

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

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

“Descontaminación de la superficie del camarón mediante la aplicación de
la tecnología de plasma frío”

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera en Alimentos

Presentado por:

Romina Alejandra Arevalo Vera
Cindy Daniela Paredes Panchana

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en cada paso y permitirme llegar hasta aquí.

A mis padres, por nunca abandonarme a pesar de la distancia, por ser mi pilar, por enseñarme a ser perseverante y por dejarme la mejor herencia: mis estudios.

A mi esposo, mi compañero de vida, quien me alienta a ser mejor todos los días y a no rendirme a pesar de las dificultades.

A mis maestros y amigas de la carrera, que siempre estuvieron dispuestas a compartir sus conocimientos y a ayudarme en toda mi etapa universitaria.

A mi familia, por recordarme siempre de lo que soy capaz y sentirse orgullosos de todos mis logros.

Daniela Paredes

A Dios, porque ha sido mi fortaleza y escudo, su misericordia ha sido infinita, a Él sea la gloria por siempre.

A mis padres, quienes me han apoyado en todo momento, porque sus consejos y oraciones me han permitido llegar hasta aquí.

A mis hermanos, quienes han sido mis mejores amigos y mi mayor inspiración.

A mis abuelitos, porque siempre me han animado a soñar en grande.

Romina Arevalo

AGRADECIMIENTO

A nuestra tutora PhD. Ximena Yépez P. por todo el apoyo, guía y confianza brindada a lo largo de este proyecto.

A MSc. Andrea Ortega por su colaboración, paciencia y gran ayuda en este trabajo de investigación.

A nuestro grupo de *Cold Plasma* por todo el conocimiento compartido en cada reunión y las retroalimentaciones recibidas por cada uno de los integrantes.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Romina Alejandra Arevalo Vera y Cindy Daniela Paredes Panchana damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Romina A. Arevalo Vera



Cindy D. Paredes Panchana

EVALUADORES



Firmado electrónicamente por:
**HAYDEE DEL
ROCIO TORRES
CAMBA**

MSc. Haydee Torres Camba
PROFESOR DE LA MATERIA

**XIMENA
VICTORIA
YEPEZ
PAREDES**

Digitally signed by
XIMENA VICTORIA
YEPEZ PAREDES
Date: 2021.10.13
16:02:04 -05'00'

PhD. Ximena Yépez Paredes
PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Este proyecto propone una alternativa para la descontaminación de la superficie del camarón reemplazando la cloración con agua activada por plasma frío (PAW). Se evaluó las condiciones de producción de PAW, se comparó la eficacia entre el tratamiento de agua clorada (AC) y PAW, y se propone un diseño de planta considerando los espacios mínimos requeridos para el proceso.

Se desarrolló el diseño de experimentos empleando una muestra control en $t=0$, 5, 15, 30 min y fue tomado como población inicial de microorganismos medida en UFC/mL. Las variables independientes fueron los tratamientos PAW y AC con tiempos de contacto $t=5$, 15, 30 min. Los datos se analizaron en el programa estadístico SAS System con un nivel de confianza de 95%, el análisis entre medias determinó que los tratamientos PAW y AC son estadísticamente similares. Sin embargo, se analizó la eficacia del PAW a través de un análisis de los niveles de descontaminación versus el AC y se concluye que su poder descontaminante tiene efecto a partir de $t=15$ min donde se redujo $5,25 \log_{10}$ UFC/mL.

Se realizó el diseño de una planta procesadora de camarón IQF con una superficie de 800m^2 , donde la línea de producción necesitó $677,33\text{m}^2$, el equipo de PAW se ubicó en el área de descontaminación junto con la tolva de lavado y necesita alrededor de $0,98\text{m}^2$ para incluir esta nueva tecnología como parte del proceso. Finalmente, se realizó una estimación de costos, en donde el PVP del camarón IQF que se sometió a tratamiento de descontaminación por PAW resultó en \$4.58 por Kg.

Palabras Clave: *agua activada por plasma, Escherichia coli, descontaminación, reducción microbiana, camarón.*

ABSTRACT

This project proposes an alternative for shrimp surface decontamination by replacing chlorine with cold plasma activated water (PAW). The production conditions of activated water (PAW) were evaluated, the effectiveness between conventional treatment of chlorinated water (AC) and the use of PAW as the study treatment was compared, and a plant design that considers the minimum spaces required for the process was proposed.

In the first stage, an experimental design was developed, using a control sample with a contact time of 0, 5, 15 and 30 min, taken as the initial population of microorganisms, measured in CFU/mL. The independent variables were the PAW and AC treatments with contact times $t = 5, 15$ and 30 min. The data were analyzed in the statistical program SAS System with a confidence level of 95%. The results suggested that PAW and AC treatments were statistically similar, by the analysis between means. However, the efficacy of the treatment was analyzed, and it was concluded that its decontaminating power has an effective decontamination from $t = 15$ min, where 5.25 log CFU / mL were reduced.

The second stage of the study was focused on a plant design for an area of 800 m², where the production line needed 677.33 m². The space required to install a PAW station was in the decontamination area near the washing hopper and needs approximately 0,98 m² to install the new technology as part of the process. Finally, a cost estimate was made, where the retail price resulted in \$ 4.58/kg

Keywords: *plasma activated water, Escherichia coli, decontamination, microbial reduction, shrimp.*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción del problema	3
1.2 Justificación del problema	3
CAPÍTULO 2	8
2. METODOLOGÍA	8
2.1. Diseño de experimentos.....	8
2.2. Análisis estadístico.....	8
2.3. Preparación de las muestras.....	8
2.3.1. Producción de agua activada por plasma frío (PAW).....	8
2.3.2. Caracterización de agua activada (PAW)	9
2.3.3. Preparación de agua clorada.....	11
2.3.4. Activación de <i>Escherichia coli</i>	12
2.3.5. Evaluación del efecto antibacteriano	12
2.3.6. Análisis microbiológico	13
2.4. Diseño de plantas.....	13
2.4.1. Diagramas de flujo.....	13
2.4.2. Diagrama de recorrido sencillo	14
2.4.3. Relación de actividades.....	14

2.4.4. Cálculos para las necesidades de espacio	15
2.4.5. Alternativas de distribución	16
2.5. Estimación de Costos	16
CAPÍTULO 3	18
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	18
CAPÍTULO 4	31
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
4.1. Conclusiones.....	31
4.2. Recomendaciones.....	32
BIBLIOGRAFÍA	
APÉNDICES	

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
PAW	Plasma activated water
AC	Agua clorada
ATCC	American Type Culture Collection
SAS	Statistical American System
INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
PVP	Precio de venta al público
DBD	Barrera dieléctrica de descarga
ROS	Especias reactivas del oxígeno
IQF	Individual Quick Freezing
TSA	Trypto-Casein Soy Broth
TSB	Tryptic Soy Broth

SIMBOLOGÍA

log	Logaritmo
Kg	Kilogramo
ppm	Partículas por millón
m	Metro
UV	Ultravioleta
NaCl	Cloruro de Sodio
rpm	revoluciones por minuto
μL	Microlitro
μM	Micro molar
mL	Mililitro
kV	Kilovoltios
min	minutos
ton	toneladas
UFC	Unidades formadoras de colonias

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Diseño de microplaca para medir absorbancia	10
Figura 2.2 Modelo de tabla de relación de actividades	15
Figura 2.3 Motivos comunes en una evaluación de relación de actividades	15
Figura 2.4 Códigos asignados a las proximidades	15
Figura 2.5 Ejemplo de Corelap	16
Figura 3.1 Resultados de densidad celular de los tratamientos	19
Figura 3.2 Layout obtenido de Corelap	27
Figura B1. Diagrama de generación de PAW	42
Figura C.1 Representación gráfica de mínimos cuadrados por tratamiento.....	44
Figura C.2 Densidad celular sin tratamiento	44
Figura C.3 Reducción logarítmica después de los tratamientos	45
Figura D.1 Diagrama básico del proceso.....	46
Figura D.2 Diagrama de Recorrido sencillo	46
Figura D.3 Diagrama de Equipos	47
Figura D.4 Límites para establecer una prioridad	48
Figura E.1 Propuesta de diseño basado en Solución de CORELAP 1.0	50
Figura E.2 Propuesta de diseño basado en Solución de CORELAP 1.0	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Simbología de diagrama de recorrido sencillo	14
Tabla 3.1 Caracterización del PAW	18
Tabla 3.2 Resumen de las áreas por departamento	25
Tabla 3.3 Orden de los departamentos	26
Tabla 3.4 Determinación del P.V.P.....	28
Tabla 3.5 Punto de Equilibrio	29
Tabla A.1 Análisis microbiológico para PAW	39
Tabla A.2 Análisis microbiológico para muestras de control	40
Tabla A.3 Recuento de placas en unidades log (UFC/mL)	41
Tabla C.1 Mínimos cuadrados.....	43
Tabla C.2 Mínimos cuadrados por tratamiento.....	43
Tabla C.3 Comparación entre los tratamientos.....	45
Tabla D.1 Diagrama de Relación de Actividades.....	48
Tabla D.2 Necesidades de espacio	49
Tabla F.1 Costo y depreciación de equipos.....	52
Tabla F.2 Costos fijos.....	52
Tabla F.3 Costos variables.....	52
Tabla F.4 Flujo de Caja	53
Tabla F.5 Periodo de Retorno de Inversión	53

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la pandemia del Covid-19, los organismos de salud a nivel mundial han reforzado los protocolos de desinfección, descontaminación y sanitización para asegurar la inocuidad en los procesos industriales y precautelar la salud de la población mundial.

Durante el período de contingencia, la industria alimentaria fue considerado un sector esencial a nivel mundial, manteniendo la continuidad operativa en las cadenas de suministros para abastecer a la población.

La industria camaronera se vio altamente afectada durante este tiempo debido a supuestos hallazgos de restos del virus, pese a no encontrarse el virus en el alimento, la incertidumbre de la población acerca de la higiene de los alimentos mantuvo a la industria con exigencias de mejoras en cuanto a sanidad, inocuidad y calidad de sus productos, con efectos crecientes en control de microorganismos, restricciones en el uso de químicos, antibióticos y aditivos.

Es por lo que la industria alimentaria, a su vez, ha implementado nuevos métodos de control de microorganismos, esto supone también el uso de nuevas tecnologías, que dejen en el pasado el uso de químicos potencialmente tóxicos.

Históricamente, la descontaminación y sanitización de productos tales como agua, alimentos, los equipos de procesamiento de alimentos, entre otros, han usado desinfectantes como cloro o yodo. El uso de cloro, a nivel mundial, ha mejorado la calidad de vida y ha prevenido muchos brotes de enfermedades transmitidas por patógenos presentes en los alimentos (Andrews et al., 2002).

Las pruebas de agua tratada con cloro han identificado más de 250 compuestos, aproximadamente el 10% de los cuales han sido clasificados como potencialmente mutagénicos y/o cancerígenos. (Andrews et al., 2002).

Existen diferentes publicaciones donde se han usado otros agentes descontaminantes, buscando no solo reemplazar el uso de cloro, sino siendo una

alternativa más amigable con el medio ambiente y teniendo grandes resultados en cuanto a la disminución del contenido microbiano del camarón. Algunos de estos estudios se han realizado con Dióxido de Cloro en donde se compara el efecto biocida de este compuesto suministrado por aspersion frente al lavado convencional con cloro en camarones y langostinos; logrando reducciones microbiológicas de 1 a 4 log₁₀ en aeróbicos y psicotrópicos (Andrews et al., 2002).

Otro estudio similar, busca reducir la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* evaluando la eficacia del uso de una solución de quitosano y cloro, donde el quitosano alcanzó una reducción del 60%, siendo una alternativa de descontaminación de bacterias patógenas en fábricas de mariscos (Chaiyakosa et al., 2007). Reduciendo de esta manera el uso de cloro y mejorando la salud de los colaboradores que realizan las tareas de descontaminación y se exponen a este componente tóxico (Yost & Joshi, 2015).

Una alternativa emergente es el uso de plasma frío para la conservación de alimentos, el plasma frío, es conocido por ser el cuarto estado de la materia y se genera debido a una serie de descargas que originan otras sustancias químicas que pueden interactuar con microorganismos; resultando en una inactivación microbiológica (Agnarsson et al., 2002).

El plasma frío, para aplicaciones en los alimentos está siendo estudiado como una tecnología no convencional, donde se puede tratar alimentos a bajas temperaturas para eliminar o reducir su carga microbiológica. Además, se está estudiando el uso de agua activada con plasma frío, en donde se realiza un tratamiento a agua con alto voltaje y el agua interactúa con las especies reactivas del plasma para formar lo que se conoce como "Agua activada por plasma" (PAW). Se está estudiando el uso del plasma frío en la industria alimenticia mediante la aplicación de agua activada por plasma (PAW) a los alimentos.

El PAW es una fuente abundante de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno, que pueden inactivar a los microorganismos. Además de su actividad bactericida, también se puede utilizar para degradar residuos de pesticidas y residuos de antibióticos en agua y materiales de embalaje (Sharma et al., 2021).

La presencia de las ROS, pueden tener una variedad de efectos nocivos en las células bacterianas, que comprenden una pérdida del potencial de la membrana y la integridad de esta, además de peroxidación lipídica de la membrana, cambios oxidativos en la proteína celular y el bloqueo de la replicación y transcripción del ADN al romper una hebra de su doble hélice.

1.1 Descripción del problema

El cloro es el agente descontaminante con mayor frecuencia utilizado en las industrias del camarón para la destrucción de patógenos potenciales. Sin embargo, el contacto prolongado con el cloro causa graves problemas en el tracto respiratorio (Chaiyakosa et al., 2007).

En los últimos años, han surgido algunas preocupaciones de salud por el descubrimiento de subproductos potencialmente cancerígenos generados durante la cloración en presencia de material orgánico. Los subproductos, trihalometanos (THM), cloroformo y clorofenoles conllevan un riesgo para la salud porque son potencialmente mutagénicos (Biocide Int, 1994).

