

En base a la prueba anterior, se decidió probar Neogras Remove Plus en otras aplicaciones para conocer su eficacia con distintos tipos de suciedad. En este sentido, según se describió en el capítulo de metodología, se evaluó la eficacia de este detergente en remoción de grasa de pescado en una línea de congelados de un cliente de PISAPIGS SA. Los descriptores para presencia de grasa luego de la aplicación del detergente con y sin escobillado se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15: Resultados prueba de remoción de grasa de pescado con Neogras Remover Plus con y sin escobillado

| | |
|--|-------------------------------|
| <p>Detergente evaluado: NEOGRAS REMOVER PLUS Condiciones de aplicación: Dosis de 5% aplicado en espuma con un tiempo de contacto de 10 min.</p> | |
|  | |
| <p>Nivel de grasa luego de la aplicación</p> | |
| <p>Con Escobillado</p> | <p>Sin Escobillado</p> |
| <p>Bajo</p> | <p>Moderado</p> |

Según lo reportado en la Tabla 15 la sola aplicación de Neogras Remover Plus en espuma y enjuagado sin escobillado logra una reducción importante (a un nivel moderado) de la carga de grasa sobre la línea de procesamiento de pescado. Como indican Abusada y Calderón (2017) para el caso de la limpieza en espuma el factor acción química explica el 75% de la eficacia del procedimiento. Asimismo, la FAO recomienda el uso de detergentes fuertemente alcalinos con base cáustica, como Neogras Remover Plus, para la remoción de suciedad proteica y grasa en industrias pesqueras (Huss, 1997). Se observa también que la aplicación de un buen escobillado lleva el nivel de limpieza a casi una ausencia de presencia de grasa sobre la superficie de lo cual se desprende que a pesar de la eficacia del químico no se puede prescindir de la acción mecánica para esta operación.

La eficacia de Neogras Remover Plus fue también evaluada en moldes de panificación de aleación de acero y aluminio. El cliente tenía el inconveniente de una excesiva inversión de

mano de obra en restregar moldes, por molde podía tardar de 5 a 7 min hasta remover la masa pegosteada y habilitar estos para su uso. Como se describió en el capítulo de metodología, los moldes se sumergieron por distintos tiempos en una solución caliente al 2% de Neogras Remove Plus. En la Figura 13 se presentan los tiempos de restregado necesarios para obtener una superficie limpia en función del tiempo de inmersión en la solución de detergente.

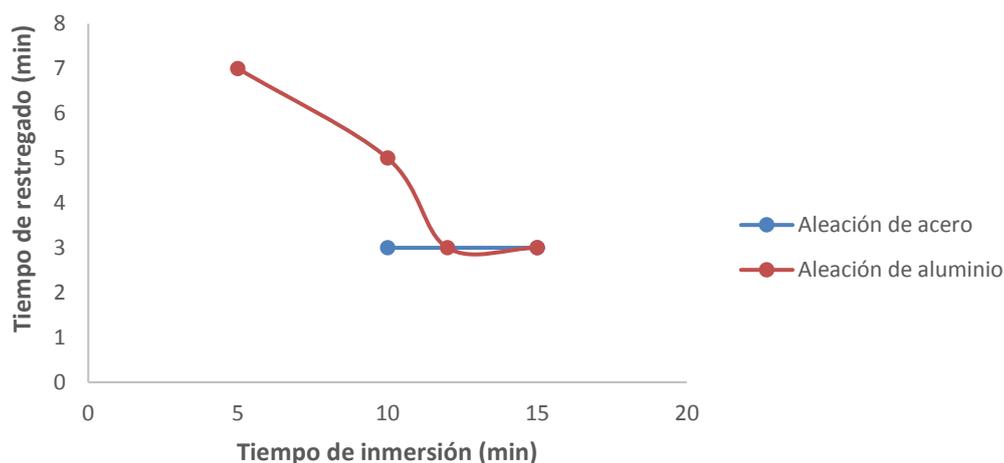


Figura 13: Tiempo de restregado para obtener moldes de acero y aluminio limpios vs. tiempo de inmersión en solución al 2% de Neogras Remove Plus

La evaluación experimental permitió determinar que para el caso de los moldes de aleación de aluminio el mayor tiempo de inmersión, hasta los 12 min, facilitaba la remoción de la masa pegosteada en el molde disminuyendo el tiempo necesario para su restregado. Ello es coherente con lo indicado con Zusantz y Montahuc (2002) quienes indican que el tiempo es uno de los cuatro factores que influyen en la eficacia de la limpieza, pudiendo ser este en el caso de lavados por inmersión de unos minutos a algunas horas, siendo que para el caso de limpieza por remojo este factor es el de mayor importancia (casi un 80%) para garantizar la eficacia de la limpieza (Abusada y Calderón, 2017). En el caso de los moldes de acero se observó que a los 10 y 15 min de inmersión el nivel de adherencia era similar lo que podría significar que a los 10 min es tiempo suficiente para que actúen los componentes humectantes del detergente Neogras Remove Plus por lo que el nivel de mojado o “ablandado” de la suciedad no incrementa con el tiempo a partir de este punto.

4.2. SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE DETERGENTE ÁCIDO

En la Tabla 16 se presenta la matriz comparativa al respecto de los detergentes ácidos Neofoam Acid NT y Neoacid 3339 y la prueba de evaluación de eficacia del primero en remoción de óxido en ganchos de colgado de canales bovinos.

Tabla 16: Matriz comparativa de detergentes ácidos y resultados de prueba de remoción de óxido en ganchos con Neofoam Acid NT

| MATRIZ COMPARATIVA | |
|---|--|
| TIPO: ÁCIDO ESPUMANTE | |
| NEOFOAM ACID NT | NEOACID 3339 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Contiene como base mezcla de ácido fosfórico y ácido nítrico. • Acidez como H₃PO₄: 42-48% • Compatible con: acero inoxidable, aluminio cobre y bronce. • Efecto pasivante en acero y aluminio. • Nivel de espuma: Alto | <ul style="list-style-type: none"> • Fórmula basada solo en ácido fosfórico. • Ácidez con H₃PO₄: 40-50% • Compatible solo con acero inoxidable. • No presenta efecto pasivante • Nivel de espuma: Medio |
| <p><i>Criterio de selección de detergente:</i> El cliente deseaba probar solo una formulación por lo que en base a los datos de las FT se seleccionó el detergente Neofoam Acid NT ya que es compatible con una mayor variedad de materiales y se observó en la mayoría de clientes visitados que mantenían varias estructuras construidas en hierro. Por otra parte, este detergente presenta un efecto pasivante que retarda la reaparición del óxido lo que permite una mejor higiene y mayor ahorro al cliente. Luego de seleccionar este detergente se procedió a una prueba de campo para evaluar su eficacia como desincrustante.</p> | |

Continuación

Prueba de campo: **Remoción de óxido en ganchos de colgado de canales**

Condiciones de aplicación:

Dosis: 3%, Método de aplicación: Inmersión en agua a **60 °C x 15 min**

Luego del remojo se realizó un escobillado y se enjuagó con agua.

Estado inicial



Estado luego de tratamiento



Conclusión: Neof foam Acid NT removió aproximadamente un **40%** del óxido del gancho en que se probó. Dado que prácticamente todos los ganchos presentaban un estado similar, totalmente oxidado, al utilizado en la prueba se recomendó aplicaciones sucesivas en 2 a 3 días consecutivos para remover el óxido a un nivel casi total.

El análisis a nivel de fichas técnicas concluyo en la selección del detergente Neof foam Acid NT, ya que esta fórmula a diferencia de la denominada Neoacid 3339, posee efecto pasivante en aluminio y acero inoxidable debido a la presencia de ácido nítrico en su formulación (Vicent, 2002), este efecto se debe a que al reaccionar el ácido nítrico con el cromo del acero o el aluminio forma una capa de óxido que previene el ataque de la

superficie pasivada por otras sustancias químicas que generen corrosión (Castillo, 2012). Además, la formulación seleccionada es menos agresiva con metales blandos (hierro, cobre, plata) y puede aplicarse en estos según indica su ficha técnica (véase Anexo 3), lo que es un beneficio importante ya que en las industrias alimentarias en Perú aún hay muchas plantas de procesamiento en las que el acero inoxidable no se ha implementado en su totalidad como principal material de las superficies de procesamiento metálicas. El método seleccionado para el tratamiento de la pieza, inmersión en agua a 60 °C, es adecuado ya que para este tipo de tratamientos de decapado García (2014) indica que la inmersión es el método más eficiente para remoción de corrosión ya que se cubre toda la superficie de la pieza, usando ácido fosfórico se recomiendan dosis de 5 a 20% a temperaturas de 50 a 60 °C, en el ensayo realizado se aplicó una dosis menor ya que la formulación incluía ácido nítrico que es un ácido más fuerte.

