



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Bioquímica y Farmacia

“Determinación de bacterias ácido lácticas e identificación de las fuentes de contaminación en los productos cárnicos terminados empacados al vacío”

**Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Bioquímico Farmacéutico**

Autoras:

Mayra Alejandra Fernández Yanza

CI: 0106825185

Correo electrónico: alehmfy30@gmail.com

Bertha Janneth Morocho Quichimbo

CI: 0105058481

Correo electrónico: janneth.morochoq@gmail.com

Director:

Ing. David Enrique Vanegas Jácome

CI: 0104046057

Cuenca- Ecuador

21-febrero-2020

RESUMEN

En el presente estudio se determinó la carga microbiológica de bacterias ácido lácticas en 4 productos cárnicos empacados al vacío: jamón sandwichero 200 g, mortadela especial 400 g, picaditas 450 g y salchicha freír ternera 450 g con la finalidad de establecer un instructivo interno referencial e identificar las fuentes de contaminación dentro del área de empacado en una empresa de embutidos de la ciudad de Cuenca.

El procedimiento de muestreo de los productos cárnicos se obtuvo a partir de NTE INEN-ISO 2859-1:2009 y se analizaron un total de 82 muestras por duplicado obtenidas en condiciones normales e ideales de empacado, las cuales fueron distribuidas en 3 o 4 tiempos de análisis (según tiempo de vida útil) y fueron almacenadas en condiciones normales e ideales de almacenamiento. Para la toma de muestra de las superficies se empleó el método del hisopo de acuerdo a la norma sanitaria peruana MINSA y se analizaron un total de 68 muestras por duplicado en condiciones normales e ideales de empacado.

Se determinó que las fuentes de contaminación corresponden a; equipos, utensilios y manipuladores, ocasionado una contaminación biológica secundaria o contaminación cruzada. Se estableció el instructivo interno referencial aplicable en la etapa antes de liberación del producto en donde consta que; el límite crítico para el jamón sandwichero 200 g mayor a $1,5 \times 10^2$ UFC/g, mortadela especial 400 g $1,1 \times 10^2$ UFC/g, picaditas 450 g 5×10^2 UFC/g y salchicha freír ternera 450 g $8,2 \times 10^2$ UFC/g.

Palabras Claves: Bacterias ácido lácticas. Empaque al vacío. Fuentes de contaminación. Superficies en contacto.

ABSTRACT

In the present study the microbiological load of lactic acid bacteria was measured for 4 vacuum-packed meat products: 200 g sandwich ham, 400 g special bologna, 450 g assorted deli meats and 450 g beef sausage for frying, with the aim of establishing an internal referential instruction and identify contamination sources in the packing area at a cold meat company in the city of Cuenca.

Sampling process was obtained from NTE INEN-ISO 2859-1:2009, and a total of 82 samples for duplicate collected under normal and ideal packing conditions were analyzed, which were distributed in 3 or 4 testing times (according to shelf life) and were stored under normal and ideal storage conditions. The swab method was used for collecting the surface samples, in accordance with Peruvian health standard MINSa, and a total of 68 samples were analyzed in duplicate under normal and ideal packing conditions.

It was determined that sources of contamination were equipment, utensils and handlers, resulting in secondary biological contamination or cross contamination. Furthermore, an internal reference instruction was established, applicable at the stage before release of the product, which provides rejection levels as follows: for 200 g sandwich ham greater than $1,5 \times 10^2$ CFU/g, 400 g special bologna $1,1 \times 10^2$ CFU/g, 450 g assorted deli meats 5×10^2 CFU/g and 450 g beef sausage $8,2 \times 10^2$ CFU/g.

Keywords: Lactic acid bacteria. Vacuum-packing. Contamination sources. Contact surfaces.

INDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
AGRADECIMIENTOS	14
DEDICATORIA	15
INTRODUCCIÓN	16
1. MARCO TEÓRICO	18
1.1 CARNE	18
1.2 CARNE PROCESADA	18
1.3 CALIDAD DE LA CARNE Y DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS	18
1.4 VALOR NUTRICIONAL DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS	20
1.5 ALTERACIONES MICROBIOLÓGICAS EN LOS PRODUCTOS CÁRNICOS	21
1.6 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS	22
1.6.1 CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CONSERVACIÓN	22
1.7 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS	28
1.7.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES	28
1.7.2 CLASIFICACIÓN	29
1.7.3 METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS	29
1.8 HINCHAZÓN O “SOPLAMIENTO DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS”	32
1.9 CONTAMINACIÓN MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS	32
1.9.1 FASES DE FORMACIÓN DEL BIOFILM	33
1.9.2 RESISTENCIA DE LOS BIOFILMS A LOS BIOCIDAS	35
1.10 CONTROL HIGIÉNICO DE LAS SUPERFICIES	36
2. METODOLOGÍA	38
2.1 Tipo de estudio	38
2.2 Área de estudio	38
2.3 Muestreo y toma de muestra de los productos cárnicos	38
2.4 Muestreo y toma de muestra de las superficies en contacto en el área de empacado	40
2.5. Materiales, equipos y reactivos	42
2.6 Método de análisis	43
2.6.1 Placas Petrifilm para recuento de bacterias ácido-lácticas	43
2.6.2 Placas Petrifilm para el recuento de aerobios	43



2.6.3 Obtención de la dilución ideal para la siembra de los productos cárnicos y superficies en contacto	43
2.6.4 Procedimiento para establecer las cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos	44
2.6.5 Procedimiento para el análisis microbiológico de los productos cárnicos	44
2.6.6 Procedimiento para el análisis microbiológico de las superficies en contacto	45
2.7 Manejo de datos estadísticos	45
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
3.1 Estudio de BAL en las superficies en contacto.....	47
3.1.1 Jamón Sanduchero 200g	47
3.1.2 Mortadela Especial 400g.....	49
3.1.3 Picaditas 450 g	50
3.1.4 Salchicha de Freír ternera de 450 g	52
3.2 Relación porcentual de BAL de las superficies en contacto	53
3.3 Determinación de cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos empacados al vacío.....	54
3.3.1 Jamón Sanduchero 200 g	54
3.3.2 Picaditas 450 g	56
3.3.3 Mortadela especial 400 g	58
3.3.4 Salchicha freír ternera 450 g (y el límite)	60
3.4 Resultados del deterioro fisicoquímico de los productos cárnicos	61
3.4.1 pH	61
3.4.2 Nitratos y nitritos.....	62
3.5 Estudio de aerobios mesófilos	62
3.5. Instructivo Interno referencial.....	64
4. CONCLUSIONES	68
5. RECOMENDACIONES	70
6. REFERENCIAS.....	71
ANEXOS.....	76
Anexo 1. Código alfabético del tamaño de la muestra.....	77
Anexo 2. Guía de interpretación 3M® Petrifilm™ Bacterias ácido lácticas	78
Anexo 3. Tabla de la dilución ideal.....	83
Anexo 4. Tabla de resultados de BAL en superficies en contacto.....	84
Anexo 5. Tabla de resultados de las cargas microbiológicas de BAL en los.....	86



productos cárnicos	86
Anexo 6. Tabla de resultados de las cargas microbiológicas de BAL en las piezas de los productos después de cocción	86
Anexo 7. Tabla de características organolépticas	87
Anexo 8. Tabla de análisis fisicoquímico de los productos cárnicos.....	88
Anexo 9. Tabla de resultados de Aerobios Mesófilos.....	89

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las BAL con los géneros más relevantes en alimentación y salud.	29
Tabla 2. Tamaño de muestra según el tamaño del lote del producto y el nivel de inspección general según las tablas de letras y códigos del tamaño de muestra obtenida de la NTE INEN- ISO 2859-1:2009.....	39
Tabla 3. Cronograma de toma de muestras en el área de empaçado.....	40
Tabla 4. Cronograma de toma de muestra de las superficies en contacto en condiciones normales	40
Tabla 5. Cronograma de toma de muestra de las superficies en contacto en condiciones ideales.....	41
Tabla 6. Instructivo interno referencial de BAL de autoría propia.	64

