

**EVALUACIÓN, SELECCIÓN Y ADAPTACIÓN DE MÉTODO VOLUMÉTRICO
PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO PERACÉTICO EN SANITIZANTES
UTILIZADOS PARA EL PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE
EMPRESA PRODUCTORA DE LECHE**

LIZETH VIVIANA DELGADO DÍAZ

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2011**

**EVALUACIÓN, SELECCIÓN Y ADAPTACIÓN DE UN MÉTODO
VOLUMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO PERACÉTICO EN
SANITIZANTES UTILIZADOS PARA EL PROGRAMA DE LIMPIEZA Y
DESINFECCIÓN DE EMPRESA PRODUCTORA DE LECHE**

Lizeth Viviana Delgado Díaz

Trabajo de grado en modalidad Pasantía, presentado como requisito parcial para
optar por el título de Químico

Director

Isabel Bravo Realpe

M.Sc. Química

Universidad del Cauca.

Codirector

Iván Darío Sanchez

Ing. Químico

Departamento de Aseguramiento de la Calidad Físicoquímica.
ALPINA, Productos Alimenticios S.A., Planta Popayán.

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2011**

Nota de Aceptación

Director
M.Sc. ISABEL BRAVO REALPE

Co Director
Ing. IVAN DARIO SANCHEZ

Jurado
Ing. CARLOS ANDRÉS CHANTRÉ

Jurado
Ph. D. EDIER H. PÉREZ

Popayán, 08 de Noviembre de 2011

DEDICATORIA

A aquél único sabio Dios, al Rey eterno, inmortal y todopoderoso que me dio la vida y las aptitudes necesarias para cumplir esta meta... por mostrarme día a día el camino que he de seguir y ser mi fortaleza, fuente de agua viva y la roca firme donde construyo mi futuro.

A mis padres, quienes por su amor, dedicación y enfoque dado, son los principales gestores de mi triunfo.

A mi madre, por ser mi mejor amiga, mi apoyo incondicional, mi paño de lágrimas y paso fuerte para continuar el camino. Quien con su ejemplo y entrega, ha forjado una familia de la cual me siento orgullosa y bendecida.

A mis hermanos y sobrinos, que me han apoyado en cada sueño con alegría y entusiasmo.

... A ustedes que son mi felicidad, a ustedes que los amo.

Jos 1:9: “Yo soy quien te manda que tengas valor y firmeza. No tengas miedo ni te desanimas porque yo, tu Señor y Dios, estaré contigo dondequiera que vayas.”

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser el motor de mi vida. Mi padre amado. Mi Señor y Salvador.

A mi madre, quien me acompañó en todo este proceso, aun cuando sentía desfallecer.

A mi familia por su amor y consejo.

A mi directora, Isabel Bravo Realpe, quien no sólo orientó y dedicó tiempo en la preparación y desarrollo de este trabajo, sino que también me brindó consejos y recomendaciones que contribuyeron a mi formación personal y profesional.

A mis jurados, Ing. Andrés Chantré y Ph.D. Edier H. Pérez, por sus sugerencias, instrucciones y tiempo dedicado.

A la Universidad del Cauca, especialmente, al Departamento de Química, que me instruyó en esta maravillosa ciencia.

Al personal de Alpina, Productos Alimenticios, Planta Popayán, en especial al ingeniero Iván Sánchez, por creer en mí y brindarme la oportunidad de aplicar mis conocimientos en beneficio de la empresa.

A mis compañeros: Cristian Samboní, Angélica Escobar, Sandra Cuellar, y Camilo Arboleda, por brindarme su amistad y colaboración desinteresada a lo largo de estos años.

A Félix Rodríguez, por sus consejos que siempre han sido de gran apoyo en mi formación profesional y personal.

Al pastor, Jhonny Montaña, quien me ha llevado a conocer más acerca de ese maravilloso Ser que cambió mi vida... para siempre.

Finalmente, quienes fueron partícipes en la realización de este trabajo, a quienes me han enseñado el amor, la perseverancia, la inteligencia y la sabiduría.

CONTENIDO

	pág.
1. RESUMEN	21
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
3. OBJETIVOS	23
4. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	24
4.1 LA LECHE.....	24
4.1.1 Composición.	25
4.1.2 Microorganismos en la leche cruda	26
4.2 PROCESO CIP.	26
4.2.1 Oxonia Active®	28
4.2.2 Vortexx Es®	30
4.3 SANITIZANTES	30
4.3.1 Métodos de acción de los sanitizantes y parámetros que pueden afectar su efectividad.....	31
4.3.2 Mecanismos de resistencia bacteriana.	33
4.3.3 Agentes de desinfección química	34
4.3.3.1 Hipocloritos..	34
4.3.3.2 Yodóforos.....	34
4.3.3.3 Amonios Cuaternarios (Quats).	34
4.3.3.4 Aldehídos.....	34

4.3.3.5 Alcoholes..	34
4.3.3.6 Fenoles..	34
4.3.3.7 Ácidos..	35
4.3.3.8 Ácido Peracético (APA).....	35
4.3.3.9 Peróxido de Hidrógeno.	36
4.3.3.10 Mezcla APA – PH.....	36
4.4 TECNICAS DE DETERMINACIÓN DE APA.....	38
4.5 TÉCNICA ANALÍTICA DE USO EN LA VALORACIÓN DE SOLUCIONES DEL PROCESO CIP	38
4.5.1 Permanganometría	39
4.5.2 Cerimetría.	39
4.5.3 Métodos con yodo.....	39
4.5.4 Estandarización de reactivos.	40
4.5.4.1 Estandarización del KMnO_4 y Ce^{4+}	40
4.5.4.2 Estandarización del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	41
4.6 PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTÁNDAR (POE).....	42
4.7 TÉRMINOS ESTADÍSTICOS	43
4.7.1 Exactitud.	43
4.7.2 Precisión.	43
4.7.2.1 Repetibilidad (Repetitividad).....	44
4.7.2.2 Reproducibilidad.	44
4.7.3 Precisión Intermedia.	44
4.7.4 Linealidad.	44

4.7.5 Límite de Detección (LOD).	45
4.7.6 Límite de Cuantificación (LOQ).	45
4.7.7 Sensibilidad.	46
4.7.8 Pruebas de Normalidad.	46
4.7.9 Pruebas Paramétricas.	46
5. METODOLOGÍA	48
5.1 ESTANDARIZACIÓN DE METODOLOGÍAS	48
5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	48
5.3 DETERMINACIÓN DE APA MEDIANTE MÉTODO VOLUMÉTRICO	49
5.3.1 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando KMnO_4 .	49
5.3.2 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	50
5.3.3 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$.	51
5.4 ADAPTACIÓN DEL KIT DE GOTEROS	51
5.5 ELABORACIÓN DEL POE	51
5.6 CAPACITACIÓN DE PERSONAL	52
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS	53
6.1 ESTANDARIZACIÓN DE REACTIVOS	53
6.2 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PH Y APA EN LOS SANITIZANTES SUMINISTRADOS POR EL PROVEEDOR	53
6.2.1 Valoración de Oxonia.	54
6.2.2 Valoración de Vortexx.	57

6.3 EVALUACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS UTILIZADAS PARA LA VALORACIÓN DE LOS SANTIZANTES UTILIZADOS EN EL SISTEMA CIP.....	61
6.3.1 Verificación de la Calibración del Sistema Instrumental.	62
6.3.2 Definición del rango de concentración adecuado para Determinación de APA en Oxonia y Vortexx.....	63
6.3.3. Establecimiento del Tiempo de Espera para la titulación de soluciones utilizando la metodología del MA.	63
6.3.4 Valoración de Oxonia.....	65
6.3.4.1 Precisión intermedia en la valoración de APA en soluciones de Oxonia...	66
6.3.4.2 Repetibilidad en la valoración de APA en soluciones de Oxonia.	70
6.3.5 Valoración de Vortexx.....	73
6.3.5.1 Precisión intermedia en la valoración de APA en soluciones de Vortexx.	73
6.3.5.2 Repetibilidad en la valoración de APA en soluciones de Vortexx..	77
6.4 SELECCIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DE LOS SANITIZANTES	80
6.5 ADAPTACIÓN A LOS GOTEROS DEL MÉTODO DEL SULFATO DE CERIO (IV), PARA DETERMINAR APA EN SANITIZANTES	81
6.5.1 Valoración de Oxonia.	82
6.5.1.1 Precisión intermedia para valoración de APA en Oxonia, utilizando los goteros.	82
6.5.1.2 Repetibilidad para valoración de APA en Oxonia, utilizando los goteros.	85
6.5.2 Valoración de Vortexx.....	87
6.5.2.1 Precisión intermedia para valoración de APA en Vortexx, utilizando los goteros.....	87
6.5.2.2 Repetibilidad para valoración de APA en Vortexx, utilizando los goteros	91
6.6 VALORACIÓN DE LOS SANITIZANTES PROVEÍDOS POR LA BOMBA DEL SISTEMA CIP.	92

6.6.1 Valoración de las soluciones de Oxonia suministradas por la bomba CIP....	93
6.6.2 Valoración de las soluciones de Vortexx suministradas por la bomba CIP...	97
6.7 ESTABLECIMIENTO DE UN FACTOR PARA RELACIONAR DIRECTAMENTE EL NÚMERO DE GOTAS Y LA CONCENTRACIÓN DE APA.....	101
6.8 PROCEDIMIENTO DE TITULACION DE OXONIA Y VORTEXX UTILIZANDO LOS GOTEROS.....	103
7. CONCLUSIONES	106
BIBLIOGRAFÍA.....	108
ANEXO A: Estandarización de Reactivos.....	114
ANEXO B: RESULTADOS DE VALORACIONES DE SANITIZANTES.....	115
ANEXO C. TIEMPO DE DESCOMPOSICIÓN DE PH CON MA.....	122
ANEXO D: POE DE TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP.....	123
ANEXO E: FICHA DE TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP.....	127

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1: Características fisicoquímicas de la leche cruda.....	25
Tabla 2. Características de los residuos de las industrias lácteas.....	27
Tabla 3. Características de Vortexx y Oxonia.....	28
Tabla 4. Diferencias entre desinfectantes y sanitizantes.....	31
Tabla 5. Propiedades de algunos sanitizantes y desinfectantes.	32
Tabla 6. Sustancias permitidas como componentes de sanitizantes o desinfectantes en alimentos.....	33
Tabla 7. Rangos de concentración permitidos en sanitizantes para destino alimenticio.....	37
Tabla 8. Algunos oxidantes comunes utilizados en soluciones patrón.....	40
Tabla 9. Resultados emitidos por la empresa productora de sanitizantes.....	53
Tabla 10. Valores de t para un nivel de probabilidad del 95%.....	54
Tabla 11. Concentración de PH y APA en Oxonia concentrado utilizando el método del KMnO_4	54
Tabla 12. Concentración de PH y APA en Oxonia concentrado utilizando el método del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	54
Tabla 13. Estadísticos para la valoración del peróxido de hidrógeno en Oxonia. .	55
Tabla 14. Prueba t de comparación de medias (concentración de PH en Oxonia) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.....	55
Tabla 15. Estadísticos para la valoración del APA en Oxonia.....	56
Tabla 16. Prueba t de comparación de medias (concentración de APA en Oxonia) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.....	57

Tabla 17. Concentración de PH y APA en Vortexx utilizando el método del KMnO_4 .	57
Tabla 18. Concentración de PH y APA en Vortexx utilizando el método del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.	58
Tabla 19. Correlación de Pearson para determinación de PH y APA en Vortexx utilizando las metodologías para el sanitizante concentrado	58
Tabla 20. Estadísticos para la valoración del peróxido de hidrógeno en Vortexx.	58
Tabla 21. Prueba <i>t</i> de comparación de medias (concentración de PH en Vortexx) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.	60
Tabla 22. Estadísticos para la valoración del APA en Vortexx.	60
Tabla 23. Prueba <i>t</i> de comparación de medias (concentración de APA en Vortexx) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.	61
Tabla 24. Prueba de densidad para verificación de calibración de la bureta.	62
Tabla 25. Volúmenes obtenidos a partir de la bureta durante la calibración (método de Brand).	63
Tabla 26. Niveles de concentración de las curvas de calibración de APA.	63
Tabla 27. Prueba ANOVA para el tiempo de espera de titulación con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, previa adición de MA.	65
Tabla 28. Prueba de normalidad para el tiempo de espera de titulación con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, previa adición de MA.	65
Tabla 29. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Oxonia para las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.	67
Tabla 30. Evaluación de la linealidad instrumental para Oxonia utilizando las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.	67
Tabla 31. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.	68
Tabla 32. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del MA.	68

Tabla 33. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, bajo condiciones de precisión intermedia.	69
Tabla 34. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia mediante la metodología del MA, bajo condiciones de precisión intermedia.	69
Tabla 35. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia mediante las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.	69
Tabla 36. Precisión en los niveles de concentración en Oxonia, bajo condiciones de repetibilidad.....	71
Tabla 37. Prueba de muestras relacionadas para las pendientes e interceptos obtenidos bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia, tanto de la metodología del KMnO_4 como la del MA.	72
Tabla 38. Límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) para Oxonia.	72
Tabla 39. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Vortexx para las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.	74
Tabla 40. Evaluación de la linealidad instrumental para Vortexx utilizando las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.	75
Tabla 41. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del KMnO_4	75
Tabla 42. Resumen de la correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del Ce^{4+} y MA.	76
Tabla 43. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.	76
Tabla 44. Resumen de resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del Ce^{4+} y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.	76

Tabla 45. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.....	77
Tabla 46. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia mediante las metodologías del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y el MA, bajo condiciones de precisión intermedia.	77
Tabla 47. Precisión en los niveles de concentración en Vortexx, bajo condiciones de repetibilidad.....	79
Tabla 48. Prueba de muestras relacionadas para las pendientes e interceptos de las curvas de calibración de las metodologías del KMnO_4 y MA, obtenidas bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia.	79
Tabla 49. Límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) para Vortexx.....	80
Tabla 50. Variación de volúmenes de H_2SO_4 y KI.....	81
Tabla 51. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Oxonia utilizando los goteros, bajo condiciones de precisión intermedia.....	83
Tabla 52. Evaluación de la linealidad instrumental para Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.	83
Tabla 53. Correlación de Pearson entre el número de gotas empleadas para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación.....	84
Tabla 54. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia utilizando los goteros, bajo condiciones de precisión intermedia.	85
Tabla 55. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.....	85
Tabla 56. Precisión en los niveles de concentración de Oxonia utilizando los goteros.....	86
Tabla 57. Límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para Oxonia utilizando los goteros.....	86

Tabla 58. Prueba <i>t</i> de comparación de medias independientes: analista 1 vs analista 2	87
Tabla 59. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros	88
Tabla 60. Evaluación de la linealidad instrumental para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.	89
Tabla 61. Correlación de Pearson entre el número de gotas empleadas para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación.....	89
Tabla 62. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.....	90
Tabla 63. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros	90
Tabla 64. Límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para Vortexx utilizando los goteros.	91
Tabla 65. Prueba <i>t</i> de comparación de medias: analista 1 vs analista 2	92
Tabla 66. Concentración de APA en Oxonia por día de evaluación (bureta).	93
Tabla 67. Porcentaje de error de dilución de la bomba CIP.	93
Tabla 68. Concentración de APA en Oxonia obtenido a través de la bomba CIP, por día de evaluación (goteros).	94
Tabla 69. Correlaciones de concentraciones de APA en Oxonia, halladas utilizando la bureta vs goteros.	95
Tabla 70. Prueba de muestras relacionadas: concentración hallada utilizando la bureta vs goteros, en Oxonia.	95
Tabla 71. ANOVA de un factor para comparación de la concentración de APA en Oxonia en diferentes muestras, utilizando la bureta y los goteros.....	95
Tabla 72. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando los goteros.	96

Tabla 73. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando la bureta.....	96
Tabla 74. Concentración de APA en Vortexx por día de evaluación (bureta).....	97
Tabla 75. Porcentaje de error de dilución de la bomba CIP, en soluciones de Vortexx.....	98
Tabla 76. Concentración de APA en Vortexx obtenido a través de la bomba CIP, por día de evaluación (goteros).	99
Tabla 77. Correlaciones de concentraciones de APA en Vortexx, halladas utilizando la bureta vs goteros.	99
Tabla 78. Prueba de muestras relacionadas: concentración hallada utilizando la bureta vs goteros, en Vortexx.	99
Tabla 79. ANOVA de un factor para comparación de la concentración de APA en Vortexx en diferentes muestras, utilizando la bureta y los goteros.	99
Tabla 80. Prueba de Duncan para concentración de APA en Vortexx en diferentes días y muestras, utilizando los goteros.	100
Tabla 81. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando la bureta.....	100
Tabla 82. Relación del número de gotas de tiosulfato de sodio 0,1 N vs concentración de APA en Oxonia.	101
Tabla 83. Relación del número de gotas de tiosulfato de sodio 0,1 N vs concentración de APA en Vortexx.	102
Tabla 84. Relación de reactivos y cantidad a utilizar para la titulación de soluciones sanitizantes del sistema CIP.	103
Tabla 85. Numeración de reactivos para realizar la titulación de los sanitizantes CIP.....	104

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Depósitos en una superficie expuesta al calor.....	27
Figura 2. Diagrama de proceso de lavado CIP completo. (T=Temperatura; t=tiempo; [] = concentración; OH ⁻ = base; H ⁺ =ácido).....	29
Figura 3. Descomposición del APA. (a) Hidrólisis (b) descomposición espontánea y/o catalizada por metales (c) descomposición del PH.....	35
Figura 4. Equilibrio de la mezcla APA y PH	36
Figura 5. Estandarización del permanganato de potasio.	41
Figura 6. Estandarización del tiosulfato de sodio.....	41
Figura 7. Metodología de determinación de PH y APA utilizando KMnO ₄	50
Figura 8. Metodología de determinación de PH y APA puros utilizando Ce(SO ₄) ₂	50
Figura 9. Metodología de determinación de APA utilizando ((NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄).	51
Figura 10. Gráfico de dispersión para la determinación de PH en Oxonia.....	55
Figura 11. Gráfico de dispersión para la determinación de APA en Oxonia.	56
Figura 12. Gráfico de dispersión para la determinación de PH en Vortexx.....	58
Figura 13. Ferroína: estructura y cambios de coloración.	59
Figura 14. Gráfico de dispersión para la determinación de APA en Vortexx.....	60
Figura 15. Volumen de Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1N gastados en la titulación de los niveles de concentración de las soluciones de Oxonia versus Tiempo de espera para realizar la titulación, posterior a la adición del MA.....	64
Figura 16. Curvas de calibración para Oxonia mediante las metodologías del KMnO ₄ , Ce(SO ₄) ₂ , y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.....	66

Figura 17. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de repetibilidad.....	70
Figura 18. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.	70
Figura 19. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del MA, bajo condiciones de repetibilidad.	71
Figura 20. Curvas de calibración de APA en Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.	73
Figura 21. Curvas de calibración de APA en Vortexx mediante la metodología del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.	74
Figura 22. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 y Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.	78
Figura 23. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del MA, bajo condiciones de repetibilidad.	78
Figura 24. Curvas de calibración de APA en Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.....	82
Figura 25. Curvas de calibración para Oxonia, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.	86
Figura 26. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.....	88
Figura 27. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.	91
Figura 28. Frecuencia de concentraciones de Oxonia del sistema CIP.	94
Figura 29. Frecuencia de concentraciones de Vortexx del sistema CIP.	98
Figura 30. Diagrama de flujo del procedimiento de titulación de soluciones sanitizantes para sistema CIP, con los goteros.	104
Figura 31. Titulación de APA en soluciones diluidas de Oxonia y Vortexx.	105

ACRÓNIMOS

%p/p: Porcentaje peso-peso.

%v/v: Porcentaje volumen-volumen.

AA: Ácido acético.

APA: Ácido peracético, ácido peroxiacético.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura

CFR: Code of Federal Regulations (Código de Regulaciones Federales)

CIP: *Clean-in-place*.

CV: Coeficiente de variación.

F : estadístico F , de la prueba F de Fisher.

H_0 : Hipótesis nula.

H_a : Hipótesis alternativa.

HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control: APPCC)

IC: Intervalo de confianza.

LC: Límite de confianza

MA: Molibdato de amonio.

PH: Peróxido de hidrógeno.

POE: Procedimiento Operativo Estándar

POES: Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento

ppm: Partes por millón.

QUAC: Quaternary Ammonium Compound (Compuesto de Amonio Cuaternario)

S: Desviación estándar.

Sig.: Significancia.

t: estadístico *t*, de la prueba *t* de Student.

1. RESUMEN

La limpieza, desinfección y sanitización de una planta procesadora de alimentos, es un aspecto crítico del programa de higiene, que permite proteger la salud del consumidor gracias a la producción de alimentos inocuos, además de garantizar que equipos y líneas de proceso en general sean inocuos a lo largo de la producción. Una adecuada desinfección y/o sanitización es esencial para una producción de alimentos de alta calidad, especialmente en aquellos denominados “larga vida”. (SPX CORPORATION, 2010)

El proceso *Clean-in-Place* (CIP), es una práctica muy utilizada en las plantas de productos lácteos, que involucra factores óptimos de concentración, temperatura, presión y tiempo de contacto con soluciones químicas de los equipos, para su aseo y desinfección (SPX CORPORATION, 2010). Su selección y verificación debe hacerse incorporando parámetros y criterios que satisfagan las necesidades reales de la empresa, redundando en: una adecuada relación costo-beneficio, la óptima calidad de los productos y plena satisfacción de los consumidores. (RUTALA, 1996; HIDALGO, 2002)

El trabajo de grado en modalidad pasantía, se enfocó en la determinación de la concentración de ácido peracético (APA) en dos de los sanitizantes utilizados en el programa de limpieza y desinfección de una planta productora de leche. Se implementaron y evaluaron las tres metodologías volumétricas existentes para tal fin, utilizando permanganato de potasio, sulfato de cerio, o, molibdato de amonio (MA), para eliminar la interferencia causada por el peróxido de hidrógeno (PH) en la valoración indirecta del APA, realizada con tiosulfato de sodio 0,1N, en presencia de una solución de almidón (1%p/v). Se determinaron límites críticos y tiempo óptimo de titulación del APA, en los rangos óptimos de determinación, evaluando: linealidad, precisión intermedia, repetibilidad y reproducibilidad. Se aplicó un tratamiento estadístico mediante SPSS 11.5. Con base a estos parámetros, se descartó la metodología correspondiente al MA, y se seleccionó la del sulfato de cerio como metodología más adecuada por su mayor precisión. Se evaluaron muestras tomadas a partir de la bomba del sistema CIP, encontrando que en gran parte, sus concentraciones fueron inferiores a la necesaria para el proceso de sanitización. Finalmente, se adaptó la metodología diseñando un kit de goteros de fácil uso y manipulación para la determinación oportuna del APA en los sanitizantes. Además se dejó establecido el Procedimiento Operativo Estándar (POE) correspondiente para la adecuada determinación.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El programa de limpieza y desinfección de equipos, tanques, silos, líneas, tuberías, y demás accesorios empleados durante el procesamiento de leche en Alpina Productos Alimenticios, planta Popayán, se realiza con dos sanitizantes: Oxonia Active® y Vortexx Es®, cuyos principios activos corresponden al ácido peracético (APA) y al peróxido de hidrógeno (PH). En el desarrollo de dicho programa, estos sanitizantes deben permanecer dentro de un rango de concentración adecuado (0,25–0,30% y 0,12–0,16% respectivamente), para evitar la contaminación microbiana o química. (CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 2011; ECOLAB, 2011)

A pesar de que la empresa cuenta con tres metodologías para la determinación de APA, la evaluación de los sanitizantes se realiza mensual o bimensualmente, lo cual puede afectar la calidad de la leche, y originar problemas de salud al consumidor o comprometer económica y legalmente a la empresa, pues el espacio de análisis es extenso si se tiene en cuenta que las soluciones sanitizantes son de uso diario. Además, las metodologías no son de fácil aplicación debido a la cantidad de reactivos, materiales requeridos, tiempo necesario para realizar los análisis y obtener los resultados, y a que éstas no están debidamente implementadas ni estandarizadas en la Planta de Popayán. Por estas razones, era necesario adoptar un sistema de fácil y rápida operación por parte del personal involucrado en la determinación rutinaria de APA, ya que de esto depende, en parte, la calidad microbiológica del producto terminado.

Con base en las consideraciones anteriores, se evaluó las tres metodologías dispuestas por la planta de Popayán, para la determinación de APA en los dos sanitizantes mencionados, en términos de precisión, repetibilidad y reproducibilidad; con aquella que mejores resultados arrojó, se implementó una técnica que permite a los operarios ubicados en cada una de las áreas de proceso, conocer la concentración del sanitizante antes de iniciar el proceso CIP o de inmersión de piezas desmontables, logrando que los equipos, líneas y demás accesorios de la planta no sean una fuente de contaminación para la leche.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las tres metodologías existentes en Alpina S.A., Planta Popayán, para la determinación del APA en dos sanitizantes, con el propósito de seleccionar una de ellas y adaptarla a un kit de goteros.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la precisión, repetibilidad y reproducibilidad de las tres metodologías establecidas por Alpina S.A., con el fin de determinar estadísticamente, cuál de ellas presenta mejor desempeño para los sanitizantes (Oxonia Active® y Vortexx Es®).
- Adaptar e implementar la metodología seleccionada a un kit de goteros, compuesto por los reactivos correspondientes a la técnica.
- Capacitar al personal encargado del proceso CIP para determinar la concentración de los sanitizantes, mediante el kit de goteros.
- Generar un documento POE en el que se describa detalladamente el procedimiento a seguir para la determinación de APA en los sanitizantes, con el fin de que los operarios antiguos o de recién ingreso a la empresa puedan aplicarlo.

4. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.

La leche, es uno de los alimentos más completos que existen en la naturaleza ya que aporta elementos muy valiosos para la nutrición como: vitaminas, proteínas de alto valor biológico, y otros minerales (FAO, 2002). Sin embargo, puede ser un vehículo importante de contaminantes químicos y agentes microbianos que encuentran en ella los elementos necesarios para su supervivencia (FAO, 2002), repercutiendo de forma significativa en la salud y economía de los consumidores (FAO/OMS, 2003). Por consiguiente, la limpieza y desinfección adecuada de todas las superficies de las tuberías y equipos que entran en contacto con el producto, incluidas las zonas de difícil acceso, tales como acoples, válvulas de desviación y muestreo, es esencial para garantizar la inocuidad de estos alimentos, ya que no sólo depende de la carga microbiana inicial del producto, sino también de que se evite la proliferación de ellos dentro de la planta (FAO, 2011; PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS, 2008).

La calidad, definida por la *International Organization for Standardization (ISO)*, es “la totalidad de las características y rasgos de un producto relacionados con su capacidad para satisfacer necesidades explícitas o implícitas”. Su pérdida en un producto, en este caso, la leche, puede ser indicio de la presencia de microorganismos banales y patógenos que afectan la calidad físico-química, microbiológica y organoléptica del alimento, haciéndolo riesgoso para el consumo (FAO/OMS, 2003; SILVA, et. al., 2002), lo cual puede evitarse aplicando las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), que en conjunto con el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), controlan las condiciones operacionales dentro de un establecimiento, tendiendo a facilitar la producción de alimentos inocuos, ya que involucran procedimientos referentes a las materias primas, condiciones higiénico-sanitarias, rechazo de productos, entre otras. (CASTELLANOS, 2004; PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS, 2008; SENASA, 1998)

Las industrias lácteas deben tener especial cuidado con la limpieza y sanitización de todas las partes internas de los equipos que se emplean en el procesamiento del producto, ya que están expuestas por contacto a ciertos contaminantes, como los depósitos de fosfatos de calcio y magnesio, proteínas, grasa, etc., que generalmente se originan al calentar la leche a temperaturas $\geq 60^{\circ}\text{C}$ (BYLUND, 2003), y hacen que una limpieza satisfactoria sea un objetivo por alcanzar tanto química como microbiológicamente.

4.1 LA LECHE

El Ministerio de la Protección Social, en su Decreto 616 del 2006, indica que la leche, es el producto íntegro, normal y fresco, exenta de calostro y de materias

extrañas a su naturaleza, obtenida del ordeño higiénico, completo e ininterrumpido de vacas sanas y bien alimentadas. Su producción se hace con la intención de proporcionar un alimento de alto valor nutritivo para el ser humano, pues cada día se reconocen más las cualidades. Sin embargo, para que cumpla con las expectativas nutricionales debe reunir una serie de requisitos que definen su calidad: composición fisicoquímica, cualidades organolépticas y microbiológicas (ver tabla 1). (SABAENA, 2009; COLOMBIA: MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, Decreto 616, 2006; SARAN y CHAFFER, 2000)

Tabla 1: Características fisicoquímicas de la leche cruda.

Parámetro (unidad)	Leche cruda	
Grasa mínimo (%p/v)	3,00	
Extracto seco total mínimo (%p/p)	11,30	
Extracto seco desengrasado mínimo (%p/p)	8,30	
	Min.	Máx.
Densidad 15/15°C (g/mL)	1,030	1,033
Índice Lactométrico	8,40	
Acidez expresada como ácido láctico (%p/v)	0,13	0,17
Índice crioscópico (°H)	-0,550	-0,530

FUENTE: Ministerio de la Protección Social, Decreto 616 de 2006.

4.1.1 Composición (BYLUND, 2003; SABAENA, 2009). La leche es una gran fuente de nutrientes esenciales, y dentro de sí, se hallan: proteínas, lípidos, carbohidratos, minerales (sales), agua y vitaminas, además de enzimas, anticuerpos y otras sustancias, que conforman el 13% de su composición (sólidos totales: ST), mientras que el contenido de agua predomina con un 87%.

