

Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos



Convenio cooperativo UCR-MICT-MAG

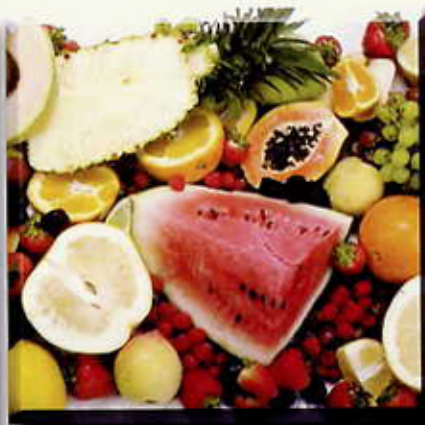
volumen 8-2001

ISSN 1022-0321



Reviteca

Revista de Tecnología y Ciencia Alimentaria



Revista anual publicada por el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora del CITA

Floribeth Viquez Rodríguez

Editor

Lic. Vera García Cortés

Consejo Editorial

M. Sc. Floribeth Viquez Rodríguez

M. Sc. Ruth De la Asunción Romero

Ph. D. Ana Ruth Bonilla Leiva

Lic. Vera García Cortés

Diseño de Portada

Carlos Fernández

Diagramación

Guiselle Cascante Salazar

La responsabilidad de los trabajos firmados es de sus autores y no del CITA, excepto cuando se indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o procedimiento patentado no supone su aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden reproducirse libremente siempre y cuando se haga mención expresa de su procedencia y se envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia para canje y suscripciones Universidad de Costa Rica - Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos REVITECA

San José - Costa Rica

Email: cita@cita.ucr.ac.cr

Tels. 207-4701/207-3457 / 207-3431 / 207-3457

La presente edición de REVITECA es patrocinada por la Fundación para la Investigación Agroindustrial Alimentaria (FIAA).

Reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo utilizando soluciones de dióxido de cloro gaseoso

1

Wong, Eric
Linton, Richard H.

Programa de rondas interlaboratorios de análisis de alimentos (PRIDAA): evaluación del desempeño analítico en el periodo 1998-2000

7

Lois, Mónica

Efecto del almacenamiento en refrigeración sobre las características químicas del coco (*Cocos nucifera* Linn.)

15

Pineda, María Lourdes
Kopper, Gisela

Calidad sanitaria del camarón (*Penaeus brevivirostris*, *Solenocera agassizi* y *S. florea*) que se expende en el Área Metropolitana de San José

21

Zúñiga, Cira
Vargas, Elizabeth
García, Vera

Extracción y caracterización parcial del almidón de banano verde utilizando una pectinasa

28

Bonilla, Ana Ruth
Morúa, Glenn

Nota Técnica

Los "acaritos blancos" (Insecta: Psocoptera): una plaga erróneamente interpretada en la industria de Costa Rica

36

Jirón, Luis Fernando
Vargas, Mario

REDUCCIÓN DE *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* EN PIEL DE CERDO UTILIZANDO SOLUCIONES DE DIÓXIDO DE CLORO GASEOSO

Wong, Eric* y Linton, Richard H.**

ABSTRACT

REDUCTION OF *Salmonella senftenberg* AND *Escherichia coli* ON PORK SKIN USING CHLORINE DIOXIDE GAS SOLUTIONS