El resultado de la prueba de campo fue una remoción parcial del óxido (aproximadamente un 40% del total que había en la superficie), ya que la carga de éste en la pieza era demasiada y llevaba bastante tiempo de haberse formado. Por otra parte, la naturaleza del metal utilizado y las condiciones ambientales del medio son los dos factores con mayor influencia en la ocurrencia de corrosión química (García, 2014). Y en este caso en particular la pieza era de hierro, un metal blando, y el ambiente mantenía una humedad relativa alta (80-90%) al tratarse de una planta de cárnicos. Por lo que para una remoción de más del 50% del óxido sería pertinente más de una aplicación que fue lo que se recomendó al cliente.

Se planteó realizar una prueba más de evaluación. Esta se llevó a cabo en las instalaciones de un cliente que procesa harina de pescado y, por su cercanía al mar y la existencia de muchas estructuras de hierro expuestas, tenía problemas de formación de sarros en mayólicas. Se aplicó Neofoam acid NT en espuma a dosis de 3 y 5%, fotos del antes y después de la limpieza se presentan en la Tabla 17.

Tabla 17: Resultados de remoción de sarros en mayólicas de planta pesquera con Neofam Acid NT

| Producto evaluado: NEOFOAM ACID NT Condiciones de aplicación: Dos dosis evaluadas :3 y 5; la aplicación se hizo en espuma con un tiempo de contacto de 5 min y restregado con paño abrasivo | | |
|--|---|--|
| Dosis | ANTES | DESPUÉS |
| 3% |  |  |
| 5% |  |  |

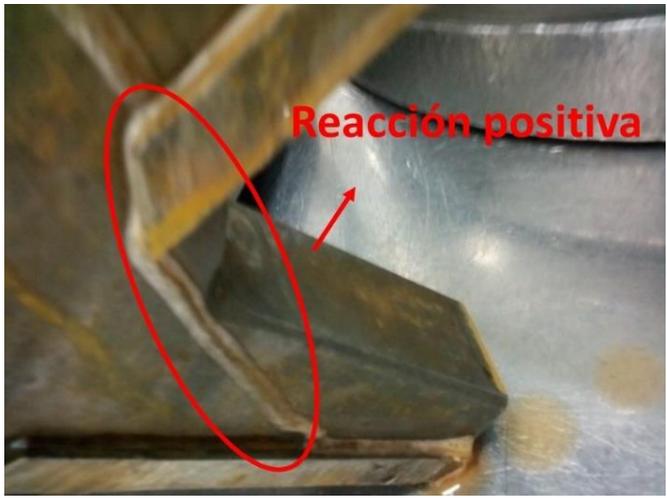
Según se reporta y verifica en las fotos presentadas en la Tabla 17 la remoción del sarro en las mayólicas evaluadas fue casi total para las dos concentraciones evaluadas. La suciedad

a remover en esta prueba incluía probablemente y según la clasificación propuesta por Marriot (2003) depósitos de aguas duras compuestos por carbonatos de calcio y magnesio y; herrumbre ordinaria, es decir óxidos generados por la interacción entre la humedad y las superficies de hierro, los que podían hallarse en distintas secciones de la planta ya que al ser una industria pesquera la humedad era alta y la formación de incrustaciones y corrosión eran significativas. Para este tipo de incrustaciones se recomienda el uso de detergentes basados en ácido fosfórico y/o nítrico, que fue el tipo aplicado, por su efecto solubilizante, por otra parte, superficies inertes como el vidrio y la mayólica son de más fácil limpieza (Hyginov, 2006). En suma, el efecto limpiador fue bueno para las dos dosis evaluadas considerando que el sarro estaba incrustado un buen tiempo. Por otra parte, la aplicación en espuma permite que el detergente tenga mayor tiempo para solubilizar la incrustación disminuyendo el gasto de este y facilitando la remoción y dado que la espuma formada fue copiosa y estable (no hubo coalescencia prematura) se recomendó al cliente la dosis de 3% por razones económicas; además según el proveedor esta es la concentración mínima para formar una espuma estable por lo que dado que se demostró la eficacia de esta dosis para esta aplicación se considera como la óptima.

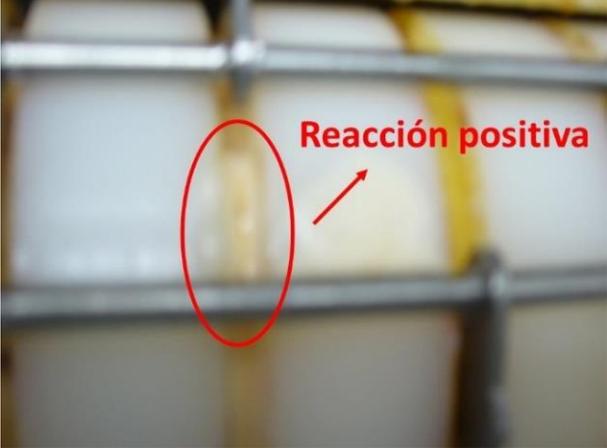
4.3. EVALUACIÓN DE BIOFINDER™ COMO DETECTOR DE BIOFILMS

En las Tablas 18, 19 y 20 se presenta los resultados obtenidos al aplicar Biofinder™ en distintas superficies de líneas de procesamiento de cárnicos (embutidos, lonjeados, cortes de carne, entre otro), lácteos (queso, helados y yogurt) y agroindustria (palta, espárrago).

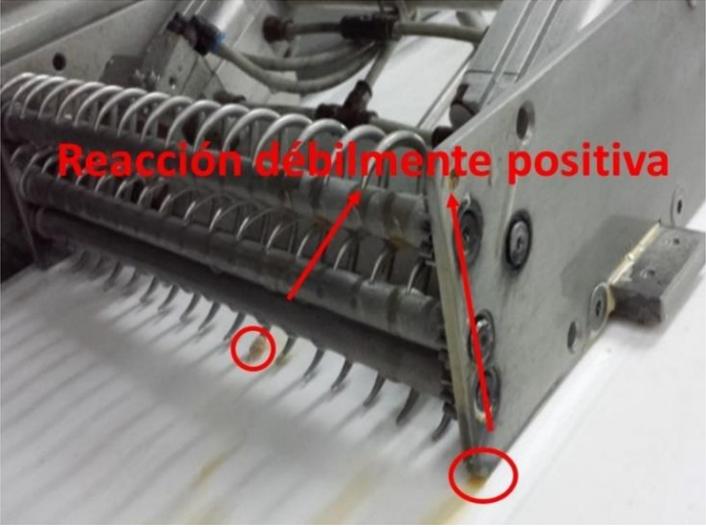
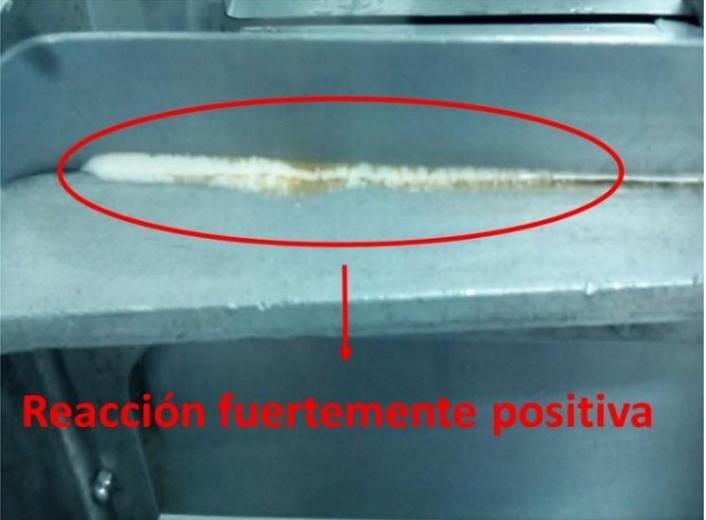
Tabla 18: Detección de biofilms con Biofinder™ en distintas superficies de industrias cárnicas

| SUPERFICIE | PTJ. | FOTO |
|---|------|--|
| Borde de disco de moledora de carne | 1 |  |
| Rosca de cuerpo de moledora de carne | 1 |  |
| Bordes de cuchilla de moledora de carne | 1 |  |

Continuación

| | | |
|---|----------|---|
| <p>Empalme de bowl a cuchillas de cuter</p> | <p>1</p> |  <p>Reacción positiva</p> |
| <p>Transportador de cortes de carne</p> | <p>1</p> |  <p>Reacción positiva</p> |
| <p>Esquina de mesa de picado de carne</p> | <p>0</p> |  <p>Reacción fuertemente positiva</p> |

Continuación

| | | |
|------------------------------------|---|---|
| Impulsador de moldes de carne | 2 |  <p>Reacción débilmente positiva</p> <p>Detailed description: A close-up photograph of a metal meat mold pusher mechanism. The device features a series of curved metal rollers. Two red circles highlight specific areas on the rollers, and two red arrows point to them from the text 'Reacción débilmente positiva' (Weakly positive reaction) located above the rollers.</p> |
| Prensa de plástico | 2 |  <p>Reacción débilmente positiva</p> <p>Detailed description: A close-up photograph of a plastic press mechanism. A white plastic block is being processed. Three red circles highlight areas of yellowish residue or discoloration on the plastic. Two red arrows point to these areas from the text 'Reacción débilmente positiva' (Weakly positive reaction) located above the plastic.</p> |
| Borde de lonjeadora de carne | 0 |  <p>Reacción fuertemente positiva</p> <p>Detailed description: A close-up photograph of the edge of a metal meat trimmer. A red oval highlights a significant amount of yellowish residue or discoloration along the edge. A red arrow points down from the oval to the text 'Reacción fuertemente positiva' (Strongly positive reaction) located below the trimmer.</p> |