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mioglobina; estructura proteica globina y el grupo hemo.	19
Figura 2. Estados de la mioglobina y sus tonalidades.	20
Figura 3. Métodos de preservación empleados en la industria alimentaria.	23
Figura 4. Transformación de la nitrosilmioglobina.	25
Figura 5. Vía homofermentativa de la glucosa por BAL.	30
Figura 6. Vía heterofermentativa de la glucosa por BAL.	31
Figura 7. Fases de formación del biofilm: 1) Acondicionamiento, 2) Adhesión celular, 3 y 4) Formación y maduración y 5) Desprendimiento y dispersión de bacterias.	35
Figura 8. Concentración de BAL en las superficies en contacto del jamón sandwichero..	47
Figura 9. Concentración de BAL en las superficies en contacto de la mortadela especial	49
Figura 10. Concentración de BAL en las superficies en contacto de las picaditas.	50
Figura 11. Cargas microbiológicas de BAL en las superficies en contacto de Salchicha Freír ternera.	52
Figura 12. Porcentajes de BAL en las superficies en contacto.	53
Figura 13. Cargas microbiológicas de BAL en el jamón sandwichero	54
Figura 14. Cargas microbiológicas de BAL en las picaditas.....	56
Figura 15. Cargas microbiológicas de BAL en la mortadela especial.....	58
Figura 16. Cargas microbiológicas de BAL en la salchicha freír ternera	60
Figura 17. Recuento de aerobios mesófilos en cuatro etapas de elaboración de los productos cárnicos.	63

CLÁUSULAS

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Mayra Alejandra Fernández Yanza en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Determinación de bacterias ácido lácticas e identificación de las fuentes de contaminación en los productos cárnicos terminados empacados al vacío”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 21 de febrero de 2020



Mayra Alejandra Fernández Yanza

C.I: 0106825185

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional

Bertha Janneth Morocho Quichimbo en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Determinación de bacterias ácido lácticas e identificación de las fuentes de contaminación en los productos cárnicos terminados empacados al vacío”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 21 de febrero de 2020



Bertha Janneth Morocho Quichimbo

C.I: 0105058481



Cláusula de Propiedad Intelectual

Mayra Alejandra Fernández Yanza, autora del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas e identificación de las fuentes de contaminación en los productos cárnicos terminados empacados al vacío", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 21 de febrero de 2020

Mayra Alejandra Fernández Yanza

C.I: 0106825185



Cláusula de Propiedad Intelectual

Bertha Janneth Morocho Quichimbo, autora del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas e identificación de las fuentes de contaminación en los productos cárnicos terminados empacados al vacío", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 21 de febrero de 2020

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'B' and 'M' followed by a surname.

Bertha Janneth Morocho Quichimbo

C.I: 0105058481

GLOSARIO

Ahumado: es un procedimiento en el cual el producto se trata con humo generado por madera o materia vegetal que arde sin llama.

Sal de cura: es el resultado de la combinación de los nitratos y/o nitritos (0,4 %) y sal sódica.

Dosis máxima de uso: es la concentración más alta de un aditivo respecto de la cual la comisión del Codex Alimentarius ha determinado que es funcionalmente eficaz en un alimento o categoría de alimentos y ha acordado que es inocua.

Canal: es el cuerpo de animal de abasto desprovisto de la totalidad de las vísceras torácicas y abdominales excepto el riñón. Puede incluir o no las cabezas o las patas.

Curado: es una técnica de preservación que a más de la adicción de cloruro de sodio se añaden sales curantes permitidas (nitrato y/o nitritos de sodio ó potasio) y adyuvantes (azúcares, fosfatos, ascorbatos, entre otros).

Contaminación cruzada directa: los alimentos crudos contaminan a alimentos preparados.

Contaminación cruzada indirecta: los microorganismos llegan al alimento al entrar en contacto directo con utensilios de trabajo o manos del operador.

Biofilms: se refiere a la asociación compleja de una o múltiples especies microbianas encapsuladas en una matriz laxa de polímeros extracelulares fijadas a una superficie sólida

Glicocálix: es el material polimérico extracelular producido por algunas bacterias, sirve de protección y permite que las bacterias se unan a superficies inertes o a otras bacterias.

Biocidas: son las sustancias activas y preparados destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar e impedir la acción de cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos.

Aclarado: es el proceso que elimina la suciedad que se ha disuelto y los residuos de los detergentes y desinfectantes utilizados mediante la aplicación de agua potable a media-baja presión, normalmente fría o templada.

Contaminación biológica secundaria: es aquella que se produce en los alimentos durante su manipulación y preparación. Los microorganismos pueden pasar a los alimentos directamente al hablar, toser o estornudar, a través de las manos, utensilios, agua e incluso por contaminación cruzada entre distintos tipos de alimentos.

Oquedad: es el espacio hueco en el interior de un cuerpo sólido.