The reduction of *Salmonella senftenberg* and *Escherichia coli* on pork skin using chlorine dioxide gas was studied. Samples of pork skin were aseptically excised from the ham area and inoculated with approximately $8 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ of *Salmonella senftenberg* or *Escherichia coli*. Total logarithmic reductions for both microorganisms were determined after treating the samples for 60 and 600 s with chlorine dioxide gas solutions of the following concentrations: 0, 294, 588, 784 and 1046 mg/L. Total logarithmic reductions observed for *S. senftenberg* were significantly smaller than those observed for *E. coli* ($p < 0.05$). For *S. senftenberg* no significant difference was found among the reductions for 60 or 600 s ($p > 0.05$). For both contact times reductions found for chlorine dioxide gas solutions were not different from those found for the control ($p > 0.05$). All reductions found for *S. senftenberg* ranged from $0.0 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ to $0.4 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$. Reductions found for *E. coli* were significantly higher when treated during 600 s compared to a 60 s treatment ($p < 0.05$). A maximum reduction of $3.2 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$ was found for a concentration of 294 mg/L applied for 600 s. This reduction was different from the one found for the control ($p < 0.05$) and not significantly different from those observed at higher concentrations ($p > 0.05$). Results presented in this study demonstrate the antimicrobial effect of chlorine dioxide gas solutions for *E. coli* on pork skin. This indicates a potential use of chlorine dioxide gas solutions to establish a pathogen reduction strategy that can allow the pork industry to comply with regulations set for *E. coli*. Since similar treatments were not useful to reduce levels of *S. senftenberg*, such a strategy will only provide a partial solution.

Key words: *Salmonella senftenberg*, *Escherichia coli*, pork skin, chlorine dioxide.

RESUMEN

Se estudió la reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo utilizando dióxido de cloro gaseoso. Se tomaron asépticamente muestras de piel de cerdo del área de la pierna y se inocularon con aproximadamente $8 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$ de *S. senftenberg* o *E. coli*. Para ambos microorganismos, se determinaron las reducciones logarítmicas totales después de tratar las muestras por 60 ó 600 s con soluciones de dióxido de cloro gaseoso con concentraciones de 0, 294, 588, 784 y 1046 mg/L. Las reducciones logarítmicas totales observadas para *S. senftenberg* fueron significativamente menores ($p < 0.05$) que las observadas para *E. coli*. Para *S. senftenberg*, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las reducciones determinadas a 60 s y 600 s. Para ambos tiempos de contacto, las reducciones logradas con todas las soluciones de dióxido de cloro gaseosos no fueron diferentes ($p > 0.05$) de la lograda con el control. Todas las reducciones encontradas para *S. senftenberg* oscilaron entre 0.0 y $0.4 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$. En el caso de *E. coli*, las reducciones fueron mayores ($p < 0.05$) cuando los tratamientos se aplicaron por 600 s comparadas con las obtenidas por 60 s. Para este microorganismo la máxima reducción ($3.2 \log_{10} \text{ufc/cm}^2$) se observó para la solución de 294 mg/L aplicada por 600 s. Esta reducción fue diferente ($p < 0.05$) a la encontrada para el control, y no difirió significativamente ($p > 0.05$) de las reducciones observadas a concentraciones mayores. Los resultados de esta investigación demuestran el efecto antimicrobiano de soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre *Escherichia coli* en la superficie de piel de cerdo. Bajo las mismas condiciones, estas soluciones no tuvieron efecto de reducción sobre *S. senftenberg*. Esto indica un posible uso del dióxido de cloro gaseoso en una estrategia parcial de reducción de patógenos que ayude a la industria a cumplir las normas

Palabras clave: *Salmonella senftenberg*, *Escherichia coli*, piel de cerdo, dióxido de cloro.

* Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica

** Department of Food Science, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47906

INTRODUCCIÓN

Una estrategia de reducción de patógenos puede definirse como el proceso que reduce o elimina microorganismos patógenos y otros microorganismos asociados presentes en los alimentos (USDA, 1996). Estas etapas utilizan agentes físicos o químicos, con efecto antimicrobiano, que permiten la eliminación o disminución de estos microorganismos a niveles aceptables.

Durante las operaciones de matanza es imposible evitar la contaminación de las canales con el contenido fecal del animal (Dickson & Anderson, 1992). Esto representa uno de los aspectos más críticos que enfrenta la industria cárnica desde el punto de vista de calidad e inocuidad. Aunque la mayoría de la flora bacteriana transferida a la canal durante las operaciones de matanza es no patógena, algunos patógenos como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Campylobacter spp.* y *Listeria monocytogenes* pueden estar presentes (Dickson & Anderson, 1992; Hardin *et al.*, 1995). Las estrategias de reducción de patógenos pueden ayudar a controlar la presencia de estos microorganismos.