Continuación

| | | |
|---|----------|---|
| <p>Esquina de tolva de recepción de lonjas</p> | <p>2</p> |  <p>Reacción débilmente positiva</p> |
| <p>Empalmes de acero en bordes de puertas de cámaras de zonas de frío</p> | <p>1</p> |  <p>Reacción positiva</p> |

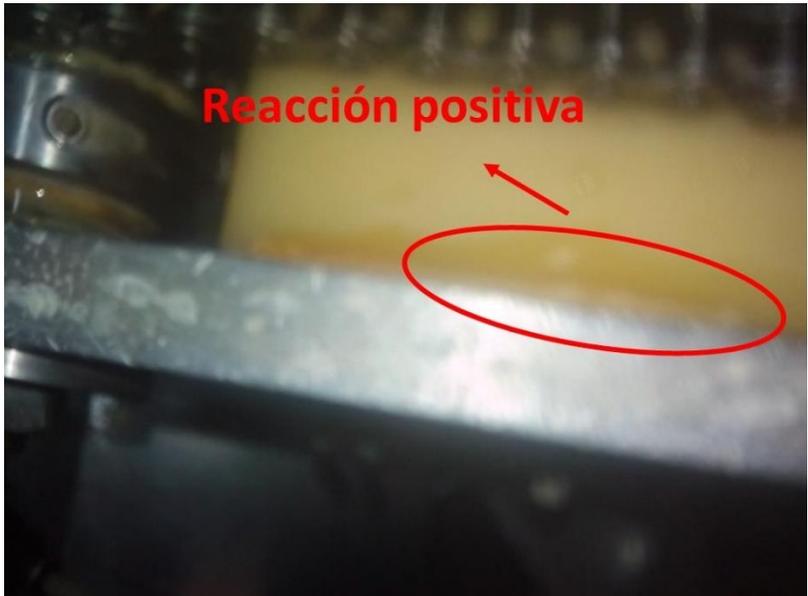
Tabla 19: Detección de biofilms con Biofinder™ en distintas superficies de industrias lácteas

| SUPERFICIE | PTJ. | FOTO |
|------------------------------------|------|--|
| Esquina de mesa de corte de quesos | 1 |  |
| Salida de cuba quesera | 0 |  |

Continuación

| | | |
|--|----------|--|
| <p>Salida de marmita de mezcla de yogurt</p> | <p>1</p> |  <p>Reacción positiva</p> |
| <p>Manija de cuba quesera</p> | <p>0</p> |  <p>Reacción fuertemente positiva</p> |

Tabla 20: Detección de Biofilms con Biofinder™ en distintas superficies de plantas agroindustriales (procesamiento de palta y espárrago)

| SUPERFICIE | PTJ. | FOTO |
|--|------|--|
| Emplame tolva a eje de pulpeadora de palta | 2 |  <p>Reacción débilmente positiva</p> |
| Bordes de riel a faja transportadora | 1 |  <p>Reacción positiva</p> |

Continuación

| | | |
|-----------------------------|---|--|
| Ranuras en el piso | 1 |  <p>Reacción positiva</p> |
| Esquinas de jabas plásticas | 0 |  <p>Reacción fuertemente positiva</p> |

La experiencia desarrollada permitió ampliar conocimientos en cuanto a la problemática de los biofilms en la industria alimentaria peruana. Este riesgo a la seguridad alimentaria ha sido objeto de estudio en las últimas décadas en países desarrollados; es así, que la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) emitió en 2010 un informe científico al respecto (Domínguez, *et al.*, 2010). En este documento se ponía en evidencia el hecho de que los procedimientos de sanitización aplicados usualmente en la industria hasta ese momento estaban diseñados para eliminar bacterias en forma libre, mas no en biofilm. Esta situación se hizo patente en el estudio realizado ya que con el producto

Biofinder™ se detectó contaminaciones en superficies higienizadas con protocolos convencionales (uso de detergentes no específicos y procedimientos de limpieza manual) aplicados por distintos sectores de la industria alimentaria (cárnicos, lácteos, agroindustria, etc.).

La variedad de superficies y materiales en que se detectó presencia de biofilms generó un mejor entendimiento de las causas de contaminación en una nave de proceso. Siendo algunas usuales: la existencia de “puntos ciegos” en los protocolos de higiene, ya sea por el diseño mismo del procedimiento o el no usar los aditamentos adecuados; el uso de químicos no específicos para la remoción del tipo de suciedad que genera el proceso y el hecho de no desarmar los equipos para una limpieza profunda con la frecuencia adecuada.

La experimentación realizada aporta conocimiento a la conveniencia de la aplicación de Biofinder™ como método de evaluación rápida de la higiene. Lo anterior dicho se refuerza y valida con las investigaciones de Ripolles *et al.* (2018a), quien indujo crecimiento y formación de biofilm de patógenos catalasa (+) tales como: *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* y *S. entérica ser. Typhimurium* en placas de acero inoxidable hallando reacción positiva en todos los casos y determinando que el límite de detección es de 10^4 ufc/cm² lo cual es un límite similar al de los detectores por ATP con la diferencia de que este método no requiere un hisopado por lo que se analiza toda la carga de la superficie y no solo una fracción extraída.

Durante la experimentación se comprobó también que en distintas situaciones la reacción se daba casi instantáneamente y en otras era más retardada, además también en algunos casos la espuma que indicaba reacción positiva era más copiosa. Lo anterior dicho es consistente con los resultados reportados por Ripolles *et al.* (2018b) quienes comprobaron en cepas de *L. monocytogenes* con distintos grados de propensión de formación de biofilm que había una correlación directa entre la copiosidad de la espuma y velocidad de la reacción con la densidad poblacional microbiana en la superficie en estudio.

Los resultados en industria cárnica son comparables a los reportados por Álvarez *et al.* (2016) quienes aplicaron Biofinder™ en mataderos, salas de despiece y fábricas de embutidos en España obteniendo reacciones positivas en: pisos, tablas de picar, cuchillas,

rampas de lonjeadoras, ganchos y mesas. En tal sentido y siguiendo la misma línea que los investigadores citados las evidencias muestran que Biofinder™ permite detectar biofilms en líneas de proceso alimentario de una forma rápida y eficaz siendo muy útil para analizar el porqué de las contaminaciones y las posibles deficiencias en la aplicación y diseño de los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES).

4.4. EVALUACIÓN DE LOS REMOVEDORES ENZIMÁTICOS ESPUMANTES BIOJET Y ENZYJET™

En la Tabla 21 se presentan la evolución de la reacción de Biofinder™ en el desfogue de la cuba quesera, superficie que fue tratada, en días consecutivos, con los removedores enzimáticos Biojet y Enzyjet™.

Tabla 21: Resultados de aplicación de limpiadores enzimáticos Biojet+Enzyjet™ en desfogue de cuba quesera de la PPL

| Aplicación | PTJ. | FOTO |
|----------------|------|---|
| Estado Inicial | 0 |  <p data-bbox="847 1200 1433 1335">Reacción fuertemente positiva</p> |

Continuación

| | | |
|------|---|--|
| 1era | 0 |  |
| 2da | 1 |  |
| 3era | 3 |  |

La aplicación de los removedores enzimáticos en superficies de proceso abiertas de la planta de leche permitió entender y comprobar que el anclaje de bacterias formando biofilm en hendiduras o codos de los equipos es una situación que puede ser usual, lo que redundaría en una reducción de vida útil del producto y pérdida de efectividad en el tratamiento térmico además de problemas de bio-corrosión. El uso de mezclas enzimáticas en la remoción de biofilms ha sido estudiado por Lequette *et al.* (2010) quienes probaron distintas enzimas (proteasas, polisacaridasas, α -amilasas) en la remoción de biofilms bacterianos de 16 especies bacterianas diferentes. Hallaron que el uso de enzimas era eficaz en la remoción de biofilms de la mayoría de cepas siendo algunas enzimas más eficaces contra cierto tipo de microorganismo. Por ejemplo, el autor halló que las proteasas eran más eficaces removiendo *B. Cereus* y las α -amilasas adecuadas para eliminación de *P. fluorescens*.

Los resultados obtenidos en la experimentación mostraron una reducción paulatina de la población microbiana, manifestada en la desaparición de la reacción positiva con Biofinder™. Lo anterior dicho es coherente con los estudios de efectividad antes citados. Por otra parte, la superficie evaluada, desfogue de cuba quesera, tenía un aro de goma por lo que la remoción del biofilm requirió varias aplicaciones para eliminación total, lo que indica que la porosidad del material influye en la propensión a la formación del biofilm lo cual es coherente con lo indicado por Chia *et al.* (2009), como se citó en Srey, *et al.* (2012) quienes indujeron formación de biofilms de *Salmonella* en distintas superficies obteniendo que el grado de facilidad de formación era en orden decreciente teflón, acero y vidrio, lo que también fue atribuido por estos autores a la porosidad de los distintos materiales.