Los ST, pueden variar entre vacas de diferentes razas y aún entre ellas mismas. Aproximadamente, el 3-4% de la leche está constituida por grasas o lípidos, en la cual predominan los triglicéridos, aunque también están presentes: di- y monoglicéridos, ácidos grasos, esteroides, carotenoides y vitaminas liposolubles (A, D, E, y K). Las proteínas, abarcan un 3 - 3,5% de los ST, donde las caseínas son las más importantes, aunque no las únicas, ya que existen las proteínas de suero (albúminas y globulinas) y enzimas (lactoperoxidasa, catalasa, fosfatasa alcalina, y lipasa) que permiten valorar la calidad del producto una vez ha sido procesado. Entre los carbohidratos (~4%), la lactosa es el principal y su contenido depende de la especie y raza del animal, alimentación y estado de lactación (fase calostrala, lactación, final de la lactación). El 2% restante, está compuesto por vitaminas hidrosolubles (B1, B2, C), sales de calcio, sodio, potasio, y magnesio, presentes como fosfatos, cloruros, carbonatos, citratos y caseinatos; algunas células

somáticas (leucocitos o células blancas) en bajas concentraciones (200000 células/mL), y gases disueltos, como: dióxido de carbono, nitrógeno y oxígeno.

4.1.2 Microorganismos en la leche cruda. (BYLUND, 2003; SABAENA, 2009).

La leche, aún justo antes de ser secretada por la ubre, puede ser infectada por bacterias que han entrado a través de sus canales; estas bacterias normalmente son pocas y no perjudiciales. Sin embargo en algunos casos, una inflamación de la ubre (mastitis), puede causar una gran contaminación del producto con bacterias e incluso, tornarla no apta para el consumo. Al mismo tiempo, en el curso de la manipulación, la leche es propensa a ser infectada por varios microorganismos, principalmente bacterias gram-positivas (gram(+)) o gram-negativas (gram(-)). Entre las gram(+), se encuentran los micrococos (capacidad proteolítica), los estafilococos (como el *Staphylococcus aureus*, que es termorresistente y produce una toxina causal de fuertes trastornos intestinales), las bacterias esporuladas (acidificación, coagulación o proteólisis), y los clostridium (*Clostridium botulinum* produce toxinas y es resistente a la pasteurización). Entre las gram(-), se encuentran las enterobacterias patógenas, siendo la *Salmonella* la de mayor importancia, aunque la *Yersinia*, *E. coli*, *Shigella*, *Enterobacter aerogenes*, y *Klebsiella*, también pueden provocar trastornos gastrointestinales severos.

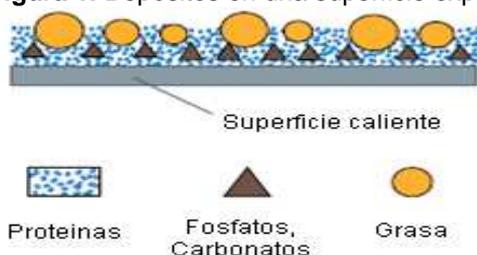
4.2 PROCESO CIP. (BYLUND, 2003; SPX CORPORATION, 2010)

El proceso *Clean-in-Place* (CIP), es una práctica muy común en plantas de productos lácteos que involucra factores óptimos de concentración, temperatura, presión y tiempo en las que soluciones químicas tienen contacto con los equipos, para su aseo y desinfección. Al utilizarlo, se reduce al mínimo la manipulación, lavados, tiempo que la planta está fuera de producción, además, permite el uso de químicos agresivos en un entorno cerrado los cuales no podrían ser manipulados de modo seguro con una limpieza manual. Su selección y verificación debe hacerse incorporando los parámetros y criterios que satisfagan las necesidades reales de la empresa. (HIDALGO, 2002; RUTALA, 1996).

El sistema CIP, está diseñado para lavar y desinfectar automáticamente sin necesidad de llevar a cabo maniobras de desmontaje de equipos. Además, posibilita limpiar determinadas áreas mientras que otras continúan operando, permitiendo así una utilización óptima de la planta de producción y ahorros significativos de los líquidos de limpieza, aguas de enjuague y horas de trabajo. Se puede efectuar con sistemas automatizados o manuales según la necesidad (piezas desmontables), permitiendo alcanzar resultados confiables y satisfactorios respecto a las regulaciones de las BPM para las industrias alimenticia, láctea, biotecnológica, farmacéutica y cosmética. (SOLVAY S.A., 2011)

Los residuos presentes en los equipos de las plantas lácteas, consisten principalmente en depósitos de “piedras de leche” (fosfatos de calcio y magnesio) adheridos a las superficies, formados al exponer la leche a temperaturas por encima de los 60°C, los cuales en conjunto con proteínas, grasas, y azúcares, hacen de la limpieza un trabajo difícil (ver figura 1), pues para removerlos deben ser solubles (ver tabla 2), y por lo tanto, se requiere el uso de soluciones limpiadoras, las cuales el sistema CIP utiliza y monitorea durante todo el proceso.

Figura 1. Depósitos en una superficie expuesta al calor.



Fuente: BYLUND, Gösta. Dairy Processing Handbook.

Tabla 2. Características de los residuos de las industrias lácteas.

Depósito	Solubilidad	Facilidad de remoción	
		Pasteurización baja / media	Pasteurización alta / UHT
Azúcares	Hidrosoluble	Fácil	Difícil <i>Caramelización</i>
Grasas	No hidrosoluble	Difícil Soluble en bases	Difícil <i>Polimerización</i>
Proteínas	No hidrosoluble	Muy difícil Soluble en bases Poco soluble en ácidos	Muy difícil <i>Desnaturalización</i>
Minerales (sales)	Variable en agua La mayoría de sales, en ácido	Varía	Varía

Fuente: BYLUND, Gösta. Dairy Processing Handbook.

El proceso del CIP (figura 2), se inicia con lavados con agua potable y posteriormente, lavados con ácidos y bases, enjuagando con abundante agua entre ellos. Los lavados alcalinos o básicos (NaOH 2-2,6 %p/v), son usados pues actúan como emulsionantes, disuelven grasas y proteínas, y actúan como agentes bactericidas. Las soluciones ácidas (HNO₃ 0,5% ó H₃PO₄ 2,0%), remueven los depósitos de las sales incrustadas en el sistema. Al final de cada recirculación (últimos 10 segundos) se debe tomar una muestra para verificar la concentración de las soluciones. Si la concentración de la solución de limpieza no cumple con la

concentración mínima, se debe ajustar haciendo uso de la solución correspondiente hasta obtener la concentración estándar y repetir el lavado CIP.

El CIP realizado sólo con ácidos y bases, es decir el ciclo 1 ó lavado intermedio, se realiza cada 2 días ó al finalizar la producción, mientras que el lavado completo (ciclo 1 y 2) que involucra la sanitización, se realiza al inicio de la producción y al inicio de cada semana.

El Oxonia y el Vortexx son sanitizantes que se alternan cada dos meses para evitar que los microorganismos creen resistencia a los componentes respectivos, por ejemplo, si en enero y febrero se usa Oxonia 0,3%v/v como solución sanitizante, marzo y abril se utilizará Vortexx 0,12%v/v.

4.2.1 Oxonia Active®. Es un sanitizante líquido no espumoso de limpieza rápida, que tiene como ingrediente activo APA estabilizado, producido para la industria alimenticia (tabla 3). Tiene excelente eficacia microbiológica contra levaduras y bacterias, aún a bajas temperaturas. No contiene nitrógeno o cloro, y su contenido de P es bajo (máx. 1,37%). Se puede utilizar en concentraciones desde 0,05-3,0%v/v, y a temperaturas de 5-40°C. No es necesario su enjuague.

Su efecto bactericida, esporicida, virucida y fungicida, depende del microorganismo probado, sin embargo, en un tiempo de 0,5 segundos elimina bacterias gram(+) y gram(-), y en 2 minutos máximo, elimina: levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*, *Hansenula*, *Candida parapsilosis*, *Pichia membranefaciens*, *Candida albicans*) y otras como *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*. (ECOLAB, Hoja de Datos de Seguridad del Material, Oxonia Active, 2009)

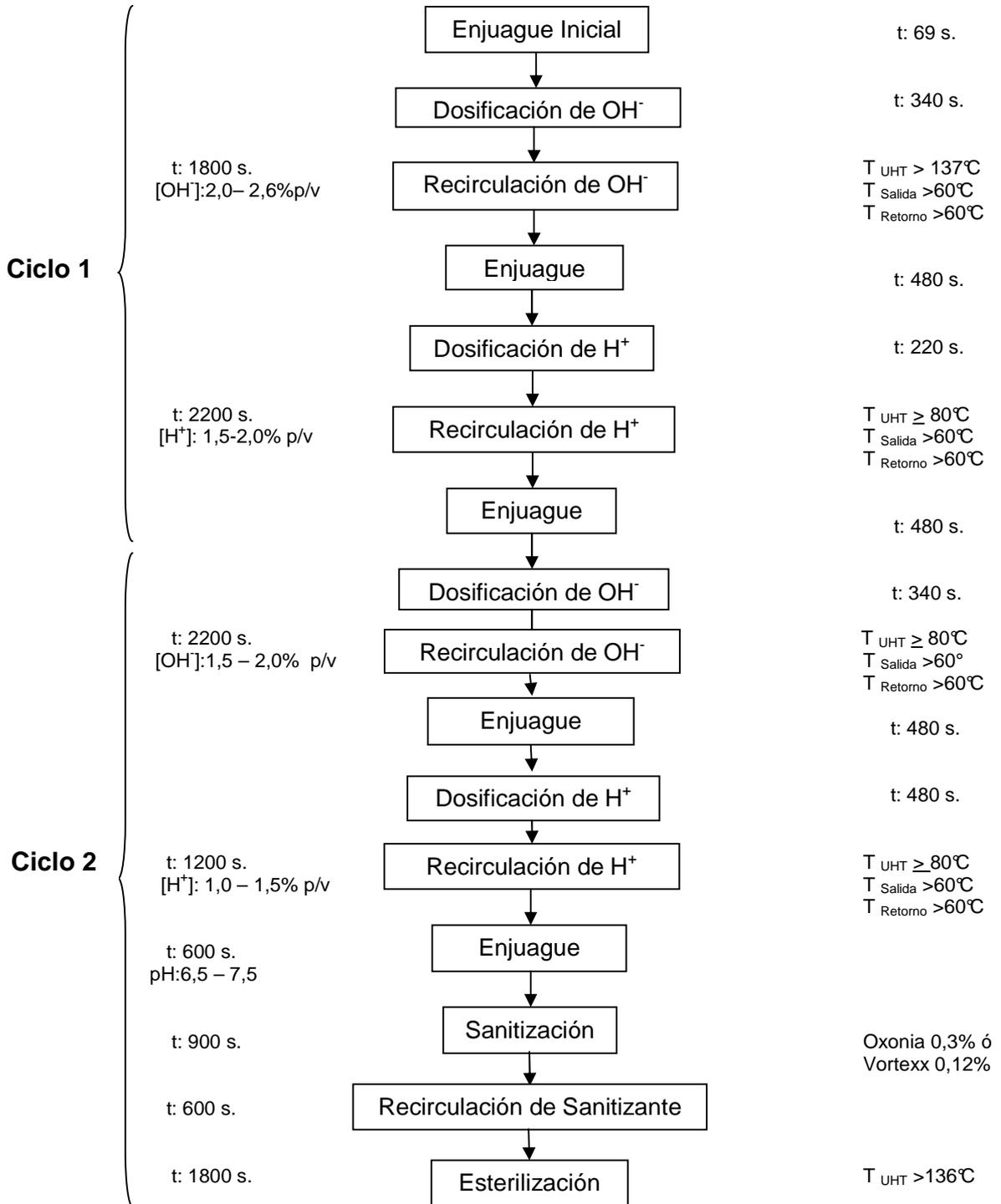
Tabla 3. Características de Vortexx y Oxonia

	Vortexx ES	Oxonia Active
Peróxido de Hidrógeno (%)	1 – 5	12,5 – 30
Ácido acético (%)	48 – 55	30 – 40
Ácido Peroxiacético (%)	9,0 – 16	4,0 – 10,5
Otros Peroxiácidos (%)	9,0	-
Estado Físico	Líquido	Líquido
Color	Incoloro	Incoloro
Olor	Acre	Acre
Contenido de P (%)	<0,3	0,2
Contenido de N (%)	-	0,0
Tiempo de contacto efectivo mínimo	2 minutos	4 minutos

*Los valores pueden variar según las especificaciones de la empresa.

Fuente: (ECOLAB, 2009)

Figura 2. Diagrama de proceso de lavado CIP completo. (T=Temperatura; t=tiempo; [] = concentración; OH⁻= base; H⁺=ácido).



Fuente: Protocolo propiedad de Alpina.

4.2.2 Vortexx Es®. Es un sanitizante a base de ácidos orgánicos y peroxiacéticos, que brinda una óptima protección y eficiencia operacional. Permite mantener las características del producto terminado y aumentar la vida de anaquel. Tiene un amplio espectro bactericida aún a bajas temperaturas. Su formulación proporciona una muy buena relación costo-calidad a las concentraciones de uso recomendadas, ya que es un producto ultra concentrado, que reduce los costos de transporte e inventario. Además, es un producto líquido, que requiere un enjuague corto con agua potable. (Ver tabla 3)

Vortexx, posee actividad antimicrobiana contra levaduras, hongos y bacterias, en especial: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, virus de influenza aviar A (H3N2), entre otros. Su temperatura de uso puede variar de 4 – 49°C, lo cual reduce los costos de energía. Su patente fue diseñada específicamente para aplicaciones en industrias de bebidas, lácteas, cerveza, alimentos, carnes, aves. (ECOLAB, 2009)

4.3 SANITIZANTES

Sanitizar significa reducir el número de microorganismos en estudio a un nivel seguro para la salud (99,999%), generalmente en ambientes inanimados (tabla 4). (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011; COPENHAFFER, et. al., 2009; RUTALA, 1996; ALONSO, et. al., 2008)

Una limpieza efectiva depende de varios factores como: la elección adecuada del producto de limpieza, tiempo de contacto, método de aplicación (por espuma, CIP, aspersion, etc.), temperatura, pH y dureza del agua, entre otros, pues los restos orgánicos provenientes de los residuos de alimentos o cualquier otro material, pueden evitar que producto entre en contacto físico con la superficie de interés. Al elegir un sanitizante o método de sanitización, es necesario considerar aspectos como: el impacto ambiental generado, el costo vs efectividad y eficiencia del sanitizante, el método de aplicación, la actividad antimicrobial residual, la calidad del agua disponible, entre otros. (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011; LOKKESMOE, 1997)

A pesar de existir diferencias entre sanitizar y desinfectar, generalmente se habla de “desinfectar”, al referirse a cualquier acto que favorezca la eliminación o reducción de microorganismos sobre cualquier superficie. Por esta razón, sólo se define la desinfección mediante tres niveles, según su potencia y efectividad: bajo, medio y alto. La desinfección de alto nivel se aproxima, en cuanto a efectividad, a la esterilización, pues consigue destruir todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas. En el nivel medio, las esporas sobreviven, pero se consigue inactivar todas las formas bacterianas vegetativas, incluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, la mayoría de los virus (con y sin envoltura) y hongos

filamentosos. En el nivel bajo, se eliminan la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, tanto gram(+) como gram(-), algunos virus y hongos, pero no *Mycobacterium* spp, ni esporas bacterianas. (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011; CENTRO DE RECURSOS DOCENTES, UAB, 2011)

Tabla 4. Diferencias entre desinfectantes y sanitizantes.

Desinfectante	Sanitizante
Debe eliminar todos los organismos enumerados en su etiqueta.	No necesitan eliminar el 100% de los microorganismos para ser eficaces. Los disminuye a un nivel seguro.
Pueden destruir virus y hongos.	No destruyen virus y hongos necesariamente.
Debe lavarse con agua potable la superficie expuesta.	No requiere lavado.
Usos diversos.	Usado para superficies en contacto con alimentos.
Concentración usual del ingrediente activo: 300 -1000 ppm.	Concentración usual del ingrediente activo: ~200 ppm.
Perfume de uso frecuente.	Ningún perfume es permitido.
Tiempo de exposición: >5, <10 min.	Tiempo de exposición: ≥30 s.

Fuente: RUTALA, 1996. Directrices de la APIC para selección y uso de desinfectantes.

4.3.1 Métodos de acción de los sanitizantes y parámetros que pueden afectar su efectividad. Un sistema ideal de desinfección debe destruir los microorganismos patógenos eficientemente, bajo condiciones normales de operación sin producir efectos tóxicos, mutagénicos, o carcinogénicos, o dejar residuos que tengan efectos ambientales adversos. (KOIVUNEN, 2005)

La eficacia depende de factores intrínsecos (características del agente sanitizante, aplicación, concentración, y tiempo de contacto con la superficie) y extrínsecos (entorno de aplicación: temperatura del ambiente y la superficie de aplicación, presencia de fracciones proteicas, y el modo de aplicación (spray, inmersión, aspersión) (PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS, 2008). Se debe tener en cuenta que la efectividad del agente desinfectante o sanitizante, también depende del tipo y grado de contaminación microbiana presente en la superficie, lo cual incluye el número de microorganismos y el estado en que se encuentran (vegetativo o esporas) (CENTRO DE RECURSOS DOCENTES, UAB, 2011; KOIVUNEN y HEINONEN-TANSKI, 2005). Sin embargo, en igualdad de condiciones, las propiedades de los agentes son diferentes, por esta razón, debe elegirse el más adecuado para la empresa en particular (tabla 5).

Tabla 5. Propiedades de algunos sanitizantes y desinfectantes.

Sustancia	pH	Concentración de uso (ppm)	Actividad germicida	Actividad contra bacterias Gram (+)	Actividad contra bacterias Gram (-)	Actividad contra esporas
Hipoclorito	5 – 7	200	++++	++++	++++	+++-
Yodóforos	1 – 5	25	+++-	++++	++++	----
Ácidos	1 – 3	200	+++-/++++	++++	++++	----
Aldehídos	6 – 8	2 %	++++	++++	++++	++++
Alcoholes	5 – 8	70 %	+++-	++++	++++	----
Fenoles	10,5 – 11,5	200 – 400	+++-/++++	++++	++++	+- -
Ácido	3,5 – 5,5	150 – 200	++++	++++	++++	++++
Peracético						
Dióxido de cloro	2 – 5	5 – 15	++++	++++	++++	+++-

++++ Altamente efectivo; +++- Moderadamente efectivo; +- Levemente efectivo; ---- Inefectivo.

Fuente: ALKYD CHEMICAL S.A., 2011

Cuando un microorganismo es expuesto a este tipo de agentes, su estructura celular puede sufrir daños reversibles o irreversibles, y por esta razón, un agente destinado a su destrucción, puede conllevar a: (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011; ECOLAB, 2011)

✓ **Destrucción de la membrana celular.** Producido generalmente por agentes altamente oxidantes que pueden causar la destrucción total de la membrana celular (lisis). Esto significa la muerte real microbiana.

✓ **Inhibición de la alimentación bacteriana y de la eliminación de desechos.** Esto se produce por la alteración de permeabilidad de la membrana citoplasmática, impidiendo el transporte selectivo de nutrientes al interior de la célula bacteriana, haciendo que la célula muera por falta de nutrientes y contaminación por desechos acumulados en su interior.

✓ **Inactivación de enzimas críticas y/o síntesis de ácidos nucleicos.** Los agentes entran en la célula bacteriana y reaccionan químicamente con enzimas vitales que sustentan tanto el crecimiento como actividades metabólicas que le proveen energía a la bacteria para poder reproducirse. Si este mecanismo no se realiza en forma completa la bacteria puede regenerarse nuevamente luego de varias horas y recontaminar la superficie.

En general, los desinfectantes más utilizados son: el glutaraldehído, el PH, el APA y los compuestos de amonio cuaternario (QUAC). Cualquiera que sea el caso, estos deben ser analizados antes de ser usados en el proceso pues la

concentración del agente debe ser lo suficientemente alta para ser efectiva, pero que no exceda los límites permitidos (tabla 6) (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011), y estar compuestas por las sustancias aprobadas, como: hipoclorito de sodio, fosfato trisódico, lauryl sulfato de sodio, peróxido de hidrógeno, ácido peroxiacético, ácido acético, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido octenil succínico, N,N-dimetiloctanoamina, mezclas de ácidos n-carboxílicos (C6-C12), entre otros. (ECOLAB, Boletín no. 5, Octubre 2011; ESTADOS UNIDOS: Código de Regulaciones Federales (CFR), 2011))

Tabla 6. Sustancias permitidas como componentes de sanitizantes o desinfectantes en alimentos.

Principio activo	Concentración para sanitización* (ppm)
Hipoclorito de sodio	200
Amonio cuaternario	200
Yodo	12,5 – 25
Ácido peracético	100 – 200

Fuente: CFR Titulo 21, 178.1010

Autores como HIDALGO (2002), RUTALA (1996) y el MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL, en su Resolución 2827 (COLOMBIA, 2006), consideran que además de la concentración y el(los) ingrediente(s) activo(s), es deseable que la sustancia elegida: sea eficaz (acción rápida y de amplio espectro bactericida), mantenga concentraciones activas en presencia de materia orgánica, pH, temperatura, aguas duras; que el tiempo de contacto requerido para ejercer su función sea corto; que tenga compatibilidad con jabones y detergentes, además de ser seguro en su manejo (no tóxico, irritante, carcinogénico, mutagénico, o dañino a la piel, ropa, superficies de trabajo, o pisos); que no sea corrosivo para equipos, instrumental u otros materiales, pero que tenga capacidad de penetración, sea soluble en agua, incoloro, inodoro o no desprender olores desagradables.

4.3.2 Mecanismos de resistencia bacteriana. La compañía Alkyd Chemical S.A. (2011), indica que en condiciones normales de exposición, los sanitizantes son capaces de destruir el 99,999% de las bacterias presentes, de tal modo que una superficie con 1000000 bacterias/cm², puede contener solo diez microorganismos por cm² luego de ser sanitizada, para considerar que se han reducido a un nivel seguro. Lo que no es tan evidente es que las bacterias resistentes pueden ser fuente de futuras contaminaciones, ya que si en un siguiente proceso de limpieza y sanitización no se utilizan las dosis y procedimientos adecuados, ellas pueden sobrevivir un segundo ciclo de sanitización, como cualquier otra bacteria, pero ahora, con un nivel de resistencia mayor debido a variaciones en la composición de su pared celular y otros constituyentes de los microorganismos (mutaciones), lo cual explica, en parte, la diferente actividad de los agentes sanitizantes frente a distintas especies. (CENTRO DE RECURSOS DOCENTES, UAB, 2011)

4.3.3 Agentes de desinfección química (ALKYD CHEMICAL S.A., 2011; COLOMBIA: MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, Resolución 2827, 2006; CENTRO DE RECURSOS DOCENTES, UAB, 2011). Muchos agentes germicidas se clasifican como desinfectantes o sanitizantes según la concentración de uso, pues de esta depende el efecto producido sobre los microorganismos.

4.3.3.1 Hipocloritos. Es muy utilizado debido a su efectividad y bajo costo. Se postula que actúan inhibiendo las reacciones enzimáticas, inactivando los ácidos nucleicos y desnaturalizando proteínas. Sin embargo, deteriora los metales por corrosión, incluso el acero inoxidable; se inactiva fácilmente en presencia de materia orgánica; su eficacia se ve afectada por el pH ($\text{pH} > 9$) y por la presencia de material orgánico.

4.3.3.2 Yodóforos. El yodo de estos agentes, penetra fácilmente en los microorganismos a través de sus membranas, destruyendo las proteínas, especialmente a aquellas que contienen azufre (cisteína). Sus desventajas son: puede manchar las superficies, sólo trabajan en pH ácido, pierden efectividad a temperaturas de uso mayores a 35°C , y son corrosivos para los metales.

4.3.3.3 Amonios Cuaternarios (Quats). Son una familia de compuestos antimicrobianos con una variada actividad germicida, utilizados donde se requieren niveles bajos de sanitización en amplios rangos de pH. Tiene una buena actividad bactericida frente a gram(+), pero es poco activo frente a bacterias gram(-), particularmente frente a *Pseudomonas*.

4.3.3.4 Aldehídos. Son altamente reactivos, y desnaturalizan proteínas claves de las bacterias. Soluciones al 2% exhiben propiedades esterilizantes. Entre los más conocidos, se encuentran el formaldehído y el glutaraldehído, los cuales se utilizan en estado líquido y gaseoso, pero requieren tiempos de exposición de 3-24 h, son muy tóxicos y poco estables.

4.3.3.5 Alcoholes. Poseen una rápida acción bactericida, actuando sobre virus, bacterias gram(+) y gram(-), desnaturalizando sus proteínas en pocos minutos de exposición, aunque es inefectivo para esporas y tiene baja efectividad virucida. La mayor desventaja de los alcoholes es que son inflamables y pueden resultar costosos.

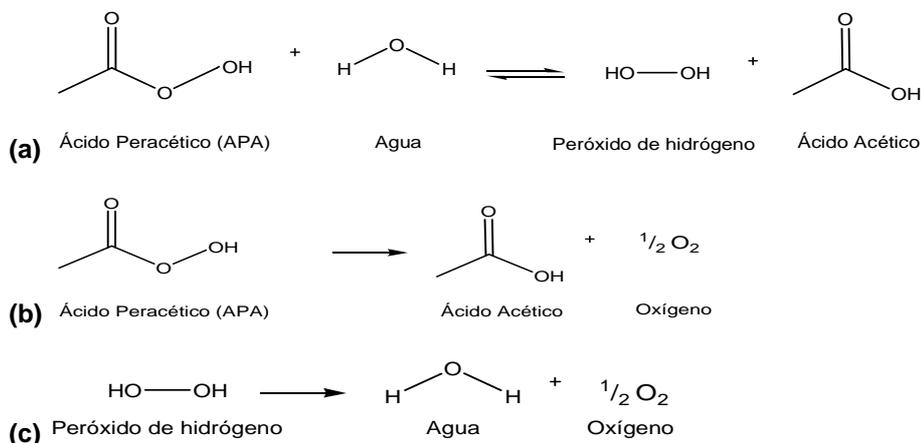
4.3.3.6 Fenoles. Son efectivos sanitizantes y desinfectantes en presencia de fluidos biológicos y otros materiales orgánicos. La mayor ventaja es que son muy efectivos para destruir las bacterias que causan la tuberculosis. Sin embargo, son costosos, reaccionan con superficies plásticas, y contaminan el medio ambiente.

4.3.3.7 Ácidos. Los sanitizantes ácidos tienen un amplio espectro germicida y tienen una relación costo-beneficio muy buena. Generalmente, son resistentes a los residuos orgánicos. Debido a su pH bajo, eliminan restos de las sales inorgánicas presentes en aguas duras y depósitos como la piedra de leche.

4.3.3.8 Ácido Peracético (APA). (COPENHAFER, et. al., 2009, KITIS, 2004; KOIVUNEN y HEINONEN-TANSKI, 2005; LOKKESMOE, 1997; McDONNELL y RUSSELL, 1999). Posee propiedades oxidantes fuertes, por lo que ha sido ampliamente utilizado como sanitizante, desinfectante o esterilizante, en laboratorios e industrias farmacéuticas, de alimentos y bebidas.

Debido a su amplio espectro de uso y su compatibilidad con el medio ambiente, ha ganado una posición importante en el mercado, pues se transforma en AA, PH, agua y oxígeno (ver figura 3) ya sea por descomposición espontánea, catalizada por metales, o por hidrólisis.

Figura 3. Descomposición del APA. (a) Hidrólisis (b) descomposición espontánea y/o catalizada por metales (c) descomposición del PH.



Fuente: AZANZA, 2004; COPENHAFER, et al, 2009; ZHAO, et. al., 2008

Los estudios sobre mecanismos de acción del APA, como agente antimicrobial, son limitados, y por lo tanto, puede ser especulado que sus funciones son como las de otros peróxidos y agentes oxidantes. Su actividad desinfectante puede deberse a la liberación de oxígeno activo, radicales hidroxilo, o al rompimiento de los enlaces sulfhidrilo (-SH) y sulfuro (S-S) de proteínas, enzimas y otros metabolitos. Se ha sugerido también, que puede destruir la función quimiosmótica de la membrana citoplasmática, conllevando al rompimiento de la pared celular. Su acción como desnaturizante proteico, puede ayudar a explicar sus

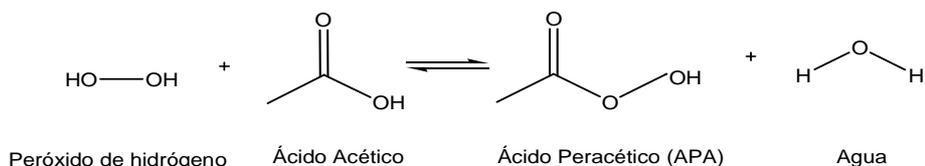
características como esporicida y ovicida. Además, el APA intracelular puede oxidar enzimas esenciales, y por lo tanto, intervenir en las rutas bioquímicas vitales, el transporte activo a través de las membranas, y los niveles de solutos intracelulares. También se ha demostrado que el APA actúa sobre las bases de la molécula del ADN.