Como parte de las regulaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para la industria cárnica (USDA, 1996), se han definido niveles máximos aceptables para el recuento de *E. coli* y para la incidencia de *Salmonella spp.* en canales después del proceso de matanza. A pesar de que actualmente no se requieren por ley, las estrategias de reducción de patógenos son recomendadas como complemento para los programas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP). El establecimiento de dichas estrategias en los procesos de matanza puede contribuir a reducir o mantener los niveles de *E. coli* y *Salmonella spp.* dentro de los márgenes exigidos por ley.

Por su efecto antimicrobiano comprobado, los compuestos clorinados han sido utilizados extensamente en la industria alimentaria como agentes de desinfección de superficies y equipos. Recientemente se ha reconocido al dióxido de cloro gaseoso como un agente antimicrobiano que presenta algunas ventajas sobre otros compuestos clorinados (Reina *et al.*, 1995). Entre las ventajas más importantes se pueden citar su efecto bactericida independiente del pH, mayor actividad contra esporas bacterianas, y baja peligrosidad al no reaccionar

con compuestos nitrogenados para producir cloraminas (Aieta *et al.*, 1984).

De acuerdo con Bernarde *et al.* (1967), las propiedades antimicrobianas de los compuestos clorinados se conocen desde hace mucho tiempo, y en el caso del dióxido de cloro el poder de oxidación es 2,5 veces mayor comparado con el cloro. Lillard (1979) encontró que una concentración de dióxido de cloro tiene un poder bactericida 7 veces mayor que la misma concentración de cloro en agua. El uso del dióxido de cloro va en aumento, pues el compuesto ha sido incorporado en la formulación de productos químicos que se utilizan con frecuencia en la industria alimentaria en procesos de limpieza y desinfección (Odling, 1981).

Se han realizado varios estudios para evaluar el uso del dióxido de cloro en procesos relacionados con alimentos. Reina *et al.* (1995) estudiaron el control de microorganismos durante el procesamiento de pepino agregando dióxido de cloro al agua de enfriamiento. Estos autores encontraron que el dióxido de cloro puede utilizarse con éxito para evitar el aumento de la población bacteriana en las aguas de enfriamiento, pero no es efectivo sobre la población presente en la superficie o interior del vegetal. Foegeding *et al.* (1986) comprobaron la inactivación de las esporas de *Bacillus* y *Clostridium* utilizando dióxido de cloro gaseoso. Villareal *et al.* (1990) determinaron que la dosificación lenta y progresiva de dióxido de cloro es útil para reducir, e inclusive eliminar, *Salmonella spp.* en canales de pollo.

Lin *et al.* (1996) demostraron el efecto antimicrobiano de soluciones de dióxido de cloro gaseoso (concentraciones entre 7,5 y 15 ppm) sobre *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* Scott A en trozos de pescado. Cutter & Dorsa (1995) evaluaron el uso de la atomización con soluciones de dióxido de cloro gaseoso en procesos de lavado para reducir la contaminación fecal en canales de res. Estos autores encontraron que los lavados por atomización son efectivos en concentraciones alrededor de 20 ppm.

Las estrategias de reducción de patógenos basadas en el uso de soluciones de dióxido de cloro gaseoso podrían ser útiles para reducir la contaminación microbiana superficial en la piel de las canales de cerdo. Esto podría ayudar a que esta industria cárnica cumpla con los requisitos legales que han sido establecidos por el USDA (1996) para *Salmonella spp.* y *E. coli*. Con base en lo anterior, se planteó como objetivo de este estudio, evaluar el efecto de

soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre la reducción de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en piel de cerdo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras de piel de cerdo

Se tomaron muestras de piel de cerdo de la zona de la pierna utilizando cuchillo y pinza estériles, y siguiendo las técnicas asépticas se obtuvieron trozos de 300 cm² (30 cm X 10 cm) de superficie y 1 cm de espesor. Las muestras se tomaron de canales con menos de 2 h de refrigeración después del proceso de matanza. Todas las muestras fueron colocadas asépticamente en bolsas WhirlpackTM estériles y transportadas inmediatamente al laboratorio.