4.5. EVALUACIÓN DE REMOVEDORES ENZIMÁTICOS NO ESPUMANTES BIOCIP + TENSIOCIP™

En la Figura 14 se aprecia la turbidez del agua de lavado en el tanque pulmón luego de la limpieza enzimática con Biocip+Tensiocip™.



Figura 14: Tanque pulmón con solución enzimática Biocip+Tensiocip™ recirculada

En la Tabla 22 se presentan los resultados de los recuentos microbiológicos realizados en días consecutivos antes de la aplicación de los removedores enzimáticos y luego de la aplicación del desinfectante.

Tabla 22: Resultados de recuentos microbiológicos (BAMV, coliformes y M y L) obtenidos en circuito de pasteurización de leche higienizado con removedores enzimáticos Biocip y Tesiocip™

| N° Aplicación | Ensayo* | BAMV (ufc/hisopo) | | Coliformes (ufc/hisopo) | | M y L (ufc/hisopo) | |
|------------------|---------|-------------------|-------|-------------------------|----|--------------------|----|
| | | P1 | P2 | P1 | P2 | P1 | P2 |
| 1era | Antes | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Después | 0 | 26x10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2da | Antes | 3 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Después | 0 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 |

*Se hizo muestreo antes de después del proceso de la aplicación del POES

P1: Codo antes del pasteurizador

P2: Codo después del pasteurizador

La presencia de biofilms en sistemas CIP utilizados en industria láctea ha sido estudiada por Zou y Liu (2018) quienes utilizando análisis de secuencia del gen 16S rRNA lograron 45 aislamientos en 11 superficies diferentes observando una amplia diversidad bacteriana que incluía alterantes y patógenos. Hallaron también que las superficies de acero inoxidable eran más propensas al anclaje de biofilms que las de poliestireno. Determinaron además que 9 cepas eran alta o moderadamente alcalino o ácido resistentes. Lo anterior expuesto es coherente con el hecho de haber hallado carga bacteriana en el sistema de pasteurización estudiado el cual se limpia continuamente con un ácido (níttrico) y una base (soda) fuertes.

La aplicación de los removedores enzimáticos permitió la liberación de las bacterias que estaban ancladas en el biofilm ello se manifestó en la turbidez del agua de enjuague luego de aplicar las soluciones enzimáticas (Figura 13) y la “aparición” de BAMV en el hisopado posterior al proceso de limpieza en el cual se reportó una carga bacteriana 26×10^6 ufc/hisopo. Esto se puede explicar en base a lo expuesto por Browning (2017) quien indica que la presencia de biofilms en superficies de proceso genera “inexplicables” incrementos en la carga bacteriana evaluada en una superficie o producto alimenticio que se procese en esta, debido a la liberación de fragmentos de biofilm; además, este autor refiere que los métodos tradicionales a veces no son certeros para determinar la presencia de biofilms ya que se ha observado en algunos casos que no hay correlación entre el análisis de laboratorio y la condición de la superficie. Ello es coherente con lo indicado por Stiefel, *et al.* (2016) quienes explican que las enzimas tienen como principal acción romper las EPS (estructuras poliméricas extracelulares) las cuales contienen proteínas, polisacáridos, lípidos y nucleótidos extracelular por lo que las formulaciones de limpiadores enzimáticos requieren incluir varias enzimas tales como: proteasa, DNAsas, amilasas, alginato liasa y celulasa; bajo estos principios los autores lograron remociones de entre 90 a 95% de biofilms de *S. Aureus* y *P. Aeruginosa*. Por otra parte, se ha demostrado que mezclas de enzimas proteolíticas (proteasa fúngica y tripsina) han sido eficaces en conjunto con la aplicación de ondas de ultrasonido por 10 s en la remoción de biofilms de *E. Coli* en superficies de procesamiento de lácteos (Oulahan-Lagsir *et al.*, 2003, como se citó en Galié *et al.* 2018). En tal sentido se infiere que los removedores enzimáticos de Itram Higiene, los cuales están basados en formulaciones que combinan múltiples enzimas, permiten remover los biofilms eficientemente en aplicaciones consecutivas como se puso de manifiesto en los resultados obtenidos.

COMENTARIO FINAL

Los conocimientos adquiridos durante los estudios de grado se aplicaron con base científica en el diseño, ejecución, interpretación y comunicación de resultados de evaluaciones *in situ* con los químicos limpiadores de PISAPIGS SA lo que incremento el nivel de confianza de sus clientes en la compañía y permitió el ingreso a nuevos mercados.

V. CONCLUSIONES

1. Se establecieron técnicamente criterios excluyentes (componentes no declarados como listados por el FDA, color u olor fuertes y nivel de espuma bajo o medio) y no excluyentes (pH no extremadamente alcalino, poder desinfectante, biodegradabilidad y presencia de secuestrantes) para pre-seleccionar formulas deterativas para la industria alimentaria y diseñar pruebas de evaluación *in situ* de estas.
2. En las evaluaciones se evidenció que el uso del detergente alcalino Neogras Remover Plus a dosis de 5% aplicado en espuma es eficaz para la remoción de distintas suciedades orgánicas: mohos en techos, remoción del 90%; grasa de pescado en línea de congelados, se alcanzó un nivel bajo (menos de 10%) de grasa percibida al tacto, y masa panadera adherida en moldes, el remojo en este detergente a 2% a una temperatura de 80 °C permite disminuir hasta en 4 min el tiempo de restregado
3. El detergente ácido Neofoam Acid NT a dosis de 3% permitió una eliminación del 40% de óxido fuertemente adherido en ganchos de colgado de canales de carne y asimismo una remoción casi total de sarros en mayólicas de una planta pesquera.
4. Biofinder™ permitió detectar presencia de biofilms de forma rápida y práctica en distintas líneas de proceso permitiendo tener una idea del grado de madurez del biofilm formado dependiendo de la inmediatez de la reacción.
5. Los limpiadores enzimáticos Biojet+Enzyjet™ removieron el biofilm del defogue de la cuba quesera evaluada mediante aplicaciones sucesivas en tres días consecutivos.
6. La aplicación de los limpiadores enzimáticos Biocip+Tensiocip™ produjo una liberación de biofilms presentes en el circuito de pasteurización de leche evaluado y su posterior eliminación mediante aplicaciones sucesivas en dos días consecutivos.

VI. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en la presente memoria sientan una base para futuras investigaciones en el campo del control de biofilms. Un punto interesante sería poder correlacionar mediante ensayos microbiológicos las categorías de nivel de contaminación evaluadas visualmente con Biofinder™ con rangos de densidad de población bacteriana. En cuanto a las fórmulas de removedores enzimáticos sería importante evaluar la necesidad de aplicaciones sucesivas dependiendo el tipo de material en el cual este adherido el biofilm (diferentes metales, plásticos y gomas, etc.) así como la evaluación en otras líneas de proceso: cerveza, gaseosas, etc.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abusada, B. y Calderón, J. 2017. Higiene en la Industria de Bebidas. I Congreso Internacional de Higiene, Desinfección y Saneamiento en Plantas de Alimentos. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, p.20.
- Álvarez, J., Sanz, S., Ríos, A. y Rodríguez, J. 2016. Evaluación de Contaminación en Superficies de Corte Mediante Metodología Avanzada: Microscopía de Epifluorescencia Directa y Aplicación de Spray Revelador. Revista Eurocarne, 247, 62-71.
- Arias, O. 2018. Evaluación de Concentración Óptima de Detergente y Desinfectante Industrial, en el Proceso de Lavado y Desinfección de Envases Para el Embotellamiento de Agua de Consumo Humano. Tesis Licenciado en Biología, Lima, Universidad Ricardo Palma. Recuperado de: http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/URP/1317/Arias_o.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bonilla, F. 2007. Biofilms Bacterianos. Tesis Licenciado en Química Clínica. Xalapa, Universidad Veracruzana. Recuperado de: <https://studylib.es/doc/7647289/biofilms-bacterianos>
- Bonilla, H. 2016. Estudio de Viabilidad para la Introducción de un Nuevo Producto de Limpieza en el Mercado. Tesis Ingeniero Químico. Mexico DF, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México. Recuperado de: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/21314>
- Browning, P. 2017. Biofilms, the hidden world in the food and beverage industry. Cider & Perry Academy. Recuperado de: <http://www.cider-academy.co.uk/wp-content/uploads/2017/06/freedom-hygiene-presentation.pdf>

- Bustamante, M. 2014. Avances en los Sistemas de Limpieza y Desinfección Aplicados en la Industria Alimentaria. Tesis Ingeniero Químico. Medellín, Universidad Pontificia Bolivariana. Recuperado de: <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/2222/Tesis%20de%20Miguel%20Santiago%20Bustamante%20Alzate.pdf?sequence=1>
- Castillo, C. 2012. Estudio de la Contaminación Higiénica a la que conlleva el Tratamiento Superficial en Soportes Metálicos destinados a HERRAJES de Apertura y Cierre de Puertas. Tesis Ingeniera Técnico-Industrial con Especialidad en Mecánica. Universidad de Cartagena. Recuperado de: <http://repositorio.upct.es/handle/10317/2714?show=full>
- Castrillón, L., Palma, A. y Padilla, M. 2013. Biopelículas fúngicas. Revista mexicana de dermatología, 57(3), 350-361.
- Cirquelion, J., Durand, F., Olivier, F. Rauwel, G. y Sabat, F. 2002. Características Generales de las Funciones Químicas Desinfectantes. En: Leveau, J. y Bouix, M. Manual Técnico de Higiene Limpieza y Desinfección (p. 247-301). España: AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa.
- Clemente, S. 2013. Estudio Financiero para la Producción y Comercialización de un Limpiador Multiuso con Desinfectante. Tesis Ingeniero Químico. Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/iq/tesis/tesis_clemente_galvan.pdf
- Dominguez, L., Baldiola, J., Cepeda, A., Más, A., Rodríguez, E., Zurera, G. & Telléz, S. 2010. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los Biofilms y su Repercusión en la Seguridad Alimentaria. Revista del Comité Científico, 12, 37-61.
- Forsythe, S. y Hayes, P. 2002. Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP (2º ed.). España: Editorial Acribia S.A.