En cuanto a las restricciones, un informe emitido por la Oficina de Seguridad Química (*Office of Chemical Safety, OCS*) del Departamento de Salud y Envejecimiento, del Gobierno Australiano, declara que: “no se han establecido restricciones para el APA o el PH. El APA está incluido en el Anexo 6 (S6) de la Norma para la Clasificación Uniforme de Drogas y Venenos (Standard for the Uniform Scheduling of Drugs and Poisons, SUSDP), con un punto de corte del 10%”, lo cual lo hace las soluciones de este agente sanitizante utilizadas comúnmente (0,3%) no estén condicionadas por esta autoridad. (ECOLAB, Advice Summary, 2010)

4.3.3.9 Peróxido de Hidrógeno. Es activo frente a bacterias vegetativas, hongos, virus, micobacterias y esporas bacterianas según la concentración y condiciones de utilización. Su actividad se debe a la destrucción de las membranas celulares, ADN, lípidos, proteínas y otros componentes celulares esenciales, gracias a su poder oxidante derivado del radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). El PH se inactiva rápidamente en presencia de materia orgánica, luz y contacto con el aire, pero no produce residuos tóxicos. (McDONNELL y RUSELL, 1999)

4.3.3.10 Mezcla APA – PH. (AZANZA, 2004; KITIS, 2004; LOKKESMOE, 1997; PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS, 2008; ROVISON, et. al., 2010; SHULTZ, 2010; TESKE, 1996). Generalmente, el APA está comercialmente disponible en una mezcla en equilibrio de ácido acético (AA), peróxido de hidrógeno (PH), ácido peracético (APA) y agua (Figura 4), los cuales se degradan rápidamente a productos no tóxicos después del contacto con los alimentos, como se explicó con anterioridad. Exhibe un amplio espectro de acción contra microorganismos (bacterias, hongos y virus), incluso a bajas temperaturas (0-130°C, preferible entre 5-80°C y más aún entre 10-60°C), diferentes niveles de pH (pH 3–7,5)..

Figura 4. Equilibrio de la mezcla APA y PH



Aparte de los compuestos activos, la mezcla puede contener: estabilizantes como el ácido 1-hidroxietilideno-1,1-difosfónico (HEDP), que ayuda a prevenir la oxidación prematura del APA y el PH; ácido octanóico, como surfactante; y el peroctanóico (ácido peroxioctanóico), como peróxido auxiliar. También pueden contener otros ácidos orgánicos de cadenas alifáticas pequeñas (2-5 C), como el acético, propinóico, butírico, iso-butírico, y valérico (ácido pentanóico). Las formulaciones generalmente tienen combinaciones con otros peroxiácidos con el ácido peroctanóico, perglutárico, persuccínico, o perdecanóico.

La acción antimicrobiana de la mezcla de peroxiácidos, deriva de la capacidad oxidativa de sus constituyentes, alterando la permeabilidad de la membrana celular y la síntesis de las proteínas, además de poseer las características propias de los ingredientes activos (APA y PH) de las que se hizo referencia anteriormente. (BLAKISTONE, et. al., 1999; BUSCHMANN y DEL NEGRO, 2009; TAMANAI-SHACOORI, et. al., 2006

Middleton, et.al. (1997) y Rovison, et. al. (2010), reportan que dentro de los microorganismos susceptibles a la mezcla PH-APA se encuentran: Bacterias gram(+), como: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridia sp.*; gram(-), tipo: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcesens*, *Desulfotomaculum nigrificans*, *Desulfovibrio desulfuricans* y *Desulfovibrio salexigens*; levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*. Hongos: *Aspergillus niger*, *Cephalosporium acremonium*, *Penicillium notatum*, *Aureobasidium pullulans*; hongos filamentosos como *Cladosporium resinae* y algas como: *Chlorella vulgaris*, *Euglena gracilis*, *Selenastrum capricornutum*.

Las soluciones de los sanitizantes que contienen este tipo de mezclas, y que se utilizan en industrias alimenticias, no deben exceder las concentraciones estipuladas en el Código de Regulaciones Federales, que se resume en la tabla 7 (ESTADOS UNIDOS: Código de Regulaciones Federales (CFR), 2011), ya que se considera que el efecto sobre las poblaciones microbianas y la seguridad del consumidor, se alcanza con estas concentraciones. Sin embargo, si se excede el contenido de APA, y su residuo permaneciera en el alimento, este no conllevaría a problemas de seguridad alimenticia, debido a son considerados aditivos secundarios por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA, 1973)

Tabla 7. Rangos de concentración permitidos en sanitizantes para destino alimenticio.

Componente	Mínimo (ppm)	Máximo (ppm)
Peróxido de hidrógeno	300	465
Ácido peroxiacético	100	315
Ácido acético	200	340
Ácido sulfúrico	10	20

Fuente: 21 CFR, 178.1010.

4.4 TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN DE APA

El método volumétrico utilizado en las tres metodologías utilizadas en este trabajo, son de conocimiento general y han sido mencionadas por autores como: Curtman (1985), Kolthoff (1980), Skoog, Et. Al., (2005), Zhao, Et. Al. (2008), Y Zumbado (2002). Estas valoraciones involucran el permanganato de potasio (KMnO_4), el sulfato de cerio ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) y el MA ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$), como oxidantes del PH. Todas tienen en común, la yodometría como técnica de determinación de PH y APA, gracias a la cantidad de yodo generada por oxidación del yoduro.

Las determinaciones fotométricas, son de altos costos operacionales, requieren un gran tiempo de análisis y generalmente usan concentraciones $<1\text{ppm}$ APA. Un ejemplo, es el método desarrollado por Wagner *et al.* (2002), que involucra una sal de diamonio con peroxidasa de rábano, y las lecturas se realizan a través de un espectrofotómetro a 405 nm. Posteriormente, Howarth y Harvey (2010), desarrollaron otro método en el que se adiciona a la muestra un buffer (pH 6,2 – 6,5), KI, y N,N-dietil-p-fenilendiamina (indicador); el color rosado, se lee entre 400 – 600 nm en un colorímetro.

El uso de tirillas indicadoras semi-cuantitativas es simple y rápido, pero a menudo requiere dilución de la muestra y los resultados no son muy exactos (MERCK, 2011; TESKE, 1996). Estas consisten en una almohadilla impregnada con un reactivo indicador que cambia su color en respuesta a la concentración del analito. Una deficiencia bien conocida por expertos en la materia, es que el indicador puede filtrarse de la almohadilla cuando esta es sumergida, haciendo imposible la comparación de colores con el cuadro de referencia. Además, cualquier color que se desarrolle es fuertemente dependiente del tiempo que la tirilla es sumergida, y el que se tome hasta la comparación de color. (HOWARTH y HARVEY, 2010; KOJIMA, et. al., 2010)

4.5 TÉCNICA ANALÍTICA DE USO EN LA VALORACIÓN DE SOLUCIONES DEL PROCESO CIP (SKOOG, et. al., 2005; HARVEY, 2000)

La volumetría es una técnica analítica cuantitativa, donde se realizan valoraciones redox (oxidación-reducción), que son reacciones en las que se transfieren electrones de un átomo, ion o molécula, a otro. Este tipo de valoraciones son muy utilizadas pues permiten conocer la concentración de un analito, basándose en su reacción con una sustancia valorante (titulante). (AYRES, 1970)

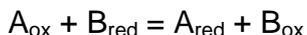
$B_{\text{red}} = B_{\text{ox}} + n e^-$ (agente reductor: se oxida, pierde electrones).

Ecuación 1

$A_{\text{ox}} + n e^- = A_{\text{red}}$ (agente oxidante: se reduce, gana electrones).

Ecuación 2

Y se produce una reacción neta:

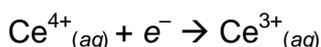


Ecuación 3

4.5.1 Permanganometría. El cambio de color del ion permanganato (Mn^{7+}) al manganeso (Mn^{2+}) funciona como indicador de la reacción. Las soluciones de permanganato y cerio (IV), son reactivos oxidantes fuertes cuyas aplicaciones tienen un gran paralelismo, pues el poder oxidante de estas dos soluciones es comparable, sin embargo, las soluciones de cerio (IV) en ácido sulfúrico son estables indefinidamente, mientras que las soluciones de permanganato se descomponen lentamente y, por lo tanto, requieren una estandarización ocasional. (PICKERING, 1980)



Ecuación 4



Ecuación 5

4.5.2 Cerimetría. La cerimetría, se lleva a cabo en medio ácido. Las sales de cerio (IV) en este medio tienen carácter oxidante fuerte y se reducen a ión cerio (III), ganando un sólo electrón.(Ec. 5) (CONNORS, 1981). La sencillez de la reacción en que sólo se intercambia un electrón, es una ventaja de este sistema sobre otros, tales como el permanganato, porque se eliminan las complicaciones debidas a intermediarios inestables.

Aunque la solución de cerio (IV) puede ser autoindicadora, en la mayor parte de los procedimientos se recomienda como indicador redox algún compuesto perteneciente a la familia de fenantrolina ferrosa, que proporcionan un viraje más pronunciado, desde el rojo intenso al azul pálido.

4.5.3 Métodos con yodo. (CONNORS, 1981) Involucra valoraciones de sustancias mediante soluciones de yodo, en su forma iónica o molecular.



Ecuación 6

✓ **Yodimetría.** Es un método directo de valoración de reductores relativamente fuertes, con solución estándar de yodo, generalmente en medio neutro o ligeramente ácido. Algunos de los métodos son los que incluyen la determinación de: sulfuro de hidrógeno y sulfuros metálicos, mezclas de sulfuro y tiosulfato, compuestos de antimonio (III), agua (método Karl Fischer).

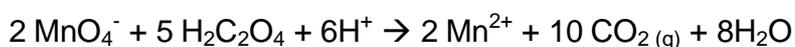
✓ **Yodometría.** Es un método indirecto de valoración, que se aplica a la determinación de sustancias que oxidan una cantidad en exceso de yoduro, para producir una cantidad estequiométrica de yodo, el cual se valora después con una solución de un agente reductor debidamente estandarizado, que por lo general es $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Algunas de las determinaciones usuales son las de: cobre, formas oxidadas de los halógenos, mezcla de haluros, análisis de la pirolusita, bario, plomo, ion sulfato, peroxidisulfato, ácidos, peróxidos y percarbonatos.



Ecuación 7

4.5.4 Estandarización de reactivos. La estandarización, es un procedimiento analítico que permite establecer la concentración real de un reactivo que más tarde, se utilizará como valorante o titulante del analito en cuestión. Para esto, diferentes sustancias o patrones certificados deben utilizarse, según la solución a estandarizar. (Ver tabla 8)

4.5.4.1 Estandarización del KMnO_4 y Ce^{4+} . (AYRES, 1970; ZUMBADO, 2002). El oxalato de sodio, $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, es un patrón primario que reacciona con el permanganato lentamente a temperatura ambiente, por lo tanto, se debe realizar a 60°C después de haber adicionado aproximadamente el 90% del volumen para alcanzar el punto final de la titulación y así, evitar errores en la valoración.



Ecuación 8

Este método del oxalato de sodio, también se utiliza para normalizar soluciones de Ce (IV). Se lleva a cabo a 50°C en una solución de ácido clorhídrico y cloruro de yodo como catalizador.

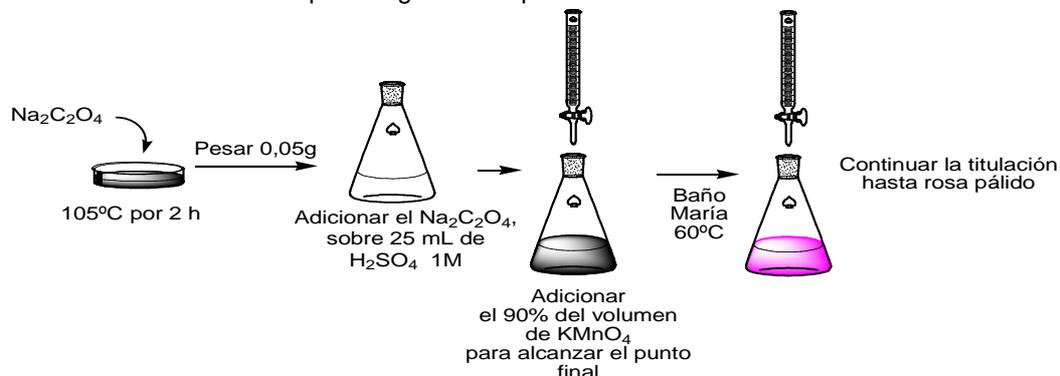
Tabla 8. Algunos oxidantes comunes utilizados en soluciones patrón.

Reactivo	Producto de la reducción	E^0 (V)	Valorado con	Indicador	Estabilidad *
KMnO_4	Mn^{2+}	1,51	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, Fe, As_2O_3	MnO_4^-	b
Ce^{4+}	Ce^{3+}	1,44	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, Fe, As_2O_3	1,10-fenantrolina hierro (II) (ferroína)	a
I_2	I^-	0,54	$\text{BaS}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Almidón	c

* a: indefinidamente estable; b: moderadamente estable, requiere valoración periódica; c: algo inestable, requiere frecuente valoración.

Fuente: SKOOG, et. al. 2005.

Figura 5. Estandarización del permanganato de potasio.



Ecuación 9

El peso equivalente del oxalato de sodio (p_{eq} oxalato de sodio), es su peso en gramos, dividido por dos, pues éste es oxidado a dióxido de carbono, es decir que el carbono cambia de +3 a +4, pero como hay dos átomos de carbono, el cambio total será de 2. Por esto, la concentración normal del KMnO_4 valorado de este modo, se aplica la ecuación 10.

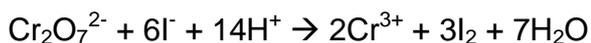
$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{g_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4} \times 1000}{p_{\text{eq oxalato de sodio}} \times \text{mL}_{\text{KMnO}_4}} = \frac{g_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4} \times 1000}{67 \times \text{mL}_{\text{KMnO}_4}}$$

Ecuación 10

Y del mismo modo, para la solución de sulfato de cerio.

4.5.4.2 Estandarización del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. (ZUMBADO, 2002) Las soluciones de tiosulfato de sodio, se pueden estandarizar con: dicromato de potasio, bromato de potasio, yodato ácido de potasio, hexacianoferrato (III) de potasio y cobre metálico. Todos estos compuestos liberan cantidades estequiométricas de yodo cuando se tratan con exceso de yoduro de potasio.

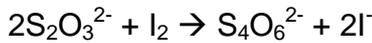
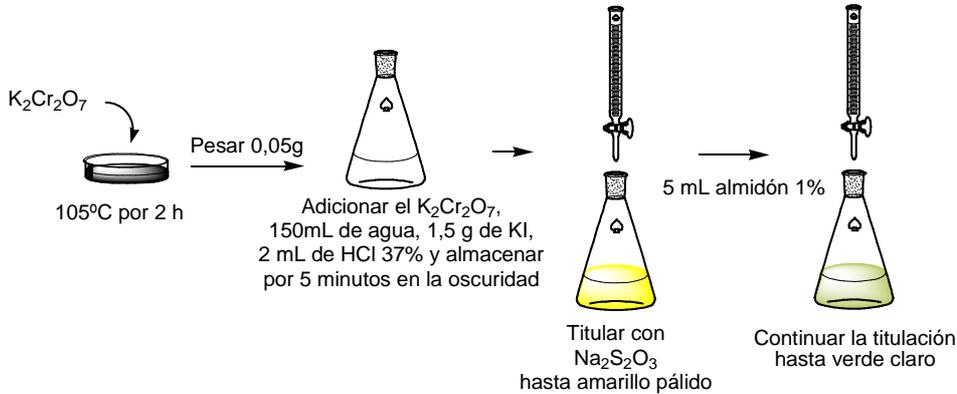
La estandarización frente al dicromato de potasio, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, como patrón primario, se realiza con un exceso de KI, produciendo yodo molecular, el cual se valora posteriormente, con la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, utilizando almidón como indicador.



Ecuación 11

Cuando el I_2 libre reacciona con la solución de tiosulfato de sodio, se produce la siguiente reacción:

Figura 6. Estandarización del tiosulfato de sodio.



Ecuación 12

Para el cálculo de la concentración normal de tiosulfato, se debe tener en cuenta que el peso equivalente del dicromato es: su peso molecular, dividido por seis, ya que el cambio de número de oxidación es de +3, pero como son 2 átomos, es entonces, +6.

$$N_{Na_2S_2O_3} = \frac{g_{K_2Cr_2O_7} \times 1000}{p_{eq\text{ dicromato de potasio}} \times mL_{Na_2S_2O_3}}$$

Ecuación 13

$$N_{Na_2S_2O_3} = \frac{g_{K_2Cr_2O_7} \times 1000}{49.031 \times mL_{Na_2S_2O_3}}$$

Ecuación 14

4.6 PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTÁNDAR (POE)

Un POE, es un conjunto de instrucciones escritas detalladas que documentan una rutina o actividad repetitiva realizada por una organización, que debe realizarse para facilitar el cumplimiento coherente de los requisitos del sistema de seguridad y calidad. (SILVA, et. al., 2002; SENASA, 1998)

El establecimiento de POEs para cada actividad ayuda a garantizar que las actividades se realicen con orden y se reduce la dependencia de los criterios de un individuo acerca de cómo realizar la actividad adecuadamente, ya que se describe como un listado cronológico de los pasos a seguir (MELENDEZ, 2011; SENASA, 1998). Un POE incluye:

✓ Contenidos de forma: Institución a la que pertenece, Título del procedimiento, Codificación del procedimiento, Número de modificación, Número de página, y número total de páginas, Nombre de la persona que elaboró y fecha, Nombre de la persona que revisa y aprueba.

✓ Contenidos de fondo: Objetivo (qué se persigue con el procedimiento), Alcance (define la operación, el proceso, el sistema, la instalación ó área de aplicación del POE), Definiciones, Materiales, Responsables (jefes, supervisores, directores), Consideraciones previas a la operación (medidas preventivas), Procedimiento, Anexos (tablas de sustancias, gráficas, fotografías, etc.)

4.7 TÉRMINOS ESTADÍSTICOS (HARVEY, 2000; HIDALGO, 2002; MILLER y MILLER, 2000; SKOOG, et. al., 2005)

La utilización de la estadística sobre los datos obtenidos en el laboratorio, permiten la demostración de las fuentes de variabilidad, las figuras de mérito analíticas y errores sistemáticos, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

4.7.1 Exactitud. Es la medida de proximidad entre el resultado de una medición y su valor verdadero o aceptado. Se expresa en términos de porcentaje de error. Se puede medir a partir de la comparación de los valores obtenidos por medio de las metodologías disponibles, respecto a los emitidos por la empresa proveedora de las soluciones, o por medio del porcentaje de recuperación.

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{resultado obtenido} - \text{resultado esperado}}{\text{resultado esperado}} \times 100$$

Ecuación 15

Un porcentaje $\leq 1\%$, dice que el resultado experimental es correcto y el método analítico produce una exactitud alta. Si está dentro del 1-5%, el método es moderadamente exacto; pero, los métodos de baja exactitud, producen errores relativos mayores al 5%

4.7.2 Precisión. Describe la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas que se han realizado exactamente en las mismas condiciones experimentales. Puede describirse por medio de la repetibilidad o reproducibilidad. Sus parámetros de calidad son: La desviación estándar y el coeficiente de variación.

La desviación estándar, S , expresa la desviación de los valores con respecto a al valor medio (Ec. 16). Por otra parte, el coeficiente de variación (CV), proporciona una interpretación porcentual del grado de variabilidad que la desviación estándar (Ec. 17).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad \text{Ecuación 16}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde \bar{X} , es el valor medio obtenido de las diferentes repeticiones; X_i , es el valor individual obtenido para cada una de las diferentes determinaciones; n , es el número de determinaciones o repeticiones.

4.7.2.1 Repetibilidad (Repetitividad). También conocida como “precisión dentro de rachas”, es la precisión entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones: un solo operador, el mismo equipo, los mismos reactivos, el mismo día, etc.

4.7.2.2 Reproducibilidad. También conocida como “precisión entre rachas”, es la precisión entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones. Debe ser desarrollada en diferentes días, por diferentes personas, y al menos por otro analista. La reproducibilidad describe la máxima variabilidad de un procedimiento analítico ya que incluye el estudio en diferentes condiciones.

4.7.3 Precisión Intermedia. Es la precisión obtenida dentro del laboratorio por el mismo analista, mismo equipos, en un intervalo largo de tiempo (días distintos).

4.7.4 Linealidad. Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un intervalo determinado, es decir, la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta del método en un rango de concentraciones.

El ensayo de linealidad, se efectúa sobre soluciones de concentración creciente del analito (patrones), a los cuales se les determina su concentración mediante las metodologías dispuestas para tal fin. Posteriormente, se realiza una “curva de calibración”, con la cual se establece la proporcionalidad existente entre la concentración y la respuesta del método analítico, calculada por el método de ajuste mínimos cuadrados.

$$y = mx + b$$

Ecuación 18

Donde: x , es la concentración del analito; m , es la pendiente de la recta; y , es la respuesta del método; b , es el intercepto con el eje y . Los términos m y b , pueden ser calculados a través de las siguientes ecuaciones:

$$m = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

Ecuación 19

$$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n}$$

Ecuación 20

Donde n es el número de soluciones patrón. Se calcula además el coeficiente de determinación (r^2) el cual refleja el grado de ajuste de los puntos a la recta, y el coeficiente de correlación o proporcionalidad (r), que demuestra la relación entre las variables.

4.7.5 Límite de Detección (LOD). Es la concentración mínima de un analito o sustancia que puede ser detectada en forma confiable, pero no necesariamente cuantificada, por un método analítico determinado. Se calcula mediante la ecuación 21, y se evalúa teniendo en cuenta los resultados de la curva de calibración.

$$LOD = \frac{3S_{interceptos}}{m_{promedio}}$$

Ecuación 21

Donde: $S_{interceptos}$, es la desviación estándar de los interceptos de las curvas de calibración elaboradas, $m_{promedio}$, es la pendiente promedio.

4.7.6 Límite de Cuantificación (LOQ). Es la mínima concentración de un analito o sustancia que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método. Se ha sugerido el valor calculado mediante la ecuación 28.

$$LOQ = \frac{10S_{interceptos}}{m_{promedio}}$$

Ecuación 22

4.7.7 Sensibilidad. Es la medida de la capacidad del instrumento de diferenciar pequeñas variaciones en la concentración del analito. Según la IUPAC, la sensibilidad se define como la pendiente de la curva de calibrado, a mayor pendiente mayor sensibilidad.

4.7.8 Pruebas de Normalidad. Para evaluar la normalidad de un conjunto de datos menores a 30, se aplica el Test de *de Shapiro-Wilks*, donde la Hipótesis Nula (H_0), dice que “el conjunto de datos siguen una distribución normal”, mientras que la Hipótesis Alternativa (H_a), afirma que esta “no sigue una distribución normal”.

4.7.9 Pruebas Paramétricas. Se aplican a los datos que pertenecen a una muestra aleatoria de una distribución de probabilidad de tipo normal o de Gauss. Viene determinada por dos parámetros, la media y la desviación típica. Las pruebas paramétricas más conocidas y usadas son la prueba *t* de Student, la prueba F de Fisher, y el coeficiente de correlación de Pearson (ρ).

✓ **La prueba *t* de Student**, se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones. La H_0 , se rechaza cuando la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar es menor que el 5% (si el nivel de confianza elegido es del 95%). Cuando el valor de *t* es menor que el $t_{crítico}$ para un número de grados de libertad dado, no se rechaza la hipótesis nula, es decir, se dice que no hay evidencia de error sistemático en la determinación (Sig. > 0,05).

✓ **La prueba F de Fisher**, esta prueba, se considera la razón entre las dos varianzas muestrales, y por lo tanto, permite detectar la presencia de errores aleatorios de dos conjuntos de datos. Su H_0 , es que las poblaciones de donde se toman las muestras, son normales y poseen varianzas iguales. Si el valor de *F* excede $F_{crítico}$, entonces se rechaza H_0 , y se dice que el método experimental es más preciso (Sig. >0,05).

✓ **El coeficiente de correlación de Pearson**, es un índice estadístico que mide la relación lineal entre dos variables cuantitativas. A diferencia de la covarianza, la correlación de Pearson es independiente de la escala de medida de las variables.

El valor del índice de correlación varía en el intervalo [-1, +1]:

Si $r = 0$, no existe relación lineal. Pero esto no necesariamente implica una independencia total entre las dos variables, es decir, que la variación de una de ellas puede influir en el valor que pueda tomar la otra. Pudiendo haber relaciones

no lineales entre las dos variables. Estas pueden calcularse con la razón de correlación.

Si $r = 1$, existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en idéntica proporción.

Si $0 < r < 1$, existe una correlación positiva.

Si $r = -1$, existe una correlación negativa perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables llamada *relación inversa*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en idéntica proporción.

Si $-1 < r < 0$, existe una correlación negativa.

5. METODOLOGÍA

Se recolectaron cinco muestras a partir de las bombas CIP que proveen soluciones diluidas de los sanitizantes, aparentemente de la concentración requerida. También se tomó cinco muestras de cada recipiente del sanitizante concentrado, para verificar la cantidad inicial de APA y a partir de esta, generar las soluciones necesarias para los análisis.

A continuación se describe la forma en que se evaluaron los analitos de interés en los sanitizantes, y cómo realizó la capacitación y el POE.

5.1 ESTANDARIZACIÓN DE METODOLOGÍAS

El montaje y estandarización de las metodologías analíticas para la valoración de APA en sanitizantes utilizados, se realizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los protocolos establecidos por Alpina S.A. Antes de iniciar el proceso de evaluación de los sanitizantes, se llevaron a cabo ensayos previos tanto de determinación de APA, como de verificación de la calibración de material volumétrico, ya que de este modo, se garantiza que las mediciones realizadas son adecuadas.

Las metodologías se estandarizaron bajo parámetros de precisión, en términos de repetibilidad, realizando cinco curvas de calibración con seis niveles de concentración, en las condiciones exigidas por este parámetro (mismo día, instrumentos, analista, etc.); y de precisión intermedia, elaborando cinco curvas con seis niveles de concentración en cinco días diferentes.

A partir de los datos de precisión intermedia, se obtuvo la ecuación de la recta, linealidad, dispersión y confiabilidad de cada metodología, y de los resultados de la repetibilidad, los LOD y LOQ. Todos estos resultados fueron debidamente soportados con las pruebas estadísticas correspondientes.

5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Con el objetivo de darle validez a los resultados obtenidos, se aplicaron pruebas estadísticas, consistentes en ajuste de normalidad, pruebas paramétricas, como ANOVA, correlación de Pearson, pruebas T y F entre otras, utilizando el paquete estadístico SPSS 11.5.

5.3 DETERMINACIÓN DE APA MEDIANTE MÉTODO VOLUMÉTRICO

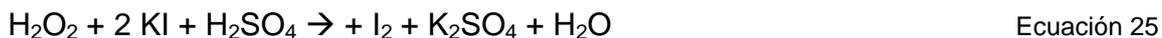
Se evaluó la concentración inicial de los sanitizantes, haciendo uso del método volumétrico de referencia establecido por Alpina S.A. para el producto concentrado (suministrado por el proveedor), el cual utiliza permanganato de potasio o sulfato de cerio 0,1N, para cuantificar el PH y posteriormente, determinar el yodo con tiosulfato de sodio 0,1N, generado por la reacción entre el APA y el KI. El procedimiento se muestra en el numeral 5.3.1 y 5.3.2 de este documento.

Para evaluar la concentración de los sanitizantes diluidos, se dispone de tres metodologías que se diferencian por el tipo de reactivo utilizado para cuantificar el PH, pues el titulante del APA es tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N, en todos los casos, utilizando como indicador una solución de almidón (1%p/v)

En las ecuaciones 23 y 24, se muestra el modo en el que se reduce el APA a ácido acético (AA), y el yodo del KI, forma yodo molecular, el cual es titulado con el tiosulfato de sodio, indicando directamente la concentración del APA.

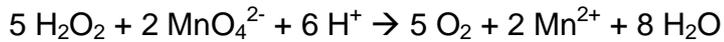


Antes de realizar esta titulación, se valoró la interferencia producida por el H_2O_2 en la titulación del APA, debido a que frente al yoduro de potasio, en medio ácido, el PH se reduce a agua, generando una cantidad de yodo que no corresponde a la reducción del APA, como se muestra en la ecuación 25.



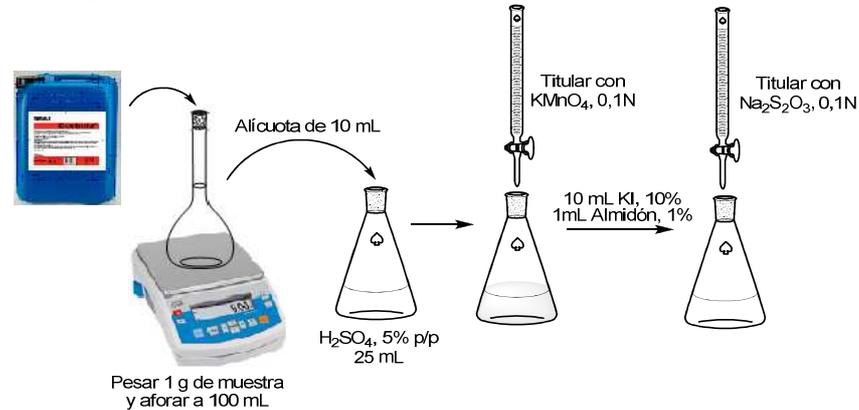
Los reactivos valorantes (titulantes) fueron debidamente estandarizados, como se señaló en el numeral 4.5.4 de este documento.

5.3.1 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando KMnO_4 . Ésta metodología utiliza permanganato de potasio (KMnO_4) 0,1 N, como oxidante para titular el PH (Ec. 26) en presencia de ácido sulfúrico al 5%. El manganeso cambia de estado de oxidación de +7 a +2. Las reacciones involucradas en la determinación del APA se muestran en las ecuaciones 23 y 24, y en la figura 7, el procedimiento resumido. Para la determinación en el sanitizante diluido, se miden 10 mL de la solución correspondiente.

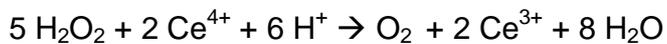


Ecuación 26

Figura 7. Metodología de determinación de PH y APA utilizando KMnO_4 .