Cepas bacterianas e inoculación

Las muestras de piel de cerdo fueron colocadas sobre una superficie de acero inoxidable estéril para ser inoculadas. Las superficies de las muestras fueron inoculadas con *Salmonella senftenberg* (aislada de carne de cerdo en Virginia Polytechnical Institute, Virginia) o *Escherichia coli* GM 1829. Para ello se utilizaron cultivos en fase estacionaria propagados del cultivo madre a 37°C por 18 h de forma estática en caldo tripticasa soya (Difco Laboratories, Detroit, MI). El cultivo madre de cada cepa se mantuvo a 4°C en tubos con agar tripticasa soya (Difco Laboratories, Detroit, MI) inclinado y fue transferido al menos una vez al mes durante el desarrollo de la investigación.

Para la inoculación de las muestras de piel de cerdo se tomó una alícuota del cultivo puro sin diluir. Esta alícuota se esparció cuidadosamente sobre la superficie de las muestras con una brocha estéril para obtener una carga inicial aproximada de 8 log₁₀cfu/cm². Se dejó secar el inóculo por 15 min a 25°C antes de aplicar los tratamientos con las soluciones de dióxido de cloro gaseoso. El inóculo que se colocó en la superficie de las muestras se consideró como la única fuente del microorganismo, ya que el recuento total de bacterias mesófilas (Vanderzant y Splittstoesser,

1992) en la piel de cerdo antes de la inoculación fue menor que 10 ufc/cm².

Soluciones de dióxido de cloro gaseoso

Para generar el dióxido de cloro gaseoso se utilizó el generador CDG High Performance Chlorine Dioxide Gas Generator (CDG Technologies Inc, New York, NY). Se utilizó dióxido de cloro gaseoso balanceado con 4% de nitrógeno para generar 8% de dióxido de cloro gaseoso sobre nitrógeno con una densidad de 2840 mg/L. La solución madre de dióxido de cloro se obtuvo inyectando el gas en agua destilada y se mantuvo a 4°C en la oscuridad.

La concentración de la solución madre (1494 mg/L) se determinó utilizando el método de valoración DPD-FEAS para cloro total (HACH Co., Ames, Iowa). Se generó una curva de calibración correspondiente a la concentración de dióxido de cloro gaseoso en función del volumen del reactivo empleado en la valoración (valorante) y se obtuvo la siguiente ecuación para el mejor ajuste de dicha curva:

$$[\text{ClO}_2] = [0,02 (\text{volumen valorante en mL}) + 0,09] \text{mg/L} \quad (r^2 = 0,99)$$

Una vez determinada la concentración de la solución madre, se prepararon las soluciones con la concentración a ensayar (294, 588, 784 y 1046 mg/L) utilizando equipo volumétrico calibrado para realizar las diluciones necesarias. Estas soluciones se mantuvieron a 4°C en la oscuridad hasta su uso (menos de 1 h después de preparadas).

Determinación de las reducciones logarítmicas totales

Las reducciones logarítmicas totales para *S. senftenberg* y *E. coli* sobre piel de cerdo fueron determinadas para soluciones de dióxido de cloro gaseoso con concentraciones de 294, 588, 784 y 1046 mg/L aplicadas a la superficie por 60 ó 600 s (tiempo de contacto). Se trabajó también un control con agua destilada estéril (0,0 mg/L) para ambos tiempos de contacto.

Después de la inoculación con el microorganismo correspondiente, los trozos de 300 cm² fueron

asépticamente divididos con un cuchillo estéril para obtener trozos de 9 cm² (3 cm X 3 cm) de área. El cuchillo fue sumergido en alcohol y flameado entre cada corte. Para cada microorganismo, cada tratamiento se aplicó por triplicado utilizando trozos que fueron inoculados de forma independiente.