AGRADECIMIENTOS

“Solamente una persona que es constante llega hasta el final de su meta propuesta”

En primer lugar, agradecemos a Dios por iluminar cada paso de nuestros caminos, por bendecirnos y por permitirnos alcanzar una meta más de nuestras vidas.

Agradecemos a la empresa de embutidos de la ciudad de Cuenca por brindarnos la apertura en la realización de este proyecto de titulación. A todo el personal que labora dentro de las instalaciones especialmente al departamento de control de calidad formando por el Ing. Juan Pablo Nieves, Dra. Ana Durán, Ing. Leoncio Gutiérrez y BQF Verónica Cárdenas por guiarnos con sus valiosos conocimientos y experiencia con temas relacionados a nuestro proyecto.

A nuestros padres por alentarnos, por ser nuestra fortaleza y apoyo incondicional durante el aprendizaje académico.

Queremos expresar nuestros sinceros agradecimientos al Ing. David Vanegas Jácome docente de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca por aceptar el rol de Director de tesis, por su paciencia, tiempo, confianza y por comprometerse fielmente con el desarrollo y culminación del proyecto de manera exitosa.



DEDICATORIA

A nuestros padres por brindarnos palabras de amor, por inculcarnos valores y enseñarnos que el camino hacia el éxito se logra con mucha perseverancia y sacrificio.

A nuestros hermanos por ser nuestra motivación, ejemplo de superación y lucha constante contra las adversidades de la vida.

A nuestros amigos que fueron testigos y participes de nuestro esfuerzo y dedicación durante nuestra travesía universitaria.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, existen aproximadamente 561 plantas procesadoras de alimentos registradas con certificación en BPM; 12 de estas se encuentran en la línea de producción nacional de carnes y derivados y 4 se encuentran establecidas en la provincia del Azuay según la base de datos de la agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARSCA) (ARCSA, 2019). Estos productos son elaborados bajo la norma del RTE INEN 056 la cual tiene como objetivo “establecer los requisitos que debe cumplir la carne y los productos cárnicos con la finalidad de prevenir los riesgos para la salud y la vida de las personas y evitar prácticas que pueden inducir a error a los usuarios”. Actualmente en el país el consumo de los productos cárnicos empacados al vacío se ha incrementado debido a la facilidad y comodidad de su preparación, por lo cual los consumidores son exigentes respecto a la calidad e inocuidad de los mismos, siendo la apariencia y el color los principales responsables de la decisión de compra y consumo (Munne, 2014).

Una empresa de embutidos de la ciudad de Cuenca presenta una alta tasa de devoluciones en sus productos empacados debido a la pérdida de vacío por la posible presencia de BAL en los siguientes productos cárnicos: picaditas 450 g, mortadela especial 400 g, jamón sandwichero 200 g y salchicha freír ternera 450 g.

El grado de manipulación, las superficies en contacto, el pH de la carne y la temperatura de almacenamiento son factores que influyen en el desarrollo microbiano y reducen la vida útil de los productos cárnicos (Sanchez, 2015). A pesar de que las BAL son consideradas inofensivas para la salud del consumidor es importante cuantificar las concentraciones de este tipo de microorganismos que se encuentran en el producto cárnico terminado antes de su comercialización para así evitar que la empresa de embutidos continúe presentado pérdidas económicas a causa de las devoluciones de los productos por “pérdida del vacío” lo cual afecta la calidad sensorial del producto. Por cuanto, para conocer si los productos cárnicos terminados presentan cargas microbiológicas de BAL es fundamental establecer un instructivo interno referencial de uso exclusivo de la empresa. La identificación de las fuentes de contaminación permite conocer la presencia de BAL dentro del área de empaclado; así, la empresa podría tomar las respectivas acciones correctivas para disminuir las cargas microbianas de BAL.

En el siglo XX, alrededor de los años 70, aparecieron las primeras bolsas de envasado al vacío y luego en el año 1995 Parry describió la tecnología de envasado al vacío como el método de preservación más simple y eficaz de modificar la atmósfera interna de un envase (Agudelo Flórez, Agudelo Flórez, & Agudelo Flórez, 2009). Hoy en día, el empleo del envasado al vacío conjuntamente con películas impermeables o de bajas tasas de transmisión al oxígeno ayudan a conservar, proteger, mantener la integridad y la calidad del producto al evitar la contaminación química y microbiana durante el manejo y/o almacenamiento (Seideman & Durland, 2010). Sin embargo, en estas condiciones pueden estar presentes las BAL, las cuales no necesitan oxígeno para su proliferación y desarrollo, toleran la presencia de nitritos y pH bajo, por lo cual son consideradas bacterias alterantes ya que su actividad metabólica produce acidez, decoloración, producción de CO₂, exudado lechoso y pérdida de sabores/olores (Gustavo Buelvas Salgado & Restrepo Flores, 2012) .