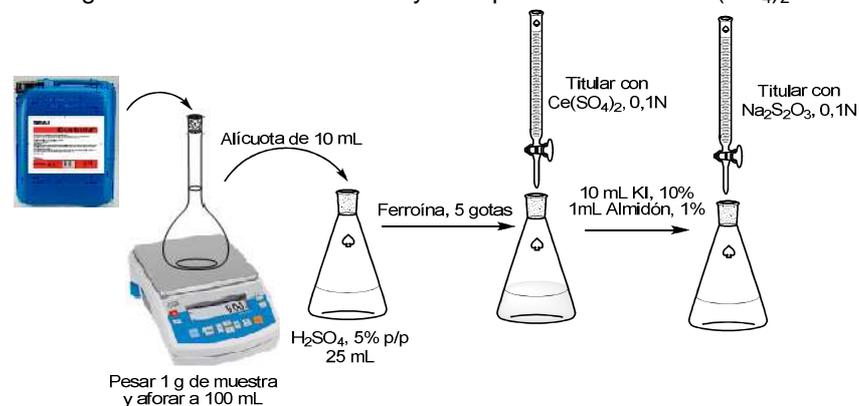
5.3.2 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. La segunda metodología utiliza sulfato de cerio ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) 0,1 N, como oxidante para titular el H_2O_2 (Ec. 27) en presencia de ácido sulfúrico al 5% p/p. El cerio cambia de estado de oxidación de +4 a +3.



Ecuación 27

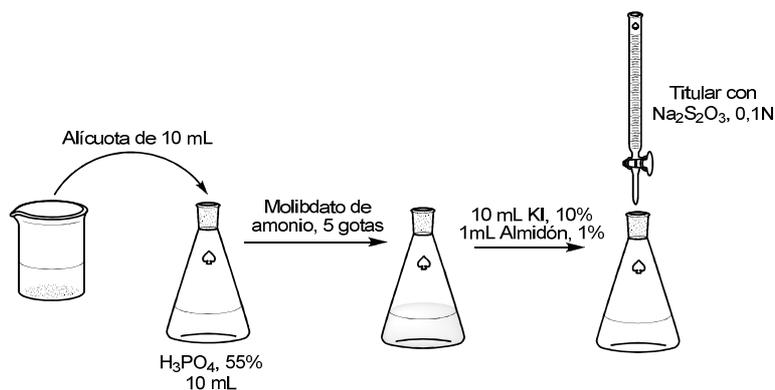
Las reacciones involucradas en la determinación del APA se muestran en las ecuaciones 23 y 24. En la figura 8, se indica el modo de valoración del sanitizante concentrado. Para el sanitizante diluido, se miden 10 mL de la solución correspondiente.

Figura 8. Metodología de determinación de PH y APA puros utilizando $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.



5.3.3 Determinación de APA mediante método volumétrico empleando $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$. La tercera metodología utiliza molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$) para catalizar la degradación del PH (PEREZ, 1954). Una variante de éste respecto a los otros, es que se reemplaza el ácido sulfúrico por ácido fosfórico (H_3PO_4), además, sólo se realiza para el sanitizante diluido. La determinación del APA se indica en las ecuaciones 23 y 24. En la figura 9, se indica el modo en el que se realizará la valoración.

Figura 9. Metodología de determinación de APA utilizando $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$.



5.4 ADAPTACIÓN DEL KIT DE GOTEROS

La adaptación de la metodología que mejores resultados presentó (sulfato de cerio (IV)) al kit de goteros, se realizó basándose en los resultados estadísticos y en la estabilidad del reactivo frente al del KMnO_4 que presentó precisión similar.

Se verificó que la titulación arrojará resultados que no difirieran significativamente de los obtenidos utilizando el material de vidrio (bureta), empleando las pruebas estadísticas correspondientes.

5.5 ELABORACIÓN DEL POE

Se tuvo en cuenta los parámetros hallados en la bibliografía y los exigidos por la empresa para elaborar el POE, los cuales se describieron en el apartado 4.5 de este documento. (Ver Anexo D)

5.6 CAPACITACIÓN DE PERSONAL

Se capacitó las tres personas encargadas de verificar la concentración de los sanitizantes (Oxonia y Vortexx), socializando por medio de dos reuniones (una teórica y otra práctica) los resultados del estudio y el modo de uso de los goteros descrito en el POE y la ficha de titulación

Durante la reunión práctica, inicialmente se demostró la forma de tomar las muestras, extraer una alícuota, y realizar la titulación de las mismas. Luego, se les pidió que realizaran la titulación de tres soluciones patrón de cada sanitizante (Oxonia Active y Vortexx ES), por triplicado. Los resultados adjuntan en dklfjdjfl.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

A continuación se muestran los resultados obtenidos durante la estandarización de reactivos y valoración de los sanitizantes concentrados y diluidos, con su respectivo análisis.

6.1 ESTANDARIZACIÓN DE REACTIVOS

Los resultados de la estandarización de los reactivos (tiosulfato de sodio, permanganato de potasio y sulfato de cerio (IV)) se muestran en el anexo A. La solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, presentó una concentración de 0,100 N, con una desviación estándar de 0,0003 y un coeficiente de variación de 0,319. La solución de KMnO_4 , una concentración de 0,101N con $S = 0,0004$ y CV de 0,421%. La solución de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, quedó con una concentración de 0,100N, S de de 0,0004 y CV de 0,382. Todas, promedio de cinco repeticiones, lo cual permite asegurar que los resultados obtenidos a través de ellos, tengan un nivel de exactitud óptimo.

6.2 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PH Y APA EN LOS SANITIZANTES SUMINISTRADOS POR EL PROVEEDOR

Con el propósito de verificar la composición emitida por la empresa en los certificados de análisis de cada sanitizante (tabla 9), estos se valoraron mediante las dos metodologías volumétricas (KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$).

Tabla 9. Resultados emitidos por la empresa productora de sanitizantes.

Sanitizante	H_2O_2 (%p/p)	APA (%p/p)
Oxonia	26,97	5,22
Vortexx	5,00	12,00

El límite de confianza al 95% (95% LC), se evaluó teniendo en cuenta que el valor t es 2,57 de acuerdo con la tabla 10, ya que se realizaron cinco réplicas.

Con el fin de eliminar la interferencia que causa el peróxido de hidrógeno (PH) en la determinación del APA, los sanitizantes primero se valoraron con una solución debidamente estandarizada de KMnO_4 ó $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 0,1N (ZHAO, y otros, 2008), según se indique. Una vez eliminada la interferencia (PH), se procedió a realizar la valoración del APA con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N debidamente estandarizada

Tabla 10. Valores de t para un nivel de probabilidad del 95%.

Grados de libertad	Nivel de probabilidad 95%
2	4,30
3	3,18
4	2,78
5	2,57

Fuente: SKOOG, et. al., 2005

6.2.1 Valoración de Oxonia. La composición de Oxonia emitida por la empresa en el certificado de análisis, se puede observar en la tabla 9 (PH=26,97%; APA=5,22%). Se valoró Oxonia mediante las dos metodologías volumétricas dispuestas para el sanitizante concentrado (tablas 11 y 12).

Tabla 11. Concentración de PH y APA en Oxonia concentrado utilizando el método del KMnO_4 .

Rep	Peso Oxonia (g)	Volumen KMnO_4 (mL)	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mL)	H_2O_2 (%p/p)	APA (%p/p)
1	1,0588	16,80	1,45	26,960	5,227
2	1,0580	16,85	1,45	27,061	5,231
3	1,0179	16,20	1,40	27,042	5,250
4	1,0601	16,80	1,45	26,927	5,221
5	1,0195	16,20	1,40	26,999	5,242

Tabla 12. Concentración de PH y APA en Oxonia concentrado utilizando el método del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

Rep	Peso Oxonia (g)	Volumen Ce^{4+} (mL)	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mL)	H_2O_2 (%p/p)	APA (%p/p)
1	1,0221	16,10	1,40	26,967	5,228
2	1,0240	16,15	1,40	27,001	5,219
3	1,0550	16,60	1,45	26,937	5,246
4	1,0614	16,75	1,45	27,017	5,215
5	1,0572	16,65	1,45	26,962	5,235

✓ **Peróxido de hidrógeno en Oxonia.** Como se puede observar en la tabla 13, ambas metodologías permitieron obtener resultados precisos, poco dispersos, y cercanos del valor real (alto grado de exactitud), principalmente utilizando el sulfato de cerio como agente oxidante para el PH (ver figura 10).

Para un nivel de confianza del 95%, no se observa diferencia significativa entre la concentración hallada experimentalmente y la reportada por la empresa productora de los sanitizantes, $\bar{x}-\mu$, pues esta es menor que el valor crítico estimado, es decir que no se demuestra que haya habido un error sistemático

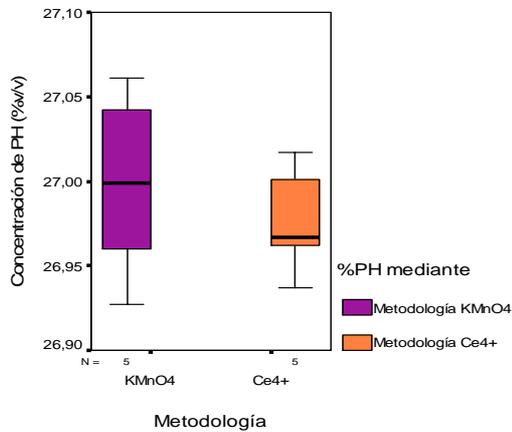
significativo en las determinaciones (se acepta H_0), además, la significancia en ambos casos es mayor a 0,05.

Tabla 13. Estadísticos para la valoración del peróxido de hidrógeno en Oxonia.

Metodología	Media	S	CV	%Error	95%LC	$\bar{x} - \mu$	Sig.*
KMnO ₄	26,998	0,0556	0,206	0,103	0,0692	0,0278	0,327
Ce ⁴⁺	26,977	0,0320	0,119	0,252	0,0398	0,00680	0,660

*Significancia para prueba t de muestras relacionadas. Relación: valores experimentales vs. reportados.

Figura 10. Gráfico de dispersión para la determinación de PH en Oxonia.



Con el fin de conocer si las medias obtenidas difieren una de la otra, estas se examinaron utilizando una prueba t de comparación de medias de muestras independientes (tabla 14). Primero se contrastaron las varianzas, obteniendo un valor experimental del estadístico de contraste $F_{\text{exp}} = 1,672$, el cual deja a la derecha un área igual a 0,232 (Sig.= 0,232), es decir, que no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de varianzas.

Tabla 14. Prueba t de comparación de medias (concentración de PH en Oxonia) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
1,672	0,232	0,731	8	0,485	0,0210	-0,04522	0,08722

El contraste para la diferencia de medias suponiendo que las varianzas son iguales, arrojó un estadístico de contraste $t_{exp} = 0,731$ y un $p\text{-valor} = 0,485$ (Sig.= 0,485), por lo tanto, se acepta hipótesis nula de igualdad de medias. También, se puede concluir el contraste observando que el intervalo de confianza para la diferencia de medias (-0,04522, 0,08722) contiene al cero.

✓ **Ácido Peracético en Oxonia.** Igual que para el PH, en la determinación de APA se encontró que ambas metodologías arrojan resultados precisos, poco dispersos, y cercanos del valor reportado por el fabricante (alto grado de exactitud) (ver tabla 15 y figura 11), obteniéndose mayor exactitud con la metodología del Ce^{4+} . Empecé

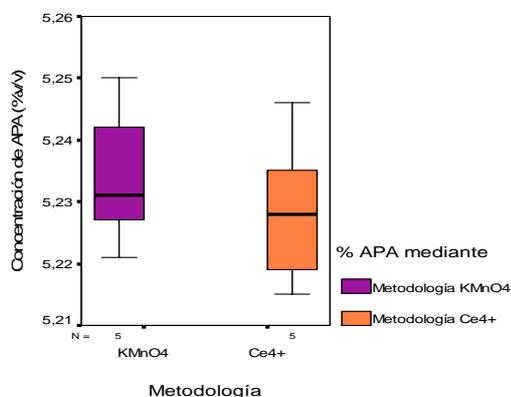
Tabla 15. Estadísticos para la valoración del APA en Oxonia.

Metodología*	Media	S	CV	%Error	95%LC	$\bar{x} - \mu$	Sig.**
KMnO ₄	5,2342	0,0117	0,223	0,272	0,0145	0,0142	0,053
Ce ⁴⁺	5,2286	0,0125	0,238	0,165	0,0155	0,00860	0,198

*La titulación de APA se realiza con Na₂S₂O₃. Los nombres de KMnO₄ y Ce⁴⁺, señalan la metodología.

**Significancia para prueba t de muestras relacionadas. Relación: valores experimentales vs. reportados.

Figura 11. Gráfico de dispersión para la determinación de APA en Oxonia.



La evaluación de precisión se realizó, nuevamente, con un nivel de confianza del 95%, el cual no muestra diferencia significativa entre la concentración experimental y la reportada, $\bar{x} - \mu$, pues es menor que el valor crítico estimado, es decir que no se demuestra que haya habido un error sistemático significativo en las determinaciones (se acepta H_0).

Las medias obtenidas utilizando las dos metodologías se enfrentaron por medio de una prueba t de comparación de medias de muestras independientes (tabla 16). Primero se contrastaron las varianzas, obteniendo un valor experimental del

estadístico de contraste $F_{exp} = 0,000$, y una significancia $Sig. = 0,983$, es decir, que no se puede rechazar la H_0 de igualdad de varianzas.

Tabla 16. Prueba t de comparación de medias (concentración de APA en Oxonia) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
0,000	0,983	0,733	8	0,485	0,00560	-0,01202	0,02322

El contraste para la diferencia de medias suponiendo que las varianzas son iguales, arrojó un estadístico de contraste $t_{exp} = 0,733$ y un $p\text{-valor} = 0,485$ ($Sig. = 0,485$), por lo tanto, no se puede rechazar la H_0 de igualdad de medias. Esto también, se puede concluir el contraste observando que el intervalo de confianza para la diferencia de medias (-0,01202, 0,02322) contiene al cero.

6.2.2 Valoración de Vortexx. La composición de Vortexx emitida por la empresa en el certificado de análisis, se puede observar en la tabla 1 (PH=5,00%; APA=12,00%). Se valoró Vortexx mediante las dos metodologías volumétricas dispuestas para el sanitizante concentrado (tablas 17 y 18).

Tabla 17. Concentración de PH y APA en Vortexx utilizando el método del $KMnO_4$.

Rep	Peso Vortexx (g)	Volumen $KMnO_4$ (mL)	Volumen $Na_2S_2O_3$ (mL)	H_2O_2 (%p/p)	APA (%p/p)
1	1,0281	3,05	3,25	5,041	12,07
2	1,0235	3,05	3,20	5,063	11,93
3	1,0653	3,2	3,35	5,104	12,00
4	1,0274	3,05	3,25	5,044	12,07
5	1,0654	3,2	3,35	5,103	12,00

A partir de ésta información se realizó una prueba de correlación de Pearson para conocer el modo en que el peso del sanitizante afecta el volumen de los titulantes, pues no se aprecia con facilidad a simple vista. Los resultados de la tabla 19, demuestran una correlación positiva y altamente significativa entre el peso del Vortexx y los volúmenes de los titulantes ($KMnO_4$, $Ce(SO_4)_2$, $Na_2S_2O_3$), en ambas metodologías, lo cual indica que a medida que aumenta el peso del Vortexx, incrementa el volumen de los titulantes, como era de esperarse.

Tabla 18. Concentración de PH y APA en Vortexx utilizando el método del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

Rep	Peso Vortexx (g)	Volumen Ce^{4+} (mL)	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mL)	H_2O_2 (%p/p)	APA (%p/p)
1	1,0621	3,15	3,35	5,077	12,04
2	1,0758	3,15	3,35	5,013	11,89
3	1,0654	3,15	3,35	5,062	12,00
4	1,0154	3,00	3,20	5,058	12,03
5	1,0797	3,15	3,40	4,995	12,02

Tabla 19. Correlación de Pearson para determinación de PH y APA en Vortexx utilizando las metodologías para el sanitizante concentrado

		Volumen KMnO_4	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
Peso Vortexx para la Metodología del KMnO_4	Correlación de Pearson	0,997(**)	0,974(**)
	Sig. (bilateral)	0,000	0,005
	N	5	5
		Volumen Ce^{4+}	Volumen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
Peso Vortexx para la metodología del Ce^{4+}	Correlación de Pearson	0,960(**)	0,977(**)
	Sig. (bilateral)	0,010	0,004
	N	5	5

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

✓ **Peróxido de Hidrógeno (PH) en Vortexx.** La valoración del PH en Vortexx, se realizó del modo indicado en la metodología, y los resultados se muestran en las tablas 17 y 18. Según la tabla 20, ambas metodologías permiten obtener resultados precisos y poco dispersos, puesto que la *S* es menor a 0,04 en ambos casos, y sus porcentajes de error son mínimos para la determinación de PH, indicando la exactitud del método.

En la figura 12, se aprecia el modo en que la metodología del sulfato de cerio permite tener una mayor aproximación al valor de referencia, aunque con una mayor dispersión para esos valores.

Tabla 20. Estadísticos para la valoración del peróxido de hidrógeno en Vortexx.

Metodología	Media	S	CV	%Error	95%LC	$\bar{x} - \mu$	Sig.*
KMnO_4	5,071	0,0308	0,608	1,42	0,0384	0,0710	0,007
Ce^{4+}	5,041	0,0351	0,696	0,820	0,0436	0,0410	0,059

*Significancia para prueba *t* de muestras relacionadas. Relación: valores experimentales vs. reportados.

La metodología del sulfato de cerio (IV), tiene mayor exactitud, aunque su dispersión y variabilidad es ligeramente superior a la encontrada en la metodología

del permanganato de potasio, principalmente en los valores inferiores a la mediana ($PH \leq 5,058\%$), lo cual puede atribuirse a que el punto de equivalencia de la ferroína (1,06V) es inferior al del Ce^{4+} (1,44V) como se demuestra en la figura 13. Sin embargo, para el nivel de confianza elegido (95% LC), no se observa diferencia significativa entre la concentración experimental y la reportada por la empresa productora de los sanitizantes, $\bar{x}-\mu$, pues esta es menor que el valor crítico estimado, es decir que se demuestra exactitud en la determinación (se acepta H_0) por este método.

Figura 12. Gráfico de dispersión para la determinación de PH en Vortexx.

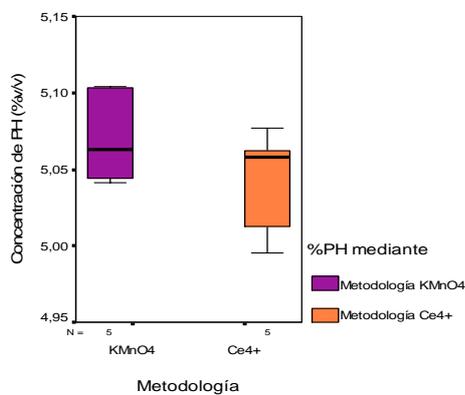
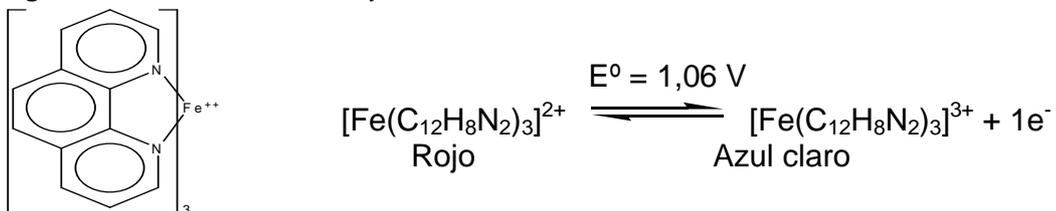


Figura 13. Ferroína: estructura y cambios de coloración.



Con la metodología del $KMnO_4$, por el contrario, sí existen diferencias significativas en la determinación de PH (ver tabla 20), lo cual lleva al rechazo de la H_0 y por lo tanto, a la evidencia de errores sistemáticos en el proceso. Las razones por las cuales puede haber sucedido esto, entre otras, puede deberse a que los volúmenes de permanganato son más difíciles de leer que los del $Ce(SO_4)_2$, y por lo tanto se hayan cometido errores por parte del analista, o, a que hayan reaccionado otras especies contenidas en el sanitizante, gracias al fuerte poder oxidante que posee este reactivo ($E^{\circ} = 1,51 \text{ V}$), lo cual no sucedió con el Ce^{4+} pues es un poco más suave ($E^{\circ} = 1,44 \text{ V}$), ni con el Oxonia, pues a pesar de que sus ingredientes activos son los mismos, Vortexx contiene ingredientes secundarios adicionales. (ECOLAB, 2009; SKOOG, et. al., 2005).

Tabla 21. Prueba *t* de comparación de medias (concentración de PH en Vortexx) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
0,267	0,619	1,436	8	0,189	0,0300	-0,01818	0,07818

Con el fin de conocer si las medias experimentales difieren una de la otra, estas se enfrentaron a una prueba de comparación de medias de muestras independientes (tabla 21). Primero se contrastaron las varianzas, obteniendo una Sig.= 0,619, indicando que no se puede rechazar H_0 de igualdad de varianzas. Luego, se realizó el contraste para la diferencia de medias, y se obtuvo una Sig.= 0,189, por lo tanto, no se puede rechazar H_0 de igualdad de medias experimentales, aunque la prueba comparativa con el valor reportado para PH exprese que sí existen. La razón es que la mediana de las técnicas evaluadas, es muy próxima (el intervalo de confianza contiene cero $IC = -0,01818 - 0,07818$), pero la metodología del Ce^{4+} , sí permite conseguir resultados que incluyan el valor reportado (figura 12).

✓ **Ácido Peracético en Vortexx.** La determinación de APA, se realizó con una solución de $Na_2S_2O_3$ 0,1N, inmediatamente después de realizar la titulación del PH. Sin embargo, para diferenciar las metodologías de análisis, se continuará designándolas como: $KMnO_4$ y Ce^{4+} .

La tabla 22 y la figura 14, demuestran que ambas metodologías arrojan resultados precisos, poco dispersos, y con un alto grado de exactitud. La confiabilidad de los resultados, se evaluó con un nivel de confianza del 95% (95% LC), el cual no revela diferencia significativa entre la concentración experimental y la reportada, pues esta es menor que el valor crítico estimado y la significancia es mayor a 0,05.

Tabla 22. Estadísticos para la valoración del APA en Vortexx.

Metodología*	Media	S	CV	%Error	95%LC	$\bar{x} - \mu$	Sig.**
$KMnO_4$	12,014	0,0586	0,488	0,117	0,0728	0,0140	0,621
Ce^{4+}	11,996	0,0611	0,509	-0,0333	0,0759	-0,00400	0,891

*La titulación de APA se realiza con $Na_2S_2O_3$. Los nombres de $KMnO_4$ y Ce^{4+} , señalan la metodología.

**Significancia para prueba *t* de muestras relacionadas. Relación: valores experimentales vs. reportados.

Los valores de las medias obtenidas mediante las dos metodologías, se revisaron por medio de una prueba *t* de comparación de medias de muestras independientes (tabla 23). Primero se contrastaron las varianzas, obteniendo un

valor experimental del estadístico de contraste $F_{exp} = 0,012$, y una $Sig. = 0,916$ por tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de varianzas.

Figura 14. Gráfico de dispersión para la determinación de APA en Vortexx.

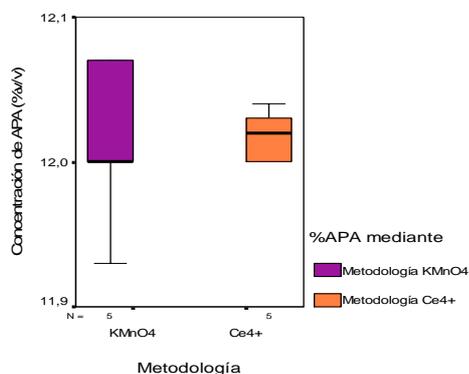


Tabla 23. Prueba t de comparación de medias (concentración de APA en Vortexx) para muestras independientes asumiendo varianzas iguales.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
0,012	0,916	0,476	8	0,647	0,0180	-0,06926	0,1053

El contraste para la diferencia de medias suponiendo que las varianzas son iguales, arrojó un estadístico de contraste $t_{exp} = 0,476$ y una $Sig. = 0,647$, por lo tanto, no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, lo cual se confirma cuando el intervalo de confianza $(-0,06926; 0,1053)$ para la diferencia de medias contiene al cero, indicando que en cualquier momento las medias pueden ser iguales.

6.3 EVALUACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS UTILIZADAS PARA LA VALORACIÓN DE LOS SANTIZANTES UTILIZADOS EN EL SISTEMA CIP.

Los resultados numéricos de las valoraciones realizadas para elaborar las curvas de calibración con cada metodología y para cada sanitizante, se expresan en el Anexo B, y se señalan dentro del texto como “tabla Bn”, donde n indica el número consecutivo correspondiente.

6.3.1 Verificación de la Calibración del Sistema Instrumental. El sistema instrumental empleado consistió en una bureta de 10 mL, marca Brand, tipo A, con franja de Schellbach y graduación de 0,05 mL. Se realizaron cinco mediciones de dos volúmenes: 1 y 10 mL. El primero, debido a que se utilizará con mayor frecuencia, el segundo por ser el volumen total de la bureta. Los ensayos se realizaron a 23°C, lo cual corresponde a una densidad de 0,9975₄ g/mL. De acuerdo a las instrucciones de Brand, un sólo control es suficiente, por lo menos para todos los aparatos de medida ajustados por contenido 'In', sin embargo, se realizaron cinco para obtener mayor confiabilidad en el resultado. (BRAND, 2011)

Tabla 24. Prueba de densidad para verificación de calibración de la bureta.

Volumen 1 mL		Volumen 10 mL	
Peso (g)	Densidad (g/mL)	Peso (g)	Densidad (g/mL)
0,9977	0,9977	9,9755	0,99755
0,9975	0,9975	9,9750	0,9975
0,9974	0,9974	9,9764	0,99764
0,9973	0,9973	9,9767	0,99767
0,9976	0,9976	9,9745	0,99745
Promedio	0,9975 ₀		0,9975 ₆
S	1,581X10 ⁻⁴		9,2574X10 ⁻⁵
95% LC	1,966 X10 ⁻⁴		1,151 X10 ⁻⁴
Prueba t (sig.)	0,602		0,623

Como la diferencia entre el volumen de referencia y el experimental, no supera el valor estimado para un LC del 95%, y la significancia de la prueba *t* de igualdad de medias para muestras relacionadas es mayor a 0,05, se acepta H₀.

Según las indicaciones de Brand, el volumen obtenido se calcula a través de la ecuación 37, y los resultados se muestran en la tabla 25. El límite máximo permitido es ±0,02 mL.

$$V_{20} = (W_2 - W_1) \times Z$$

Ecuación 28

Donde: V₂₀ (mL), es el volumen del aparato de medida a 20°C; W₁ (g), es el peso del balón antes de vaciar el contenido; W₂ (g), es el peso del balón y el volumen adicionado; y Z (mL/g), es un factor que depende de la temperatura, el cual para 23°C es Z=1,00346. (BRAND, 2011)

Tabla 25. Volúmenes obtenidos a partir de la bureta durante la calibración (método de Brand).

Volumen adicionado		
	Valor nominal: 1 mL	Valor nominal: 10 mL
	1,0012	10,010
	1,0010	10,010
	1,0009	10,011
	1,0008	10,011
	1,0011	10,009
\bar{x}	1,0010±0,002	10,010±0,012

A partir de los resultados de las tablas 24 y 25, que el error estimado es considerablemente menor que la tolerancia indicada de fábrica, permitiendo que la incertidumbre sobre los resultados obtenidos por adición del titulante, no influyan significativamente el cálculo final, pues las diferencias obtenidas son menores que el escalón de la bureta.

6.3.2 Definición del rango de concentración adecuado para Determinación de APA en Oxonia y Vortexx. Se definió el rango de concentración para cada sanitizante con el fin de elaborar las curvas de calibración correspondientes, teniendo en cuenta la concentración ideal de las soluciones del sistema CIP y valores cercanos.

A partir del sanitizante correspondiente, se prepararon seis niveles de concentración en un rango de 0,174 – 0,563% para Oxonia y 0,053 – 0,247% para Vortexx, como se observa en la tabla 26.

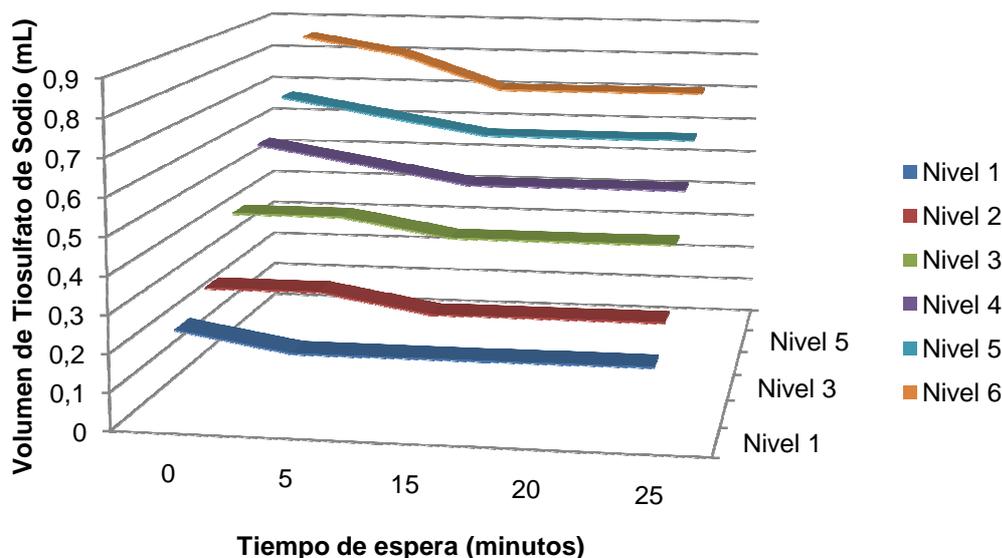
Tabla 26. Niveles de concentración de las curvas de calibración de APA.