Para determinar la carga inicial después de la inoculación se utilizó un trozo sin tratamiento. Los tratamientos se llevaron a cabo colocando 45 mL de la solución correspondiente en una placa de Petri y sumergiendo el trozo de piel inoculado durante el tiempo de contacto correspondiente (60 ó 600 s). Los trozos se manipularon con pinzas estériles.

Para determinar la carga inicial o la carga remanente después de cada tratamiento se siguió la técnica de recuento total aerobio según Vanderzant y Splittstoesser (1992). Cada trozo de piel fue homogeneizado en 9 mL de agua peptonada al 0,1% durante 1 min en un Stomacher (Stomacher Lab Blender 400, London). A partir del homogeneizado se prepararon diluciones decimales de las cuales 1 mL fue colocado, por duplicado, en PetrifilmTM para recuento total aerobio (3M, Minneapolis, MN), el cual se incubó a 37°C por 48 h. El recuento se expresó en log₁₀ufc/cm².

La reducción logarítmica total para cada tratamiento (combinación de concentración y tiempo de contacto) se determinó calculando la diferencia entre el logaritmo₁₀ del recuento obtenido después del tratamiento y el logaritmo₁₀ del recuento inicial.

Diseño experimental y análisis de datos

El experimento correspondió a un diseño irrestricto aleatorio en un arreglo factorial 2 X 5 X 2 (microorganismo, concentración de la solución y tiempo de contacto, respectivamente) con tres repeticiones. Para evaluar las diferencias entre las reducciones logarítmicas totales observadas para cada microorganismo, concentración de la solución y tiempo de contacto, se realizó una análisis de variancia con una prueba de Scheffe's para comparación de promedios. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si la probabilidad asociada

fue menor que 0,05 ($p < 0,05$). Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudió el efecto del tiempo de contacto y de la concentración de diferentes soluciones de dióxido de cloro gaseoso sobre las reducciones logarítmicas totales de *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en la superficie de piel de cerdo. Los resultados se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Reducciones logarítmicas totales promedio (log₁₀ufc/cm²) para *Salmonella senftenberg* y *Escherichia coli* en superficie de piel de cerdo expuesta a diferentes tiempos de contacto con soluciones de diferente concentración de dióxido de cloro gaseoso¹

Concentración de OCl ₂ (mg/L)	<i>Salmonella senftenberg</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	60 s	600 s	60 s	600 s
0	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,1 ^b
294	0,1 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,0 ± 0,1 ^b	3,2 ± 0,1 ^a
588	0,4 ± 0,4 ^a	0,2 ± 0,5 ^a	2,4 ± 1,1 ^a	3,4 ± 0,8 ^a
784	0,0 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,7 ^a	3,7 ± 0,2 ^a
1046	0,0 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,4 ^a	2,7 ± 2,7 ^a	3,3 ± 3,1 ^a

¹ Los promedios se muestran con el intervalo de confianza de 95%. Los promedios en una misma columna, con letras minúsculas diferentes, son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En general, las reducciones logarítmicas totales observadas para *S. senftenberg* fueron menores ($p < 0,05$) que las observadas para *E. coli*. No hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) entre las reducciones de *S. senftenberg* encontradas para ambos tiempos de contacto, por lo que un aumento de 10 veces (de 60 a 600 s) en el tiempo de exposición no produjo una reducción mayor en el caso de este microorganismo.

Para ambos tiempos de contacto, las reducciones determinadas para las soluciones de dióxido de cloro gaseoso (294, 588, 784 y 1046 mg/L) no fueron diferentes a la reducción encontrada para el control (0,0 mg/L),

por lo que esta cepa de *S. senftenberg* resiste soluciones de dióxido de cloro gaseoso de hasta 1046 mg/L. Los valores encontrados, entre 0,0 y 0,4 log₁₀ ufc/cm², indican que ninguna de las condiciones ensayadas en esta investigación podría utilizarse para establecer una estrategia de reducción de patógenos que ayude a reducir o eliminar a *S. senftenberg* en la superficie de piel de cerdo.