Generalmente, el uso del hipoclorito de calcio inicial para los lavados es de 50 ppm (partes por millón), y de acuerdo con el Codex Alimentarius la concentración residual del cloro no debe exceder las 10 ppm. Reemplazar el uso del cloro dentro de las líneas de proceso para reducir la presencia de microorganismos tales como Aerobios Mesófilos, *Escherichia coli*, Enterobacterias, Coliformes totales, mismos que son motivo de rechazo por el cliente también puede resultar en una alternativa viable para la elaboración de camarón orgánico, lo cual es una propuesta moderna que atiende necesidades de poblaciones que buscan cada día más formas de alimentarse de manera sana y libre de productos químicos.

1.2 Justificación del problema

En el Ecuador, el principal producto no petrolero de exportación es el camarón, debido a ello existe una diversidad de empacadoras cuya competencia se basa en la calidad del camarón que ofrecen. Para que el camarón se

considere apto para la exportación debe controlar el número de microorganismos capaces de deteriorar el producto y el pardeamiento enzimático.

Para ello, la mayoría de las Industrias empacadoras de camarón emplean cloro, tales como hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio para realizar una descontaminación del camarón después de la cosecha, específicamente en la etapa de clasificación, mediante un baño de inmersión y en la siguiente etapa que corresponde al segundo lavado donde el camarón se lava con agua fría que contiene una solución de cloro. Este compuesto es considerado altamente tóxico para organismos acuáticos, lo que significa que se requiere de un riguroso tratamiento para neutralizarlo antes de liberar el cloro al ambiente y así no afectar a más especies acuáticas (Morales et al., 2010).

Por otro lado, el uso de cloro reduce la eficacia de los aditivos que son empleados para controlar el pardeamiento enzimático (melanosis) en el camarón, esto significa que el cloro y los aditivos no pueden emplearse en la misma solución, por tanto, después del uso del cloro se debe drenar y enjuagar el camarón entre cada tratamiento (Haws et al., 2002). Esto equivale a tiempo y costos de producción que pueden ser reducidos mediante otras tecnologías de descontaminación.

Por lo tanto, se propone el uso de una tecnología no convencional como es el plasma frío, mediante su forma de agua activada por plasma (PAW) la cual reemplazará al uso de cloro o soluciones de cloro en agua para realizar la descontaminación de la superficie del camarón.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar una alternativa para el uso de agua clorada en la descontaminación de la superficie del camarón, empleando agua activada con plasma frío para reducir el uso de químicos en el proceso.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar las condiciones de producción y caracterización de agua activada.
2. Comparar la eficacia del agua activada frente al agua clorada en la reducción microbiológica de la superficie del camarón.
3. Proponer un diseño de planta empacadora de camarón que contemple la etapa de descontaminación con la aplicación de plasma frío.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Camarón

La especie principal de camarón en la costa del Ecuador es el *Litopenaeus vannamei*, más conocido como camarón blanco o patiblanco, es de coloración blanquinosa translúcida que de acuerdo con su medio de desarrollo, sustrato y alimento puede cambiar su coloración (INEC, 2012a). Esta especie comprende alrededor del 95% de la producción camaronera dado que tiene la mayor resistencia para desarrollarse en cautiverio pese a cambios adversos del medio ambiente (INEC, 2012b).

1.4.2 Procesamiento

Después de realizarse la cosecha, el camarón puede ser vendido hacia los mercados o las plantas procesadoras, por tanto, se emplean equipos de cosecha apropiados y se monitorea constantemente que la calidad del camarón se mantenga. Posteriormente, realizan la selección, en esta etapa descartan las muestras no aptas para el consumo o aquellos camarones con defectos, después se realiza un lavado, pesado y un baño de agua fría entre 0 a 4°C para matarlos, se añade un aditivo para evitar el pardeamiento enzimático, comúnmente se emplea metabisulfito de sodio, el camarón se mantiene en hielo y se los deposita dentro de unos contenedores que serán transportados en camiones hasta las plantas procesadoras (FAO, 2006a). Una vez que llegan a la planta, se coloca el camarón en cubos de hielo, se los limpia y se realiza una selección por tallas, adecuada para exportación y de acuerdo con las preferencias de los compradores, se congela a -10°C y se mantiene a -20°C para exportarlos (FAO, 2006b).

1.4.3 Agua clorada

La inocuidad de los alimentos es un tema de gran relevancia en la industria alimentaria, las empresas cada vez buscan obtener certificaciones de calidad e inocuidad que aseguren que al ser ingeridos no representen un riesgo para la salud.

El agua clorada, es desde hace mucho tiempo uno de los más grandes desinfectantes de la industria alimentaria, preferido por su eficacia y bajo costo, es ampliamente utilizado para la reducción de riesgos de patógenos microbiológicos, la descontaminación de superficies, alimentos, entre otros (OIRSA, 2020).

La industria alimenticia ha empleado agua clorada desde hace muchos años como desinfectante en sus establecimientos para elaboración, empaque, preparación y venta de alimentos; con la finalidad de eliminar o reducir patógenos (bacterias y virus) que pueden contaminar los alimentos y enfermar a los consumidores (OIRSA, 2020).

El agua clorada es la solución de hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio en agua, cuyo propósito es destruir bacterias y hongos que pueden estar presentes en el agua, la forma de hipoclorito tiene una efectividad cuando se maneja en valores superiores a pH de 7,5 (López, 2003).

La concentración de cloro que se encuentra en forma libre y activo es conocida como cloro residual, se expresa en partes por millón, y no debe superar los 10 ppm si se trata de alimentos para consumo humano. Las concentraciones de cloro residual de 0,2 a 5 ppm logran controlar bacterias y hongos, sin embargo, en operaciones de descontaminación se suele emplear concentraciones mucho mayores de 100 – 200 ppm.

Algunos países, no permiten el uso de cloro en lavado de frutas y vegetales, esto debido a que la materia orgánica es capaz de reaccionar frente al cloro y generar compuestos indeseables, tales como trihalometanos o hidrocarburos clorados, compuestos alarmantes de ser cancerígenos (López, 2003).

1.4.4 Tecnología de plasma frío

El plasma es el cuarto estado de la materia, donde una porción de las partículas está ionizada, el plasma frío es una nueva tecnología empleada en la industria de los alimentos dado que no necesita de agentes químicos o antimicrobianos para otorgar conservación en los alimentos, en la actualidad se han realizado varios estudios alrededor de la aplicación destacando el plasma como fuente de luz UV para esterilización de superficies, limpieza, modificación de superficies y procesamiento de ciertos materiales (Pankaj et al., 2014).

Algunos radicales libres que se producen en el plasma ayudan a la inactivación de ciertos microorganismos, el plasma se divide en plasma térmico (caliente) y no térmico (frío), la temperatura del plasma frío no supera los 60 °C, las formas de plasmas más empleadas en alimentos son las descargas de barrera dieléctrica. La mayoría de los estudios se han realizado directamente con el plasma sobre el alimento y hay pocos casos en donde los resultados no han sido favorables, dado que sí se obtiene la inhibición microbiana deseada en el alimento, pero los efectos secundarios han resultado en la pérdida del color o cambio en las superficies de los alimentos (Thirumdas et al., 2018a).

Dado estos casos, se ha optado por emplear agua activada por plasma, también conocida como ácido plasmídico, el agua activada tiene la ventaja de que es mucho más fácil de aplicar reemplazando el desinfectante habitual. El tipo y concentración de especies que se generen por el agua activada dependerán de los gases o líquidos que se empleen para obtener el plasma (Thirumdas et al., 2018b).

En la actualidad existen diversos estudios de efectos bactericidas en productos alimenticios, entre ellas frutas y vegetales, como es el caso de un estudio acerca de inhibición microbiana en fresas, en la cual se pudo reducir 3,5 logaritmos en 20 minutos aplicando la tecnología de agua activada (Thirumdas et al., 2018b). Liao, realizó un estudio de viabilidad del agua hielo de plasma para extender la vida útil en camarones (Liao et al., 2018).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1. Diseño de experimentos

Para la primera parte de la investigación se comparó el efecto del uso del agua clorada frente al agua activada por plasma frío (PAW) en la reducción logarítmica de las colonias de *Escherichia coli* (ATCC 11775). Se inoculó el microorganismo en dos medios diferentes, el primer tratamiento con PAW y el segundo con AC con diferentes tiempos, 5, 15 y 30 minutos correspondientes a los niveles del diseño experimental. Se determinó la densidad celular antes y después de recibir los tratamientos. Se realizaron 3 réplicas biológicas.

2.2. Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de análisis de varianza ANOVA para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de: los tratamientos, la densidad celular antes de los tratamientos y las reducciones logarítmicas obtenidas para los tiempos de: 5, 15 y 30 minutos. Se empleó un nivel de confianza de 95% ($\alpha = 0,05$) y se evaluó la diferencia de mínimos cuadrados para analizar que medias difieren entre sí. Los datos se manejaron a través del programa estadístico SAS SYSTEM (Statistical Analysis System, NC, USA).

2.3. Preparación de las muestras

Dado que la experimentación requería de los tratamientos con agua activada y con agua clorada, primero se realizó la producción de PAW y se la caracterizó, se preparó agua clorada y finalmente se realizó las incubaciones a cada uno de los tratamientos y después de 24 horas de incubación se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC/mL) para el respectivo análisis.

2.3.1. Producción de agua activada por plasma frío (PAW)

Para la producción de plasma frío se empleó un sistema conocido como

barrera dieléctrica de descarga (DBD), que consiste la aplicación de alto voltaje a través de dos electrodos colocados en forma paralela y con barreras dieléctricas que mantienen el sistema libre de cortocircuitos. La muestra de agua destilada se coloca en el interior de un contenedor plástico de polipropileno, mismo que se colocó en el medio de dos electrodos (Figura B1).

El voltaje usado en la experimentación fue de 90 kV. La barrera dieléctrica consistió en una lámina de polipropileno de 6mm. Los electrodos consisten en dos platos circulares de aluminio. El agua activada por plasma frío se produjo por la adición de 40 ml de agua ultrapura tipo 1 estéril, que se colocó en una caja Petri y esta a su vez dentro del contenedor plástico. La atmósfera que se utilizó en los experimentos fue aire, con una humedad relativa entre 65-75%.

Para la generación de agua activada por plasma frío, se utilizó en el tratamiento agua ultrapura tipo 1 estéril, en intervalos de tiempo de 0, 1, 3 y 5 minutos con voltaje de 90kV. El período de incubación fue de 24 horas a temperatura ambiente. Para realizar la recuperación del agua activada por plasma frío, se trasladaron las muestras a tubos esterilizados con un vórtex de 2 minutos.

El tiempo de tratamiento fue 10 minutos, y se mantuvo 24h dentro del contenedor para incrementar el tiempo de contacto con las especies reactivas del plasma frío. Posteriormente se realizó la caracterización del PAW, en donde se analizaron nitritos, peróxido de hidrógeno y pH.

2.3.2. Caracterización de agua activada (PAW)

Se realizó la caracterización del agua activada por plasma frío (PAW), en donde se analizó el contenido de nitritos por medio del protocolo establecido por Promega para la Determinación de la Concentración de Nitritos (Promega, 2009). El boletín técnico de Promega indica como realizar esta determinación; se preparó 1 ml de la solución de nitrito de 100 μ M diluyendo el nitrito 0,1 M de Nitrito Estándar (nitrito de sodio en agua)

proporcionado 1:1, en la matriz o buffer en este caso agua destilada. Luego se designaron 3 columnas (24 pocillos) en la placa de 96 pocillos para realizar la curva de referencia del Nitrito Estándar y se dispensaron 50 μL de agua destilada en 21 pocillos. Posteriormente se añadió 100 μL de la solución de nitrito en los 3 pocillos restantes (primera fila). Inmediatamente se realizaron 6 diluciones en serie tomando 50 μL del pocillo y por triplicado en los pocillos vacíos de la placa para generar la curva de referencia del Nitrito Estándar (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 y 0 μM para el ultimo pocillo al que no se le agregó la solución de nitrito); como se muestra en la figura 2.1.

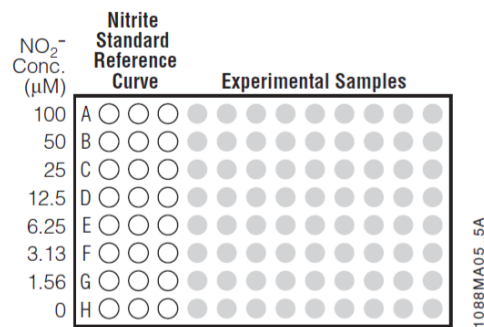


Figura 2.1 Diseño de microplaca para medir absorbancia (Promega, 2009)

Una vez realizada la medición de la absorbancia se procedió a calcular la cantidad de nitritos presentes en el PAW por medio de la Prueba de Griess. Inicialmente se añadieron 50 μL de PAW en los pocillos por triplicado, con la ayuda de una pipeta multicanal se dispensaron 50 μL de la solución de sulfanilamida (1% sulfanilamida en 5% de ácido fosfórico) a todas las muestras experimentales ubicadas en los pocillos. Se incubó en $t=7$ minutos a una $^{\circ}\text{T} = 27^{\circ}\text{C}$ protegiendo las muestras de la luz, debido a que la sulfanilamida es sensible a la presencia de luz. Luego de esto con la ayuda de la pipeta multicanal, se dispensaron 50 μL de la solución NED (1% N-1-naftiletildiaminadiclorhidrato en agua) a todos los pocillos y nuevamente se incubó por 7 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo un color purpura/magenta se formó inmediatamente. Se midió la absorbancia en 30 minutos en un espectrofotómetro entre 520 nm y 550 nm. Finalmente, para generar la curva de referencia estándar de nitrito, se trazó el valor de la absorbancia promedio de cada concentración del Nitrito

estándar como una función de Y, y, la concentración de nitrito como una función de X. Se determinó el valor de absorbancia promedio de cada muestra experimental y se determinó la concentración por medio de la comparación con la curva de referencia del Nitrito Estándar.