- Galié, S., García, C., Miguelez, E., Villar, C y Lombó, F. 2018. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>
- García, R. 2014. Inhibidores de Corrosión de Acero en Medios Ácidos a partir de Extractos Naturales. Tesis Doctor en Ciencias, Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California. Recuperado de: <http://digital.csic.es/handle/10261/93762>
- Hernández, C. 2016. Simulación y Control de Biofilms Portadores de *Listeria Monocytogenes* en la Industria Alimentaria. Tesis Doctor, Madrid, Universidad Complutense de Madrid. Madrid. Recuperado de: <https://eprints.ucm.es/38812/1/T37648.pdf>
- Herrera, O. 2016. Estudio de Formulaciones Detergentes y Métodos para la Limpieza del Almidón en la Industria Alimentaria Utilizando Micro/Nano partículas, Enzimas y Tensioactivos. Tesis Doctor, Granada, Universidad de Granada. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=61151>
- Huss, H. 1997. Aseguramiento de la Calidad de los Productos Pesqueros. FAO, documento técnico de pesca. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/003/T1768S/T1768S00.htm#TOC>
- Hyginov, C. 2016. Guía para la Elaboración de un Plan de Limpieza y Desinfección, de Aplicación en Empresas del Sector Alimentario. España: Editorial Acribia SA.
- ITRAM HIGIENE 2019. Itram Higiene: Expertos en Higiene Alimentaria. Recuperado de: <https://itramhigiene.com/>
- Lequette, Y., Boels, G., Clarisse, M. y Faille, C. 2010. Using Enzymes to Remove Biofilms of Bacterial Isolates Sampled in the Food Industry. *Biofouling*, 26(4), 431-441. doi: 10.1080 / 08927011003699535
- López y Berga 2010. Planes de Limpieza y Desinfección. Curso Abierto, Madrid, Universidad Politécnica de Madrid. Recuperado de: https://www.google.com/search?rlz=1C1CHZL_esPE756PE756&ei=5MMCXbzfKIG35gK7v7X4BA&q=unidad+didactica+3+limpieza+y+desinfecci%C3%B3n&oq=unidad+didactica+3+limpieza&gs_l=psy-

ab.3.1.33i16013.385550.396363..399364...1.0..0.262.4424.0j26j2.....0....1..gws-wiz.....0..0i71j0i131j0j0i67j0i131i67j0i10j0i22i30j33i22i29i30j33i21.r1DgvxHWP
[V8](#)

- Marriot, N. 2003. Principios de Higiene Alimentaria. España: Editorial Acribia SA.
- Marriot, N., Wes, M. y Gravani, R. 2018. Principles of Food Sanitation (6° ed.). Suiza: Springer.
- Mejía, J. 2017. Programa de Saneamiento en la Industria Cárnica. Trabajo Ingeniero en Industrias Alimentaria, Lima, Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3044>
- Mittelman, M. 1998. Symposium: Biofilms: Development and Control Structure and Functional Characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operation. Journal of Dairy Science, 81(10), 2760-2764
- Morán, A. 2017. Limpieza y desinfección: cómo seleccionar el producto más adecuado. Boletín publicado por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. Recuperado de: http://acsa.gencat.cat/web/.content/Article/eines_i_recursos/acsabrief/Neteja_i_desinfeccio/Neteja-i-desinfeccio_Acsa-Brief_Castellano.pdf
- Navia, D., Villada, H. y Mosquera, S. 2010. Las biopelículas en la Industria Alimentaria. Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, 8(2), 119-126.
- Nazar, J. 2007. Biofilms Bacterianos. Revista de Otorrinolaringología, 67, 61-72.
- Piera, G. 2003. Estudio del Biofilm, Formación y Consecuencias. Curso de la Escuela de Prevención y Seguridad, Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona.. Recuperado de: http://www.adiveter.com/ftp_public/A1070308.pdf
- PISAPIGS SA. 2019. ¿Quiénes somos? +25 años. Recuperado de: <https://pisapigs.com/>
- Porcel, N., Uruduena, R., Gaudosio, M. y De Catillo, M. 2013. Efecto Bactricida de Hipoclorito de Sodio sobre *Staphilococcus Cohnii* productor de Biofilm en Fabrica. Acta de Bioquímica Clínica Latinoamericana, 47(4), 693-700.

- Ramos, E. 2012. Evaluación del Desarrollo de Biofilms en los sistemas de distribución de Agua Potable Mediante Extracción de Conocimientos a través de los Datos. Tesis Máster en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente, Valencia, Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de: <https://riunet.upv.es/handle/10251/19124>
- Ríos, A. 2013. Evaluación de Niveles de Contaminación de Superficies y la Eficacia de Productos Desinfectantes a Corto y Largo Plazo. Tesis Doctor, Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona. Recuperado de: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/129381/agrc1de1.pdf?sequence=1>
- Ripolles, C., Ríos, A. y Rodríguez, J. 2018a. Development of a peroxide biodetector for a direct detection of biofilms produced by catalase-positive bacteria on food-contact surfaces. *CYTA Journal of Food*, 16(1), 506-515. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1418434>
- Ripolles, C., Ríos, A. y Rodríguez, J. 2018b. Reinterpretation of a classic method for the quantification of cell density within biofilms of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Microbiology & Experimentation*, 6(2), 70-75. DOI: [10.15406 / jmen.2018.06.00190](https://doi.org/10.15406/jmen.2018.06.00190)
- MINSA (MINISTERIO DE SALUD) 2007. RM 461-2007/MINSA: Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas. Resolución Ministerial publicada el 5 de junio del 2007
- Schlisselberg, D., y Yaron, S. (2013). The Effects of Stainless Steel Finish on *Salmonella Typhimurium* Attachment, Biofilm Formation and Sensitivity to Chlorine. *Food Microbiology*, 35(1), 65–72.
- Skowron, K., Hulis, K., Gryn, G., Olszewska, A., Wiktorcz, N. y Paluszak, Z. 2018. Comparison of Selected Disinfectants Efficiency Against *Listeria Monocytogenes* Biofilm Formed on Various Surfaces. *International Microbiology*, <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0002-5>
- Srey, S., Kabir, I. y Ha, Sa. 2018. Biofilm Formation in Food Industries: A Food Safety Concern. *Food Control*, 31, 572-585. [doi: 10.1016 / j.fm.2013.02.005](https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.02.005)

- Stiefel, P., Mahuerhofer, S., Schneider, J., Maniura, K, Rosenber, U y Ren, Q. 2016. Enzymes Enhance Biofilm Removal Efficiency of Cleaners. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, 60(6), 3647-3652. DOI: [10.1128 / AAC.00400-16](https://doi.org/10.1128/AAC.00400-16)
- Telléz, S. 2010. Los biofilms y su repercusión en la industria alimentaria. *Revista de Divulgación del Centro de Vigilancia Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid*. Recuperado de: <https://www.visavet.es/es/articulos/biofilms-repercusion-industria-alimentaria.php>
- Vicent, J. 2002. La química de la Limpieza. En: Leveau, J. y Bouix, M. *Manual Técnico de Higiene Limpieza y Desinfección*. (p. 205-241.) España: AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa.
- Villatoro, W. 2008. Reestructuración del Proceso de Limpieza en las Líneas de Envasado de una Industria de Alimentos, Tesis Ingeniero Químico, Ciudad de Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Ciudad de Guatemala. Recuperado de: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1106_Q.pdf
- Zou, M. y Liu, D. 2018. A Systematic Characterization of the Distribution, Biofilm-Forming and Resitance of the Biofilms to the CIP Processes of the Bacteria in a Milk Powder Processing Factory. *Food Research International*, 113, 316-326. doi: [10.1016 / j.foodres.2018.07.020](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.020).
- Zuzants, R. y Monslahuc, G. 2002. Realización Industrial de la Limpieza y la Desinfección. En: Leveau, J. y Bouix, M. *Manual Técnico de Higiene Limpieza y Desinfección* (p. 360-37.). España: AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa.