Nivel de Concentración	Concentración de APA (%v/v)	
	Oxonia	Vortexx
1	0,174	0,053
2	0,208	0,088
3	0,302	0,124
4	0,389	0,159
5	0,476	0,177
6	0,563	0,247

6.3.3. Establecimiento del Tiempo de Espera para la titulación de soluciones utilizando la metodología del MA. En ensayos preliminares, se detectó que el volumen de la titulación con tiosulfato de sodio, para cada nivel de concentración,

variaba dependiendo del tiempo transcurrido una vez se agregaba el MA como se muestra en el Anexo C y figura 15.

Figura 15. Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N gastados en la titulación de los niveles de concentración de las soluciones de Oxonia versus Tiempo de espera para realizar la titulación, posterior a la adición del MA.



La figura 15, manifiesta que el volumen de titulación del APA con tiosulfato para cada nivel de concentración disminuye con el tiempo de agregado del MA, debido probablemente a que la descomposición del PH no ocurre en forma instantánea. Se observa que el volumen de titulación se estabiliza para cada nivel de concentración a partir de 15 minutos de haber agregado el MA. Con el propósito de comprobar si esa diferencia es significativa se aplicó la prueba estadística de ANOVA (tabla 27), pues los resultados se ajustan a la normalidad (tabla 28).

La prueba de ANOVA, muestra que el valor de significancia tanto para volumen de tiosulfato como para el nivel de concentración, es superior a 0,05, aceptando por lo tanto la hipótesis nula, lo que significa que las variaciones en los volúmenes de titulación para cada nivel de concentración en función del tiempo, no son significativas. Sin embargo, por seguridad de la prueba y de acuerdo a la figura 15, se establece que el tiempo de espera para realizar la titulación de APA, utilizando la metodología del MA, será 15 minutos después de adicionar el molibdato de amonio.

Tabla 27. Prueba ANOVA para el tiempo de espera de titulación con Na₂S₂O₃, previa adición de MA.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Volumen de Na ₂ S ₂ O ₃	Inter-grupos	0,039	5	0,008	0,181	0,968
	Intra-grupos	1,289	30	0,043		
	Total	1,328	35			
Nivel de Concentración	Inter-grupos	,000	5	0,000	0,000	1,000
	Intra-grupos	105,000	30	3,500		
	Total	105,000	35			

Tabla 28. Prueba de normalidad para el tiempo de espera de titulación con Na₂S₂O₃, previa adición de MA.

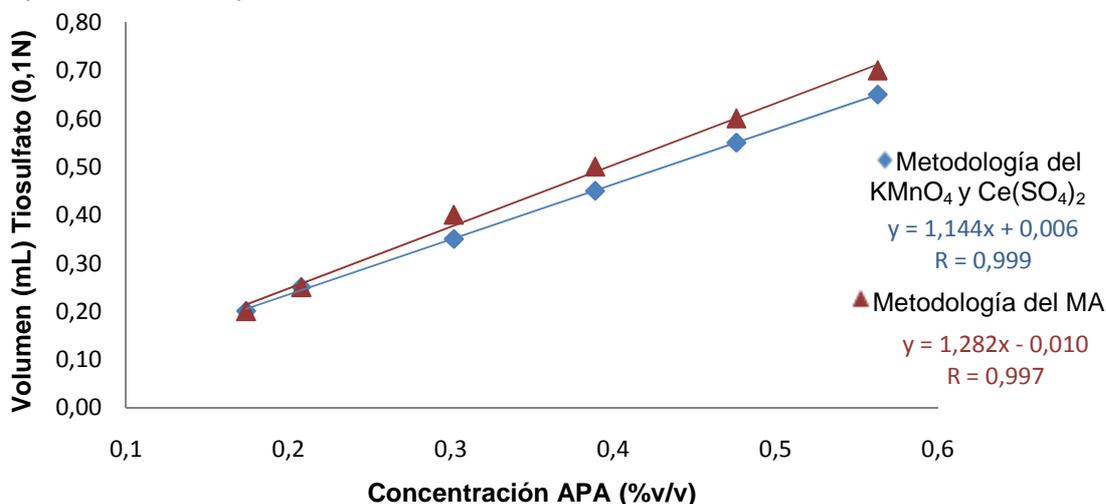
	Tiempo de inicio de titulación una vez agregado el MA (minutos)	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Volumen de Tiosulfato de Sodio (mL)	0	0,955	6	0,781
	5	0,983	6	0,966
	10	0,956	6	0,790
	15	0,956	6	0,790
	20	0,956	6	0,790
	30	0,956	6	0,790
Nivel de Concentración	0	0,982	6	0,961
	5	0,982	6	0,961
	10	0,982	6	0,961
	15	0,982	6	0,961
	20	0,982	6	0,961
	30	0,982	6	0,961

6.3.4 Valoración de Oxonia. Se valoraron los seis niveles de concentración de APA en las soluciones de Oxonia, utilizando las tres metodologías dispuestas por la empresa. A continuación se muestran los resultados obtenidos con cada una de ellas. Se debe recordar que la valoración de APA se realiza con tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) en todos los casos, previa eliminación de la interferencia generada por el PH, y que la titulación de las soluciones por medio de la metodología del MA, se realiza 15 minutos después de adicionar el molibdato de amonio.

La precisión intermedia se valoró preparando una curva de calibración con seis niveles de concentración en cinco días diferentes, mientras que la evaluación de la repetibilidad, se realizó preparando cinco curvas de calibración con seis niveles de concentración, analizadas el mismo día y bajo las mismas condiciones.

6.3.4.1 Precisión intermedia en la valoración de APA en soluciones de Oxonia. El volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N gastado en la titulación de las soluciones patrón, por medio de cada una de las metodologías evaluadas (KMnO_4 , $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, y MA) se muestran en las tablas B1, B2 y B3, respectivamente. A partir de estos resultados, se elaboraron las curvas de calibración que se muestran en la figura 15, donde se relacionó el volumen del titulante ($\text{Na}_2\text{S}_3\text{O}_3$ 0,1N) respecto a la concentración de APA (%v/v), la cual permitió observar la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar las ecuaciones lineales que relacionaran los dos factores mencionados.

Figura 16. Curvas de calibración para Oxonia mediante las metodologías del KMnO_4 , $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.



La normalidad de los datos se evaluó aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 (Tabla 29), permitiendo aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva, y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 30, de donde se puede concluir que se puede promediar el valor de las pendientes e interceptos, para obtener los respectivos valores de cada uno de ellos a partir de las curvas de calibración, porque no hay desviación estándar para el promedio de cinco curvas.

Tabla 29. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Oxonia para las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Día de evaluación	Sig. Shapiro-Wilk*		
		KMnO ₄	Ce(SO ₄) ₂	MA
Volumen de Tiosulfato de Sodio	1	0,830	0,830	0,790
	2	0,830	0,830	0,790
	3	0,830	0,830	0,790
	4	0,830	0,830	0,790
	5	0,830	0,830	0,790
Nivel de Concentración	1	0,961	0,961	0,961
	2	0,961	0,961	0,961
	3	0,961	0,961	0,961
	4	0,961	0,961	0,961
	5	0,961	0,961	0,790

* KMnO₄, Ce(SO₄)₂, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

Tabla 30. Evaluación de la linealidad instrumental para Oxonia utilizando las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.

Parámetro	Símbolo	Valor*		
		KMnO ₄	Ce(SO ₄) ₂	MA
Coefficiente de Correlación	r	0,999	0,999	0,997
Pendiente	m	1,144	1,144	1,282
Intercepto	b	0,0057	0,0057	-0,00975
Desviación Estándar de los interceptos	S _b	0,00	0,00	0,00
Desviación Estándar de las pendientes	S _m	0,00	0,00	0,00

* KMnO₄, Ce(SO₄)₂, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

Los coeficientes de correlación se evaluaron estadísticamente. En las tablas 31 y 32, se observa que la prueba es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una correlación altamente significativa entre el volumen de tiosulfato y el nivel de concentración, para las tres metodologías, con altos coeficientes de correlación (0.996, 0.996, y 0.995, respectivamente). Además en dicha prueba se aprecia que el día de evaluación no tiene influencia sobre el nivel de concentración o el volumen de Na₂S₂O₃, mostrando que existe alta reproducibilidad de los datos.

Tabla 31. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

		Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Nivel de Concentración	Día de evaluación
Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Correlación de Pearson	1	0,996(**)	0,000
	Sig. (bilateral)	.	0,000	1,000
	N	30	30	30
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	0,996(**)	1	0,000
	Sig. (bilateral)	0,000	.	1,000
	N	30	30	30
Día de evaluación	Correlación de Pearson	0,000	0,000	1
	Sig. (bilateral)	1,000	1,000	.
	N	30	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla 32. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del MA.

		Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (método del MA)	Nivel de Concentración	Día de evaluación
Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (método del MA)	Correlación de Pearson	1	,995(**)	,000
	Sig. (bilateral)	.	,000	1,000
	N	30	30	30
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	,995(**)	1	,000
	Sig. (bilateral)	,000	.	1,000
	N	30	30	30
Día de evaluación	Correlación de Pearson	,000	,000	1
	Sig. (bilateral)	1,000	1,000	.
	N	30	30	30
Día de evaluación	Correlación de Pearson	30	30	30
	Sig. (bilateral)	1	,995(**)	,000
	N	.	,000	1,000

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

En las tablas 33 y 34, se aprecia que el valor de la significancia de m en las tres metodologías es 0,000 es decir, que son significativamente diferentes de cero, al igual que la pendiente (b) de las curvas de las metodologías del KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, por lo tanto, la ecuación de la recta para estas dos últimas es: $y = 1,144x + 0,006$. Para la metodología del MA, su b tiene asociado una Sig=0,153, atribuible probablemente a que el valor del intercepto es negativo. La ecuación de la recta asociada es: $y = 1,282x - 0,010$.

Tabla 33. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 y $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
b	0,006	0,002		3,368	0,002
m	1,144	0,004	1,000	256,034	0,000

Tabla 34. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia mediante la metodología del MA, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
b	-0,010	0,007		-1,468	0,153
m	1,282	0,018	0,997	73,080	0,000

Mediante un análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión de las curvas de calibración (Tabla 35), encontrándose que la significancia es $<0,05$, lo que conduce a rechazar la H_0 , y a corroborar la prueba t (tablas 33 y 34) y sus p -valores asociados. También se puede observar a través del valor del estadístico de contraste (F), que la predicción mediante el modelo lineal será satisfactoria en el rango de evaluado.

Tabla 35. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia mediante las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Suma de cuadrados		gl	F		Sig.*
	KMnO_4 y Ce^{4+}	MA		KMnO_4 y Ce^{4+}	MA	
Regresión	0,760	,955	1	65553,626	5340,714	,000(a)
Residual	0,000	,005	28			
Total	0,760	,960	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración de APA (%v/v)

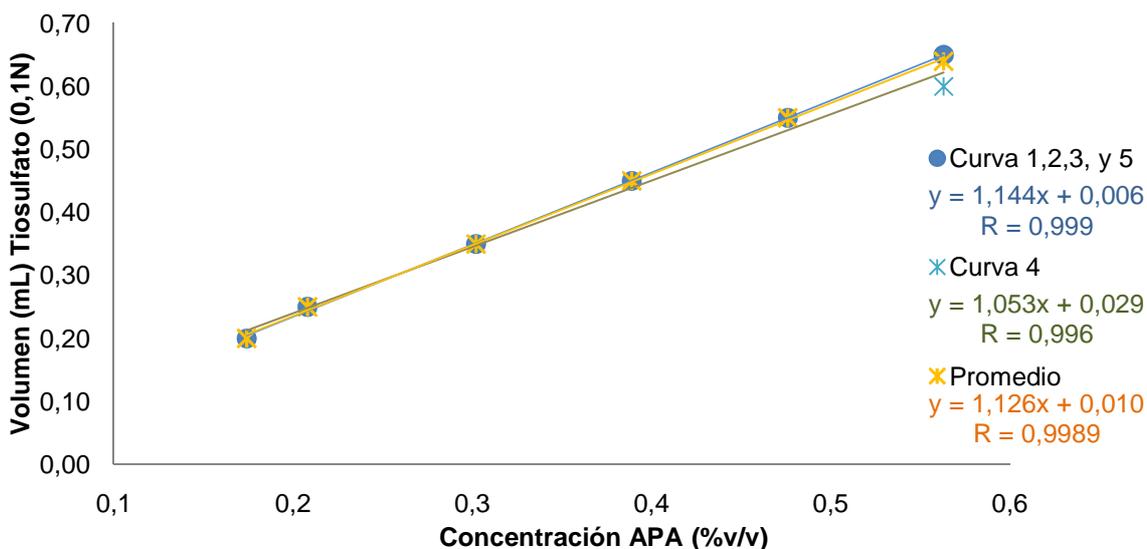
*La significancia es la misma para las tres metodologías.

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad para Oxonia utilizando las metodologías del KMnO_4 , $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y MA, en el rango evaluado, (0,174 – 0,563 %v/v APA), permiten concluir que son lineales y reproducibles con coeficientes de correlación de: 0.999, 0.999 y 0.997 respectivamente. Sin embargo, la metodología del MA, es menos confiable que las otra dos (Tabla 30), puesto que el PH no se elimina totalmente excepto en las

concentraciones más bajas (niveles de concentración 1 y 2), causando una interferencia en la determinación de APA, lo cual se puede deducir a partir de los resultados obtenidos, ya que son más altos que los obtenidos utilizando las otras dos metodologías.

6.3.4.2 Repetibilidad en la valoración de APA en soluciones de Oxonia. Las tres metodologías fueron valoradas bajo condiciones de repetibilidad, proporcionando los resultados de las tablas B4, B5 y B6, a partir de los cuales se elaboraron las curvas de calibración que se muestran en las figuras 17, 18 y 19. Ya que la tendencia de los puntos de la relación Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_3\text{O}_3$ – concentración APA, es lineal, se calculó las ecuaciones de las rectas mediante el método de mínimos cuadrados, obteniendo de esta forma la pendiente y el intercepto para cada una de las curvas de calibración.

Figura 17. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de repetibilidad.



Las tres metodologías aportaron valoraciones precisas y exactas (Tabla 36), siendo la correspondiente al Ce^{4+} , la que mejor desempeño presentó pues aporta resultados no dispersos ($S=0$) y con un alto nivel de exactitud ($C.V.=0\%$). La metodología del MA es la siguiente, con una $S=0$ y $C.V._{m\acute{a}x} = 3,241$, alcanzada con el nivel 6 de concentración (0,543% APA); y por último, la metodología del KMnO_4 , con un $C.V. < 3,5\%$, también ocasionado por el este nivel; por lo tanto, esta es la máxima concentración de determinación de APA en ambas metodologías.

Figura 18. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.

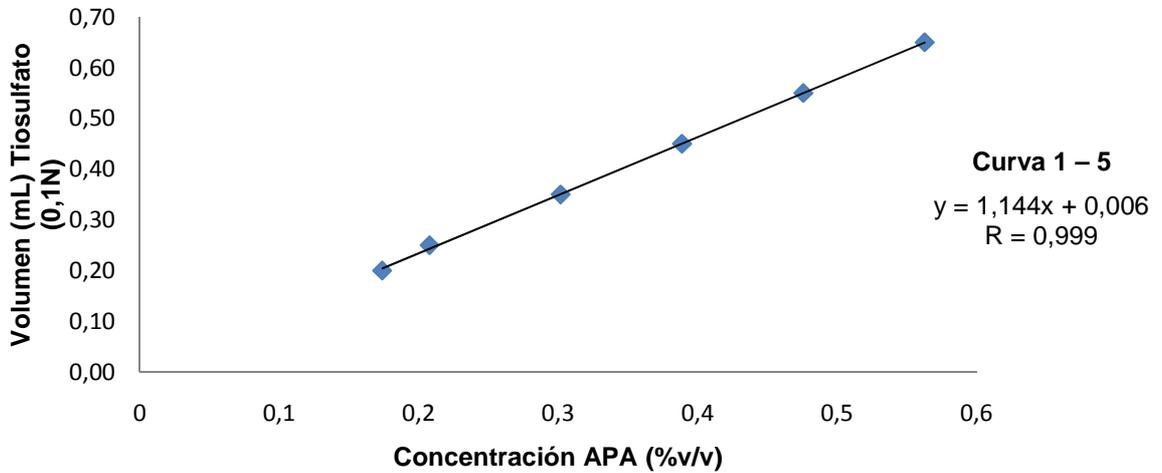


Figura 19. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del MA, bajo condiciones de repetibilidad.

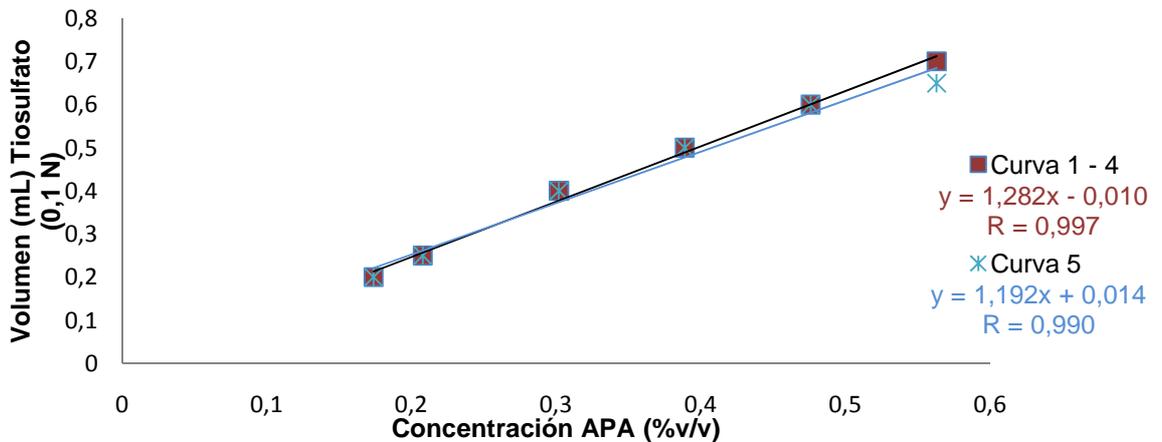


Tabla 36. Precisión en los niveles de concentración en Oxonia, bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de concentración	S*			CV (%)*		
	KMnO ₄	Ce ⁴⁺	MA	KMnO ₄	Ce ⁴⁺	MA
6	0,0224	0,000	0,0224	3,494	0,000	3,241

* KMnO₄, Ce(SO₄)₂, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

** S y CV en los demás niveles de concentración, es cero.

Se realizó una prueba de comparación de medias entre las curvas obtenidas bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia, para las dos metodologías

que presentaron variación (permanganato y MA) por separado. Debido a que los resultados fueron iguales, estos se resumieron en la tabla 37, donde se demuestra que no existe diferencia significativa entre las curvas obtenidas bajo los dos sistemas de evaluación, ya que la significancia es $>0,05$.

Tabla 37. Prueba de muestras relacionadas para las pendientes e interceptos obtenidos bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia, tanto de la metodología del KMnO_4 como la del MA.

		t	gl	Sig. (bilateral)
Par 1	m de curvas de repetibilidad - m de curvas de precisión intermedia	-1,000	4	0,374
Par 2	b de curvas de repetibilidad - b de curvas de precisión intermedia	1,000	4	0,374

Se determinó la desviación estándar de los interceptos (S_{int}) y el promedio de las pendientes (m_{prom}) para establecer teóricamente los valores del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para cada metodología, de acuerdo a las ecuaciones 21 y 22 ($\text{LOD} = 3S_{\text{interceptos}}/m_{\text{prom}}$; $\text{LOQ} = 10 S_{\text{interceptos}}/m_{\text{prom}}$). Los resultados se muestran en la tabla 38.

Tabla 38. Límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) para Oxonia.

	Metodología		
	KMnO_4	Ce^{4+}	MA
S_{int}	0,001	0,000	0,011
m_{prom}	1,126	1,144	1,264
LOD (%APA)	0,028	0,000	0,025
LOQ (%APA)	0,094	0,000	0,084

Con la metodología del KMnO_4 y del MA, se pueden detectar valores superiores a 0,0282 y 0,0250%APA respectivamente, pero la cuantificación se debe realizar sólo a partir de concentraciones $\geq 0,0939$ y 0,084% APA, para obtener resultados con una confiabilidad del 95%. Teniendo en cuenta que la mínima concentración permitida para Oxonia en el CIP es de 0,25%, se deduce que ambas metodologías son adecuadas, precisas y confiables para determinar APA, en el rango evaluado (0,174 – 0,563%v/v APA), previa eliminación de la interferencia (PH). Por esta razón, la forma como está descrito el procedimiento de valoración con la metodología del MA, debe ser modificado, añadiendo que previo a la titulación con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, se debe esperar mínimo 15 minutos después de adición del MA.

En la metodología del sulfato de cerio, los LOD y LOQ, son cero teóricamente, debido a que la desviación estándar de los interceptos (S_{int}) es cero; sin embargo, se debe considerar la incertidumbre de la bureta. Se deduce entonces, que la metodología adoptada para determinar APA previa eliminación de la interferencia con $Ce(SO_4)_2$, al igual que las anteriores, es adecuada, precisa y confiable en el rango evaluado (0,174 – 0,563%v/v APA).

6.3.5 Valoración de Vortexx. El Vortexx se valoró del mismo modo que el Oxonia: seis niveles de concentración de APA en las soluciones de Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia y repetibilidad. El único cambio realizado, fue el rango de concentración, correspondiente a 0,053 – 0,247%v/v APA. A continuación se muestran los resultados obtenidos.

6.3.5.1 Precisión intermedia en la valoración de APA en soluciones de Vortexx. El volumen de $Na_2S_2O_3$ 0,1N gastado en la titulación de las soluciones patrón, por medio de cada una de las metodologías evaluadas ($KMnO_4$, $Ce(SO_4)_2$, y MA) se muestran en las tablas B7, B8 y B9, respectivamente. A partir de estos resultados, se elaboraron las curvas de calibración que de las figuras 20 y 21, donde se relacionó el volumen del titulante vs la concentración de APA (%v/v), la cual permitió observar la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar las ecuaciones lineales.

Figura 20. Curvas de calibración de APA en Vortexx mediante la metodología del $KMnO_4$, bajo condiciones de precisión intermedia.

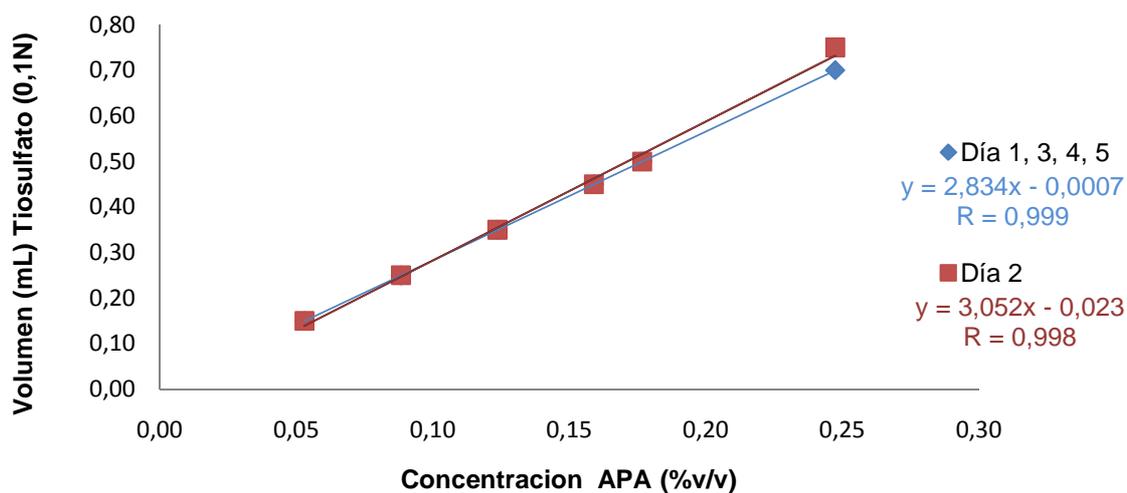
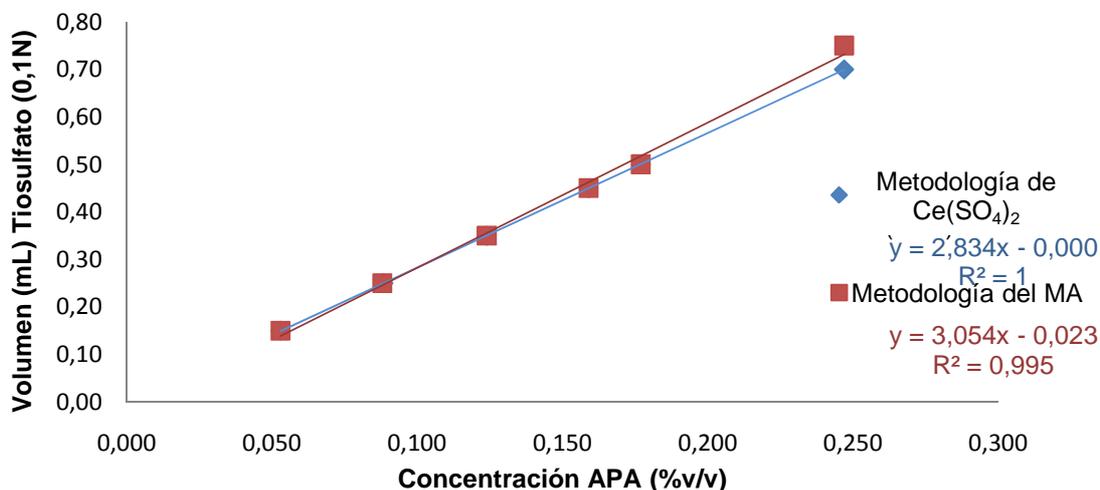


Figura 21. Curvas de calibración de APA en Vortexx mediante la metodología del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.



La normalidad de los datos se evaluó aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 (Tabla 39), permitiendo aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 39. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Vortexx para las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Día de evaluación	Sig. Shapiro-Wilk*		
		KMnO ₄	Ce(SO ₄) ₂	MA
Volumen de Tiosulfato de Sodio (método del KMnO ₄)	1	0,974	0,974	0,910
	2	0,910	0,974	0,910
	3	0,974	0,974	0,910
	4	0,974	0,974	0,910
	5	0,974	0,974	0,910
Nivel de Concentración	1	0,975	0,975	0,975
	2	0,975	0,975	0,975
	3	0,975	0,975	0,975
	4	0,975	0,975	0,975
	5	0,974	0,975	0,975

* KMnO₄, Ce(SO₄)₂, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

Los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva, fueron calculados (Tabla 40). El resultado de la desviación estándar de m y

b para cada metodología, permite afirmar que es posible promediar el valor de las pendientes e interceptos, con el fin de obtener los respectivos valores de cada uno de ellos a partir de las curvas de calibración, pues la desviación estándar para el promedio de cinco curvas es nula o muy baja (la pendiente de la metodología del KMnO_4 arroja un CV bajo: $\text{CV}_m = 3,47\%$).

Tabla 40. Evaluación de la linealidad instrumental para Vortexx utilizando las tres metodologías, bajo condiciones de precisión intermedia.

Parámetro	Símbolo	Valor*		
		KMnO_4	$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	MA
Coeficiente de Correlación	r	0,999	0,999	0,998
Pendiente	m	2,876	2,832	3,054
Intercepto	b	-0,0054	-0,0002	-0,0234
Desviación Estándar de los interceptos	S_b	0,0104	0,000	0,000
Desviación Estándar de las pendientes	S_m	0,0998	0,000	0,000

* KMnO_4 , $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

Los coeficientes de correlación se evaluaron estadísticamente, teniendo como hipótesis nula: “No existe correlación entre x y y ”. El tratamiento realizado a los datos del permanganato (Tabla 41), también se realizó a las metodologías del Ce^{4+} y del MA (Tabla 42), con lo que se demuestra que la prueba es significativa (Sig. = 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una correlación altamente significativa entre el volumen de tiosulfato de sodio y el nivel de concentración, para las tres metodologías, con altos coeficientes de correlación (0.999, 1.000, y 0.998, respectivamente) indicando la linealidad del rango de concentración. Además en dicha prueba se aprecia que el día de evaluación no tiene influencia sobre el nivel de concentración o el volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Sig > 0,05), afirmando que existe alta reproducibilidad de los datos.

Tabla 41. Correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del KMnO_4 .

		Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (método del KMnO_4)	Nivel de Concentración	Día de evaluación
Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (método del KMnO_4)	Correlación de Pearson	1	,999(**)	-,007
	Sig. (bilateral)	.	,000	,973
	N	30	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla 42. Resumen de la correlación de Pearson entre el volumen empleado para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación, mediante la metodología del Ce^{4+} y MA.

		Volumen de $Na_2S_2O_3$ (método del Ce^{4+})	Volumen de $Na_2S_2O_3$ (método del MA)	Nivel de Concentración	Día de evaluación
Volumen de $Na_2S_2O_3$ (método del Ce^{4+})	Correlación de Pearson	1		1,000(**)	,000
	Sig. (bilateral)	.	---	,000	1,000
	N	30		30	30
		1,000(**)		1	,000
Volumen de $Na_2S_2O_3$ (método del MA)	Correlación de Pearson		1	,998(**)	,000
	Sig. (bilateral)	---	.	,000	1,000
	N		30	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

A partir de las tablas 43 y 44, se puede afirmar que la pendiente de las curvas de calibración de las tres metodologías (Sig. = 0,000), son significativamente diferentes de cero, al igual que la pendiente de la curva de la metodología del MA (Sig. = 0,001). Para las otras dos metodologías ($KMnO_4$ y $Ce(SO_4)_2$), Sig. = 0,244 y 0,595 respectivamente, por lo tanto, b no es significativamente diferente de cero.