De la misma manera se analizó el peróxido de hidrogeno por medio del ensayo de Determinación de la concentración de Peróxido de Hidrogeno como lo indica Boehm en su documento "*Cytotoxic and mutagenic potential of solutions exposed to cold atmospheric plasma*" (Boehm et al., 2016). Se realizó por medio de la oxidación de yoduro de potasio a yodo y su respectiva medición espectrofotométrica a 390 nm. Se añadió 50 μ L de la solución tampón de fosfato y 100 μ L de solución de yoduro de potasio 1M a 50 μ L de PAW. Después de 30 min de incubación, se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 390 nm. Una curva estándar con concentraciones conocidas de peróxido de hidrógeno fue incluida en cada plato y usada para convertir la absorbancia en concentraciones de peróxido.

Para la determinación de la curva estándar se prepara una solución madre de peróxido de hidrógeno a 1M y a partir de esta se hacen 7 diluciones por triplicado obteniendo diferentes concentraciones. Con estas concentraciones se realizó un procedimiento similar al utilizado en la obtención de la curva estándar de nitrito. Se colocó la placa en el lector de absorbancia a 390 nm, y se comparó absorbancia vs concentración, obteniendo así la curva de calibración o referencia, obteniendo a su vez la ecuación de la recta. Se realizó un promedio de la absorbancia y con este valor se calculó la concentración de peróxido de hidrógeno.

Finalmente, el potencial hidrógeno conocido como pH fue medido con la ayuda de un pH metro digital, encargado de medir la actividad del ion hidrogeno en el PAW, indicando su grado de alcalinidad o acidez.

2.3.3. Preparación de agua clorada

Para la preparación del agua clorada dentro de la experimentación se usó cloro granulado con su fórmula hipoclorito de calcio al 70% (BRENNTAG)

de grado alimenticio mismo que fue añadido en un vaso de precipitación con agua destilada y agitado en una plancha para lograr disolver los gránulos. Se agitó alrededor de 2 min a 3 rpm y finalmente se realizó la lectura de la concentración de la solución con tirillas de cloro (HYDRION, NY, USA); la concentración deseada fue de 50 ppm.

2.3.4. Activación de *Escherichia coli*

Se empleó *E. coli* ATCC 11775, bacteria gramnegativa en forma de bastón y uno de los microorganismos más estudiados. Para la suspensión de *E. coli*, se colocó una colonia en medio de enriquecimiento TSB a 37° C por 24 horas. Luego se tomaron alícuotas de este stock y se centrifugo a 8,7g durante 10 min, se eliminó el sobrenadante y se lavó dos veces el pellet con solución de NaCl (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) estéril al 0,9 % para finalmente suspenderlo en NaCl y esta fue la suspensión madre; misma que debe ajustarse a un grado de turbidez de 0,5 conforme la escala McFarland.

2.3.5. Evaluación del efecto antibacteriano

La actividad antimicrobiana de AC y PAW fueron evaluadas mediante tiempos de contacto de 0, 5, 15, y 30 minutos con la suspensión de *E. coli*. Para las muestras tratadas con PAW, se realizó una muestra control y 5 diluciones en 3 tiempos diferentes. Para la muestra control se tomaron 1000 µL de agua destilada y 300 µL de suspensión de *E. coli*, se agitó y se sembró en 3 repeticiones. Para las muestras de PAW, se tomó 10 ml de PAW y 300 µL de suspensión de *E. coli*. De esta suspensión madre se tomó 1000 µL a los 5, 15 y 30 min de contacto; los cuales se colocaron en un tubo con NaCl previamente esterilizado y se realizaron las diluciones respectivas.

De los tubos diluidos en cada intervalo de tiempo (5, 15 y 30 min) se tomó las diluciones 10^{-4} y 10^{-3} y se sembró por triplicado 10 µL de la dilución en placas con agar TSB y se los incubó a 37° C por 24 horas. Pasado este tiempo se realizó el recuento de microorganismos. Para las muestras tratadas con agua clorada se realizó el mismo procedimiento de las

muestras tratadas con PAW.

2.3.6. Análisis microbiológico

Se realizó el conteo de las colonias presentes en las placas y se realizó un promedio entre las réplicas para obtener el número final de colonias en unidades UFC/mL. Se empleó la ecuación 2.1 para encontrar la población inicial de colonias y así se determinó la cantidad de logaritmos reducidos durante la experimentación.

$$n = \frac{\log \left(\frac{N_n}{N_o} \right)}{\log (2)} \quad (2.1)$$

Donde:

n = número de generaciones

Nn: población final

No: población inicial

2.4. Diseño de plantas

2.4.1. Diagramas de flujo

Las industrias emplean una representación gráfica para describir varios de sus procesos, uno de los más importantes es el diagrama de flujo cuyo objetivo es mostrar de manera organizada y secuencial los principales aspectos de la tecnología y la ingeniería que conlleva el procesamiento (Casp, 2005).

Se elaboró un diagrama de flujo para el procesamiento de camarón desde su llegada a la planta en donde se ubica en el área de recepción para los análisis respectivos, hasta la etapa en donde el producto se almacena como camarón congelado IQF. Este diagrama sirvió para los demás diagramas en estudio dado que se realiza un desglose de las actividades más importantes a considerar para un diseño de planta. Se realizó un diagrama de equipos para visualizar gráficamente la incorporación del generador de plasma en la etapa de descontaminación del camarón.

2.4.2. Diagrama de recorrido sencillo

El diagrama de recorrido de los productos consiste en evaluar el movimiento existente entre los materiales a través de las distintas etapas del procesamiento, realizar este diagrama es de vital importancia cuando el material en movimiento representa un volumen considerable y así también se puede evitar el costo empleado en transporte versus el costo de operación (Casp, 2005).

Para la representación de este diagrama de procesamiento de camarón se empleó la simbología mostrada en la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Simbología de diagrama de recorrido sencillo (Casp, 2005).

SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
	Operación
	Transporte
	Inspección
	Espera
	Almacenamiento

2.4.3. Relación de actividades

Una vez que se constituyó el diagrama de flujo para la producción se elaboró una tabla de relación de las actividades entre cada una de las etapas involucradas en el procesamiento de camarón, se realizó una discusión acerca de la necesidad de proximidad entre la primera etapa correspondiente a la recepción y la segunda etapa de descabezado, así mismo se analizó para cada una de las etapas en donde se designaron códigos para describir la relación entre materiales, equipos y proximidad entre las áreas. Es así, que se evaluó la relación de actividades desde el punto de vista estrictamente productivo y aquellos sistemas auxiliares dentro de la planta (Casp, 2005). Se usó la tabla relacional que se muestra a continuación Figura 2.2, la cual es un cuadro elaborado de manera diagonal, los criterios usados para el análisis fueron: higiene, olores, ruido, utilización de material común, entre otros (Casp, 2005).

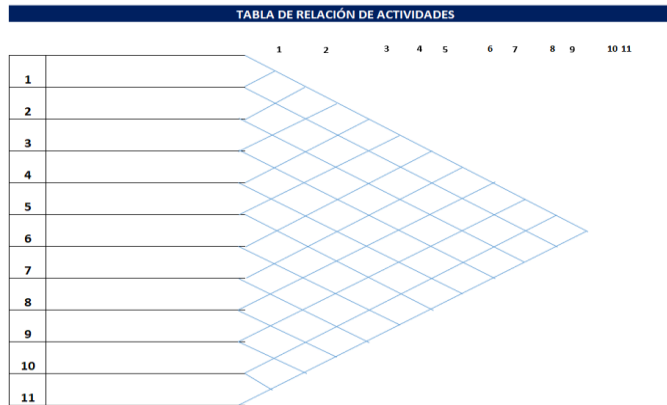


Figura 2.2 Modelo de tabla de relación de actividades (Casp, 2005).

La escala de valoración fue un código, la relación y un color asociado a la causa. La tabla relacional se sujetó al Análisis del Recorrido, cuyo principio es mínimas distancias y circulación (Casp, 2005).

Motivo	
1	Proximidad en el proceso
2	Higiene
3	Control
4	Frío
5	Malos olores, ruidos.
6	Seguridad del Producto
7	Utilización material común
8	Accesibilidad

Figura 2.3 Motivos comunes en una evaluación de relación de actividades (Casp, 2005)

Código	Proximidad	Color Asociado
A	Absolutamente necesaria	Rojo
E	Especialmente importante	Amarillo
I	Importante	Verde
O	Ordinaria	Azul
U	Sin importancia	-
X	Rechazable	Marrón

Figura 2.4 Códigos asignados a las proximidades (Casp, 2005).

2.4.4. Cálculos para las necesidades de espacio

Se fraccionó cada área en subsectores y se evaluó la cantidad de elementos necesarios y el espacio que cada uno ocupa dentro de la planta,

se necesitó estimar un volumen de producción para un tiempo determinado. La estimación se obtuvo a través de la superficie estática S_s correspondiente a equipos e instalación, la superficie de gravitación S_g espacio empleado por el obrero y el material acopiado, y la superficie de evolución S_e son los espacios necesarios de guardar entre cada estación de trabajo que permita la movilización del personal.

$$S_g = S_s \cdot N \quad (2.2)$$

$$S_e = (S_s + S_g) \cdot K \quad (2.3)$$

Donde K, es un coeficiente entre 0,05 y 3

2.4.5. Alternativas de distribución

Una vez realizado el peritaje de información útil y necesaria para un rediseño de la planta de procesamiento se procedió a emplear una herramienta informática Corelap, la cual a través de los datos ingresados de manera cualitativa creó un algoritmo y proveyó las iteraciones de los espacios marcando las áreas más productivas y la primera actividad que entró en la planta, se muestra un esquema de la información que se obtiene del programa tal como se muestra en la figura 2.5.

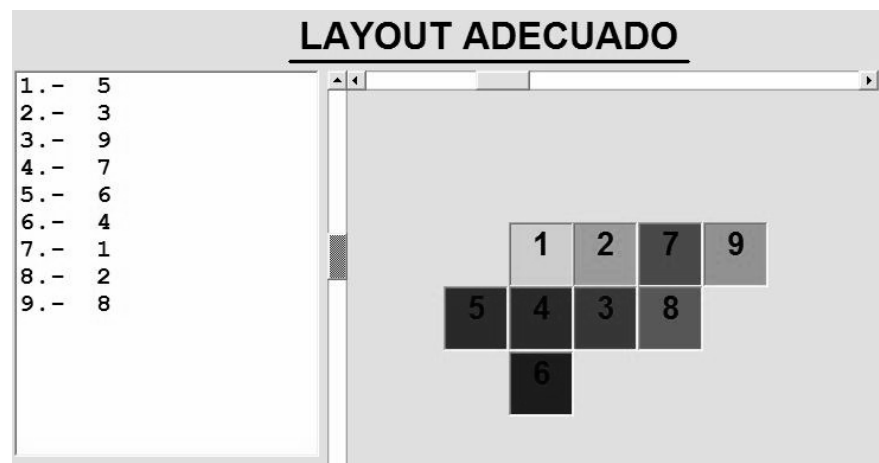


Figura 2.5 Ejemplo de Corelap

2.5. Estimación de Costos

La estimación de costos en algunos casos sirve como base para tomar decisiones en el diseño de plantas, sin embargo, esta se complementa a otros

métodos de evaluación. El propósito de realizar una estimación en los costos de producción es para justificar la metodología aplicada en el proyecto, comparar cada alternativa existente en un procesamiento y la segunda opción es la más usual. Para estimar los costos de producción, en la cual se consideró los costos de equipos, materia prima, mano de obra, material de empaque, costos fijos y variables

$$PV = \frac{CP}{1-\%} \quad (2.4)$$

$$\text{Punto de equilibrio} = \frac{CF}{PV-CVu} \quad (2.5)$$

Donde:

CF: costos fijos

PV: Precio de venta del producto

CVu: Costo unitario del producto

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Este capítulo presenta los resultados de las experimentaciones basadas en la metodología descrita en el capítulo 2. Se analizaron los datos mediante el programa estadístico SAS System, también se elaboró un diagrama de flujo del proceso y un diagrama de recorrido sencillo, además de un diagrama de relación de actividades para obtener alternativas de lay-out mediante la herramienta de Corelap.

Se efectuó una selección de equipos e insumos necesarios en el procesamiento de camarón desde la recepción de materia prima hasta el empaque del producto congelado IQF; para realizar una estimación de las necesidades de espacio y los costos que implica la producción.

3.1. Condiciones de producción PAW

Se realizó la caracterización del agua activada por plasma frío (PAW), en donde se analizaron el pH, nitritos por medio del protocolo establecido por Promega para la Determinación de la Concentración de Nitritos (Promega, 2009). De la misma manera se analizó el peróxido de hidrogeno por medio del ensayo de Determinación de la concentración de Peróxido de Hidrogeno como lo indica Boehm en su documento "*Cytotoxic and mutagenic potential of solutions exposed to cold atmospheric plasma*" descritas en el capítulo 2. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3.1 Caracterización del PAW

Tiempo de tratamiento	Voltaje	Nitritos	Peróxido de hidrógeno (μM)	pH
10 minutos	90 kV	-0,93	420,5	3,45

3.2. Análisis microbiológico

De las experimentaciones realizadas se obtuvo el conteo de unidades formadoras de colonias UFC/mL, las evidencias se muestran en el apéndice A, tabla A1, y los datos con el conteo total transformado a unidades

logarítmicas en la tabla A3, el conteo de las placas se encuentra en un rango desde 0 hasta 5,69 UFC/mL.

La influencia de los tratamientos aplicados para la inactivación de *E. coli* ATCC 11775 se evidenció a partir de los 5 minutos de contacto para el tratamiento con AC, mientras que las placas que fueron inoculadas con PAW no lograron una reducción microbiana en 5 minutos.