HIPÓTESIS

El producto cárnico empacado al vacío al estar en contacto con determinadas superficies y en diferentes procesos (corte/rebanado, pesado y el empacado) dentro del área de empacado favorece la contaminación y posterior proliferación de bacterias ácido lácticas productoras de “soplamiento” o hinchazón del empaque.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la carga microbiológica de bacterias ácido lácticas en productos cárnicos terminados empacados al vacío para establecer una normativa de referencia interna e identificar las posibles fuentes de contaminación dentro del área de empacado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar mediante un análisis microbiológico la presencia de BAL en cuatro productos cárnicos terminados empacados al vacío elaborados dentro de la empresa.
- Realizar el análisis microbiológico de BAL de las superficies en contacto dentro del área de empacado de los productos cárnicos tanto en condiciones ideales como en condiciones normales.
- Determinar la carga inicial de bacterias ácido lácticas presentes en el producto cárnico recién empacado y la carga final una vez que el producto cárnico ha cumplido su tiempo de vida útil (30 y 45 días).



1. MARCO TEÓRICO

1.1 CARNE

La INEN lo define como “Tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor), comestible, sano y limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano” (Nte_inen_1217-2, 2013).

1.2 CARNE PROCESADA

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2015 definió como “carne procesada” o “embutido” a la carne que ha sufrido un proceso de transformación mediante procesos de salazón, curado, fermentado y ahumado con la finalidad de conservarla y mejorar su sabor. Es elaborada a partir de carne picada, grasas, vísceras u otros subproductos comestibles de origen animal, con la adición de especias (sal y condimentos) y de otras sustancias permitidas (fosfatos, eritorbatos y aditivos conservantes) (OMS, 2015; Vindas, 2018).

1.3 CALIDAD DE LA CARNE Y DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

La calidad es un término subjetivo fijada por el consumidor que está determinada por factores como: apariencia, color, olor, sabor, textura, jugosidad y composición (coeficiente magro-graso), siendo el color el factor que más influye en la aceptabilidad de los consumidores. Inmediatamente al sacrificio del animal, los métodos de control de calidad al que es sometida la canal sirven para brindar productos cárnicos inocuos y determinan en gran medida sus atributos de calidad sensorial (Toldr & Flores, 2007).

▪ **Color de la carne**

Las proteínas, la alimentación, la edad, la especie, el sexo del animal y el periodo de almacenamiento son factores que determinan el color de la carne; de esta forma la carne de un animal viejo presenta un pigmento más oscuro debido a que el nivel de mioglobina aumenta con la edad, la proporción de mioglobina es mayor en aquellos animales con músculos ejercitados requiriendo una mayor demanda de oxígeno y por lo tanto presentan un pigmento más oscuro (Calvo, 2009).

▪ **Estructura y función de la mioglobina**

La mioglobina es una hemoproteína muscular responsable del transporte del oxígeno y del color de la carne y de los productos cárnicos. Está formada por una estructura proteica

(globina) y grupo prostético hemo (Fe^{+2}). El grupo hemo consiste en un anillo tetrapirrólico con un átomo de hierro central, mismo que posee 6 puntos de coordinación, cuatro de los cuales son ocupados por 4 átomos de nitrógeno del anillo tetrapirrólico, un quinto punto se encuentra unido a un residuo de histidina de la globina y el sexto punto se encuentra disponible para formar complejos con átomos electronegativos donados por diversos ligandos (Figura 1) (Calvo, 2009; Silverstein et al., 2015).

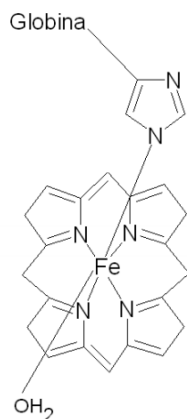


Figura 1. Mioglobina; estructura proteica globina y el grupo hemo.

Fuente: (Lugo, 2008).