Tabla 43. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del $KMnO_4$, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados Beta	t	Sig.
	B	Error típ.			
<i>b</i>	-0,005	0,004		-1,191	0,244
<i>m</i>	2,876	0,026	0,999	109,744	0,000

Tabla 44. Resumen de resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del Ce^{4+} y MA, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Coeficientes estandarizados		t		Sig.	
	Ce^{4+}	MA	Ce^{4+}	MA	Ce^{4+}	MA
<i>b</i>			-0,537	-3,913	0,595	0,001
<i>m</i>	1,000	0,998	1229,963	79,118	0,000	0,000

Las ecuaciones de las rectas obtenidas a través de las curvas de calibración, después de haber aplicado las metodologías del KMnO_4 , el $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y el MA, son: $y = 2,876 x - 0,005$; $y = 2,832 x - 0,0002$; y $y = 3,054 x - 0,023$, respectivamente.

Aplicando la prueba de análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión de las curvas de calibración (tablas 45 y 46), encontrándose que la significancia es $<0,05$, lo que conduce a rechazar la H_0 , es decir que sí existe una relación lineal significativa entre x y y . También se puede observar que el valor del estadístico de contraste (F), es alto y por tanto, la predicción mediante el modelo lineal será satisfactoria en un rango de concentraciones de $0,053 - 0,247\%v/v$ APA, principalmente, utilizando la metodología del sulfato de cerio.

Tabla 45. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	,980	1	0,980	12043,637	,000(a)
Residual	,002	28	0,000		
Total	,982	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración de APA (%v/v)

Tabla 46. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia mediante las metodologías del $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y el MA, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Suma de cuadrados		gl	F		Sig.*
	Ce^{4+}	MA		Ce^{4+}	MA	
Regresión	,950	1,105	1	1512809,760	6259,718	,000(a)
Residual	,000	,005	28			
Total	,950	1,110	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración de APA (%v/v)

*La significancia es la misma para las dos metodologías.

Los resultados obtenidos a lo largo de las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad para Vortexx utilizando las metodologías del KMnO_4 , $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ y MA, permiten concluir que son lineales y reproducibles con coeficientes de correlación de: 0.999, 0.999 y 0.998 respectivamente, en un rango de concentración de $0,053 - 0,247\%v/v$ APA. Sin embargo, la metodología del MA, es menos confiable que las otras técnicas cuando su concentración es $\geq 0,247\%$, (nivel 6), ya que se gasta un mayor volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, lo que puede conllevar a análisis erróneos.

6.3.5.2 Repetibilidad en la valoración de APA en soluciones de Vortexx. Las tres metodologías fueron valoradas bajo condiciones de repetibilidad,

proporcionando los resultados de las tablas B10, B11 y B12, a partir de los cuales se elaboraron las curvas de calibración que se muestran en las figuras 22 y 23. Ya que la tendencia de los puntos de la relación Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_3\text{O}_3$ – concentración APA, es lineal, se calculó las ecuaciones de las rectas mediante el método de mínimos cuadrados, obteniendo de esta forma la pendiente y el intercepto para cada una de las curvas de calibración.

Figura 22. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 y Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.

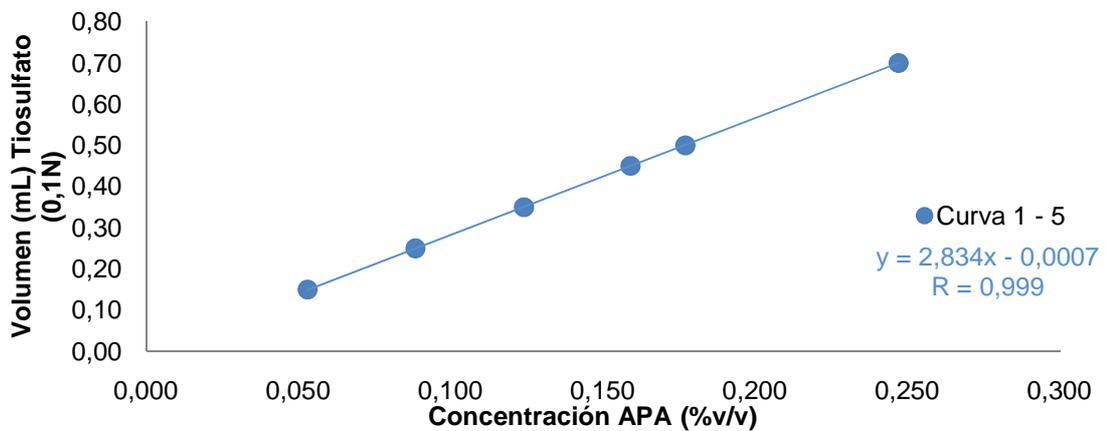
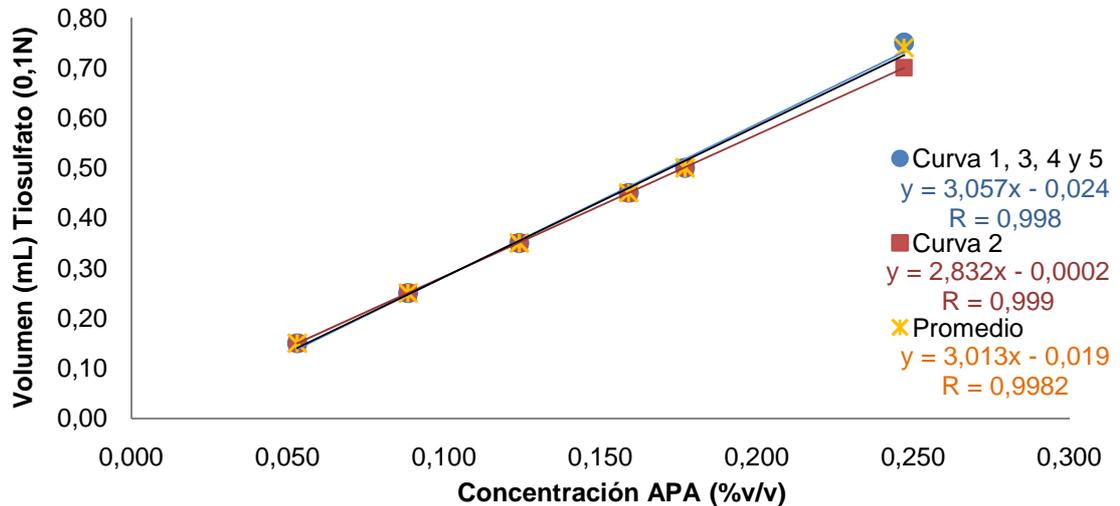


Figura 23. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del MA, bajo condiciones de repetibilidad.



Las tres metodologías aportaron valoraciones un alto nivel de precisión ($S=0$) y exactitud ($C.V.=0\%$) en el rango de concentración evaluado, reflejados en la

ausencia de dispersión y variabilidad de los datos, excepto en el nivel 6 de la metodología del MA, que presentó una $S=0,0224$ y un $C.V.=3,022\%$ (Tabla 47), es decir que sólo hasta una concentración de $0,247\%v/v$ APA, es posible realizar la determinación con esta técnica, para lograr resultados precisos, poco dispersos, y con un alto nivel de confiabilidad.

Tabla 47. Precisión en los niveles de concentración en Vortexx, bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de concentración	S*			CV (%)*		
	KMnO ₄	Ce ⁴⁺	MA	KMnO ₄	Ce ⁴⁺	MA
6	0,000	0,000	0,0224	0,000	0,000	3,022

* KMnO₄, Ce(SO₄)₂, y MA, hacen referencia a la metodología evaluada.

** S y CV en los demás niveles de concentración, es cero.

Se realizó una prueba de comparación de medias entre las curvas obtenidas bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia (tabla 48), para la metodología del KMnO₄ y del MA, pues la del Ce(SO₄)₂ no presentó variación en estos parámetros. Como se puede apreciar, el *p-valor* para ambas metodologías es mayor a 0,05, tanto en las pendientes como en los interceptos, indicando que no existe diferencia significativa entre las curvas obtenidas bajo los dos sistemas de evaluación.

Tabla 48. Prueba de muestras relacionadas para las pendientes e interceptos de las curvas de calibración de las metodologías del KMnO₄ y MA, obtenidas bajo condiciones de repetibilidad vs precisión intermedia.

		t		gl	Sig. (bilateral)	
		KMnO ₄	MA		KMnO ₄	MA
Par 1	<i>m</i> de curvas de repetibilidad - <i>m</i> de curvas de precisión intermedia	-0,996	-1,000	4	0,375	0,374
Par 2	<i>b</i> de curvas de repetibilidad - <i>b</i> de curvas de precisión intermedia	0,992	1,000	4	0,377	0,374

En la tabla 49, se exponen los LOD y LOQ para cada metodología, calculados a partir de la desviación estándar de los interceptos (S_{int}) y el promedio de las pendientes (m_{prom}) correspondientes.

Con la metodología del permanganato de potasio y del MA, se pueden detectar valores superiores a $6,63 \times 10^{-5}$ y $0,0103\%v/v$ APA respectivamente, pero las cuantificaciones deben realizarse a partir de concentraciones $\geq 2,21 \times 10^{-4}$ y

0,0345%v/v APA, para obtener resultados con una confiabilidad del 95%. Teniendo en cuenta que la mínima concentración permitida para Vortexx en el CIP es de 0,12%v/v APA, se deduce que ambas metodologías son adecuadas, precisas y confiables para determinar APA, en el rango evaluado (0,053 – 0,247%v/v APA), previa eliminación de la interferencia (PH), especialmente cuando la concentración de APA es $\leq 0,177\%$, si se utiliza la metodología del MA.

Tabla 49. Límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) para Vortexx.

	Metodología		
	KMnO ₄	Ce ⁴⁺	MA
S _{int}	6,27X10 ⁻⁵	0,000	-0,0193
m _{prom}	2,834	2,832	3,013
LOD (%APA)	6,63X10 ⁻⁵	0,000	0,0103
LOQ (%APA)	2,21X10 ⁻⁴	0,000	0,0345

En la metodología del sulfato de cerio, las cinco titulaciones realizadas a cada nivel de concentración (soluciones patrón), no presentaron dispersión de resultados, causando que la desviación de los interceptos y pendientes, sea cero, y por lo tanto, los LOD y LOQ, también lo sean. Sin embargo, se debe considerar la desviación aportada por el instrumento volumétrico utilizado (bureta). Teniendo en cuenta que la mínima concentración permitida para el Vortexx en el CIP es de 0,12%, se deduce que esta metodología de determinación de APA previa eliminación de la interferencia con Ce⁴⁺ es adecuada, precisa y confiable, en el rango de concentración evaluado (0,053 – 0,247%v/v APA).

6.4 SELECCIÓN DE LA METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DE LOS SANITIZANTES

De acuerdo al análisis anterior se descarta la metodología del MA porque como se mencionó anteriormente, probablemente con este reactivo no es posible eliminar totalmente el PH antes de la valoración del APA.

De las otras dos metodologías, se seleccionó la correspondiente al Ce(SO₄)₂, pues es más precisa (menor S), y presenta mayor exactitud (porque tienen mejor precisión intermedia y mejor reproducibilidad). Además, la solución de sulfato de cerio (IV) utilizada como oxidante para el PH, es mucho más estable que el KMnO₄, el cual pierde estabilidad en función del tiempo debido a los varios estados de oxidación del Mn.

Las ecuaciones de la curva con las que se hallarán las concentraciones de los sanitizantes proveídos por el sistema CIP (bomba CIP), son:

✓ Oxonia: $y = 1,144 x + 0,006$. Ecuación 29

✓ Vortexx: $y = 2,832 x - 0,0002$. Ecuación 30

6.5 ADAPTACIÓN A LOS GOTEROS DEL MÉTODO DEL SULFATO DE CERIO (IV), PARA DETERMINAR APA EN SANITIZANTES

Una vez escogida la metodología de valoración de los sanitizantes, se procedió con la adaptación a los dosificadores por goteo (goteros). Para esto, se utilizaron los niveles de concentración establecidos anteriormente, los cuales se titularon con el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N envasado en un dosificador.

Antes de realizar la valoración de todos los niveles de la curva, se hicieron pruebas adicionales para disminuir la cantidad de ácido sulfúrico ($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$) y yoduro de potasio (KI), pues cada gota equivale $\sim 0,05\text{mL}$, de tal modo que adicionar los 25 ó 10 mL descritos en el procedimiento, sería agotador.

Se tomó el patrón de 0,302% APA de Oxonia y 0,124% APA de Vortexx, se les adicionó las mismas cantidades de reactivos establecidas en el procedimiento y se titularon con el tiosulfato del gotero. La cantidad de gotas gastada para ambos sanitizantes fue siete (ensayo realizado con 5 réplicas). Una vez determinada la cantidad de gotas necesarias para alcanzar el punto de equivalencia, en condiciones normales (25mL H_2SO_4 y 10mL KI), se empezaron a hacer las variaciones o cambios que se muestran en la tabla 50, las cuales gastaron el mismo número de gotas en todos los casos.

Tabla 50. Variación de volúmenes de H_2SO_4 y KI.

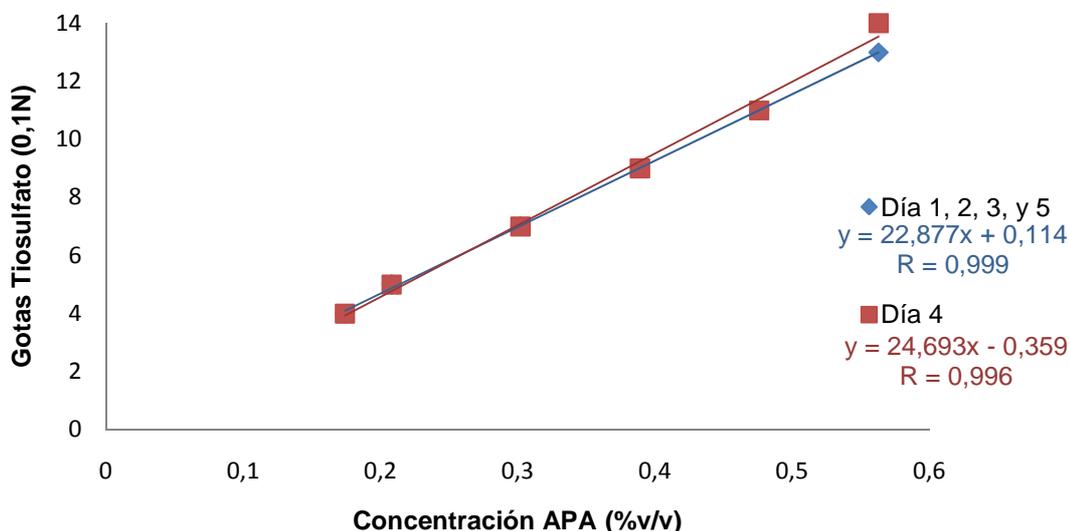
Ensayo	Volumen de H_2SO_4 (mL)	Volúmen de KI (mL)
A	10	10
B	5	10
C	1	10
D	25	5
E	25	3
F	25	1
G	1	3
H	1	1

Ninguna variación se presentó en la valoración de los sanitizantes al modificar las cantidades de estos dos reactivos, pues en todos los casos fue de 7 gotas, y por esta razón, las pruebas estadísticas realizadas aportan resultados nulos. No se siguió disminuyendo sus cantidades pues Kojima *et. al.* (2010), menciona que la cantidad de KI debe ser de 2-60 veces la de APA, es decir, de 1,4 a 1,5mL KI 10%, sin embargo, se observa que el ensayo con 1mL (1mL = 20gotas) no representó ninguna diferencia en la valoración.

6.5.1 Valoración de Oxonia. Se valoraron los seis niveles de concentración de APA en las soluciones de Oxonia, utilizando los goteros y la modificación en la cantidad de H₂S₂O₄ y KI.

6.5.1.1 Precisión intermedia para valoración de APA en Oxonia, utilizando los goteros. Para valorar la precisión intermedia, se preparó una curva de calibración con seis niveles de concentración durante cinco días diferentes. Los resultados se muestran en la tabla B13 y figura 24. Esta última, relacionan el volumen del titulante (Na₂S₃O₃ 0,1N) respecto a la concentración de APA (%v/v), la cual permitió observar la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal que relacionara los dos factores mencionados.

Figura 24. Curvas de calibración de APA en Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.



Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 (tabla 51). La normalidad de

estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 51. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Oxonia utilizando los goteros, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Día de Evaluación	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Gotas de Tiosulfato de Sodio	1	0,961	6	0,830
	2	0,961	6	0,830
	3	0,961	6	0,830
	4	0,964	6	0,847
	5	0,961	6	0,830
Nivel de Concentración	1	0,955	6	0,777
	2	0,955	6	0,777
	3	0,955	6	0,777
	4	0,955	6	0,777
	5	0,955	6	0,777

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva, y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 52.

Tabla 52. Evaluación de la linealidad instrumental para Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.

Parámetro	Símbolo	Valor
Coeficiente de Correlación	r	0,998
Pendiente	m	23,240
Intercepto	b	0,0194
Desviación Estándar de los interceptos	S _b	0,0812
Desviación Estándar de las pendientes	S _m	0,211

De la tabla anterior, se puede concluir que se puede promediar el valor de las pendientes e interceptos, para obtener los respectivos valores de cada uno de ellos a partir de las curvas de calibración, ya que el CV no supera el 3,5% ($CV_m = 3,49\%$).

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente, teniendo como hipótesis nula: "No existe correlación entre y y x". Como se observa en la tabla 53, la prueba

es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una correlación altamente significativa entre el volumen de tiosulfato y el nivel de concentración, con un alto coeficiente de correlación (0,998) indicando la linealidad del rango de concentración. Además en dicha prueba se aprecia que el día de evaluación no tiene influencia sobre el nivel de concentración o el volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Sig. 0,970), indicando que existe alta reproducibilidad de los datos.

Tabla 53. Correlación de Pearson entre el número de gotas empleadas para la titulación de APA en Oxonia, los niveles de concentración, y los días de evaluación.

		Gotas de Tiosulfato de Sodio	Nivel de Concentración	Día de Evaluación
Gotas de Tiosulfato de Sodio	Correlación de Pearson	1	,998(**)	,007
	Sig. (bilateral)	.	,000	,970
	N	30	30	30
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	,998(**)	1	,000
	Sig. (bilateral)	,000	.	1,000
	N	30	30	30
Día de Evaluación	Correlación de Pearson	,007	,000	1
	Sig. (bilateral)	,970	1,000	.
	N	30	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto, las H_0 hacen referencia a que no son diferentes de cero cuando la sig. < 0,05. En la tabla 54, se muestra que la significancia para m y b son 0,000 y 0,840 respectivamente, por lo que se debe rechazar H_0 para la pendiente, es decir, que m es significativamente diferentes de cero; para el intercepto, sig.=0,840, lo que indica que este no es significativamente diferente de cero. La ecuación de la recta es: $y = 23,240 x + 0,019$.

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la tabla 55. La evaluación de la regresión, muestra que el valor Sig., es menor que 0,05, lo que conduce a rechazar la H_0 , es decir existe una relación lineal significativa entre y y x . También se puede observar que el valor del estadístico de contraste, $F=8509,621$, por tanto, la predicción mediante el modelo lineal simple será altamente satisfactorio.

Tabla 54. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Oxonia utilizando los goteros, bajo condiciones de precisión intermedia.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados Beta	t	Sig.
	B	Error típ.			
<i>b</i>	0,019	0,095		0,204	0,840
<i>m</i>	23,240	0,252	0,998	92,248	0,000

Tabla 55. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Oxonia, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	313,768	1	313,768	8509,621	,000(a)
Residual	1,032	28	,037		
Total	314,800	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración de APA (%v/v)

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad para Oxonia utilizando los goteros como instrumento de titulación y las modificaciones realizadas (disminución de volúmenes de H₂S₂O₄ y KI) permiten concluir que el método empleado es lineal y reproducible en el rango evaluado (0,174 – 0,563%v/v APA), con un alto coeficiente de correlación equivalente a 0,998.

6.5.1.2 Repetibilidad para valoración de APA en Oxonia, utilizando los goteros. La evaluación de repetibilidad, se prepararon cinco curvas de calibración con seis niveles de concentración, analizadas bajo condiciones de repetibilidad. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla B14, y las curvas de calibración asociadas, en la figura 25, donde se puede apreciar la tendencia lineal de los datos.

La tabla 56, muestra la dispersión de resultados evaluados por nivel de concentración. Se observa que esta metodología aporta resultados precisos, poco dispersos, pues no superaron el 3,4%CV, y con un alto nivel de confiabilidad.

La desviación estándar de los interceptos (S_{ini}) y el promedio de las pendientes (m_{prom}) se utilizó para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), de acuerdo a las ecuaciones 21 y 22. Los resultados se muestran en la tabla 57.

Figura 25. Curvas de calibración para Oxonia, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.

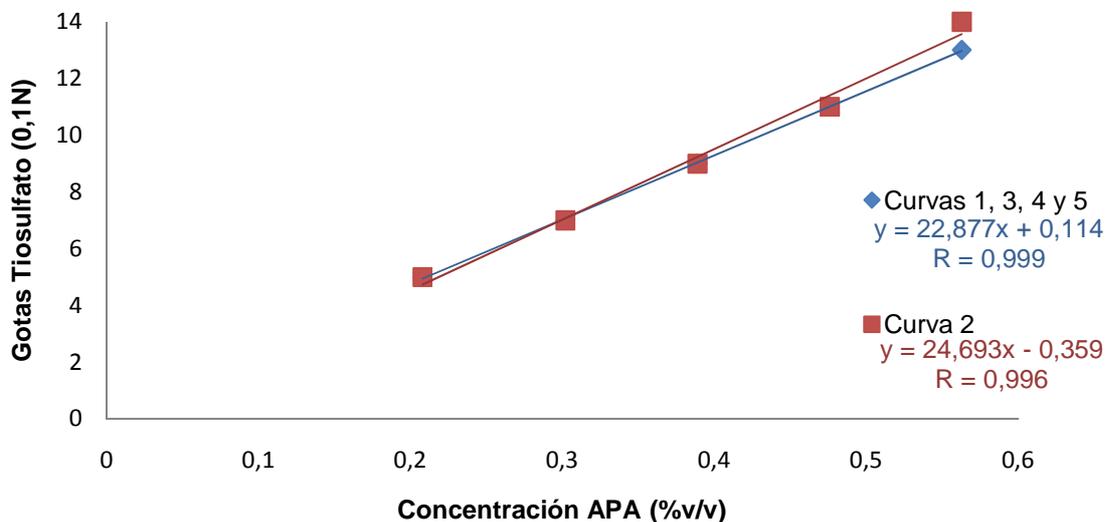


Tabla 56. Precisión en los niveles de concentración de Oxonia utilizando los goteros.

Nivel de concentración	S	C.V. (%)
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0,447	3,388

Tabla 57. Límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para Oxonia utilizando los goteros.

	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	S_{int}	m_{prom}	LOD (%APA)	LOQ (%APA)
m	22,877	24,693	22,877	22,877	22,877	0,211	23,240	0,0273	0,0909
b	0,0114	-0,359	0,0114	0,0114	0,0114				

Los resultados revelan que se pueden detectar valores superiores a 0,0273%, pero que la cuantificación se debe realizar únicamente a partir de concentraciones superiores a 0,0909% APA, para obtener resultados con una confiabilidad del 95%. Teniendo en cuenta que la mínima concentración permitida para Oxonia en el CIP es de 0,25%, se deduce que la metodología adoptada para determinar APA previa eliminación de la interferencia con el $Ce(SO_4)_2$, utilizando los goteros y

realizando las modificaciones mencionadas, provee resultados adecuados, precisos y confiables.

La titulación de los patrones de concentración también los realizó una persona diferente con el fin de corroborar la reproducibilidad de los datos, al variar el analista. Los datos se muestran en la tabla B15. Con el fin de conocer si las medidas obtenidas difieren una de la otra, estas se examinaron utilizando una prueba *t* de comparación de medias de muestras independientes (tabla 58). Primero se contrastaron las varianzas, obteniendo una significancia de 0,924, el cual no permite rechazar H_0 de igualdad de varianzas. Luego, se observa el contraste para la diferencia de medias suponiendo que las varianzas son iguales, y se obtuvo un Sig.= 0,965, por lo tanto, tampoco se puede rechazar H_0 de igualdad de medias experimentales, confirmando la reproducibilidad de la técnica, no sólo en la variación de días como se demostró anteriormente, sino también con un analista diferente.

Tabla 58. Prueba *t* de comparación de medias independientes: analista 1 vs analista 2

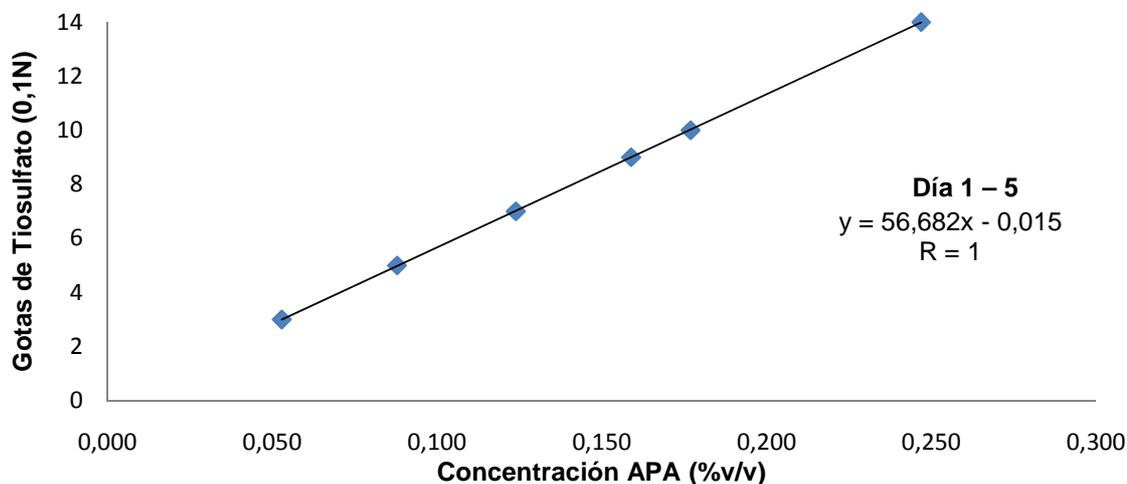
Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
0,010	0,924	-0,044	10	0,965	-0,0889	-4,55451	4,37673

6.5.2 Valoración de Vortexx. Se valoraron los seis niveles de concentración de APA en las soluciones de Oxonia, utilizando los goteros y la modificación en la cantidad de $H_2S_2O_4$ y KI.

6.5.2.1 Precisión intermedia para valoración de APA en Vortexx, utilizando los goteros. Al igual que para Oxonia, se realizó la titulación de los 6 niveles de concentración en cinco días diferentes para evaluar la precisión intermedia del método, ahora utilizando los goteros y la modificación en la cantidad de $H_2S_2O_4$ y KI. Los resultados se muestran en la tabla B16.

Se realizó la figura 26, a partir de los datos de la tabla anterior, relacionando el volumen del titulante ($Na_2S_3O_3$ 0,1N) respecto a la concentración de APA (%v/v), la cual permitió reconocer la tendencia altamente lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal que relacionara los dos factores mencionados.

Figura 26. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.



Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 (tabla 59). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 59. Prueba de normalidad para la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros

	Día de Evaluación	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Gotas de Tiosulfato de Sodio	1	0,985	6	0,974
	2	0,985	6	0,974
	3	0,985	6	0,974
	4	0,985	6	0,974
	5	0,985	6	0,974
Nivel de Concentración	1	0,986	6	0,976
	2	0,986	6	0,976
	3	0,986	6	0,976
	4	0,986	6	0,976
	5	0,986	6	0,976

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva, y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 60.

Tabla 60. Evaluación de la linealidad instrumental para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.

Parámetro	Símbolo	Valor
Coefficiente de Correlación	r	1,000
Pendiente	m	56,682
Intercepto	b	-0,015
Desviación Estándar de los interceptos	S _b	0,000
Desviación Estándar de las pendientes	S _m	0,000

De la tabla anterior, se puede concluir que se puede promediar el valor de las pendientes e interceptos, para obtener los respectivos valores de cada uno de ellos a partir de las curvas de calibración.

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente, teniendo como hipótesis nula: "No existe correlación entre y y x". Como se observa en la tabla 61, la prueba es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe una correlación altamente significativa entre el volumen de tiosulfato y el nivel de concentración, con un alto coeficiente de correlación (1,000) indicando la linealidad del rango de concentración. Además en dicha prueba se aprecia que el día de evaluación no tiene influencia sobre el nivel de concentración o el volumen de Na₂S₂O₃ (Sig. 1,000), indicando que existe alta reproducibilidad de los datos.

Tabla 61. Correlación de Pearson entre el número de gotas empleadas para la titulación de APA en Vortexx, los niveles de concentración, y los días de evaluación.