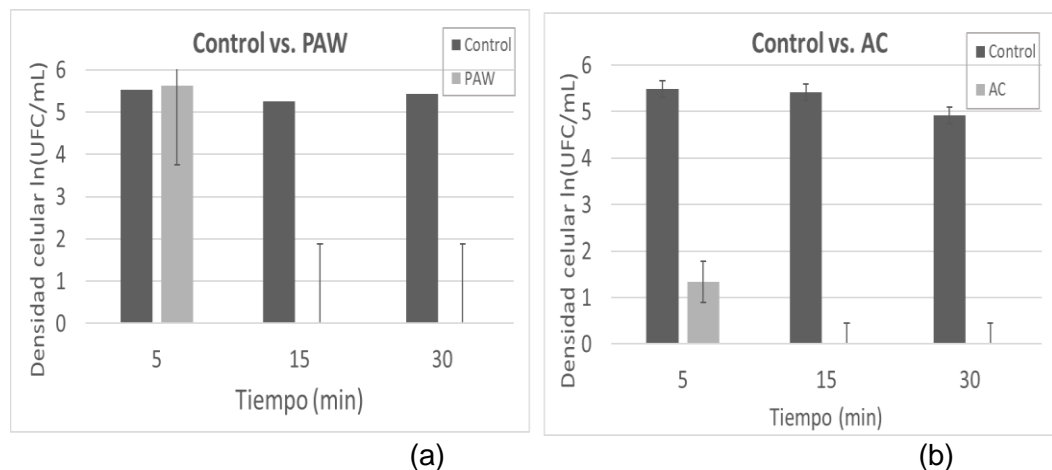


Figura 3.1 Resultados de densidad celular de los tratamientos (a) agua activada por plasma frío y (b) agua clorada

En la figura 3.1 se observa los resultados de la reducción logarítmica para el tratamiento con PAW (a), en el tiempo de 5 minutos de contacto no existe una reducción microbiológica, sin embargo, a los 15 minutos la reducción microbiana fue de 5,25 \log_{10} y en la muestra tratada durante 30 minutos de contacto la reducción fue de 5,43 \log_{10} . En el caso de las muestras tratadas con agua clorada (b), se evidenció la reducción en los primeros 5 minutos, esta reducción fue de 4,19 \log_{10} , a los 15 minutos se obtuvo una reducción de 5,41 \log_{10} y finalmente, a los 30 minutos la reducción fue de 4,92 \log_{10} .

Se pudo observar que el tratamiento de PAW y su eficacia se ven influenciadas por el tiempo de contacto, puesto que se obtuvo una reducción de 5,25 unidades logarítmicas a partir de los 15 minutos y 5,43 \log_{10} a los 30 minutos. Estos resultados son similares a los reportados por Traylor y colaboradores en su estudio de *Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water*, donde reportaron una reducción de 5 \log_{10} en 15 minutos, y

con 3 horas de tratamiento con PAW se evidenció una eficacia antibacteriana más alta que persistió durante 7 días. Este estudio resalta los diversos factores que pueden involucrarse en el proceso de descontaminación con la tecnología de plasma frío (Traylor et al., 2011).

El mecanismo de acción antimicrobiano ha sido reportado con el daño que se produce en la membrana del microorganismo. Algunos estudios han demostrado que el PAW produce una acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS) intracelulares y esto provoca una ruptura en la membrana desencadenándose en una muerte celular. Básicamente, la eficacia de la descontaminación siguiendo esta metodología se deberá a la cantidad de ROS que se generen en el proceso (Tian et al., 2015).

Por otro lado, la respuesta que podría obtenerse en este tratamiento dependerá del alimento, puesto que los microorganismos podrían esconderse en las irregularidades de la superficie del alimento y así evitar el efecto del tratamiento. El tratamiento con PAW y su eficacia en la descontaminación dependerá de algunos factores como el alimento, la flora microbiana natural, la forma y la superficie del alimento.

Esto puede contrastarse con un estudio realizado en champiñones y el efecto que tuvo con PAW, el tiempo que este tratamiento necesitó para la inactivación fue de 5 minutos logrando una reducción de 0,22 \log_{10} y el tratamiento que se mantuvo por 10 minutos obtuvo una reducción de 1,5 \log_{10} (Xu et al., 2016). Esto indica que el tratamiento al alimento involucra otros factores que lo hacen menos efectivo.

3.3. Análisis estadístico

Los datos de los resultados del experimento se ingresaron al programa estadístico SAS System. En este programa se analizó al control como la variable dependiente, y a los tratamientos PAW y AC como las variables independientes.

Al evaluar los datos obtenidos del análisis estadístico, se observó que el análisis de varianza arrojó un valor p de 0.0001. Este valor es menor que el

$\alpha=0.05$, y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula en favor de la hipótesis alterna. En consecuencia, se sugiere que el tratamiento con PAW y AC son significativamente similares, por lo tanto, el tratamiento con PAW puede reemplazar el uso de agua clorada ya que puede alcanzar los mismos niveles de reducción logarítmica de la carga microbiana.

Dado que los dos tratamientos tienen una reducción logarítmica de la carga microbiana similar, se decidió realizar una comparación múltiple de las medias de cada uno de los tratamientos, y conocer cuáles son diferentes y estimar su grado de diferencia.

H₀: no existe diferencia entre los tiempos de descontaminación en la reducción microbiana

H₁: Existe diferencia entre los tiempos de descontaminación en la reducción microbiana

En la tabla de comparaciones múltiples de Tukey, apéndice C, tabla C1 se puede observar que para los tratamientos de AC y PAW en un tiempo de 5 minutos se rechaza la hipótesis nula en favor de la hipótesis alterna, lo cual indica que en estos tiempos la reducción microbiana es diferente porque en uno de los tratamientos la descontaminación es mayor. Esto indica que el tratamiento de PAW y AC son significativamente diferentes con un tiempo de contacto de 5 minutos. Por otro lado, para los tratamientos PAW y AC en un tiempo de 15 y 30 minutos no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula, con lo cual podríamos asumir que estos tiempos son estadísticamente similares y el PAW podría reemplazar el uso de la metodología convencional sólo manejando estos tiempos de contacto.

En la figura C1 para tipo-tiempo-tratamiento se puede observar una representación de las medias de cada uno de los tratamientos, si se compara los tratamientos por tiempo de contacto de 15 minutos, ambos tratamientos tendrían la misma reducción logarítmica al igual que en 30 minutos.

En la figura C1, se puede observar también que no sería posible aplicar esta metodología en un tiempo de 5 minutos porque la reducción de la carga

microbiana sería mínima con respecto a la población inicial. En base a este mismo análisis, si se desea realizar la descontaminación en 5 minutos el tratamiento de AC sería el más factible, sin embargo, la reducción que se obtiene no es mejor que si se aplicara mayor tiempo de contacto.

3.3.1. Influencia del PAW en la descontaminación

En la figura C2 se puede observar que la densidad celular sin el tratamiento con PAW no se ve influenciada por el tiempo de contacto, esto se comprueba estadísticamente ya que el valor de sus medias es igual. Este valor de p se toma de la tabla C2 en donde se analiza la suma de los cuadrados del error y para estas muestras en un tiempo de 5 y 15 minutos tienen un valor p de 1 y para 30 minutos el valor p es de 0,99 siendo todos mayores al α y como consecuencia demostrando que son estadísticamente iguales.

Sin embargo, en el gráfico C5, se analiza los logaritmos de reducción después de haberse realizado los tratamientos con PAW y AC, se observó que para el tiempo de contacto de 5 minutos los numerales 2 y 8 (AC y PAW respectivamente) de la tabla C2, corresponde a un valor $p < 0,0001$ con el cual nos permitió rechazar la hipótesis nula y declarar que los valores son estadísticamente diferentes. Para los tiempos de 15 y 30 minutos el valor p es 1 y hace referencia a su igualdad estadística.

Finalmente, se decidió analizar si los tratamientos difieren entre sí y así se podría analizar cuál es el mejor para reducir la carga microbiana en la superficie del camarón, se compararon los tratamientos con un nivel de confianza del 95% y se manejaron las siguientes hipótesis:

H₀: No hay evidencia estadística para diferenciar los tratamientos de diseño entre sí.

H₁: Hay evidencia estadística para diferenciar los tratamientos de diseño entre sí.

Bajo dichas hipótesis se analizaron las medias de los tratamientos y se muestra la tabla C3, en donde se observa que hay suficiente evidencia

estadística para decir que existe una diferencia entre el control y los tratamientos, es decir, es evidente que los tratamientos consiguen reducir la carga microbiana.

Entonces, se analizó si el tiempo de 5 minutos y 15 minutos consiguen la misma reducción microbiana y con un nivel de confianza del 95%, se puede afirmar que los dos tratamientos presentaran valores de reducción muy diferentes. Asimismo, sucedió con el análisis de un tiempo de 5 y 30 minutos, ambos tratamientos distan de sus valores de reducción, para afirmar cuál de ellos es mejor se tendría que observar la tabla C2. No sucedió igual para la comparación de los tratamientos de 15 y 30 minutos, en estos tratamientos se obtienen reducciones similares, no existe la suficiente evidencia estadística para decir lo contrario.

Finalmente, se comparó a los tratamientos en estudio, la aplicación del PAW y la metodología convencional de agua clorada y su valor p fue de 0.0021 el cual es menor que el $\alpha=0.05$ por lo cual se rechaza la hipótesis nula en favor de la alterna, existe evidencia estadística para afirmar que los tratamientos sí tienen diferencias en sus reducciones logarítmicas.

3.4. Diseño de planta

3.4.1. Diagramas

Para la elaboración del diseño de planta se analizó el diagrama básico de ingeniería descrito en el apéndice D, figura D1, las etapas mencionadas en dicho diagrama corresponden únicamente al área de producción, quedan fuera del análisis las oficinas, vestuarios y servicios higiénicos. Se realizó un diagrama de recorrido sencillo en el que se analizó el movimiento del producto, en este caso el camarón dentro del proceso, donde se puede observar gráficamente tiempos de espera e inspección que necesita el camarón en diferentes áreas.

El camarón inicia su llegada en planta y se realiza una inspección del lote recibido, se realiza un análisis de textura y microbiológico para confirmar si

aceptan o rechazan el producto, una vez dentro el producto es transportado hacia las mesas de descabezado donde trabajan varios operarios simultáneamente, finalizada esta operación el producto se transporta hacia la tolva de lavado para realizar la descontaminación en donde hay una espera de alrededor de 30 minutos tiempo que corresponde a 15 minutos de descontaminación empleando PAW y 15 minutos que se considera para que los operarios carguen el camarón dentro de la tolva de lavado.

Otros tiempos de espera que se consideraron dentro del diagrama son para las etapas de Congelado IQF donde el camarón es separado individualmente por los operarios para que puedan ingresar al congelador en espiral y durante 15 minutos reciban el tratamiento de congelación, también en la etapa de tratado el camarón recibe un baño con una solución de metabisulfito para controlar el pardeamiento enzimático.

Por último, otro de los aspectos relevantes visualizados en el diagrama es la inspección de control de metales que se realiza al producto ya congelado antes de ser empacado. Se desarrolló un diagrama de equipos, véase figura D3, este diagrama permitió visualizar todas las operaciones junto con las maquinarias para analizar si existía un uso común del material o equipos previo a realizar el Layout de la planta. En este diagrama se incluye el equipo generador de plasma que será el nuevo responsable de proveer el agua activada hacia la tolva de lavado para que se realice la descontaminación superficial del camarón.

3.4.2. Relación de actividades

Uno de los diagramas más importantes es el de relación de actividades descrito en la tabla D1, se enlistó cada una de las operaciones/actividades y se analizó la dependencia entre una etapa y otra. Se consideró la necesidad de proximidad sea por uso de material común, control, higiene, o la distancia que debían mantener por las mismas razones, incluyendo malos olores, frío y seguridad del producto. Se destacó la necesidad de proximidad para las etapas de descabezado y descontaminación del camarón atribuyéndose la seguridad del producto, dado que una vez que

el camarón es descabezado existe la posibilidad de un riesgo biológico, dado que el camarón es manipulado por el personal.

Otra de las relaciones entre actividades más destacadas es la clasificación y el pelado/desvenado a la cual se calificó como “especialmente importante”. Para esta relación se consideró que necesita de proximidad, por el tiempo que conlleva realizar el proceso de pelado y desvenado. Una vez que el camarón se clasifica este es repartido en las mesas de trabajo y los trabajadores deben realizar la operación para un aproximado de 50 Kg/h.

3.4.3. Necesidades de espacio

Las necesidades de espacio se realizaron bajo las dimensiones y capacidades proporcionadas por una empacadora de camarón en la ciudad de Daule, se detalló el departamento y la actividad que se realiza en dicha área. El equipo y las dimensiones se calcularon con las ecuaciones descritas en la metodología, se obtuvo la superficie de gravitación y superficie de evolución mediante el valor de $K= 0.15$ basado en la literatura, el resumen de las áreas correspondientes de cada departamento se muestra a continuación en la tabla 3.2.

Tabla 3.2 Resumen de las áreas por departamento

Departamento	Área total por departamento (m²)
Recepción	2,25
Descabezado	27,53
Descontaminación	50,66
Clasificación	57,09
Pelado/desvenado	27,53
Tratado	25,88
Congelado IQF	30,36
Control de metales	1,21
Empacado	4,83
Bodega de Producto terminado	450,00
AREA TOTAL REQUERIDA	677,33

Finalmente se sumaron todas las áreas de los departamentos, dando un total de 677,34 m² de necesidad de espacio para el área de producción. Se descartó el espacio de administración y servicios higiénicos dado que estos departamentos se ubican fuera del área de producción. Para más detalle véase *tabla D2*.

3.4.4. Corelap

Una vez que se obtuvo los metros cuadrados por departamento, se empleó la herramienta CORELAP 1.0. En la cual se ingresó la tabla de relación, junto con los valores de las áreas, y el programa proporcionó un Layout que se muestra en la figura 3.2.