▪ Estados de transformación de la mioglobina

El átomo de hierro del grupo hemo dependiendo de su estado de oxidación puede presentarse en 2 formas: en la carne fresca se encuentra en forma de hierro ferroso reducido (Fe^{+2}) formando la mioglobina y en la carne descompuesta se encuentra en forma de hierro férrico oxidado (Fe^{+3}) formando metamioglobina (Lugo, 2008).

a) Oxigenación: un átomo de oxígeno (O_2) tiende a ocupar el sexto punto de coordinación del grupo hemo, manteniendo la valencia del átomo de hierro sin cambios en este estado. La mioglobina que se encuentra expuesta al oxígeno se une y forma la oximioglobina responsable del color rojo brillante observable en la parte exterior de la carne (Figura 2). La mioglobina que no se une al oxígeno se encuentra en forma de desoximioglobina de color rojo púrpura observable en la parte interior de la carne (Figura 2). Estas dos formas son intercambiables y dependen de la presión parcial del oxígeno y de la superficie de contacto. En la carne empacada al vacío debido al desplazamiento de oxígeno es común encontrar una coloración rojo púrpura apagada (Rodríguez & Gallego, 2010; Reyes et al., 2010).

b) Oxidación: en condiciones normales el hierro ferroso (Fe^{2+}) se oxida a hierro férrico (Fe^{3+}) formando la metamioglobina de color rojo pardo observable en la carne almacenada durante mucho tiempo (Figura 2). Si la superficie de contacto es grande como el caso de la carne picada este proceso ocurre a gran velocidad. En este proceso se puede formar superóxidos, dando lugar inclusive a reacciones de oxidación de los lípidos (Lugo, 2008; Reyes et al., 2010).

c) Reducción: es un proceso reversible en el cual el hierro férrico (Fe^{3+}) de la metamioglobina es reducido a hierro ferroso (Fe^{2+}) gracias a la acción de sistemas enzimáticos reductores (enzima metamioglobin reductasa) y al conjunto enzimático NAD (Lugo, 2008; Reyes et al., 2010).

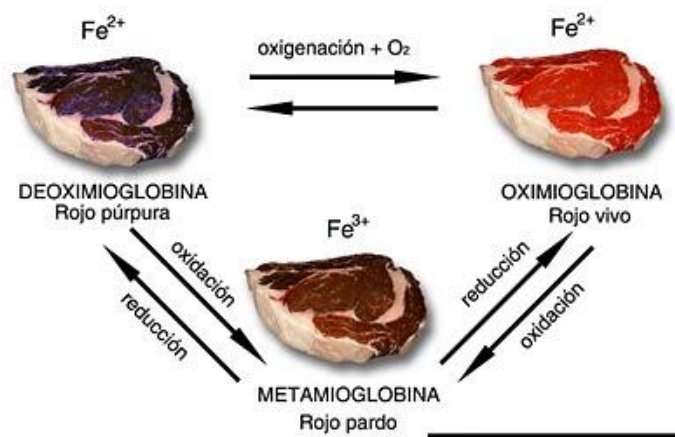


Figura 2. Estados de la mioglobina y sus tonalidades.

Fuente: (Lugo, 2008).

El tratamiento térmico al que se somete la carne modifica su color debido a que se producen cambios en la conformación estructural de la mioglobina, es decir, está se desnaturaliza rápidamente, se oxida el hierro y se forman los metamiocromógenos (derivado de la metamioglobina) de color marrón típico de la carne cocida (Lugo, 2008).

1.4 VALOR NUTRICIONAL DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

El valor nutricional de los productos cárnicos depende en gran medida de los ingredientes empleados, de su proporción y del método físico o químico de conservación al que es sometido. El aporte calórico de los derivados cárneos es elevado debido al alto contenido de colesterol y ácidos grasos, contribuye con cantidades considerables de sodio, proteínas, hierro y carbohidratos. No es fuente significativa de Vitaminas A y C (Gaspar, 2010).