VIII. ANEXOS

- 8.1.** ANEXO 1: FT NEOGRAS REMOVER PLUS
- 8.2.** ANEXO 2: FT NEOFOAM CLO2 REMOVER
- 8.3.** ANEXO 3: FT NEOFOAM ACID NT
- 8.4.** ANEXO 4: FT NEOACID 3339
- 8.5.** ANEXO 5: FT BIOFINDER™
- 8.6.** ANEXO 6: FT BIOJET+ENZYJET™
- 8.7.** ANEXO 7: FT BIOCIP+TENSIOCIP™

ANEXO 1: FT NEOGRAS REMOVER PLUS

NEOGRAS REMOVER PLUS

DESENGRASANTE ENERGICO SIN SOLVENTES

Descripción:

NeoGras Remover Plus es un Desengrasante Líquido Muy Energico Altamente Alcalino y Concentrado. De Espuma Alta. Contiene en su formulación Surfactantes Aniónicos y No Iónicos Biodegradables, Agentes Secuestrantes, Humectantes, Emulsificantes y Dispersantes de aceites y grasas. No Contiene Solventes.



Aplicaciones:

Por su poder de humectación *NeoGras Remover Plus* está diseñado especialmente para la remoción de suciedades orgánicas pesadas, mezcla de grasas y proteínas resacas e inclusive carbonizadas sobre todo tipo de superficies de metal o plástico como cocinas, hornos, planchas freidoras, jabas, recuperación de moldes, etc. en Embutidos, Panaderías, Restaurantes, Pesqueras, Avícolas, etc.

Dosificación:

NeoGras Remover Plus puede usarse diluido desde 2% hasta 25% a temperatura ambiente o con temperatura de hasta 80°C Ej.:

- Limpieza de Grasas Pegoteadas y Carbonizadas en Ollas, Sartenes, Freidoras, Hornos, Cocinas etc.:
5% a 25% (dependiendo de la T° y el Tiempo de Contacto)
- Lavado de Jabas, Contenedores, Moldes, Superficies con Alta suciedad grasosa y aceitosa:
2% a 5% (dependiendo de la T° y el Tiempo de Contacto)

La Temperatura Máxima puede llegar a 60°C y el Tiempo de Contacto dependerá del tipo de suciedad .

Forma de Uso:

- Retirar las suciedades gruesas con espátula o paño abrasivo antes de aplicar el desengrasante.
- En recuperación de Ollas, Sartenes y otros utensilios con grasa quemada proceder de la sgte. manera:

Características Físico Químicas

•••

Apariencia: Líquido Traslúcido Incoloro

Olor: Característico

pH (solución al 1%): 12.5 ± 0.5 en Agua Blanda (20°C)

% Alcalinidad Total del Compuesto: 13 ± 1

Densidad: 1.14 ± 0.05 gr/cc en Agua Blanda (20°C)

Solubilidad: Completa en Agua a toda temperatura

Enjuagabilidad: Completa

Nivel de Espuma: Alta

Presentación:

NeoGras Remover Plus se comercializa en Galoneras Plásticas Color Blanco x 04 kg. y Bidones Plásticos Color Azul x 20 kg. Debidamente Rotulados y Herméticamente Cerrados.



1. Preparar una solución al 5% (50cc x litro de Agua) a una temperatura de hasta 60°C
2. Sumergir los utensilios por un tiempo de 10 a 15 min.
3. Enjuagar bien y luego pasivar en una solución de detergente ácido como **Neoacid NT** al 5% en frío por espacio de 5 min.
4. Enjuagar

Beneficios:

- Alto poder de Humectación y penetración que actúa separando la suciedad rápidamente.
- No emana vapores tóxicos ni irritantes.
- Posee inhibidores de corrosión que protegen las superficies metálicas; además de actuar sin problemas en aguas de alta dureza.
- Posee enjuagabilidad muy rápida sin dejar residuos.
- Por sus componentes no contribuye sobre la carga en los efluentes.
- Todos los componentes de la fórmula están listados por FDA en CFR21 *Food and Beverage*

**ANEXO 2: FT NEOFOAM
CLO2 REMOVER**

FICHA TÉCNICA – NEOFOAM CLO2 REMOVER

DETERGENTE ALCALINO OXICLORADO DE ALTA ESPUMA

Descripción:

NeoFoam CLO2 Remover es Detergente Muy Enérgico y Altamente concentrado. Contiene una mezcla equilibrada de Tensoactivos de Alta Espuma, Agentes Acomepajantes, Humectantes, Alcalinizantes y soluciones de Clorito de Sodio y Dióxido de Cloro que le otorgan cualidades Detergentes y Desengrasantes además de ayudar en el control de la población microbiana por su contenido de **Neoclor DX Plus** desinfectante con Registro Digesa (N°0661-2010/DEPA/DIGESA/SA). Posee una perfecta textura de espuma de larga duración que se adhiere fácilmente sobre las superficies verticales dejando superficies limpias después del enjuague.



Aplicaciones:

Por su particular característica *NeoFoam CLO2 Remover* está dirigido a la limpieza de todo tipo de superficies sobre todo verticales, equipos, tanques, llenadoras, mesas de corte, jabas, etc. sobre acero inoxidable e inclusive sobre metales blandos a las concentraciones recomendadas. Se aplica normalmente con equipo dosificador de espuma o manualmente en plantas procesadoras de alimentos, jugos, bebidas, viñas, cerveceras, lecherías, en la industria cárnica, pesqueras, etc.

Dosificación y Forma de Uso:

NeoFoam CLO2 Remover puede usarse a concentraciones desde 2% hasta 5% v/v en agua corriente.

Limpieza General con equipo Dosificador:

Luego de un pre-lavado con agua a presión, rociar el equipo, mesa o superficie con una espuma consistente de no más de 3cm de espesor; dejar que actúe el producto por 05 min. mínimo, inmediatamente enjuagar con agua a presión y dejar secar. Aplicar sanitizante para una desinfección completa si es necesario.

Características Físico Químicas

...

Apariencia: Líquido
Traslúcido Incoloro a
Ligeramente Ámbar

Olor: Característico

pH (solución al 1%):
12.5 ± 0.5 en Agua Blanda(20°C)

**% Alcalinidad Total del
Compuesto:** 11 ± 1

**ppm de Oxícloros en el
Compuesto:** Mínimo 16,000

Densidad: 1.136 ± 0.05 gr/cc
en Agua Blanda(20°C)

Solubilidad: Completa en
Agua a toda temperatura

Enjuagabilidad: Completa

Nivel de Espuma: Muy Alta

Presentación:

NeoFoam CLO2 Remover se comercializa en Galoneras Plásticas Color Blanco x 04 kg. y Bidones Plásticos Color Azul x 20 kg. Debidamente Rotulados y Herméticamente Cerrados.



Por Remojo:

En una tina diluir *NeoFoam ClO2 Remover* al 5% luego remojar las piezas a lavar por un tiempo aproximado de 20 min. mínimo; si es posible, usar agua a temperatura de hasta 80°C lo que mejora el proceso pudiendo disminuir la concentración y el tiempo de contacto.

Para Testeo de Concentración del producto emplear el Método Neo-19.

Beneficios:

- Alto poder de Humectación y penetración que actúa separando la suciedad rápidamente.
- Posee inhibidores de corrosión que protegen las superficies metálicas; además de actuar sin problemas en aguas de alta dureza.
- Posee enjuagabilidad muy rápida sin dejar residuos.
- Espuma consistente y uniforme que se adhiere fácilmente a las superficies obteniéndose un largo tiempo de contacto
- Por sus componentes y su baja concentración de uso no contribuye sobre la carga de los efluentes.
- Las especies oxiclорadas de su composición No Forman Trihalometanos ni ningún subproducto tóxico ni cancerígeno conocido.
- Todos los componentes de la fórmula están listados por FDA en 21CFR 184.1763, 21CFR 173.325, 21CFR 178.1010



**ANEXO 3: FT NEOFOAM
ACID NT**

NEOFOAM ACID NT FICHA TECNICA

DETERGENTE ACIDO PASIVANTE DE MUY ALTA ESPUMA

Descripción:

NeoFoam Acid NT es un Detergente Líquido Ácido de Muy Alta Espuma y Alto poder Desincrustante y Pasivante del acero inoxidable y aluminio. Contiene en su formulación una mezcla de Ácidos Especializados, Tensoactivos Aniónicos Biodegradables, Agentes Emulsionantes y Secuestrantes.



Aplicaciones:

NeoFoam Acid NT es un agente de limpieza externa ácida y pasivante de acero inoxidable y aluminio. Retira suciedades minerales del tipo Carbonatos, Sulfatos, incluso mezclas proteicas, piedra de leche, piedra de cerveza, óxidos, etc. en todo tipo de superficies incluso metales blandos como aluminio, cobre, bronce. Está dirigido a todo tipo de industria donde se necesite retirar incrustaciones, óxidos sin afectar las superficies metálicas.

Dosificación y Forma de Uso:

Se aplica manualmente sobre las superficies con paño o escobilla, por remojo y especialmente con equipo formador de espuma.