El programa empezó la distribución por las áreas coloreadas en color rojo, que suponen una necesidad de proximidad absolutamente necesaria. El orden de los departamentos para el Layout se muestra en la tabla 3.3.

Tabla 3.3 Orden de los departamentos

Ordenamiento de los departamentos por importancia			
#	Departamento	TCR	Superficie (m2)
1	Descontaminación	24	50,66
2	descabezado	20	27,53
3	Clasificación	20	57,09
4	Pelado/desvenado	20	27,53
5	Tratado	19	25,88
6	Congelado IQF	21	30,36
7	Control metales	15	1,21
8	Empacado	16	4,83
9	Almacenamiento	13	450
10	Recepción	12	2,25



Figura 3.2 Layout obtenido de Corelap

3.4.5. Layout

El diseño que se propuso después de la alternativa de Corelap es que las áreas 7, 8 y 9 correspondientes a control de metales, empaçado y almacenamiento respectivamente, empiecen desde el área final juntándose así el área 6 (congelado IQF) y 7 (control de metales) dando lugar a una distribución en “U” y hacia adelante. Si se mantenía la distribución anterior no habría un flujo en las áreas mencionadas, esto se muestra en el apéndice E, figura E1, y las flechas indican el recorrido del flujo en el proceso. El plano final para el diseño de plantas se observa en la figura E2, en este plano se indicó las puertas de acceso para el personal y para el material de proceso.

3.5. Análisis de costos

De acuerdo con la capacidad de producción de la empresa, se estima que puede empaçado 5 ton de camarón congelado IQF al día, es decir que mensualmente se podría empaçado 150 ton de camarón. Esta producción equivale a un aproximado de 7 contenedores mensuales, suponiendo que cada contenedor tenga una capacidad de 20 ton.

Esta capacidad varía dependiendo del cliente y del destino. Si se escala toda la producción para identificar la capacidad de exportación anual, se tiene que aproximadamente se exportan 90 contenedores al año, que equivale a un aproximado de 1800 ton de camarón pelado y desvenado en congelación IQF.

En el cálculo de costos fijos, se incluyen los servicios por mes como sueldos, almuerzos, seguridad en planta y proveedor de internet. Estos valores son fijos puesto que son independientes del volumen de producción. Por otro lado, todas las adquisiciones de bienes tangibles como maquinarias, equipos, artículos de trabajo como gavetas, mesas, etc. son considerados un costo de inversión, con depreciaciones anuales que podrán recuperarse a lo largo del tiempo.

Finalmente, con respecto a los costos variables, se colocaron variantes que dependen directamente del volumen de producción como la materia prima, material de empaque, entre otros (Apéndice F).

En base a todo lo antes mencionado con respecto a costos fijos, variables y de inversión, se calculó el precio de venta al público. Para esto se utilizó los datos de una producción mensual de 150 ton de camarón pelado y desvenado en congelación IQF.

Tabla 3.4 Determinación del P.V.P

Costos de producción mensual	
Costos fijos	\$ 123,300.00
Costos variables	\$ 338,055.00
Costo por Depreciación	\$ 1,717.00
Costo de producción	\$ 463,072.00
Producción mensual	150 ton
Costo unitario de producción	\$ 3.09 / kg
Porcentaje de utilidad	50%
PVP	\$ 4.63 / kg

El precio de venta al público se calculó por kilogramo producido con la tecnología de agua activada por plasma frío. Este camarón es un producto de Clase “A”, nivel de exportación, por lo que supera el precio de venta al público del mercado nacional.

Hay que aclarar que el cálculo de precio de venta al público se realizó para una sola talla de camarón, puesto que los precios varían dependiendo del tamaño, del mercado internacional, incluso del mes de año en el que se

cierre la venta con el cliente. Mientras más grande es el camarón, mayor será su precio de venta o precio de exportación.

Asimismo, el margen de utilidad colocado para el cálculo es del 50%, mismo que está dado por el mercado exportador, siempre se pueden realizar ajustes dependiendo de las necesidades de la empresa. Adicionalmente, se calculó el punto de equilibrio, el cual se muestra en la tabla 3.2. en donde indica la cantidad de kilogramos necesarios por mes para cubrir los costos fijos y variables que se generan en este periodo de tiempo, todo lo que se produzca sobrepasando esta cantidad significa utilidad para la empresa.

Tabla 3.5 Punto de Equilibrio

Costo Variable	\$ 338,055.00
Costo Fijo	\$ 123,300.00
Costo por Depreciación	\$ 1,717.00
Precio de Venta	\$ 4.63
PE	52,508 kg/mes

Con todo este estudio de costos realizado y de acuerdo con lo planteado en esta investigación, se prevé reemplazar el uso de agua clorada en el proceso de producción de camarón, por una alternativa libre de sustancias químicas nocivas, como lo es el agua activada por plasma frío. Al considerar una producción mensual de 150 ton de camarón empacado, significa que estas 150 ton fueron tratadas en la etapa de descontaminación con agua activada por plasma reemplazando el uso de agua clorada que emplea como agente químico al hipoclorito de calcio al 70% y es precisamente esta etapa la que se ha rediseñado.

Por consiguiente, el precio de un tacho de cloro granulado de 45 kg tiene es de aproximadamente \$110 y para una producción de 150 ton se deben dosificar alrededor de 1 tacho de hipoclorito de calcio para el proceso de descontaminación de materia prima, dando como resultado un PVP de \$5.90/kg. De la misma forma, para la generación de PAW se requiere del equipo de alto voltaje que es una tecnología que actualmente está en una etapa de desarrollo. La tecnología tiene un costo de \$60,000 con una

capacidad de 1000L/h, de acuerdo con cálculo del periodo de retorno de la inversión, se estima que dentro del primero año este valor ya sea recuperado. Siendo su PVP de \$4.63/kg del camarón tratado con agua activada por plasma frío; por lo que se puede considerar como un equipo que justifica los costos dentro de la capacidad instalada de la planta. Sin embargo, conseguir un proveedor de PAW representa otra alternativa para el reemplazo del agua clorada en el proceso de descontaminación.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Mediante los análisis realizados se pudo demostrar la eficiencia del agua activada por plasma frío en la reducción microbiana para *E. coli ATCC 11775*. Este método puede considerarse como una alternativa potencial para la descontaminación de las superficies de alimentos siendo una opción más amigable con el medio ambiente ya que contribuye a una reducción de uso de químicos durante el proceso.
- Sin embargo, la comparación de las dos metodologías demostró que el uso de agua clorada es más eficaz con respecto al tiempo, esto es demostrado ya que la reducción microbiana de 4,19 log₁₀ UFC/mL del alimento en contacto con AC se puede conseguir desde un tiempo igual a 5 minutos y no sucede así con el PAW. Este último tratamiento logra una eficacia desde un tiempo igual a 15 minutos y una reducción de 5,25 log₁₀, marcando una diferencia entre la capacidad que tienen ambos tratamientos para conseguir una reducción microbiana en cuanto al tiempo de contacto.
- El diseño de planta se realizó para una empacadora de medidas aproximadas de 800 m², se propuso los espacios mínimamente necesarios para llevar a cabo el flujo de procesamiento incluyendo la metodología propuesta de la descontaminación por PAW. El espacio necesario para esta etapa fue de 50,66 m² espacio considerado para el equipo generador del agua activada por plasma frío y una tolva de lavado de camarón (0,98 m² y 49,68 m², necesidades respectivas) ambos equipos forman parte del mismo departamento y se trabajan en conjunto dado que el agua activada ingresa a la tolva y realiza la descontaminación. Este diseño sugiere una extensión menor a 1 m² en una planta empacadora de camarón común para poder operar bajo la tecnología de agua activada por plasma frío. El

uso de PAW también puede aplicarse a otras etapas del proceso en donde se requiera descontaminación microbiana.

- El Layout que se propuso, tomó en consideración que debe mantenerse el flujo constante y por tanto se realizó un plano que siga una distribución en forma de “U” y hacia adelante. Según la herramienta CORELAP 1.0, el espacio requerido es de 677,34 m² menor que la superficie disponible; es decir, que se consiguió crear una línea de procesos con los espacios mínimos requeridos que permita una ampliación en las áreas de trabajo en el futuro.
- En el análisis de estimación de costos se calculó una producción anual de 1800 toneladas de camarón lo que equivale a un aproximado de 90 contenedores exportados. Con la implementación del equipo productor de plasma que conlleva el rediseño de la línea de descontaminación de camarón, se realizó el análisis de costos en donde el P.V.P. es de \$4.58/Kg, cabe aclarar que este valor varía dependiendo del tamaño del camarón, disponibilidad, época del año y de otras variables independientes al proceso. Al analizar el procedimiento de descontaminación convencional que emplea agua clorada, se tienen un P.V.P de \$5.90/Kg, revelando la gran ventaja competitiva solo al comparar precios de venta al público.

4.2. Recomendaciones

- La obtención del agua activada por plasma frío fue un procedimiento que se realizó en laboratorio con la ayuda de MSc. Andrea Ortega, lo más importante de la producción de agua activada es monitorear todo el tiempo el controlador del equipo sobre todo por la variación de voltajes que puede ocurrir involuntariamente, en este caso se trabajó con un voltaje de 90kV a un t= 10 min, y el tema tiempo también debe ser adecuadamente controlado.

- En cuanto al procedimiento como tal, es necesario que los electrodos estén ubicados paralelamente uno sobre la caja que contiene la muestra de agua estéril y otro por debajo de esta, con sus respectivas barreras dieléctricas.
- Con respecto a las recomendaciones de seguridad que se deben llevar a cabo, se debe permanecer a 2m de distancia del equipo una vez este haya iniciado el proceso. Al finalizar, se debe llevar el voltaje a 0 desde el controlador y proceder a apagar el equipo. Posteriormente se toma el cable a tierra y se toca la parte superior del generador de voltaje que se encuentra en el centro, entre la caja controladora y el equipo de plasma. También se debe tocar con el cable a tierra el equipo generador de plasma.
- Es importante recubrir todas las puntas, partes sobresalientes del equipo, artículos metálicos, para evitar chispas durante el proceso de obtención de PAW. Además, el agua proporcionada por el equipo de laboratorio, fue agua destilada estéril, que nos asegura la inocuidad y la ausencia de microorganismos patógenos que alteren los resultados, esto puede realizarse debido a que se trata de un proyecto a escala laboratorio; al replicar esto para la industria el agua que se utilizaría sería potable, por lo que se debería analizar también a escala laboratorio la viabilidad del agua potable para la creación de agua activada por plasma. Se esperaría tener resultados similares de inactivación de microorganismos.
- Por motivos de tiempo, disponibilidad de equipos y por la situación actual en la que vivimos no se pudo continuar realizando experimentaciones, por lo que es necesario para proyectos futuros demostrar la viabilidad de la aplicación del PAW en la superficie del camarón con cáscara, para analizar la reducción microbiana; no sólo de un microorganismo como en este caso, evaluando también la eficacia del PAW frente a otros microorganismos que son parte de la flora natural del camarón. Así también se recomienda evaluar el efecto en la calidad y frescura, y demás características organolépticas del camarón.

- En cuanto al análisis de costo realizado, la mayoría de los datos utilizados para calcular los costos fijos y variables fueron proporcionados por personas cercanas a la industria, proveedores de equipos, materia prima, material de empaque, entre otros. Sería importante tener acceso a datos de una empresa exportadora de camarón para obtener el P.V.P. y P.E. acorde a esta data más cercana a la realidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Agnarsson, I., Miyashita, T., Smith, D., Masumoto, T., Li, D., & Henaut, Y. (2002). *Proceedings of the*. 30(2), 2002.
- Andrews, L. S., Key, A. M., Martin, R. L., Grodner, R., & Park, D. L. (n.d.). *Chlorine dioxide wash of shrimp and crawfish an alternative to aqueous chlorine*. <https://doi.org/10.1006/fmic.2002.0493>
- Biocide Int, I. (1994). *ECO-Benefits of Oxine-A Chlorine Dioxide Based Antimicrobial*.
- Boehm, D., Heslin, C., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2016). Cytotoxic and mutagenic potential of solutions exposed to cold atmospheric plasma. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep21464>
- Casp, A. (2005). Distribución en planta. In *Diseño de industrias agroalimentarias*.
- Chaiyakosa, S., Chareunjiratragul, W., Umsakul, K., & Vuddhakul, V. (2007). Comparing the efficiency of chitosan with chlorine for reducing *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp. *Food Control*, 18(9), 1031–1035. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.06.008>
- FAO. (2006a). FAO Fisheries & Aquaculture - Programa de información de especies acuáticas - *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). *Programa de Información de Especies Acuáticas Oreochromis*, 9(10), 11–15.
- FAO. (2006b). FAO Fisheries & Aquaculture - Programa de información de especies acuáticas - *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). *Programa de Información de Especies Acuáticas Oreochromis*, 9(10), 11–15.
- Haws, M., Otweel, S., Garrido, L., Garrido, V., & Benner, R. (2002). *Buenas practicas de Sanidad e Inocuidad en la Camaronicultura*.
- INEC. (2012a). *FICHA TÉCNICA DE ACUICULTURA*. https://aplicaciones2.ecuadorencifras.gob.ec/SIN/co_acuicultura.php?id=04210.01.01
- INEC. (2012b). *FICHA TÉCNICA DE ACUICULTURA*. https://aplicaciones2.ecuadorencifras.gob.ec/SIN/co_acuicultura.php?id=04210.01.01