1.5 ALTERACIONES MICROBIOLÓGICAS EN LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

Los microorganismos presentes en alimentos procesados necesitan de nutrientes para desarrollarse y provocar cambios sensoriales en la calidad del producto y consecuentemente serias enfermedades microbianas de origen alimentario como: intoxicaciones, infecciones y toxicoinfecciones. La mayoría de las bacterias crecen con mayor rapidez en un rango de temperaturas de 5 y 60 °C conocido como “zona de peligro” multiplicándose en cantidad en un tiempo estimado de 20 minutos. Para mantener a los alimentos fuera de dicha zona es recomendable mantenerlos a temperaturas inferiores a 5°C, así los microorganismos alterantes detendrán su crecimiento y los patógenos no podrán multiplicarse a dicha temperatura (Erkmen & Bozoglu, 2016; Jelen, 2009).

Muchas de las especies bacterianas presentes inicialmente en la etapa de procesamiento de los productos cárnicos pueden sobrevivir y multiplicarse en etapas posteriores si los procesos de cocción y las condiciones de almacenamiento son inadecuadas hasta alcanzar concentraciones hasta 10^{6-8} cel/g, nivel en el cual el deterioro organoléptico del producto es evidente. La presencia de bacterias con alto potencial de deterioro y las reacciones bioquímicas que tienen lugar durante la vida útil del producto cárnico, conllevan al desarrollo de olores desagradables por la producción de sustancias volátiles, cambios de color por reacciones de oxidación de la mioglobina, cambios de textura por ablandamiento de los tejidos, formación de limo por producción de dextranos, liberación de líquido por la pérdida de la capacidad de retención de agua y producción de gas (CO_2 , H_2 ó H_2S). Estos cambios inaceptables en los productos cárnicos son favorecidos por malas prácticas higiénicas y por condiciones de almacenamiento y/o transporte inapropiadas (temperatura y humedad relativa altas) (Erkmen & Bozoglu, 2016; Tirado et al., 2012).

En alimentos cárnicos almacenados en temperatura de refrigeración y en ausencia de oxígeno, la microbiota alterante está dominada por las BAL. Sin embargo, si hay cantidades residuales de oxígeno, otros microorganismos, como *Brochothrix thermosphacta* y *Shewanella putrefaciens* contribuyen sustancialmente a la alteración del producto. La especie de BAL más a menudo aislada en este tipo de productos pertenecen al género de *Lactobacillus* (*Lactobacillus sakei*, *L. Viridescens*, *L. Plantarum* y *L. Curvatus*). *Lactobacillus viridescens* es resistente a temperaturas de 67 °C razón por la cual se debe controlar las temperaturas de los procesos de cocción que en los productos cárnicos deben alcanzar hasta 71 °C (Aznar, 2006; Ramírez et al., 2011).



1.6 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

La conservación de los productos cárnicos implica las acciones llevadas a cabo para mantener las propiedades o naturaleza deseada durante un tiempo determinado (vida útil), por lo cual primero es importante identificar las propiedades o características que se desea conservar debido que una propiedad puede ser importante en un producto, pero perjudicial en otro (M. S. Rahman, 2012; Tucker, 2011).

Los puntos que deben considerarse para aplicar los diferentes métodos de conservación son la calidad, la vida útil y el satisfacer las necesidades del consumidor:

Calidad: es dependiente del tipo de producto, formulación, composición, empaque y condiciones de almacenamiento por lo cual cuando el método de conservación falla éstos productos presentarán consecuencias desde producir deterioro de grado menor sobre los productos como pérdida de sabor y olor hasta ocasionar serias enfermedades en los consumidores (Tucker, 2011; U. ur Rahman et al., 2018).

Vida útil: es el periodo de tiempo en el que los productos se pueden consumir manteniendo los parámetros de calidad específicos (Nollet, 2012; U. ur Rahman et al., 2018).

Necesidades del consumidor: es importante conocer el grupo poblacional al que va dirigido y los requerimientos nutricionales al momento de escoger los diferentes métodos de conservación para evitar posibles infecciones (Tucker, 2011; U. ur Rahman et al., 2018).

1.6.1 CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CONSERVACIÓN

En la industria cárnica existen diversos métodos de conservación y es común que se los emplee en combinación (empacado al vacío y almacenamiento a temperaturas bajas), para complementar sus acciones, asegurar su preservación, mejorar las características organolépticas y garantizar la inocuidad y calidad del producto (M. S. Rahman, 2012).