		Gotas de Tiosulfato de Sodio	Nivel de Concentración	Día de Evaluación
Gotas de Tiosulfato de Sodio	Correlación de Pearson	1	1,000(**)	,000
	Sig. (bilateral)	.	,000	1,000
	N	30	30	30
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	1,000(**)	1	,000
	Sig. (bilateral)	,000	.	1,000
	N	30	30	30
Día de Evaluación	Correlación de Pearson	,000	,000	1
	Sig. (bilateral)	1,000	1,000	.
	N	30	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto, las H_0 hacen referencia a que no son diferentes de cero cuando la sig. $< 0,05$. Como se observa en la tabla 62, la significancia para m y b son 0,000 y 0,012 respectivamente, por lo que se debe rechazar H_0 para ambos parámetros, y concluir que ambos son significativamente diferentes de cero. La ecuación de la recta es: $y = 56,682 x - 0,015$.

Tabla 62. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto de la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados Beta	t	Sig.
	B	Error típ.			
<i>b</i>	-0,015	0,006		-2,672	0,012
<i>m</i>	56,682	0,036	1,000	1580,148	0,000

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la tabla 63. La evaluación de la regresión, muestra que el valor Sig. es menor que 0,05, lo que conduce a rechazar la H_0 , es decir existe una relación lineal significativa entre y y x . También se puede observar que el valor del estadístico de contraste, F , es muy alto y por tanto, la predicción mediante el modelo lineal simple será altamente satisfactoria.

Tabla 63. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros

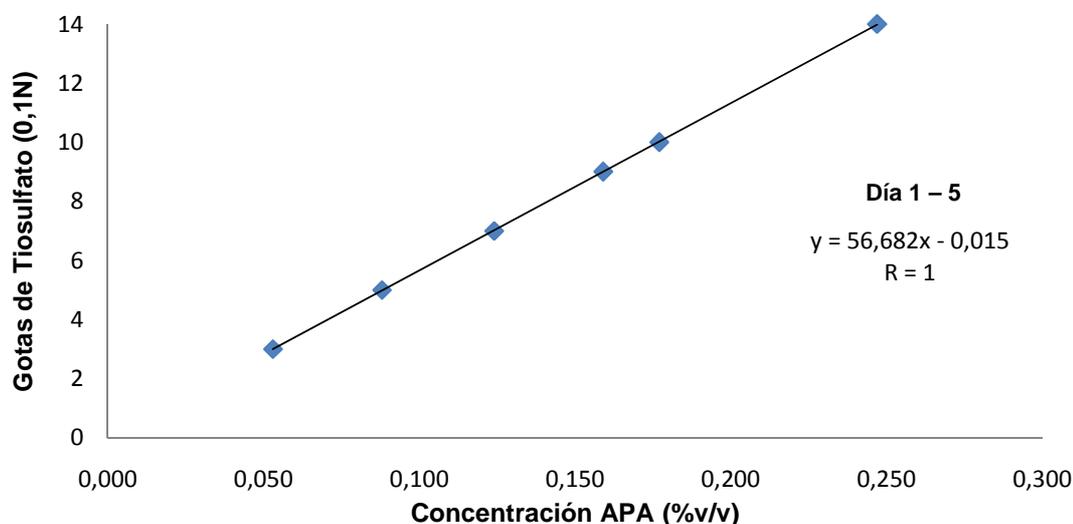
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	379,996	1	379,996	2496867,556	,000(a)
Residual	,004	28	,000		
Total	380,000	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración de APA (%v/v)

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad para Vortexx utilizando los goteros como instrumento de titulación y las modificaciones realizadas (disminución de volúmenes de $H_2S_2O_4$ y KI) permiten concluir que el método empleado es lineal y reproducible en el rango evaluado (0,053 – 0,247%v/v APA), con un alto coeficiente de correlación equivalente a 1,000.

6.5.2.2 Repetibilidad para valoración de APA en Vortexx, utilizando los goteros. La evaluación de repetibilidad, se realizó valorando cinco curvas de calibración con seis niveles de concentración, bajo condiciones de repetibilidad. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla B17, y las curvas de calibración asociadas, en la figura 27, a través de las cuales se observa la tendencia lineal de los datos. También se puede apreciar que esta metodología aporta resultados precisos, no dispersos, y con un alto nivel de confiabilidad.

Figura 27. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.



Utilizando el método de mínimos cuadrados, se calcularon las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma la pendiente y el intercepto para cada una de las curvas de calibración, pues se puede notar a partir de la gráfica, que la tendencia es altamente lineal.

La desviación estándar de los interceptos (S_{int}) y el promedio de las pendientes (m_{prom}) se utilizó para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), de acuerdo a las ecuaciones 21 y 22. Los resultados se muestran en la tabla 64.

Tabla 64. Límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para Vortexx utilizando los goteros.

	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	S_{int}	m_{prom}	LOD (%APA)	LOQ (%APA)
m	56,682	56,682	56,682	56,682	56,682	0,000	56,682	0,000	0,000
b	-0,015	-0,015	-0,015	-0,015	-0,015				

Debido a que los datos obtenidos tras realizar las cinco titulaciones de cada nivel de concentración (patrón), arrojó los mismos resultados, la desviación de los interceptos y pendientes, es cero. Como para el cálculo teórico del LOD y el LOQ, se utiliza la S_{int} , y esta es cero, sus valores son cero. Teniendo en cuenta que la mínima concentración permitida para el Vortex en el CIP es de 0,12%, se deduce que la metodología adoptada para determinar APA previa eliminación de la interferencia con Ce^{4+} es adecuada, precisa y confiable, en el rango evaluado (0,053 – 0,247%v/v APA).

La titulación de los patrones de concentración también los realizó una persona diferente con el fin de corroborar la reproducibilidad de los datos, al variar el analista. Los datos se muestran en la tabla B18, donde se puede advertir que los resultados no cambian. Sin embargo, con el fin de conocer si las medidas obtenidas difieren una de la otra, estas se evaluaron utilizando una prueba t de comparación de medias de muestras independientes (tabla 65), donde se comprueba la apreciación realizada, pues las significancias tanto de la prueba de Levene como la t , son 1,000, lo cual permite aceptar igualdad de varianzas y medias, por lo tanto, se puede concluir que la técnica es reproducible, no sólo en la variación de días como se demostró anteriormente, sino también con un analista diferente.

Tabla 65. Prueba t de comparación de medias: analista 1 vs analista 2

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias					
F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% IC para la diferencia	
						Inferior	Superior
0,000	1,000	0,000	10	1,000	0,00	-5,015	5,015

6.6 VALORACIÓN DE LOS SANITIZANTES PROVEÍDOS POR LA BOMBA DEL SISTEMA CIP.

Para evaluar la correcta dilución de los sanitizantes concentrados realizada por la bomba del sistema CIP, se tomaron cinco muestras del sanitizante a través del conducto externo del dispositivo, y se llevaron al laboratorio para su inmediato análisis (volumen de cada muestra: 250 mL). El contenido de APA en las muestras, se obtuvo al interpolar el volumen de tiosulfato de sodio gastado en la titulación sobre la curva de calibración correspondiente.

6.6.1 Valoración de las soluciones de Oxonia suministradas por la bomba CIP. En la tabla B19, se muestran los volúmenes de titulación ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N) para las soluciones de Oxonia proveídas por la bomba CIP, utilizando la bureta. A partir de estos datos, se originó la tabla 66, que muestra la concentración obtenida a partir del promedio de los volúmenes de tiosulfato utilizados en la titulación.

Tabla 66. Concentración de APA en Oxonia por día de evaluación (bureta).

Día	Concentración promedio (%APA)	S	CV (%)
1	0,213	0,000	0,000
2	0,038	0,000	0,000
3	0,301	0,000	0,000
4	0,292	0,020	6,695
5	0,117	0,020	16,687

El CV calculado es alto el quinto día de evaluación debido a que la desviación es muy pequeña respecto al promedio de la concentración, sin embargo, sólo 1 de 5 datos, varió. Esto sucedió también el día cuatro, y lo que llama la atención, es que en ambos días la primera muestra es la que presenta menor concentración, lo que indica que probablemente a la bomba CIP le toma un tiempo estabilizarse bajo ciertas condiciones.

Comparando las concentraciones halladas a través de las diluciones realizadas por la bomba CIP, con la establecida por la empresa (0,3%APA), se puede advertir que se están suministrando soluciones de concentración inferior a la esperada (tabla 67).

Tabla 67. Porcentaje de error de dilución de la bomba CIP.

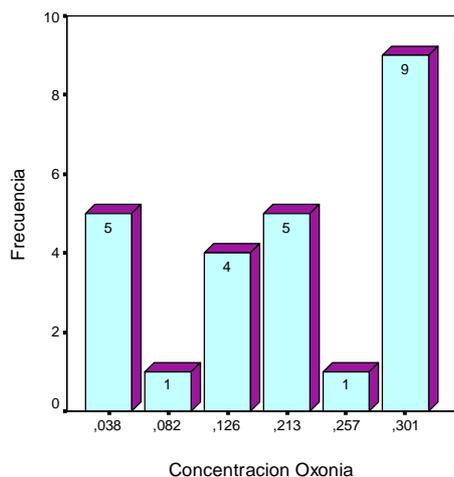
Día	Concentración Esperada (%APA)	Concentración Encontrada (%APA)	%Error de la bomba CIP
1		0,213	-28,90
2		0,038	-87,18
3	0,3	0,301	0,23
4		0,292	-2,68
5		0,117	-60,96

*El porcentaje de error de dilución de la bomba respecto a la concentración esperada (0,3%APA).

En la figura 28, se graficó la frecuencia de concentraciones alcanzadas durante los días evaluados. La solución de 0,3%APA sólo se obtuvo un 36% de los casos (9

de 25). Un sólo caso, fue cercano a la concentración mínima (0,257%APA), y los demás casos, 60%, estuvieron aún por debajo de la mínima aceptada. Esto es una situación a la cual se le debe prestar atención pues es de gran riesgo para la empresa, la producción y la salud del consumidor final, como se explicó con anterioridad.

Figura 28. Frecuencia de concentraciones de Oxonia del sistema CIP.



Con el propósito de comparar la concentración promedio y verificar la equivalencia en los resultados de titulación obtenida con el material volumétrico de vidrio (bureta) y el obtenido con los goteros, se realizó la titulación de las soluciones de Oxonia suministradas por la bomba CIP con los goteros (tabla B20). En la tabla 68, se aprecia la concentración de APA hallada a través del número de gotas de tiosulfato, y aplicando la ecuación de la recta establecida anteriormente: $y = 23,240x + 0,019$.

Tabla 68. Concentración de APA en Oxonia obtenido a través de la bomba CIP, por día de evaluación (goteros).

Día	Concentración promedio (%APA)	S	CV (%)
1	0,214	0,000	0,000
2	0,042	0,000	0,000
3	0,300	0,000	0,000
4	0,257	0,000	0,000
5	0,128	0,000	0,000

Se realizó la comparación de resultados de concentración de APA en Oxonia obtenidos utilizando los goteros y la bureta, mediante la prueba t de muestras relacionadas (tablas 69 y 70), encontrándose una correlación altamente significativa (sig=0.000). Además, se observa que no existe diferencia significativa entre los valores promedio de los datos obtenidos con gotero y bureta, deduciéndose que queda debidamente implementado el método de determinación de APA en Oxonia mediante la utilización de goteros.

Tabla 69. Correlaciones de concentraciones de APA en Oxonia, halladas utilizando la bureta vs goteros.

		N	Correlación	Sig.
Par 1	Concentración con bureta vs goteros	25	,985	,000

Tabla 70. Prueba de muestras relacionadas: concentración hallada utilizando la bureta vs goteros, en Oxonia.

		Diferencias relacionadas				t	gl	Sig. (bilateral)
		Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Par 1	Concentración con bureta vs goteros	,019768	,003954	-,00434	,01198	,965	24	,344

Por otra parte, la prueba de ANOVA que compara concentración de APA en Oxonia, obtenida con los goteros y con bureta para las diferentes muestras en los diferentes días (tabla 71), muestra que existe diferencia significativa entre ellos.

Tabla 71. ANOVA de un factor para comparación de la concentración de APA en Oxonia en diferentes muestras, utilizando la bureta y los goteros.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración con goteros	Inter-grupos	,215	4	,054	3,30X10 ³³	,000
	Intra-grupos	,000	20	,000		
	Total	,215	24			
Concentración con bureta	Inter-grupos	,257	4	,064	420,750	,000
	Intra-grupos	,003	20	,000		
	Total	,260	24			

Con el fin de conocer en cuáles días o muestras son diferentes los valores de concentración determinada usando goteros y bureta, se aplicó la prueba de Duncan (tabla 72 y 73)

Tabla 72. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando los goteros.

Número de muestra	N(a)	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
2	5	,0429				
5	5		,128			
1	5			,214		
4	5				,257	
3	5					,300
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a: Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

La prueba de Duncan para la concentración de APA en Oxonia determinada con gotero, muestra la versatilidad de las concentraciones halladas utilizando dicho instrumento, ya que todas las muestras difieren significativamente en su concentración siendo la muestra 3, significativamente superior a las demás, y la muestra 2, significativamente inferior a las demás.

Tabla 73. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando la bureta

Número de muestra	N(a)	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
2	5	,0385			
5	5		,117		
1	5			,213	
4	5				,292
3	5				,301
Sig.		1,000	1,000	1,000	,277

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a: Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

La prueba de Duncan para la concentración de APA en Oxonia determinada con bureta, muestra que existe diferencia significativa entre las muestras 2, 3, 5 y 1, de igual forma como lo hace el gotero, confirmando que el gotero sí está detectando dichas diferencias de igual manera como lo hace la bureta. Sin embargo, entre las

concentraciones determinadas en las muestras 3 y 4 con la bureta, no existe diferencia significativa. Estos resultados permiten deducir que para concentraciones <0,30% APA en Oxonia, sí se puede adoptar el gotero como sistema de medida, pero para concentraciones $\leq 0,30\%$ a este valor, empiezan a presentarse diferencias. Esto se puede atribuir a que la eliminación de PH con sulfato de cerio, consume un volumen elevado del reactivo, haciendo que probablemente se afecte la determinación de APA con tiosulfato de sodio.

6.6.2 Valoración de las soluciones de Vortexx suministradas por la bomba CIP. En la tabla B22, se muestran los volúmenes de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N, utilizados en la titulación de soluciones de Vortexx proveídas por la bomba CIP. A través de esta, se creó la tabla 74, donde se muestra la concentración de APA obtenida a partir del promedio de los volúmenes de tiosulfato utilizados en la titulación. El CV calculado es alto el primer día de evaluación debido a que la concentración es muy baja indicando que para este sanitizante no es aconsejable determinar concentraciones inferiores a 0,053% porque tendría alta imprecisión. En los demás días, no se tuvo este mismo inconveniente, porque las concentraciones no fueron tan bajas, demostrando que no se está suministrando el sanitizante en forma homogénea en días diferentes.

Tabla 74. Concentración de APA en Vortexx por día de evaluación (bureta).

Día	Concentración promedio (%APA)	S	CV (%)
1	0,039	0,008	20,291
2	0,124	0,000	0,000
3	0,071	0,000	0,000
4	0,053	0,000	0,000
5	0,124	0,000	0,000

Comparando las concentraciones halladas a través de las diluciones realizadas por la bomba CIP, con la establecida por la empresa (0,12%APA), se puede notar que se están suministrando soluciones de concentración inferior a la esperada (tabla 75).

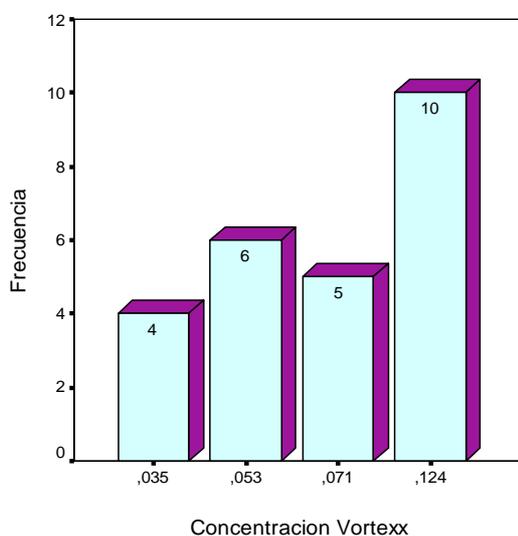
En la figura 29, se graficó la frecuencia de concentraciones alcanzadas durante los días evaluados. La solución de 0,12%APA sólo se obtuvo un 40% de los casos, fue alcanzada. Los demás casos, 60%, estuvieron aún por debajo de la mínima aceptada. Esto es una situación a la cual se le debe prestar atención pues es de gran riesgo para la empresa, la producción y la salud del consumidor final, como se explicó con anterioridad.

Tabla 75. Porcentaje de error de dilución de la bomba CIP, en soluciones de Vortexx.

Día	Concentración Esperada (%APA)	Concentración Encontrada (%APA)	%Error de la bomba
1		0,039	-67,57
2		0,124	3,05
3	0,12	0,071	-41,09
4		0,053	-55,80
5		0,124	3,05

*El porcentaje de error de dilución de la bomba respecto a la concentración esperada (0,12%APA).

Figura 29. Frecuencia de concentraciones de Vortexx del sistema CIP.



Con el fin de comparar la concentración promedio y verificar la equivalencia entre los resultados de titulación obtenida con el material volumétrico de vidrio (bureta) y el obtenido con los goteros, se realizó la titulación de las soluciones de Vortexx proveídas por la bomba CIP con los goteros (tabla B22), hallando una concentración de APA a través de la ecuación de la recta establecida para este sanitizante: $y = 56,682 x - 0,015$ (tabla 76).

Se realizó la comparación de resultados de concentración de APA en Vortexx obtenidos utilizando los goteros y la bureta, mediante la prueba *t* de muestras relacionadas (tablas 77 y 78), encontrándose que existe una correlación altamente significativa, y que no existe diferencia significativa entre los valores promedio de los datos obtenidos con gotero y bureta (tabla 78) pues su Sig.=0,425, deduciéndose que queda debidamente implementado el método de determinación de APA en Vortexx mediante la utilización de goteros.

Tabla 76. Concentración de APA en Vortexx obtenido a través de la bomba CIP, por día de evaluación (goteros).

Día	Concentración promedio (%APA)	S	CV (%)
1	0,036	0,000	0,000
2	0,124	0,000	0,000
3	0,071	0,000	0,000
4	0,053	0,000	0,000
5	0,124	0,000	0,000

Tabla 77. Correlaciones de concentraciones de APA en Vortexx, halladas utilizando la bureta vs goteros.

	N	Correlación	Sig.
Par 1 Concentración con bureta vs goteros	25	,996	,000

Tabla 78. Prueba de muestras relacionadas: concentración hallada utilizando la bureta vs goteros, en Vortexx.

		Diferencias relacionadas				t	gl	Sig. (bilateral)
		Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Par 1	Concentración con bureta vs goteros	,003524	,000705	-,00088	,00203	,812	24	,425

En la tabla 79, se muestran los resultados de la prueba de ANOVA que compara concentración de APA en Vortexx, obtenida con los goteros y con bureta para las diferentes muestras en los diferentes días. Se puede apreciar que existe diferencia significativa en días diferentes.

Tabla 79. ANOVA de un factor para comparación de la concentración de APA en Vortexx en diferentes muestras, utilizando la bureta y los goteros.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración con goteros	Inter-grupos	,031	4	,008	631,000	,000
	Intra-grupos	,000	20	,000		
	Total	,032	24			
Concentración con bureta	Inter-grupos	,033	4	,008	3,15X10 ³³	,000
	Intra-grupos	,000	20	,000		
	Total	,033	24			

Para conocer en qué días o muestras son diferentes los valores de concentración determinada usando goteros y bureta, se aplicó la prueba de Duncan (tabla 80 y 81).

Tabla 80. Prueba de Duncan para concentración de APA en Vortexx en diferentes días y muestras, utilizando los goteros.

Número de muestra	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
1	5	,036			
4	5		,053		
3	5			,071	
2	5				,124
5	5				,124
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Tabla 81. Prueba de Duncan para concentración de APA en Oxonia en diferentes días y muestras, utilizando la bureta

Número de muestra	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
1	5	,039			
4	5		,053		
3	5			,071	
2	5				,124
5	5				,124
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

La prueba de Duncan para la concentración de APA en Vortexx determinada utilizando los goteros, muestra la versatilidad de las concentraciones halladas con dicho instrumento, ya que sólo las muestras del día 2 y 5, fueron iguales (comportamiento ideal de la bomba CIP) y de concentración significativamente superiores a las demás; mientras que las demás presentaron concentraciones por debajo de la especificada (0,12%v/v APA), siendo la correspondiente a la muestra del día 1, menor a las demás.

La concentración de APA en Vortexx determinada con bureta, y evaluada con la prueba de Duncan, muestra que existe diferencia significativa en entre las muestras 1, 4, 3 y 2, orden de concentración creciente, del mismo modo como lo hace el gotero, confirmando este último sí está detectando dichas diferencias de

igual manera como lo hace la bureta. Con la bureta, al igual que con los goteros, tampoco se detectó diferencia significativa entre las muestras del día 2 y 5, confirmando el resultado de la prueba t (tabla 78).

Además, permiten afirmar que la adaptación a los goteros es satisfactoria, siempre y cuando el nivel de PH no supere el 0,247%, pues la cantidad de sulfato de cerio adicionado, probablemente puede afectar la determinación de APA.

6.7 ESTABLECIMIENTO DE UN FACTOR PARA RELACIONAR DIRECTAMENTE EL NÚMERO DE GOTAS Y LA CONCENTRACIÓN DE APA.

Sabiendo que la diferencia de concentración hallada utilizando el la bureta y los goteros no es significativa, se propuso facilitar aún más el modo de relacionar el número de gotas con el porcentaje de APA en la solución, incorporando un factor o constante que permitiera obtener directamente el resultado buscado sin necesidad de aplicar la ecuación de la recta, pues puede prestarse para errores en el cálculo.

✓ **Tablas de concentración para Oxonia utilizando los goteros.** Teniendo en cuenta la ecuación de la recta, $y = 23,240x + 0,019$, obtenida a través de la curva de calibración, se puede crear la tabla 82, la cual muestra que el porcentaje de error en la determinación de APA, generado al aplicar el factor propuesto, no perjudica considerablemente la exactitud del método.

Tabla 82. Relación del número de gotas de tiosulfato de sodio 0,1 N vs concentración de APA en Oxonia.

Número de Gotas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Concentración de APA (%v/v)			% Error*
	Curva	Relación	Diferencia	
1	0,0422	0,0431	0,0009	2,250
2	0,0852	0,0863	0,0011	1,248
3	0,1283	0,1294	0,0012	0,918
4	0,1713	0,1726	0,0013	0,754
5	0,2143	0,2157	0,0014	0,656
6	0,2573	0,2589	0,0015	0,591
7	0,3004	0,3020	0,0016	0,544
8	0,3434	0,3451	0,0017	0,509
9	0,3864	0,3883	0,0019	0,482
10	0,4295	0,4314	0,0020	0,460

*El porcentaje de error (%Error) toma el valor hallado a través de la curva como el "valor aceptado".

La concentración denominada “curva”, es la obtenida gracias a la ecuación de la recta, mientras que la llamada “relación”, indica una proporción que los operarios de la planta pueden utilizar con mayor facilidad, y está basada en una sencilla regla de tres:

0,302 % → 7 gotas
 →# gotas

Es decir, si una concentración del 0,302% necesita 7 gotas para alcanzar su punto final, ¿x gotas, a qué concentración corresponde?

$$\text{Factor} = \frac{0,302\%}{7 \text{ gotas}} = 0,04314$$

Lo cual conlleva a un factor que relaciona directamente una constante con la cantidad de gotas utilizadas en la titulación, sin sumas, restas o multiplicaciones adicionales, sin alterar considerablemente el resultado final.

✓ **Tablas de concentración para Vortexx utilizando los goteros.** Teniendo en cuenta la ecuación de la recta: $y = 56,682 x - 0,015$, obtenida a través de la curva de calibración, se puede crear la tabla 83, la cual muestra que el porcentaje de error en la determinación de APA, generado al aplicar el factor propuesto, no perjudica considerablemente la exactitud del método.

Tabla 83. Relación del número de gotas de tiosulfato de sodio 0,1 N vs concentración de APA en Vortexx.

Número de Gotas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Concentración de APA (%v/v)			% Error*
	Curva	Relación	Diferencia	
1	0,0179	0,0177	0,0002	-1,0757
2	0,0355	0,0354	0,0001	-0,3393
3	0,0532	0,0531	0,0000	-0,0914
4	0,0708	0,0709	0,0000	0,0330
5	0,0885	0,0886	-0,0001	0,1078
6	0,1061	0,1063	-0,0002	0,1577
7	0,1238	0,1240	-0,0002	0,1934
8	0,1414	0,1417	-0,0003	0,2202
9	0,1590	0,1594	-0,0004	0,2410
10	0,1767	0,1771	-0,0005	0,2577

*El porcentaje de error (%Error) toma el valor hallado a través de la curva como el “valor aceptado”.

La concentración denominada “curva”, es la obtenida gracias a la ecuación de la recta, mientras que la llamada “relación”, indica una proporción que los operarios de la planta pueden utilizar con mayor facilidad, y está basada en una sencilla regla de tres:

0,124 % → 7 gotas
 → # gotas

Es decir, si una concentración del 0,124% necesita 7 gotas para alcanzar su punto final, ¿x gotas, a qué concentración corresponde?

$$Factor = \frac{0,124\%}{7 \text{ gotas}} = 0,01771$$

Lo cual conlleva a un factor que relaciona directamente una constante con la cantidad de gotas utilizadas en la titulación, sin sumas, restas o multiplicaciones adicionales, sin alterar considerablemente el resultado final.

6.8 PROCEDIMIENTO DE TITULACION DE OXONIA Y VORTEX UTILIZANDO LOS GOTEROS.

Teniendo en cuenta la reducción de volúmenes de los reactivos evaluada anteriormente, los factores hallados, el procedimiento de titulación utilizando el kit de goteros fue establecido del siguiente modo (tabla 84):

Tabla 84. Relación de reactivos y cantidad a utilizar para la titulación de soluciones sanitizantes del sistema CIP.

Reactivo o sustancia	Cantidad
Muestra	10 mL
H ₂ SO ₄	20 gotas
Ferroína	3 gotas
Ce(SO ₄) ₂ 0,1 N	Necesaria
KI 10%	20-30gotas
Almidón	3 gotas
Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N	Necesaria

La cantidad de gotas para el KI, se deja indicada como “20-30”, para evitar algún inconveniente por escasez de reactivo adicionado, ya que la determinación de APA depende directamente de la cantidad de yodo generado en la reacción, como

se señaló con anterioridad. Las veinte gotas, se sugieren debido a que esta es la cantidad necesaria para alcanzar 1 mL del reactivo, sin embargo se aconsejan, treinta gotas, debido al estudio realizado Kojima, *et. al.* (2010), en el cual reporta que la cantidad de KI adicionada debe estar entre 2-60 veces la cantidad de APA en la muestra, la cual se alcanzaría con 1,4-1,5 mL de KI al 10%, es decir 28-30 gotas.

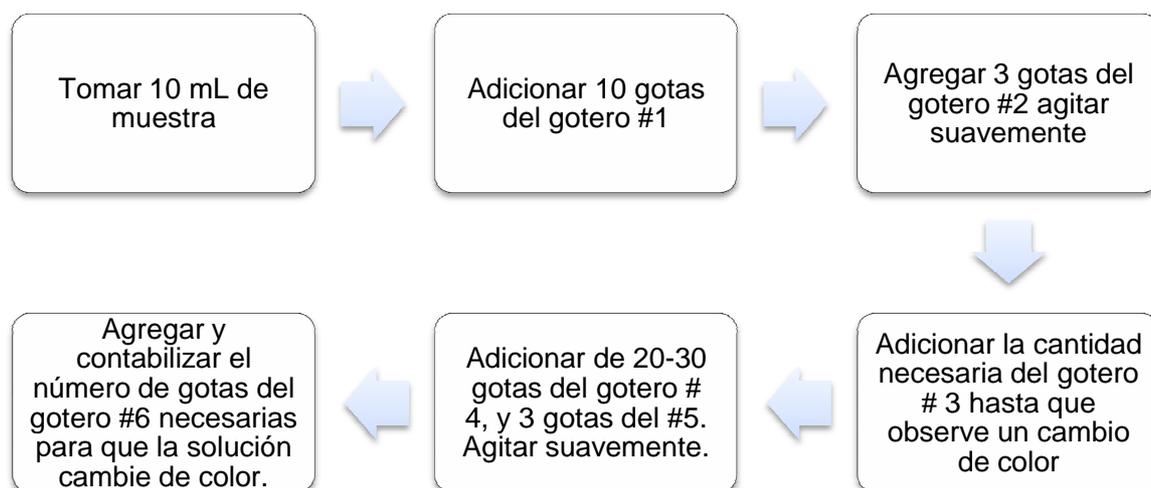
Con fines estratégicos, se decidió ennumerar los goteros para evitar que los operarios sufran alguna confusión con los nombres de los reactivos (tabla 85).

Tabla 85. Numeración de reactivos para realizar la titulación de los sanitizantes CIP.

Reactivo o sustancia	Número de gotero
H ₂ SO ₄	1
Ferroína	2
Ce(SO ₄) ₂ 0,1 N	3
KI 10%	4
Almidón	5
Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N	6

Es decir, el modo de la titulación será como se muestra a continuación en el diagrama de flujo de procedimiento para la titulación con goteros (figura 30)

Figura 30. Diagrama de flujo del procedimiento de titulación de soluciones sanitizantes para sistema CIP, con los goteros.



Además se elaboró la figura 31 para mostrar con mayor facilidad (visual) cómo realizar la titulación. Se aclara que la agitación será suave, es decir, lo suficiente para que los reactivos se combinen (mezclen).

Figura 31. Titulación de APA en soluciones diluidas de Oxonia y Vortexx.