- Liao, X., Su, Y., Liu, D., Chen, S., Hu, Y., Ye, X., Wang, J., & Ding, T. (2018). Application of atmospheric cold plasma-activated water (PAW) ice for preservation of shrimps (*Metapenaeus ensis*). *Food Control*, 94(April), 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.026>
- Lopez, Andres. (2003). Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. *ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN*.
- Lu, H., Patil, S., Keener, K. M., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2014). Bacterial inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma: Influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA. *Journal of Applied Microbiology*, 116(4), 784–794. <https://doi.org/10.1111/jam.12426>
- Morales, V., García, O., Lara, C., & Cuéllar, J. (2010). *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón blanco Penaeus vannamei*. Organismo internafile:///C:/Users/Oscar Soriano/Documents/Buenas Prácticas Acuícolas/225254.pdfcional regional OIRSA .
- OIRSA. (2020). Guía para uso de cloro como desinfectante en establecimientos. *Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria*.
- Pankaj, S. K., Bueno-Ferrer, C., Misra, N. N., Milosavljević, V., O'Donnell, C. P., Bourke, P., Keener, K. M., & Cullen, P. J. (2014). Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 35(1), 5–17. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.009>
- Promega. (2009). *Griess Reagent System Technical Bulletin, TB229*. www.promega.com
- Sharma, H. P., Patel, A. H., & Pal, M. (2021). Effect of Plasma Activated Water (PAW) on Fruits and Vegetables. *American Journal of Food and Nutrition*, 9(2), 60–68. <https://doi.org/10.12691/ajfn-9-2-1>
- Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundell, R., Gatt, R., & Valdramidis, V. P. (2018a). Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 77). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.007>
- Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundell, R., Gatt, R., & Valdramidis, V. P. (2018b). Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. In *Trends in*

Food Science and Technology (Vol. 77). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.007>

- Tian, Y., Ma, R., Zhang, Q., Feng, H., Liang, Y., Zhang, J., & Fang, J. (2015). Assessment of the physicochemical properties and biological effects of water activated by non-thermal plasma above and beneath the water surface. *Plasma Processes and Polymers*, 12(5), 439–449. <https://doi.org/10.1002/ppap.201400082>
- Traylor, M. J., Pavlovich, M. J., Karim, S., Hait, P., Sakiyama, Y., Clark, D. S., & Graves, D. B. (2011). Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44(47), 3–7. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/44/47/472001>
- Xu, Y., Tian, Y., Ma, R., Liu, Q., & Zhang, J. (2016). Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Food Chemistry*, 197, 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.144>
- Yost, A. D., & Joshi, S. G. (2015). Atmospheric nonthermal plasma-treated PBS inactivates *Escherichia coli* by oxidative DNA damage. *PLoS ONE*, 10(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139903>

APÉNDICES

APÉNDICE A

Tabla A.1 Análisis microbiológico para PAW

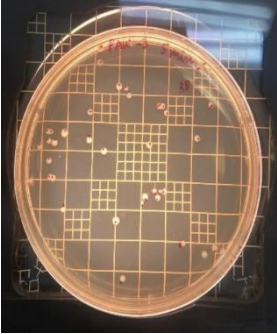
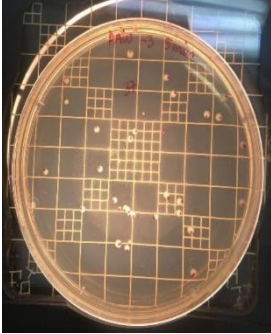
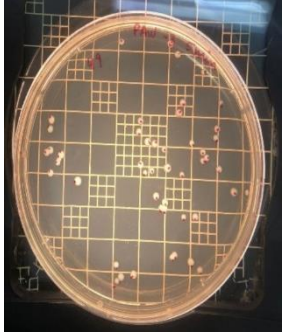
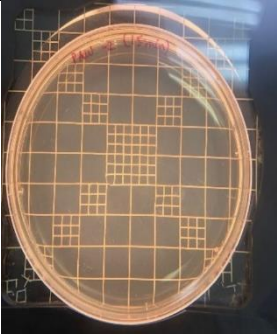
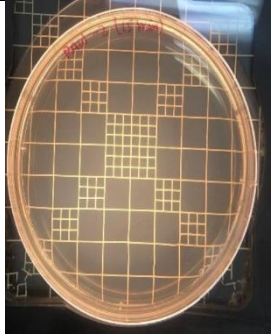
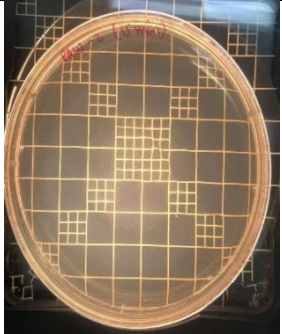
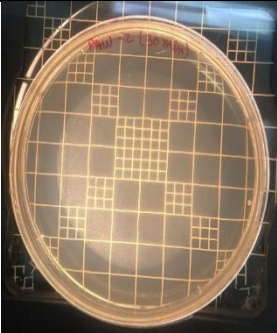
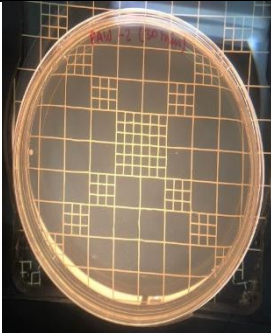
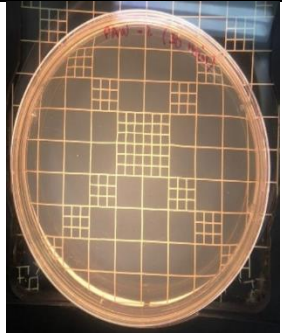
5 min. de contacto del microorganismo con PAW		
		
15 min. de contacto del microorganismo con PAW		
		
30 min. de contacto del microorganismo con PAW		
		

Tabla A.2 Análisis microbiológico para muestras de control

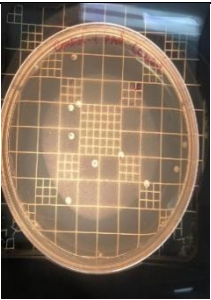

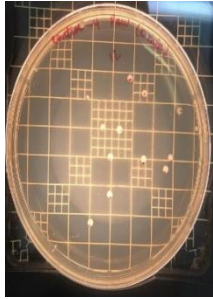
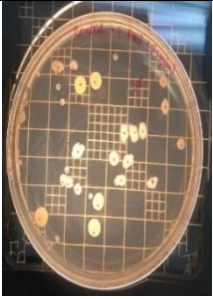
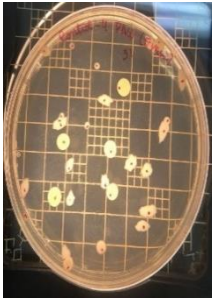
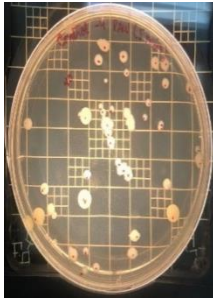
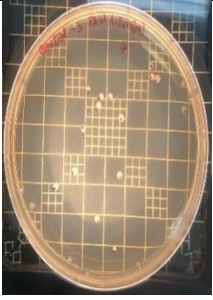
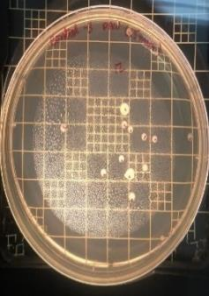
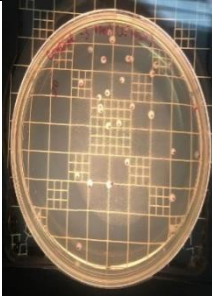
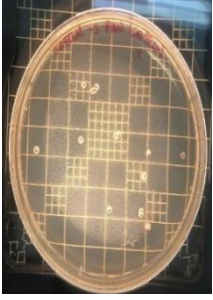
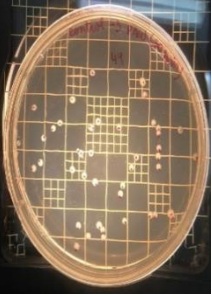
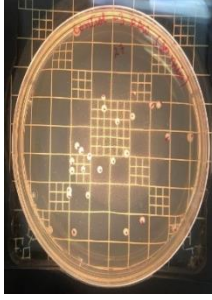
E. coli en contacto con agua destilada en tiempo 0		
		
E. coli en contacto con agua destilada en tiempo 5 min.		
		
E. coli en contacto con agua destilada en tiempo 15 min.		
		
E. coli en contacto con agua destilada en tiempo 30 min.		
		

Tabla A.3 Recuento de placas en unidades log (UFC/mL)

REP	TYPE	TIME	TRT	COUNT
1	PAW	5	C	5,48
2	PAW	5	C	5,49
3	PAW	5	C	5,60
1	PAW	5	T	5,69
2	PAW	5	T	5,58
3	PAW	5	T	5,57
1	PAW	15	C	5,48
2	PAW	15	C	5,08
3	PAW	15	C	5,20
1	PAW	15	T	0,00
2	PAW	15	T	0,00
3	PAW	15	T	0,00
1	PAW	30	C	5,23
2	PAW	30	C	5,43
3	PAW	30	C	5,64
1	PAW	30	T	0,00
2	PAW	30	T	0,00
3	PAW	30	T	0,00
1	AC	5	C	5,56
2	AC	5	C	5,52
3	AC	5	C	5,40
1	AC	5	T	0,00
2	AC	5	T	0,00
3	AC	5	T	4,00
1	AC	15	C	5,41
2	AC	15	C	5,32
3	AC	15	C	5,52
1	AC	15	T	0,00
2	AC	15	T	0,00
3	AC	15	T	0,00
1	AC	30	C	5,08
2	AC	30	C	4,78
3	AC	30	C	4,90
1	AC	30	T	0,00
2	AC	30	T	0,00
3	AC	30	T	0,00

APÉNDICE B

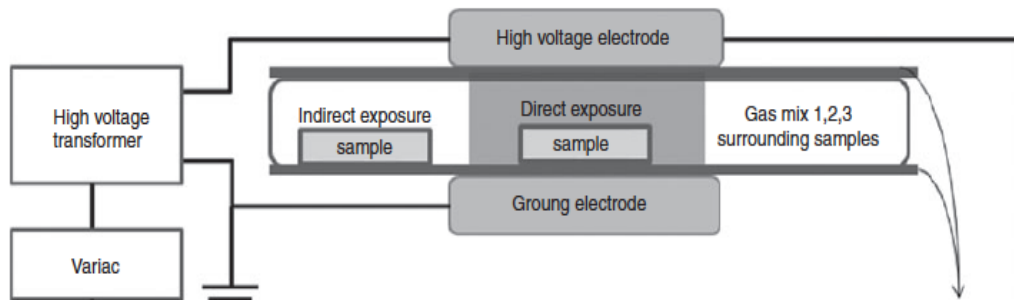


Figura B1. Diagrama de generación de PAW (Lu et al., 2014)

APÉNDICE C

Tabla C.1 Mínimos cuadrados

TYPE	TIME	TRT	count LSMEAN	Standard Error	Pr > t	LSMEAN Number
AC	5	C	5.49333333	0.38966272	<.0001	1
AC	5	T	1.33333333	0.38966272	0.0022	2
AC	15	C	5.41666667	0.38966272	<.0001	3
AC	15	T	0.00000000	0.38966272	1.0000	4
AC	30	C	4.92000000	0.38966272	<.0001	5
AC	30	T	-0.00000000	0.38966272	1.0000	6
PAW	5	C	5.52333333	0.38966272	<.0001	7
PAW	5	T	5.61333333	0.38966272	<.0001	8
PAW	15	C	5.25333333	0.38966272	<.0001	9
PAW	15	T	0.00000000	0.38966272	1.0000	10
PAW	30	C	5.43333333	0.38966272	<.0001	11
PAW	30	T	0.00000000	0.38966272	1.0000	12

Tabla C.2 Mínimos cuadrados por tratamiento

Least Squares Means for Effect TYPE*TIME*TRT t for H0: LSMean(i)=LSMean(j) / Pr > t Dependent Variable: count												
ij	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		7.549001 <.0001	0.139124 1.0000	9.968552 <.0001	1.040407 0.9947	9.968552 <.0001	-0.05444 1.0000	-0.21776 1.0000	0.435519 1.0000	9.968552 <.0001	0.10888 1.0000	9.968552 <.0001
2	-7.549 <.0001		-7.40988 <.0001	2.419552 0.4305	-6.50859 <.0001	2.419552 0.4305	-7.60344 <.0001	-7.76676 <.0001	-7.11348 <.0001	2.419552 0.4305	-7.44012 <.0001	2.419552 0.4305
3	-0.13912 1.0000	7.409877 <.0001		9.829428 <.0001	0.901283 0.9984	9.829428 <.0001	-0.19356 1.0000	-0.35688 1.0000	0.296395 1.0000	9.829428 <.0001	-0.03024 1.0000	9.829428 <.0001
4	-9.96855 <.0001	-2.41955 0.4305	-9.82943 <.0001		-8.92815 <.0001	0 1.0000	-10.023 <.0001	-10.1863 <.0001	-9.53303 <.0001	0 1.0000	-9.85967 <.0001	0 1.0000
5	-1.04041 0.9947	6.508594 <.0001	-0.90128 0.9984	8.928145 <.0001		8.928145 <.0001	-1.09485 0.9920	-1.25817 0.9771	-0.60489 1.0000	8.928145 <.0001	-0.93153 0.9979	8.928145 <.0001
6	-9.96855 <.0001	-2.41955 0.4305	-9.82943 <.0001	0 1.0000	-8.92815 <.0001		-10.023 <.0001	-10.1863 <.0001	-9.53303 <.0001	0 1.0000	-9.85967 <.0001	0 1.0000
7	0.05444 1.0000	7.603441 <.0001	0.193564 1.0000	10.02299 <.0001	1.094847 0.9920	10.02299 <.0001		-0.16332 1.0000	0.489959 1.0000	10.02299 <.0001	0.16332 1.0000	10.02299 <.0001
8	0.21776 1.0000	7.76676 <.0001	0.356884 1.0000	10.18631 <.0001	1.258167 0.9771	10.18631 <.0001	0.16332 1.0000		0.653279 0.9999	10.18631 <.0001	0.326639 1.0000	10.18631 <.0001
9	-0.43552 1.0000	7.113482 <.0001	-0.2964 1.0000	9.533033 <.0001	0.604888 1.0000	9.533033 <.0001	-0.48996 1.0000	-0.65328 0.9999		9.533033 <.0001	-0.32664 1.0000	9.533033 <.0001
10	-9.96855 <.0001	-2.41955 0.4305	-9.82943 <.0001	0 1.0000	-8.92815 <.0001	0 1.0000	-10.023 <.0001	-10.1863 <.0001	-9.53303 <.0001		-9.85967 <.0001	0 1.0000
11	-0.10888 1.0000	7.440121 <.0001	0.030244 1.0000	9.859673 <.0001	0.931527 0.9979	9.859673 <.0001	-0.16332 1.0000	-0.32664 1.0000	0.326639 1.0000	9.859673 <.0001		9.859673 <.0001
12	-9.96855 <.0001	-2.41955 0.4305	-9.82943 <.0001	0 1.0000	-8.92815 <.0001	0 1.0000	-10.023 <.0001	-10.1863 <.0001	-9.53303 <.0001	0 1.0000	-9.85967 <.0001	