La concentración de uso va a depender del grado de suciedad y temperatura de la solución; sin embargo de 3% a 5% serán suficientes.

En el caso de recuperación de moldes en embutidos; primero retirar la grasa con un detergente alcalino y luego remojar las piezas en una solución de *NeoFoam Acid NT* al 5% ó 10% con temperatura de hasta 60° o en frío respectivamente.

Para aplicación con equipo espumador, formar una espuma consistente y de un espesor de no más de 1cm. sobre la superficie y esperar 5 min. para que el producto penetre; luego enjuagar con agua a presión.

Beneficios:

- No emana vapores tóxicos.
- No produce riesgo al medio ambiente. Su contribución a la carga de efluentes es mínima por su concentración de uso.
- Seguro sobre acero inoxidable, aluminio, plásticos, vitón, etc.
- Posee actividad pasivante sobre acero inoxidable y aluminio.
- La aplicación por espuma reduce los consumos de producto.
- Sus componentes están listados por FDA en 21CFR 175.105, 21CFR 182.1073(a)(b), 21CFR 582.2073)(a)(b), 21CFR 178.3400

Características Físico Químicas



Apariencia: Líquido Incoloro
Traslúcido

Olor: Característico Irritante

pH (solución al 1%):
2.0 ± 0.5 en Agua Blanda (20°C)

**% de Acidez (como
H3PO4):** 43% - 48%

Densidad: 1.28 ± 0.05 gr/cc
en Agua Blanda (20°C)

Solubilidad: Completa en
Agua

Enjuagabilidad: Completa

Nivel de Espuma: Muy Alta

Presentación:

NeoFoam Acid NT se comercializa en Bidones Plásticos x 20 kg. y Cilindros Plásticos x 210 kg. Debidamente Rotulados y Herméticamente Cerrados.



**ANEXO 4: FT NEOACID
3339**

FICHA TÉCNICA – NEOACID 3339

DETERGENTE LIQUIDO ACIDO

Descripción:

NeoAcid 3339 es un Detergente Líquido Ácido de Espuma Media-Alta. Contiene en su formulación ácido fosfórico principalmente, Tensoactivos Aniónicos Altamente Biodegradables y Agentes Emulsionantes. De acción eficaz sobre suciedades minerales de origen calcáreo y otros depósitos inorgánicos en todo tipo de superficie en contacto con alimentos.

Aplicaciones:

NeoAcid 3339 facilita la remoción de una variedad de incrustaciones producidas por la dureza del agua como: Carbonatos, Sulfatos, mezclas orgánicas e inorgánicas, Moho, Hongos, Piedra de Leche, Piedra de Cerveza, Óxidos, etc. depositadas en superficies como: equipos, pisos, paredes, etc.

No aconsejable sobre metales blandos como: aluminio, níquel, galvanizados, poliamidas.

Está dirigido a la Industria Láctea, Pesquera, Cerveza, Bebidas Carbonatadas, Agua de Mesa, etc.



Dosificación y Forma de Uso:

Se aplica sobre superficies externas a una concentración de 1% a 5% v/v en agua (10cc a 50cc. x litro de agua) dependiendo del grado de suciedad, temperatura y tiempo de contacto.

- Es fácilmente aplicable en forma manual con escobilla, paño abrasivo, esponja, pulverización o con equipo dosificador de espuma.
- Por remojo: utilizar una concentración de 3% y un tiempo de contacto de 20 minutos en frío.
- La Temperatura de hasta 60°C facilita la limpieza y hace posible la disminución de la concentración y tiempo de contacto.

Beneficios:

- No produce riesgo al medio ambiente. Su contribución a la carga de efluentes es mínima por su concentración de uso.
- No emana vapores tóxicos.
- Fácil y rápido enjuague.

Características Físico Químicas

...

Apariencia: Líquido Color Blanco Lechoso

Olor: Característico

pH (solución al 1%):
2.0 ± 0.5 en Agua Blanda (20°C)

% de Acidez en el Compuesto (como H₃PO₄): 40% - 50%

Densidad: 1.16 ± 0.05 gr/cc en Agua Blanda(20°C)

Solubilidad: Completa en Agua

Enjuagabilidad: Completa

Nivel de Espuma: Media-Alta

Presentación:

NeoAcid 3339 se comercializa en Galoneras Color Blanco x 04 Kg., Bidones Plásticos Color Azul x 20 kg. y Cilindros Plásticos Color Azul x 210 kg. Debidamente Rotulados y Herméticamente Cerrados.



**ANEXO 5: FT
BIOFINDER™**

Detector de biofilms y contaminación en superficies **BioFinder**



Descripción

BioFinder es un producto especializado para la detección de biofilms y contaminación en superficies de la industria alimentaria, farmacéutica y en restauración, y que actúa como auxiliar en el control de la higiene; especialmente recomendado en superficies abiertas

Características / Aplicaciones

- Reacciona al detectar la agrupación de microorganismos adheridos a superficies, llamados Biofilms
- Revela de manera inmediata las zonas contaminadas mediante una simple inspección visual
- No se considera un peligro para el medio ambiente, según legislación vigente
- Fórmula registrada ante la Oficina Española de Patentes y Marcas
- BioFinder ha sido testado en superficies de acero inoxidable, polipropileno y recubiertas de pintura epoxi
- BioFinder ha sido testado en microorganismos que son los más relevantes en la industria alimentaria:
 - Desde el punto de vista para la seguridad alimentaria: aquellos patógenos alimentarios capaces de generar brotes, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cronobacter sakazakii*
 - Desde el punto de vista tecnológico: microorganismos alterantes de la vida útil del producto, como *Pseudomonas* spp. principalmente
- BioFinder ha sido eficaz en la detección de biofilms monoespecies y multiespecies, es decir, con biofilms formados únicamente de un solo tipo de microorganismo y formados de mezclas de dos o más de aquellas especies de microorganismos mencionados anteriormente

Ventajas

Biofinder presenta ventajas respecto a otros métodos:

- Reduce tiempos de aplicación y revelado
- Proporciona resultados "in situ" en cuestión de segundos
- Es una técnica rápida y de bajo coste
- No mancha, ni deja residuos debido a su alta solubilidad en agua que facilita el aclarado
- Simplifica el monitoreo de la higiene de superficies en procesos industriales
- No se requiere personal técnico para su manipulación gracias a su sencilla aplicación y tipo de respuesta

Propiedades físico-químicas

| | |
|--------------------|---|
| Aspecto y color: | Líquido viscoso transparente anaranjado |
| Viscosidad a 20°C: | 300 – 500 cP |
| pH (al 100%): | 4,5 – 5,5 |

Composición

Mezcla de fosfonatos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos y blanqueantes oxigenados

Modo de empleo

- Pulverizar suavemente con BioFinder las superficies de la instalación a una distancia de 10 – 15 cm
- Inspeccionar visualmente la superficie inmediatamente después de la aplicación
- Un resultado positivo de contaminación es la producción de microburbujas inmediata que genera una reacción espumante que permanece estable por más de 10 minutos, gracias a la naturaleza viscosa de BioFinder.
- Un resultado negativo de contaminación es la ausencia de la producción microburbujas después de un lapso de 1 minuto a temperatura ambiente
- Finalmente, aclarar las superficies con agua potable abundante

Recomendaciones

- No diluir, ni agitar el producto antes de su aplicación
- Aplicar sobre las superficies después de los procesos de limpieza y desinfección
- En caso de una reacción positiva, repetir el procedimiento de higienización en las zonas afectadas

Manipulación y almacenamiento

- Consérvese el recipiente bien cerrado cuando no esté en uso
- Evite la exposición directa a los rayos solares y a elevadas temperaturas (> 55°C) para impedir una descomposición térmica
- Almacene a una temperatura inferior a 20 °C, preferiblemente a 5 °C

Precauciones

Irrita la piel. Riesgo de lesiones oculares graves. En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Ver ficha de seguridad del producto para mayor información

Presentación

Una caja con 3 envases de 500 ml

**ANEXO 6: FT
BIOJET+ENZYJET™**

ELIMINACIÓN DE BIOFILMS: TRATAMIENTO ENZIMÁTICO PARA SUPERFICIES ABIERTAS

DESCRIPCIÓN

BIO JET + ENZY JET PLUS es un tratamiento enzimático de “choque” especialmente diseñado para la eliminación de biofilms en instalaciones de la industria agroalimentaria, farmacéutica, química, redes sanitarias y colectividades. El tratamiento enzimático puede aplicarse en superficies abiertas mediante un equipo de baja presión. El tratamiento enzimático se constituye de una fórmula bicomponente espumante, es decir, de dos productos (BIO JET + ENZY JET PLUS) que al combinarse actúan eficazmente para facilitar la eliminación de biofilms.