Posteriormente, se señala el modo en el que se calcula la concentración, utilizando la relación o factor hallado para cada sanitizante, es decir: 0,04314 para Oxonia, y 0,01771 para Vortexx.

$$\text{Concentración Oxonia} = 0,04314 \times \text{número de gotas gastadas} \quad \text{Ecuación 31}$$

$$\text{Concentración Vortexx} = 0,01771 \times \text{número de gotas gastadas} \quad \text{Ecuación 32}$$

7. CONCLUSIONES

Se logró implementar y estandarizar las tres metodologías volumétricas propuestas para determinar APA en Oxonia y Vortexx en un rango de 0,174 – 0,563%v/v y 0,053 – 0,247%v/v, respectivamente. La correspondiente al permanganato de potasio, fue precisa con una desviación estándar máxima de 0,0224, exacta con un CV máximo de 3,494%, y lineal con un coeficiente de correlación de 0,999. Los LOD de APA para Oxonia y Vortexx, son: 0,0282 y $6,634 \times 10^{-5}$ % v/v, respectivamente, mientras que los LOQ corresponden a 0,0939 y $2,211 \times 10^{-4}$ %v/v.

La metodología volumétrica del sulfato de cerio (IV), fue precisa con una desviación estándar de 0,000, exacta con un CV de 0,000%, y lineal con un coeficiente de correlación de 0,999. Los LOD y LOQ de APA para Oxonia y Vortexx, son cero teóricamente, pero se debe considerar una incertidumbre de $\pm 0,004$ %APA proporcionada por la bureta.

La metodología volumétrica del molibdato de amonio, fue precisa con una desviación estándar máxima de 0,0224, exacta con un CV máximo de 3,241% para Oxonia y 3,022% para Vortexx; lineal, con un coeficiente de correlación de 0,997 y 0,998, y LOD de 0,025 y 0,010 % v/v, respectivamente, mientras que los LOQ corresponden a 0,084 y 0,0345%v/v. Sin embargo, para aplicar esta técnica, se debe cambiar el POE existente en la empresa, donde se especifique el tiempo de espera de quince minutos, posterior a la adición del MA.

Utilizando los goteros, se logró implementar y estandarizar la metodología del sulfato de cerio (IV), para determinar APA en Oxonia y Vortexx, en un rango de 0,174 – 0,563%v/v y 0,053 – 0,247%v/v, respectivamente. Siendo precisa con una desviación estándar de 0,000, exacta con un CV de 0,000%, y lineal con un coeficiente de correlación de 0,998 y 1,000 respectivamente. Los LOD y LOQ de APA para Oxonia son 0,0273 y 0,091%v/v respectivamente. Para Vortexx, son cero teóricamente.

Para el kit de goteros, sólo se implementó la metodología del sulfato de cerio, debido a que es más precisa (menor S) y exacta (mejor precisión intermedia y reproducibilidad que la del KMnO_4) que las otras dos; además el titulante es más estable que el KMnO_4 .

La comparación de resultados de concentración de APA en Oxonia obtenidos utilizando los goteros y la bureta, demuestra que no existe diferencia significativa en concentraciones inferiores a 0,3%v/v APA. Con el Vortexx, se encontró una correlación altamente significativa, entre los datos obtenidos con gotero y bureta, deduciéndose que queda debidamente implementado el método de determinación

de APA en Vortexx mediante la utilización de goteros, en el rango de concentración evaluado (0,053 – 0,247%v/v APA)

Los factores de conversión de número de gotas a concentración de APA, establecidos para su valoración en las soluciones sanitizantes, utilizando los goteros, son: 0,04314 para Oxonia y 0,0177 para Vortexx.

La bomba CIP, no está suministrando soluciones de concentración homogénea a través de los días, y tampoco de la concentración establecida (0,3% APA en Oxonia y 0,12%APA en Vortexx), implicando un alto riesgo para la empresa, la producción y la salud del consumidor final. Se recomienda realizar una revisión y calibración de las bombas del sistema CIP con el propósito de normalizar el flujo sanitizante-agua, y de este modo, alcanzar la concentración requerida para cada agente.

El POE correspondiente a la titulación de APA en las soluciones sanitizantes utilizando los goteros, queda debidamente elaborado y se encuentra en una ficha resumen laminada que es aplicada diariamente por los operarios como se muestra en el Anexo E.

BIBLIOGRAFÍA

ALKYD CHEMICAL S.A. *Eligiendo el adecuado sanitizante o desinfectante.* [En línea] [s.l.], citado el: 24 de Mayo de 2011. Disponible en Internet: <www.alkyd.com.ar/pdf/2_.pdf>

ALONSO, Ana Sofía; CAICEDO, Patricia; HIDALGO; Heidy; MOJICA, Beatriz; RODRIGUEZ, Carolina; RODRIGUEZ, María Eugenia. *Uso de Desinfectantes: Guías para la prevención, control y vigilancia epidemiológica de infecciones intrahospitalarias.* Bogotá : Secretaría Distrital de Salud, 2008. p. 8-24.

AYRES, Gilberth. *Análisis Químico Cuantitativo.* 2 ed. Madrid : Ediciones del Castillo, 1970. p. 279-488.

AZANZA, Patricia. *Hydrogen Peroxide, Peroxyacetic Acid, Octanoic Acid, Peroxyoctanoic Acid, and 1-Hydroxyethylidene-1,1-Diphosphonic Acid (HEDP) as Components of Antimicrobial Washing Solution.* En: Chemical and Technical Assessment. 63avo reporte de la JECFA, FAO. 2004.

BLAKISTONE, Barbara; ROLEND, Chuyate; DONALD, Kautter; CHARBONNEAU, James; y SUIT, Karen. *Efficacy of Oxonia Active Against Selected Spore Formers.* *National Food Processors Association, Washington, DC.* En: Journal of Food Prot. 1999. Vol. 62, no 3. p: 262-267.

BRAND. *Aparatos Volumétricos y Picnómetros. Instrucciones de Calibrado.* Wertheim : [s.n]., 2011. 15 p.

BUSCHMANN, Wayne, y DEL NEGRO, Andrew. *Method of Preparation and Composition of Antimicrobial Ice.* Estados Unidos, Patente no. 2009/0175956 A1. 9 de Julio de 2009.

BYLUND, Gösta. *Dairy Processing Handbook.* 2 ed. Suecia : International Dairy Books, 2003. p. 1-64, 204, 403-414.

CASTELLANOS, Liliana; VILLAMIL, Luis; y ROMERO, Jaime. *Incorporación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la legislación alimentaria.* En: Revista de Salud pública, 2004. Vol. 6, no. 3. p. 289-301.

CENTRO DE RECURSOS DOCENTES, UAB. *Limpieza, desinfección y esterilización. Antisépticos y desinfectantes.* [En línea] [s.l.], citado el: 22 de Julio de 2011. Disponible en Internet: <clon.uab.es/recursos/descargar.asp?clau='000 0001163'>

COLOMBIA: MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. *Decreto 616 de 2006.*

____. *Resolución 2827 de 2006.*

CONNORS, Kenneth. *Curso de Análisis Farmacéutico* . 2 ed. España : Reverté S.A., 1981.

COPENHAFER, William, NICHOLSON III, Charles; y PFEFFER, Henry. *Dilute Stabilized Peracetic Acid Production and Treatment Process.* [s.l.], Patente Internacional no. WO 2009/023492 A2. PCT/US2008/072341. 19 de Febrero de 2009.

CURTMAN, Luis. *Análisis Químico Cualitativo.* [s.l.] : Manuel Marrin y Compañía, 1985. p. 396.

ECOLAB. Advice Summary. Application for Registration of a Chemical Product. Application number: 36985, Australian Government. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA). [En línea], [s.l.], 2010. Citado el: 25 de 08 de 2011, Disponible en Internet:<http://www.apvma.gov.au/advice_summaries/36985.pdf>

____. Boletín Técnico no.:5. [s.l.]: Departamento Técnico Comercial. Octubre 2011.

____. *Hoja de Datos de Seguridad del Material, Oxonia Active.* [s.l.]: [s.n.], 19 de Octubre de 2009.

____. *Hoja de Datos de Seguridad del Material, Vortexx ES.* [s.l.]: [s.n.], 2009.

____. Vortexx. [En línea]. [s.l.], citado el: 18 de Julio de 2011. Disponible en Internet: <<http://www.ecolab.com/Initiatives/FoodSafety/AST/Images/26618-3%20Vortexx%20CS%20FRONT.pdf>>

ESTADOS UNIDOS: Código de Regulaciones Federales (CFR). *TITULO 21 - Food And Drugs, CAPÍTULO I - Food and Drug Administration, SUBCAPITULO B - Food for Human Consumption, PARTE 178 - Indirect Food Additives: Adjuvants, Production Aids, and Sanitizers, SUBPARTE B - Substances Utilized to Control the Growth of M.* 2011. p. 1-12.

FAO y Ministerio de Sanidad y Consumo de España. Capítulo 2: Código Internacional Recomendado de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los Alimentos. *Sistemas de Calidad e Inocuidad de los Alimentos. Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC)*. 2002.

FAO. Código de Prácticas de Higiene para la Leche y los Productos Lácteos, CAC/RCP 57-2004. [En línea], [s.l.], citado el 16 de Julio de 2011. Disponible en Internet: <www.rlc.fao.org/es/ganaderia/pdf/CXC_057.pdf>

FAO/OMS. *Garantía de la Inocuidad y Calidad de los Alimentos: Directrices para el Fortalecimiento de los Sistemas Nacionales de Control de los Alimentos*. Roma : [s.n.], 2003. ISBN 92-5-304918-9.

HARVEY, David. *Modern Analytical Chemistry*. Estados Unidos de América : Mc Graw – Hill, 2000. p. 331 – 350.

HIDALGO, Heidy. *Políticas para la selección y uso de antisépticos y desinfectantes*. Clínica J.N. Corpas. [s.l.] : [s.n.], 2002.

HOWARTH, Jonathan y HARVEY, Michael. *Method of Analyzing Low Levels of Peroxyacetic Acid in Water*. Estados Unidos, patente no. 11/015577. 26 de Enero de 2010.

JECFA. 1973. *Seventeenth report of JECFA*. [s.l.] : WHO Technical Report Series, 1973. no. 539.

KITIS, Mehmet. *Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review*. En : Journal Environment International , 2004. Vol. 30. p. 47– 55.

KOIVUNEN, J., HEINONEN-TANSKI, H. *Peracetic Acid (PAA) Disinfection of Primary, Secondary and Tertiary Treated Municipal Wastewaters*. En: Journal of Water Research, 2005. Vol. 39. p. 4445 - 4453.

KOJIMA, Sachiko; FURUTA, Taro; KASAI, Toshio; CHE, Dock-Chil. *Method for Measuring Concentration of Peroxycarboxylic Acid and Apparatus Therefor*. Estados Unidos, Patente no. 20100136705. 2010.

KOLTHOFF, Izaak. *Analytical Chemistry*. [s.l.] : [s.n.], 1980. p. 60-400.

LOKKESMOE, Keith. *Process for inhibition of microbial growth in aqueous food transport or process streams.* Estados Unidos, patente no. 5674538. 7 de Octubre de 1997.

McDONNELL, Gerald y RUSELL, Denver. *Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance.* En: Rev. Clinical Microbiology, 1999. Vol. 12. p. 147-179.

MELENDEZ, Pilar. Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria Láctea. [En línea] Universidad Nacional, Bogotá, citado el: 17 de Agosto de 2011. Disponible en Internet: <http://www.cundinamarca.gov.co/cundinamarca/archivos/FILE_EVENTOSENTI/FILE_EVENTOSENTI11532.pdf>

MERCK. Acido Peracetico - Prositane. [En línea], [s.l.], 2011. Citado el: 29 de Agosto de 2011. Disponible en Internet: <http://www.merck-chemicals.com/tiras-de-ensayo-merckoquant/spanish/c_29.b.s1LRy4AAAEWI.lfVhT>

MIDDLETON, A.; CHADWICK, M.; GAYA, H. *Disinfection of Bronchoscopes, Contaminated in Vitro with Mycobacterium Tuberculosis, Mycobacterium Avium-Intracellulare and Mycobacterium Chelonae in Sputum, Using Stabilized, Buffered Peracetic Acid Solution ('Nu-Cidex').* En: Journal of Hospital Intection, 1997. Vol. 37. p. 137-143.

MILLER, James y MILLER, Jane. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica.* 4 ed. España : Prentice Hall, 2000. p. 40-61, 123.

PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS, SCIENTIFIC OPINION OF THE. *Assessment of the Possible Effect of the Four Antimicrobial Treatment Substances on the Emergence of Antimicrobial Resistance. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards.* En: The EFSA Journal, 2008. Vol. 659. p. 1-26.

PEREZ, Joaquín. *Oxidación Catalítica de los Sulfocianuros por el Peróxido de Hidrógeno.* [s.l.] : Edición del Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia, 1954. Vol. 19. p. 96 – 185. ISSN: 0365 – 7973.

PICKERING, W. *Química Analítica Moderna.* [s.l.] : Reverté S.A., 1980.

ROVISON, John y HUANG, Shurong, y PFEFFER, Henry. *Peracetic Acid Oil-Field Biocide and Method,* [s.l.], patente internacional no.: WO 2010/080274 A2. 15 de Julio de 2010.

RUTALA, William. *Directrices de la APIC para la selección y uso de desinfectantes.* [s.l.] : [s.n.], 1996.

SABAENA, Gabriela. *Producción Láctea.* [s.l.] : [s.n.], 2009. p. 3-20.

SARAN, Arthur y CHAFFER, Marcelo. *Mastitis y Calidad de la Leche.* Buenos Aires : Intermédica, 2000. p. 14-16.

SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). *Resolución 233/98, Anexos 1 y 2.* [s.l.] : Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, 1998.

SHULTZ, Jennifer. *Sporicidal Hand Sanitizing Lotion.* Estados Unidos, Patente Internacional no.: WO 2010/080438 A2. 15 de Julio de 2010.

SILVA, Juan, HERNÁNDEZ, Carmen y BRADY, Pamela. *Temas de Garantía de la Calidad y la Seguridad Alimenticia, Módulo 1: Garantía de Calidad y Seguridad.* [En línea], Universidad de Maryland, Maryland, 2002. Citado el: 17 de Agosto de 2011. Disponible en Internet: < www.alkyd.com.ar/pdf/10_.pdf>

SKOOG, Douglas, HOLLER, James y NIEMAN, Timothi. *Fundamentos de Química Analítica.* 8 ed. México : Thomson, 2005. p. 78-94; 572-582.

SOLVAY S.A. *Acido Peracetico.* [En línea], [s.l.]. Citado el: 18 de Junio de 2011. Disponible en Internet: <<http://www.solvaytorrelavega.com/quehacemos/acidoperacetico/0,,34553-10-0,00.htm>>

SPX Corporation. *SPX Flow Technology. CIP and sanititation of process plant.* [s.l.] : [s.n.], 2010.

TAMANAI-SHACOORI, Zohreh; JOLIVET-GOUGEONA, Anne; MÉNARDB, Christian; BONNAURE-MALLETA, Martine; CORMIERA, Michel. *Peracetic Acid Stress-Induced Genetic Rearrangements in Escherichia Coli H10407 Detected by RAPD and RFLP Analyses.* En: Journal of Microbiological Research, 2006. Vol. 161, p. 164-168.

TESKE, Gunter. *Process for the Quantitative Determination of Electrochemically Reducible or Oxidizable Substances, Particularly Peracetic Acid Mixed with other Oxidizin Substances.* Estados Unidos, patente no.: 5503720. 2 de Abril de 1996.

WAGNER, Monica, BRUMELIS, Daina y GEHR, Ronald. *Disinfection of Wastewater by Hydrogen Peroxide or Peracetic Acid: Development of Procedures for Measurement of Residual Disinfectant and Application to a Physicochemically Treated Municipal Effluent.* En: Water Environment Research, 2002. Vol. 74. p. 33-50.

ZHAO, Xuebing; CHENG, Keke; HAO, Junbin; LUI, Dehua. *Preparation of Peracetic Acid from Hydrogen Peroxide, Part II: Kinetics for Spontaneous Decomposition of Peracetic Acid in the Liquid Phase.* En: Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2008. Vol. 284. p. 58-68.

ZUMBADO, Hector. *Análisis Químico de los Alimentos. Métodos Clásicos.* Cuba : Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana, 2002. p. 259-261.

ANEXO A: Estandarización de Reactivos

Tabla A1. Estandarización de Tiosulfato de Sodio 0,1N

Rep	K ₂ Cr ₂ O ₇ (g)	Na ₂ S ₂ O ₃ (mL)	Na ₂ S ₂ O ₃ (N)
1	0,0502	10,20	0,10038
2	0,0500	10,20	0,09998
3	0,0513	10,40	0,10061
4	0,0504	10,20	0,10078
5	0,0501	10,20	0,10018
		Promedio	0,10038
		S	0,0003
		CV	0,3194

Tabla A2. Estandarización de Permanganato de potasio 0,1N

Rep	Na ₂ C ₂ O ₄ (g)	KMnO ₄ (mL)	KMnO ₄ (N)
1	0,0505	7,55	0,09982
2	0,0507	7,60	0,09956
3	0,0502	7,50	0,09989
4	0,0504	7,55	0,09963
5	0,0509	7,55	0,10062
		Promedio	0,09990
		S	0,0004
		CV	0,4208

Tabla A3. Estandarización de Sulfato de Cerio (IV) 0,1N

Rep	Na ₂ C ₂ O ₄ (g)	Ce ⁴⁺ (mL)	Ce ⁴⁺ (N)
1	0,0507	7,55	0,10022
2	0,0511	7,60	0,10035
3	0,0507	7,50	0,10089
4	0,0508	7,55	0,10042
5	0,0505	7,55	0,09982
		Promedio	0,10034
		S	0,0004
		CV	0,3816

ANEXO B: RESULTADOS DE VALORACIONES DE SANITIZANTES

Tabla B1. Curvas de calibración para APA en Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
6	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65

Tabla B2. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) de Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
6	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65

Tabla B3. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del molibdato de amonio, bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
4	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
5	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
6	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70

Tabla B4. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
6	0,65	0,65	0,65	0,60	0,65

Tabla B5. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
6	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65

Tabla B6. Curvas de calibración para Oxonia mediante la metodología del Molibdato de amonio, bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
4	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
5	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
6	0,70	0,70	0,70	0,70	0,65

Tabla B7. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,70	0,75	0,70	0,70	0,70

Tabla B8. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70

Tabla B9. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del MA, bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75

Tabla B10. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del KMnO_4 , bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,20	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70

Tabla B11. Curvas de calibración para determinación de APA en Vortexx mediante la metodología del Ce^{4+} , bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70

Tabla B 12. Curvas de calibración para Vortexx mediante la metodología del Molibdato de amonio, bajo condiciones de repetibilidad.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
2	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
5	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
6	0,75	0,70	0,70	0,70	0,70

Tabla B13. Curvas de calibración de APA en Oxonia utilizando los goteros, bajo condiciones de precisión intermedia.

Nivel de concentración	Gotas de Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	4	4	4	4	4
2	5	5	5	5	5
3	7	7	7	7	7
4	9	9	9	9	9
5	11	11	11	11	11
6	13	13	13	14	13

Tabla B14. Curvas de calibración para Oxonia, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.

Nivel de Concentración	Gotas de Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	4	4	4	4	4
2	5	5	5	5	5
3	7	7	7	7	7
4	9	9	9	9	9
5	11	11	11	11	11
6	13	14	13	13	13

Tabla B15. Titulación con goteros de las soluciones patrón de Oxonia, realizadas por un analista diferente.

Nivel de Concentración	Gotas de Tiosulfato de Sodio		
	Rep 1	Rep 2	Rep 3
1	4	4	4
2	5	5	5
3	7	7	7
4	9	9	9
5	11	11	11
6	12	13	13

Tabla B16. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de precisión intermedia, utilizando los goteros.

Nivel de Concentración	Gotas de Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	3	3	3	3	3
2	5	5	5	5	5
3	7	7	7	7	7
4	9	9	9	9	9
5	10	10	10	10	10
6	14	14	14	14	14

Tabla B17. Curvas de calibración para Vortexx, bajo condiciones de repetibilidad, utilizando los goteros.

Nivel de Concentración	Volumen (mL) Tiosulfato de sodio 0,1 N				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	3	3	3	3	3
2	5	5	5	5	5
3	7	7	7	7	7
4	9	9	9	9	9
5	10	10	10	10	10
6	14	14	14	14	14

Tabla B18. Titulación de las soluciones patrón de Vortexx, realizadas por un analista diferente.

Nivel de Concentración	Gotas de Tiosulfato de Sodio		
	Rep 1	Rep 2	Rep 3
1	3	3	3
2	5	5	5
3	7	7	7
4	9	9	9
5	10	10	10
6	14	14	14

Tabla B19. Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N, utilizado en la titulación de soluciones de Oxonia suministradas por la bomba CIP.

Día	Volumen de Tiosulfato de Sodio (mL)				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
3	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
4	0,35	0,35	0,35	0,30	0,35
5	0,10	0,15	0,15	0,15	0,15

Tabla B20. Gotas de tiosulfato de sodio utilizadas en la titulación de APA en las soluciones de Oxonia obtenidas a través de la bomba CIP.

Día	Gotas de Tiosulfato de Sodio				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	5	5	5	5	5
2	1	1	1	1	1
3	7	7	7	7	7
4	6	6	6	6	6
5	3	3	3	3	3

Tabla B21. Volumen de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N, utilizado en la titulación de soluciones de Vortexx suministradas por la bomba CIP.

Día	Volumen (mL) de Tiosulfato de Sodio				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	0,10	0,15	0,10	0,10	0,10
2	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
3	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
4	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
5	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35

Tabla B22. Gotas de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilizadas en la titulación de APA en las soluciones de Vortexx obtenidas a través de la bomba CIP.

Día	Gotas de Tiosulfato de Sodio				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5
1	2	2	2	2	2
2	7	7	7	7	7
3	4	4	4	4	4
4	3	3	3	3	3
5	7	7	7	7	7

ANEXO C. TIEMPO DE DESCOMPOSICIÓN DE PH CON MA

Tabla C1. Ensayo de tiempo de espera para realizar la titulación con la metodología del Molibdato de amonio. Descomposición del PH.

Nivel de Concentración	Tiempo de Espera (min)	Volumen de Na ₂ S ₂ O ₃ (mL)
1	0	0,25
	5	0,2
	15	0,2
	20	0,2
	25	0,2
2	0	0,3
	5	0,3
	15	0,25
	20	0,25
	25	0,25
3	0	0,45
	5	0,45
	15	0,4
	20	0,4
	25	0,4
4	0	0,6
	5	0,55
	15	0,5
	20	0,5
	25	0,5
5	0	0,7
	5	0,65
	15	0,6
	20	0,6
	25	0,6
6	0	0,85
	5	0,8
	15	0,7
	20	0,7
	25	0,7

ANEXO D: POE DE TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP

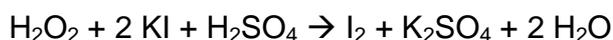
Página 1/4

	ALPINA, PRODUCTOS ALIMENTICIOS S.A. Planta Popayán	
	TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP: OXONIA ACTIVE y VORTEXX ES.	Código: Vigente desde: Versión: Páginas: 4

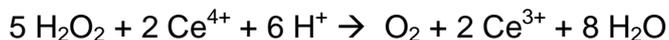
1. INTRODUCCIÓN

La limpieza, desinfección y sanitización de una planta procesadora de alimentos, es un aspecto crítico del programa de higiene, que permite proteger la salud del consumidor gracias a la producción de alimentos inocuos, además de garantizar que equipos y líneas de proceso en general sean inocuos a lo largo de la producción. El programa de limpieza y desinfección de equipos, tanques, silos, líneas, tuberías, y demás accesorios empleados durante el procesamiento de leche en Alpina Productos Alimenticios, planta Popayán, se realiza con dos sanitizantes: Oxonia Active[®] y Vortexx Es[®], cuyos principios activos corresponden al ácido peracético (APA) y al peróxido de hidrógeno (PH). En el desarrollo de dicho programa, estos sanitizantes deben permanecer dentro de un rango de concentración adecuado (0,25–0,30% y 0,12–0,16% respectivamente), para evitar la contaminación microbiana o química.

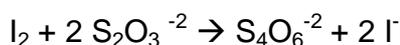
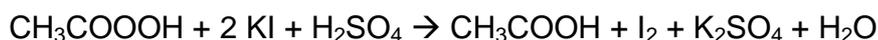
La mezcla PH–APA de estos sanitizantes, debe ser titulada dos veces debido a que el PH debe ser valorado antes de la titulación del APA con tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃), para evitar interferencias en la determinación del principio activo de interés, pues el PH puede generar una cantidad de yodo que no corresponde a la reducción del APA.



La valoración del PH, corresponde a una oxidación del analito a oxígeno, la cual puede realizarse con sulfato de cerio (IV):



Una vez valorado el PH, se titula el APA con Na₂S₂O₃.



2. OBJETIVO

Determinar el contenido de ácido peroxiacético (APA) en soluciones de Oxonia Active y Vortexx Es, utilizadas en el proceso de sanitización del sistema CIP y en piezas desmontables.

3. ALCANCE

El contenido de ácido peroxiacético se determina en productos de sanitización y desinfección en las líneas de producción de las plantas de manufactura de la compañía.

4. RESPONSABLES

Departamento de Control de Calidad y Área de Producción. Operarios de las áreas de: recibo, proceso y empaque.

5. MATERIALES

MATERIAL	CANTIDAD
Beaker plástico de 250 mL	1
Beaker plástico de 100mL	3
Pipeta aforada de 10 mL plástica	1
Propipeta	1

6. REACTIVOS

SUSTANCIAS*	CANTIDAD
Ácido sulfúrico al 5% (gotero #1)	1
Solución de ferroína (gotero #2)	1
Sulfato de cerio (IV) 0,1 N (gotero #3)	1
Yoduro de potasio al 10% (gotero #4)	1
Solución de almidón al 1% (gotero #5)	1
Tiosulfato de sodio 0,1N (gotero #6)	1

*Remitir al manual de protocolo de riesgo/seguridad y fichas técnicas de seguridad.

7. PROCEDIMIENTO

- Obtener una muestra del sanitizante a evaluar (Oxonia o Vortexx), en un beaker (vaso) de 250 mL desde la bomba CIP.
- Tomar 10 mL de la solución y depositarla en un beaker (vaso) de 100 mL.
- Agregar 20 gotas del gotero número 1. Agitar suavemente.
- Agregar 3 gotas del gotero número 2. Agitar suavemente.
- Agregar el número de gotas necesarias del gotero número 3, para que la solución cambie de color (rojo ladrillo a azul claro). Agitar suavemente entre cada gota adicionada. El color debe permanecer por lo menos, 15 segundos.
- Agregar 10 gotas del gotero número 4. Agitar suavemente.
- Agregar 3 gotas del gotero número 5. Agitar suavemente.
- Agregar el número de gotas necesarias del gotero número 6, para que la solución cambie de color (azul oscuro a incoloro). Agitar suavemente entre cada gota adicionada. El color debe permanecer por lo menos, 15 segundos.



Si es posible, repetir el procedimiento 3 veces.

8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

El número de gotas gastadas en la titulación, se debe multiplicar por el factor especificado, según la solución utilizada (Oxonia o Vortexx)

Concentración Oxonia ($\% \frac{v}{v}$) = 0,0428 x número de gotas gastadas

Concentración Vortexx ($\% \frac{v}{v}$) = 0,0171 x número de gotas gastadas

9. BIBLIOGRAFÍA

ECOLAB. 2010. Advice Summary. Application for Registration of a Chemical Product. Application number: 36985, Australian Government. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA). [En línea] 2010. [Citado el: 25 de 06 de 2011.] http://www.apvma.gov.au/advice_summaries/36985.pdf.

HARVEY, David. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. Estados Unidos de América : Mc Graw – Hill, 2000. págs. 331 – 350.

REGULATIONS, CODE OF FEDERAL. TÍTULO 21: Food and Drugs. [En línea] [Citado el: 28 de Junio de 2011.] <http://cfr.vlex.com/vid/178-1010-sanitizing-solutions-19706617#>.

SKOOG, Douglas, et al. 2005. *Fundamentos de Química Analítica*. Octava edición. México : Thomson, 2005. págs. 572 –582.

SPX Corporation. 2010. *SPX Flow Technology. CIP and sanitation of process plant*. 2010.

Elaboró:	Revisó:	Aprobó:
L. Viviana Delgado D.	Iván D. Sánchez	

ANEXO E: FICHA DE TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP

	ALPINA, PRODUCTOS ALIMENTICIOS S.A. Planta Popayán	
	FICHA DE TITULACIÓN DE SOLUCIONES CIP: OXONIA ACTIVE y VORTEXX ES.	Código: Vigente desde: Versión:

1. OBJETIVO. Determinar el contenido de ácido peroxiacético (APA) en soluciones de Oxonia Active y Vortexx Es, utilizadas en el proceso de sanitización del sistema CIP y en piezas desmontables.

2. PROCEDIMIENTO. Si es posible, repetir el procedimiento 3 veces.



3. CÁLCULOS Y RESULTADOS. El número de gotas gastadas en la titulación, se debe multiplicar por el factor especificado, según la solución utilizada (Oxonia o Vortexx), o dirigirse a la tabla.

Concentración Oxonia (% $\frac{v}{v}$) = 0,0428 x número de gotas gastadas

Concentración Vortexx (% $\frac{v}{v}$) = 0,0171 x número de gotas gastadas

Número de Gotas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Concentración de APA (%v/v)	
	Oxonia	Vortexx
1	0,0431	0,0177
2	0,0863	0,0354
3	0,1294	0,0531
4	0,1726	0,0709
5	0,2157	0,0886
6	0,2589	0,1063
7	0,3020	0,1240
8	0,3451	0,1417
9	0,3883	0,1594
10	0,4314	0,1771