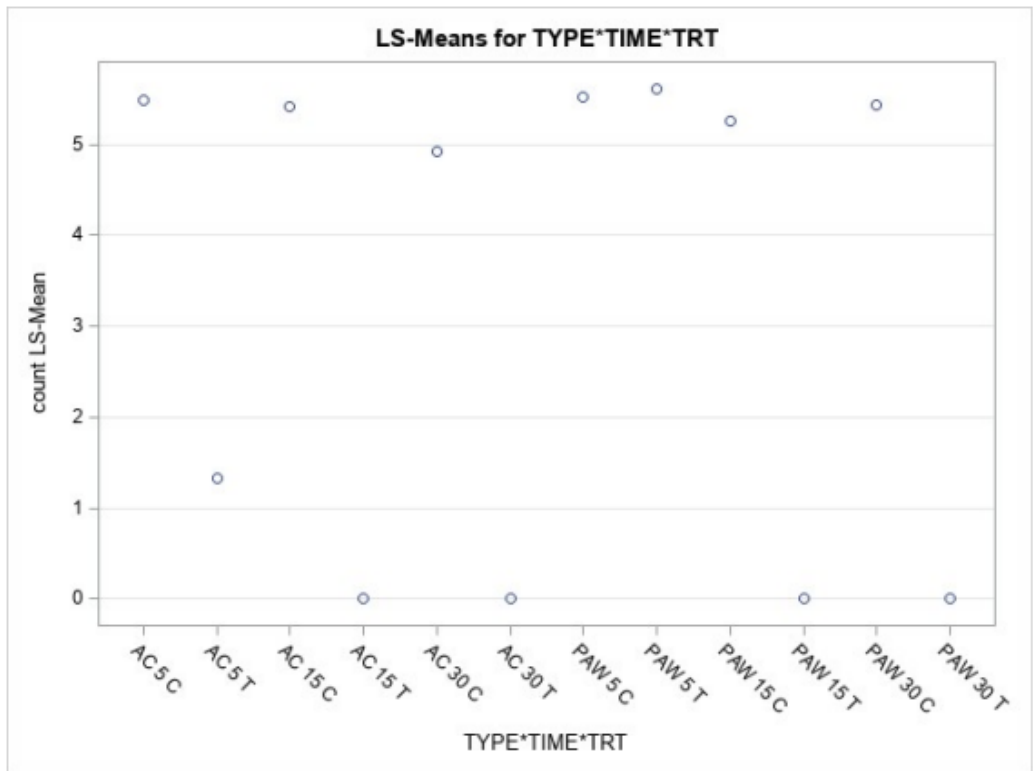


Figura C.1 Representación gráfica de mínimos cuadrados por tratamiento

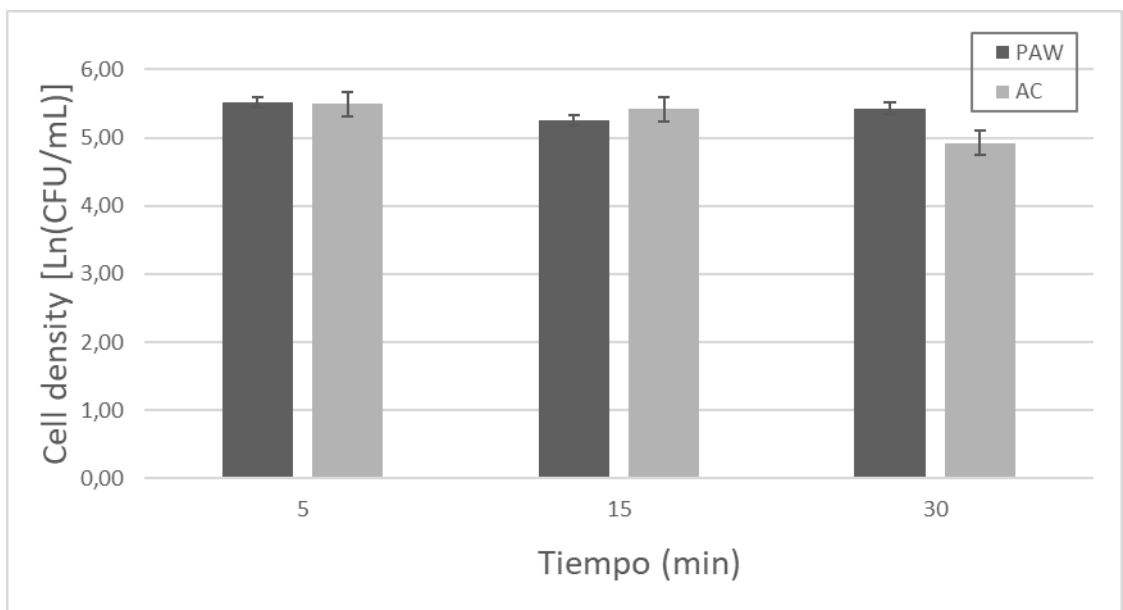


Figura C.2 Densidad celular sin tratamiento

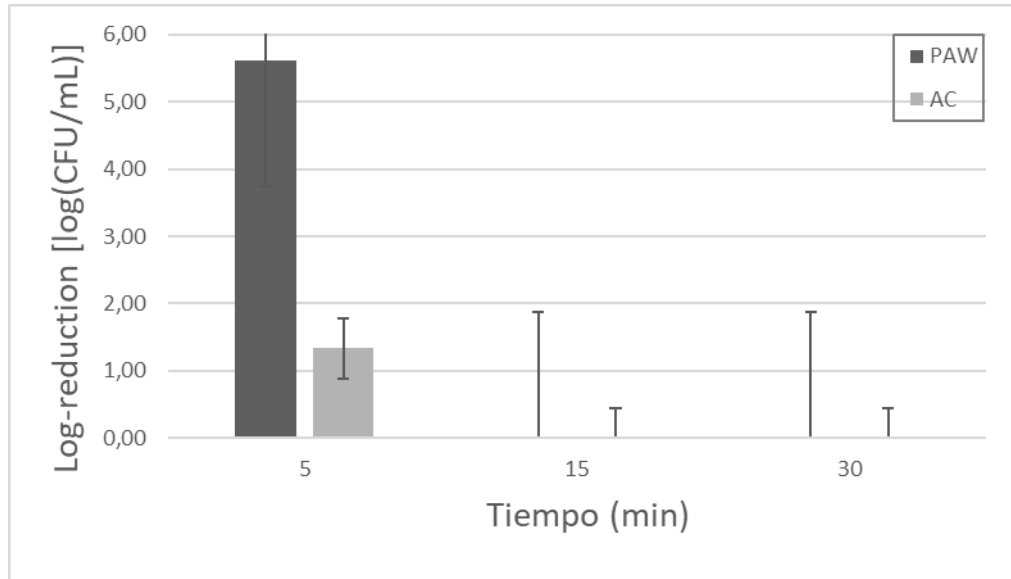


Figura C.3 Reducción logarítmica después de los tratamientos

Tabla C.3 Comparación entre los tratamientos

Contrast	DF	Contrast SS	Mean Square	F Value	Pr > F
control vs treatment	1	157.4188444	157.4188444	345.59	<.0001
5 vs 15	1	19.9472667	19.9472667	43.79	<.0001
5 vs 30	1	21.7170375	21.7170375	47.68	<.0001
15 vs 30	1	0.0376042	0.0376042	0.08	0.7763
PAW vs AC	1	5.4289000	5.4289000	11.92	0.0021