CARACTERÍSTICAS

Nuestro tratamiento enzimático aporta ventajas competitivas frente a los agentes químicos de limpieza clásicos:

- Actúa a pH neutro
- Mejora la eficacia de la limpieza
- No es corrosivo para el material de las superficies
- Supone un bajo riesgo de exposición para el operario
- Su composición es fácilmente biodegradable
- Contribuye a un impacto ambiental positivo
- Elimina eficientemente los biofilms
- Una vez eliminados los biofilms, previenen su reaparición y dispersión
- Evitan una contaminación costosa y evitan problemas indeseables, tanto de salud como tecnológicos.
- Activa los procesos de depuración de las aguas, gracias a su acción continua en fase posterior.
- No se considera un tratamiento peligroso para el medio ambiente, según la legislación vigente.

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

| PRODUCTO | ASPECTO Y COLOR | pH | COMPOSICIÓN |
|---|--|-----------|--|
|  | Líquido marrón claro, ligeramente turbio | 5,6 – 6,0 | Enzimas y estabilizantes |
|  | Líquido ámbar claro, transparente | 7,8 – 8,2 | Tensioactivos, secuestrantes, enzimas y estabilizantes |
| Tratamiento enzimático | Líquido incoloro transparente | 7,6 – 8,0 | BioJet + EnzyJet^{PLUS} |

Esta información está basada en el estado actual de nuestros conocimientos y puede ser modificada sin previo aviso. Itram Higiene, S.L. no se hace responsable del uso incorrecto del producto.



MODO DE EMPLEO

- En un recipiente adecuado, mezclar los productos BIO JET y ENZY JET PLUS en una relación 1:5, respectivamente, de tal manera que las concentraciones de aplicación sean 0,2% de **BIO JET 1%** y de **ENZY JET PLUS**.
- Una vez preparada la mezcla debe ser usada dentro de las siguientes dos horas.
- Aplicar mediante un equipo de proyección de espuma ajustado a una dosis de 1%.
- Mantener la temperatura del agua entre 45 – 55 °C y un tiempo de contacto con las superficies durante al menos 15 minutos.
- Si desea puede reforzar el tratamiento enzimático, aplicando una vez más una capa del producto sobre las mismas superficies para compensar las condiciones ambientales adversas.
- Mantener un tiempo de contacto de 15 minutos más y enjuagar con agua abundante.
- Continuar con una etapa de desinfección adecuada (según nuestras recomendaciones), preferiblemente con productos: **BACTITRAM OXY** o agentes oxidantes similares.
- Finalmente, enjuagar con agua abundante.

ALMACENAMIENTO DE ENZY JET PLUS Y BIO JET

Almacenar entre 5 – 25 °C. El almacenamiento deberá ser en el envase original, intacto, seco, bien cerrado. El producto debe almacenarse aislado de fuentes de calor y eléctricas. No fumar en el área de almacenamiento. Si es posible, evitar la incidencia directa de radiación solar. Para **BIO JET**: consérvese lejos de agentes oxidantes, ácidos. Para **ENZY JET PLUS**: consérvese lejos de agentes reductores, agentes oxidantes, ácidos, álcalis, metales.

RECOMENDACIONES

Usar antes de la fecha de caducidad (un año a partir de la fecha de expedición) y consumir seis meses después de abrir.

PRECAUCIONES

BIO JET: Nocivo. Posibilidad de sensibilización por inhalación. **ENZY JET PLUS: Irritante.** Irrita las vías respiratorias y la piel. Riesgo de lesiones oculares graves. Para ambos, evítense el contacto con la piel. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Consulte la **ficha de seguridad** para información adicional sobre nuestro producto.

PRESENTACIÓN

BIO JET: Botellas de 1 kg

ENZY JET PLUS: Garrafas de 5 y 20 kg

Esta información está basada en el estado actual de nuestros conocimientos y puede ser modificada sin previo aviso. Itram Higiene, S.L. no se hace responsable del uso incorrecto del producto.

**ANEXO 7: FT
BIOCIP+TENSIOCIP™**

ELIMINACIÓN DE BIOFILMS: TRATAMIENTO ENZIMÁTICO PARA SISTEMAS CIP

DESCRIPCIÓN

BIO CIP + TENSIO CIP es un tratamiento enzimático especialmente diseñado para la eliminación de biofilms en instalaciones de la industria agroalimentaria, farmacéutica, química, redes sanitarias y colectividades. El tratamiento antibiofilm puede aplicarse en superficies cerradas como los sistemas “CIP” (tuberías, depósitos, circuitos y filtros) y dependiendo la frecuencia de aplicación se denomina de “choque” o “preventivo”. El tratamiento antibiofilm se constituye de una fórmula bicomponente no espumante, es decir, de dos productos (TENSIO CIP + BIO CIP) que al combinarse actúan eficazmente para facilitar la eliminación de biofilms.

CARACTERÍSTICAS

Nuestro tratamiento enzimático aporta ventajas competitivas frente a los agentes químicos de limpieza clásicos:

- Actúa a pH neutro
- Mejora la eficacia de la limpieza
- No es corrosivo para el material de las superficies
- Supone un bajo riesgo de exposición para el operario
- Su composición es fácilmente biodegradable
- Contribuye a un impacto ambiental positivo
- Elimina eficientemente los biofilms
- Una vez eliminados los biofilms, previenen su reaparición y dispersión
- Evitan una contaminación costosa y evitan problemas indeseables, tanto de salud como tecnológicos.
- Activa los procesos de depuración de las aguas, gracias a su acción continua en fase posterior.
- No se considera un producto peligroso para el medio ambiente, según la legislación vigente.

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

| PRODUCTO | ASPECTO Y COLOR | pH | COMPOSICIÓN |
|---|--|-----------|---|
|  | Líquido marrón claro, ligeramente turbio | 5.4 – 5.8 | Enzimas y estabilizantes |
|  | Líquido ámbar claro, transparente | 8.0 – 8.4 | Tensioactivos, secuestrantes y estabilizantes |
| Tratamiento enzimático | Líquido incoloro transparente | 7,8 – 8,2 |  |

Esta información está basada en el estado actual de nuestros conocimientos y puede ser modificada sin previo aviso. Itram Higiene, S.L. no se hace responsable del uso incorrecto del producto.

MODO DE EMPLEO

Preparar una solución con 0,05% de **BIO CIP** y 0,25% de **TENSIO CIP** (en una relación 1:5, respectivamente) utilizando agua a 45 – 55 °C. Una vez preparada debe ser usada dentro de las siguientes dos horas. Aplicar:

Unidades CIP

- Permitir que la solución circule por la unidad CIP entre 30 – 120 minutos a 45 – 55 °C.
- Para optimizar el tratamiento enzimático, se recomienda alcalinizar la solución ajustando a un pH de $9,5 \pm 0,1$ con Hidróxido de sodio (opcional).
- Mantener la circulación durante 30 minutos y enjuagar con agua abundante.

Unidades de filtración

- Permitir el remojo de la unidad de filtración con la solución entre 60 – 120 minutos a 45 – 55 °C.
- Para optimizar el tratamiento enzimático, se recomienda alcalinizar la solución ajustando a un pH de $9,5 \pm 0,1$ con sosa (Hidróxido de sodio).
- Mantener el remojo durante 30 minutos y enjuagar con agua abundante.

En ambos casos, mencionados anteriormente:

- Previo al tratamiento enzimático, si es requerido, realizar una limpieza alcalina y posteriormente verificar que no haya residuos alcalinos previo al tratamiento que pudiera inactivar la función enzimática.
- Durante el tratamiento enzimático, es muy importante mantener el rango de temperatura para asegurar la máxima actividad enzimática.
- Después del tratamiento enzimático, continuar con una etapa de desinfección adecuada (según nuestras recomendaciones), preferiblemente con productos BACTITRAM OXY o un agente oxidante.

ALMACENAMIENTO

Almacenar entre 5 – 25 °C. El almacenamiento deberá ser en el envase original, intacto, seco, bien cerrado. El producto debe almacenarse aislado de fuentes de calor y eléctricas. Si es posible, evitar la incidencia directa de radiación solar. **BIO CIP**: Consérvese lejos de agentes oxidantes. **TENSIO CIP**: Consérvese lejos de agentes reductores, agentes oxidantes, ácidos, álcalis, metales.

RECOMENDACIONES

BIO CIP: usar antes de la fecha de caducidad (un año a partir de la fecha de expedición) y consumir seis meses después de abrir. **TENSIO CIP**: usar antes de la fecha de caducidad (dos años a partir de la fecha de expedición) y consumir un año después de abrir.

Esta información está basada en el estado actual de nuestros conocimientos y puede ser modificada sin previo aviso. Itram Higiene, S.L. no se hace responsable del uso incorrecto del producto.



PRECAUCIONES

BIO CIP: Nocivo. Posibilidad de sensibilización por inhalación. **TENSIO CIP: Irritante.** Irrita las vías respiratorias y la piel. Riesgo de lesiones oculares graves. En ambos productos, evítese el contacto con la piel. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Consulte la **ficha de seguridad** para información adicional sobre nuestros productos.

PRESENTACIÓN:

BIO CIP: Botellas de 1 kg

TENSIO CIP: Garrafas de 5 y 20 kg

Esta información está basada en el estado actual de nuestros conocimientos y puede ser modificada sin previo aviso. Itram Higiene, S.L. no se hace responsable del uso incorrecto del producto.