Para un tiempo de contacto de 60 s, no se encontró diferencia ($p > 0,05$) en las reducciones de *E. coli* obtenidas para el control (0,0 mg/L) y la solución de 294 mg/L. Por otra parte, y para este mismo tiempo de contacto, las reducciones obtenidas para las soluciones de 588, 784 y 1046 mg/L no difirieron entre sí ($p > 0,05$), pero sí fueron mayores ($p < 0,05$) que las encontradas para la solución de 294 mg/L y el control (0,0 mg/L).

Cuando las muestras inoculadas con *E. coli* se trataron por 600 s, las reducciones observadas para las soluciones de 294, 588, 784 y 1046 mg/L fueron mayores ($p < 0,05$) que las observadas para el control (0,0 mg/L). Sin embargo, esas reducciones no fueron diferentes entre sí ($p > 0,05$), indicando que la máxima reducción logarítmica total para *E. coli* (3,2 log₁₀ ufc/cm²) se alcanzó, a 600 s, con la solución de 294 mg/L. Esta última representa la condición del estudio que produjo una mayor reducción de *E. coli* en la superficie de piel de cerdo, dado que a 600 s las reducciones de *E. coli* fueron mayores ($p < 0,05$) que a 60 s.

Ya que aún no se ha definido la concentración máxima permitida para soluciones de dióxido de cloro gaseoso que se utilizan en productos de cerdo, es claro que debe recomendarse el uso de la concentración más baja que garantiza la máxima reducción.

Las condiciones antes mencionadas, que garantizan una reducción de 3,2 log₁₀ ufc/cm² de *E. coli* en la superficie de piel de cerdo, podrían utilizarse con éxito en el establecimiento de un tratamiento superficial de la canal de cerdo que ayude a esta industria cárnica a cumplir con los niveles exigidos por ley para *E. coli*. Sin embargo, por el poco éxito obtenido bajo las mismas condiciones con la cepa usada de *S. senftenberg*, ese tratamiento sería únicamente una solución parcial.

REFERENCIAS

- AIETA, E. M., ROBERTS, P. V., & HERNANDEZ, M. 1984. Determination of chlorine dioxide, chlorine, and chlorate in water. J. Am. Water Works Assoc. 76: 64-70.
- BERNARDE, M. A., SNOW, W.B., OLIVIERI, V. P., & DAVISON, B. 1967. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. Appl. Microbiol. 15:257-259.
- CUTTER, C. N. & DORSA, W. J. 1995. Chlorine dioxide spray washes for reducing fecal contamination on beef. J. Food. Prot. 58:1294-1296
- DICKSON, J. S. & ANDERSON, M. E. 1992. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. J. Food Prot. 55:133-140.
- FOEGEDING, P. M., HEMSTAPAT, V. & GIESBRECHT, F.G. 1986. Chlorine dioxide inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spores. J. Food. Sci. 51:197-201.
- HARDIN, M. D., ACUFF, G. R., LUCIA, L. M., OMAN, J. S. & SAVELL, J. W. 1995. Comparison of methods for decontamination from beef carcass surfaces. J. Food Prot. 58:368-374.
- LILLARD, H. S. 1979. Levels of chlorine and chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in poultry processing water. J. Food. Sci. 44:1594-1597.
- LIN, W., HUANG, T., CORNELL, J. A., LIN, C. & WEI, C. 1996. Bactericidal activity of aqueous chlorine and chlorine dioxide solutions in a fish model system. J. Food. Sci. 61: 1030-1035.
- ODLANG, T. E. 1981. Antimicrobial activity of halogens. J. Food. Prot. 44:608-611.

REINA, L. D., FLEMING, H.P. & HUMPHRIES, E.G. 1995. Microbiological control of cucumber hydrocooling water with chlorine dioxide. J. Food. Prot. 58:541-546.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 1996. Pathogen Reduction: Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule. Federal Regulation 61:38805-38855.

VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D.F. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. American Public Health Association, Washington DC.

VILLAREAL, M. E., BAKER, R.C. & REGENSTEIN, J.M. 1990. The incidence of *Salmonella* on poultry carcasses following the use of slow release chlorine dioxide (Alcidac). J. Food. Prot. 53:465-501.