APÉNDICE D

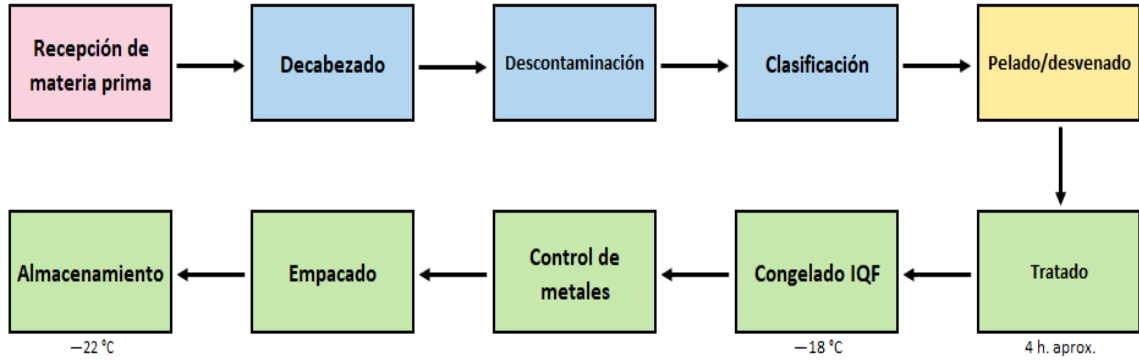


Figura D.1 Diagrama básico del proceso

1

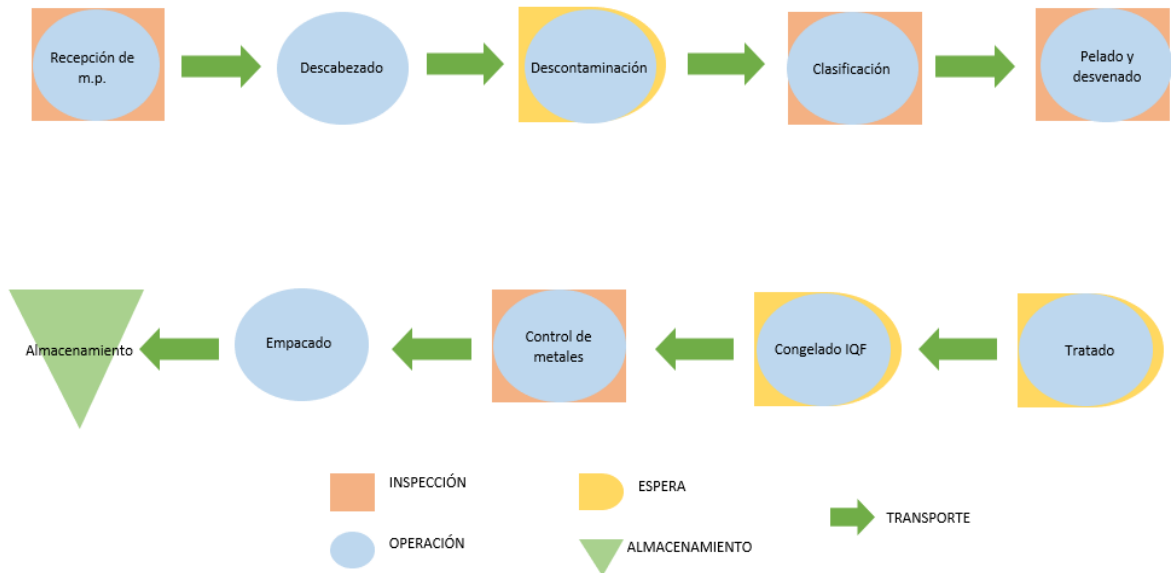


Figura D.2 Diagrama de Recorrido sencillo

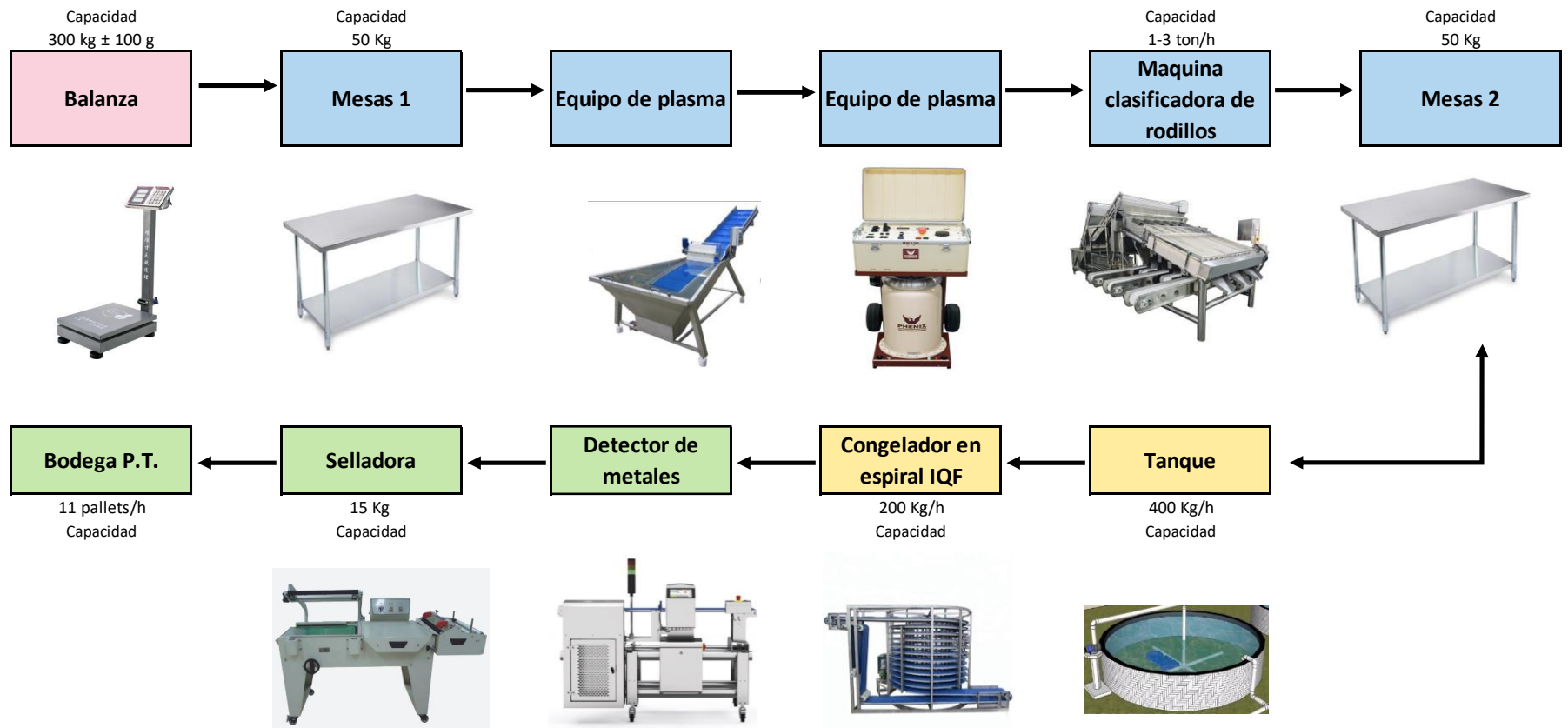


Figura D.3 Diagrama de Equip

Tabla D.1 Diagrama de Relación de Actividades



n	10		
N	45		
	MIN	MAX	REAL
A	1	2	1
E	1	5	2
I	2	7	4
O	5	11	6
U	-		13
X	-		19

Figura D.4 Límites para establecer una prioridad

Tabla D.2 Necesidades de espacio

	Departamento	Actividad	Equipo	Capacidad [kg/h]	Largo (m)	Ancho (m)	Altura (m)	Ss (ESTATICA)					Sg (GRAVITACION)		Se (EVOLUCION)		Total Ss+Sg+Se	Área total por departamento
								Medidas			Volumen	Área	# Lados usados	Área m ²	Coeficiente K	Área m ²		
								Largo (m)	Ancho (m)	Altura (m)	m ³	m ²						
1	Recepción	M.P. camarón	Balanza industrial	300	0,7	0,7	1	0,7	0,7	1	0,49	0,49	3	1,47	0,15	0,294	2,254	2,25
2	Descabezado	Se retira la cabeza al animal	Mesas de trabajo de acero inoxidable	50	11,4	0,7	0,9	11,4	0,7	0,9	7,182	7,98	2	15,96	0,15	3,591	27,531	27,53
3	Descontaminación	Descontaminación de la superficie del camarón	Tolva de lavado de camarón	-	4	3,6	2	4	3,6	2	28,8	14,4	2	28,8	0,15	6,48	49,68	50,66
			Equipo de plasma	-	0,572	0,743	1,27	0,572	0,743	1,27	0,5397449	0,425	1	0,424996	0,15	0,1274988	0,9774908	
4	Clasificación	Se separa por tallas	Maquina clasificadora de rodillos	2700	6,8	3,65	3,6	6,8	3,65	3,6	89,352	24,82	1	24,82	0,15	7,446	57,086	57,09
5	Pelado/desvenado	Se retira la piel y venas del camarón	Mesas de trabajo de acero inoxidable	50	11,4	0,7	0,9	11,4	0,7	0,9	7,182	7,98	2	15,96	0,15	3,591	27,531	27,53
6	Tratado	Se somete a una solución de metabisulfito	Tanques	400	3	2,5	1,266	3	2,5	1,266	9,495	7,5	2	15	0,15	3,375	25,875	25,88
7	Congelado IQF	Se congela rápidamente a -18°C	Congelador en espiral	200	4	3,3	2,1	4	3,3	2,1	27,72	13,2	1	13,2	0,15	3,96	30,36	30,36
8	Control de metales	Se pasa el producto por un detector	Detector de metales físicos	-	1,5	0,35	0,8	1,5	0,35	0,8	0,42	0,525	1	0,525	0,15	0,1575	1,2075	1,21
9	Empacado	Se guarda en bolsas plásticas	Maquina selladora industrial	15	1,4	1	0,9	1,4	1	0,9	1,26	1,4	2	2,8	0,15	0,63	4,83	4,83
10	Bodega de Producto terminado	Se almacena a -22°C	-	-	15	15	4	15	15	4	900	225	1	225	0	0	450	450,00
																	677,332	677,33

APÉNDICE E

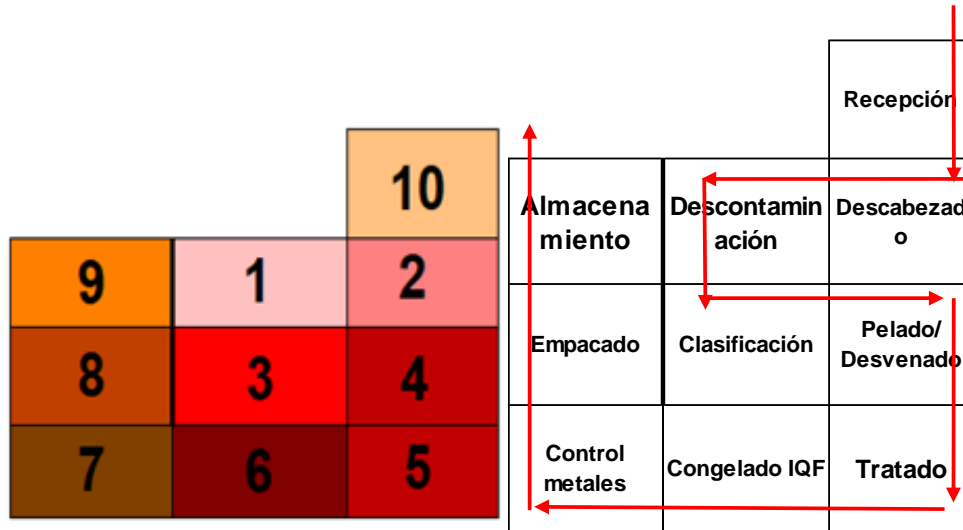


Figura E.1 Propuesta de diseño basado en Solución de CORELAP 1.0

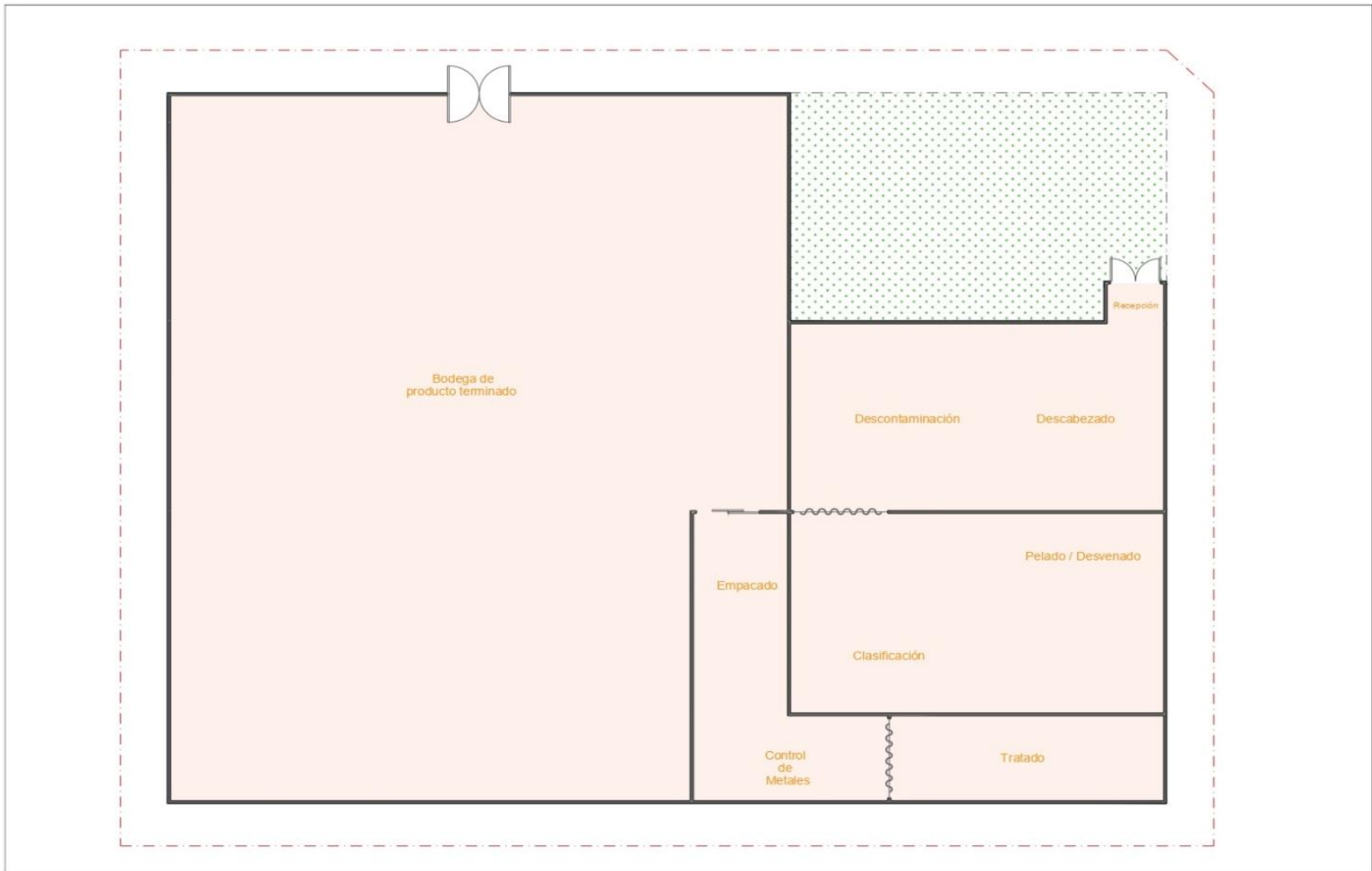


Figura E.2 Propuesta de diseño basado en Solución de CORELAP 1.0

APÉNDICE F

Tabla F.1 Costo y depreciación de equipos

Inversion inicial y depreciacion anual

cant	Maquinarias	costo unitario	costo total	vida util (años)	depreciacion anual por equipo	depreciacion anual total
1000	Gavetas	\$ 7.50	\$ 7,500.00	2	3.75	3750
18	Mesas de acero inoxidable	\$ 300.00	\$ 5,400.00	10	30	540
6	Tanques de tratado	\$ 1,000.00	\$ 6,000.00	5	200	1200
3	Balanza 300 kg	\$ 400.00	\$ 1,200.00	10	40	120
10	Balanza pequeña	\$ 175.00	\$ 1,750.00	10	17.5	175
1	Tolva de lavado	\$ 5,000.00	\$ 5,000.00	20	250	250
1	Maquina clasificadora	\$ 20,000.00	\$ 20,000.00	20	1000	1000
1	Espiral IQF	\$ 70,000.00	\$ 70,000.00	20	3500	3500
1	Montacargas	\$ 5,000.00	\$ 5,000.00	10	500	500
3	Yales	\$ 1,200.00	\$ 3,600.00	5	240	720
1	Silo de hielo	\$ 75,000.00	\$ 75,000.00	20	3750	3750
1	Generador de Plasma	\$ 45,000.00	\$ 45,000.00	10	4500	4500
1	Inversion por obra fisica	\$ 15,000.00	\$ 15,000.00	25	600	600
Costo de inversion		\$ 238,082.50	\$ 245,450.00		\$ 14,031.25	\$ 20,605.00

Tabla F.2 Costos fijos

Costos Fijos

Costos fijos	costo/dia	costo semanal	costo mensual	costo total anual
Sueldos	\$ 4,150.00	\$ 29,050.00	\$ 116,200.00	\$ 1,394,400.00
Almuerzo	\$ 200.00	\$ 1,200.00	\$ 4,800.00	\$ 57,600.00
Internet	\$ 0.83	\$ 25.00	\$ 100.00	\$ 1,200.00
Seguridad	\$ 18.33	\$ 550.00	\$ 2,200.00	\$ 26,400.00
Total costos fijos	\$ 4,369.17	\$ 30,825.00	\$ 123,300.00	\$ 1,479,600.00

Tabla F.3 Costos variables

Costos Variables

Costos Variables	costo/dia	costo semanal	costo mensual	costo total anual
Materia prima	\$ 10,000.00	\$ 70,000.00	\$ 280,000.00	\$ 3,360,000.00
Material de empaque	\$ 1,071.43	\$ 7,500.00	\$ 30,000.00	\$ 360,000.00
Luz	\$ 714.29	\$ 5,000.00	\$ 20,000.00	\$ 240,000.00
Agua	\$ 285.71	\$ 2,000.00	\$ 8,000.00	\$ 96,000.00
Total costos variables	\$ 431,353.93	\$ 528,550.00	\$ 338,065.00	\$ 4,056,000.00

Tabla F.4 Flujo de Caja

Flujo de caja				
AÑOS / FLUJOS	0	1	2	3
Flujo de caja	\$ (60,000.00)	\$ 231,392.92	\$ 200,540.00	\$ 250,000.00
Flujo de caja acumulado	\$ (60,000.00)	\$ 171,392.92	\$ 371,932.92	\$ 621,932.92

Tabla F.5 Periodo de Retorno de Inversión

Periodo	0
Flujo acumulado	\$ 60,000.00
Flujo de caja neto	\$ 231,392.92
PRI	0.26