A los métodos de conservación se los puede clasificar de acuerdo a su modo de acción:

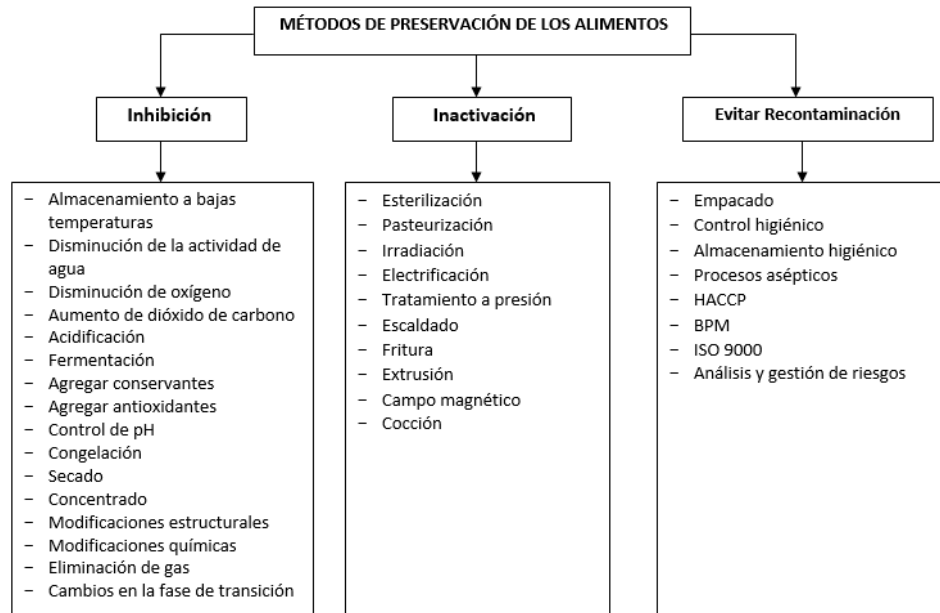


Figura 3. Métodos de preservación empleados en la industria alimentaria.

Fuente: (M. S. Rahman, 2012).

▪ **Inhibición**

Este método se basa en retardar o inhibir el deterioro químico y microbiológico a través de los métodos de preservación de los alimentos ilustrados en la figura 3. Dependen de factores extrínsecos (temperatura, humedad, atmósfera gaseosa) e intrínsecos de los alimentos (a_w , pH, potencial redox, nutrientes, estructura del alimento, agentes antimicrobianos presentes, etc.) (Majul et al., 2004; M. S. Rahman, 2012).

a) Conservantes: independientemente del origen natural o sintético éstos deben cumplir con la función por el cual se los agrega en los productos cárnicos y ofrecer seguridad para el consumo humano en las concentraciones que se los agreguen. Entre los conservantes permitidos están los ácidos- ésteres orgánicos, sulfuros, nitritos, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido sórbico, ácido benzoico, sodio diacetato, benzoato de sodio, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno y sodio propianato (Majul et al., 2004).

Nitritos y/o nitratos: en el proceso de curado de la mayoría de los productos cárnicos es necesario la utilización de estos conservantes para realzar las características sensoriales del producto y que junto con el tratamiento térmico comúnmente aplicado se inhibe el desarrollo microbiano y la germinación de esporas de *Clostridium botulinum*. El nitrato y/o nitrito es tóxico en dosis elevadas por esta razón que se evita su uso en forma pura y se incorpora en el



proceso de elaboración de los productos cárnicos combinado con sal a lo que se denomina “Sal de cura” o “Sal nitrada”(Majul et al., 2004; Msagati, 2012; Vindas, 2018).

La Norma general para los aditivos Alimentarios (Codex Alimentarius) establece que la dosis máxima de uso de nitritos en productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente, en piezas enteras o en corte es de 80 mg/kg de peso corporal (Codex Alimentarius FAO-WHO, 1995; Vindas, 2018).

Sales, (1981) demostró que “la concentración mínima de nitratos y/o nitritos agregados a los productos cárnicos curados es de 40-100 ppm en presencia de eritorbato de sodio”. A estas concentraciones, más el empleo adicional de especias naturales (ajo, cebolla y apio) no se afectan sus propiedades organolépticas, son eficaces en la preservación de los productos y resultan inocuos en la ingesta humana. Sofos et al., (2005) determinó que “a concentraciones mayores a 50 ppm de nitritos se inhibe el crecimiento de microorganismos anaerobios como: *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* y *Staphylococcus carnosus* y a concentraciones de hasta 300 ppm de nitritos se produce la muerte de *Clostridium botulinum* y esporas de *Bacillus* por lisis celular” (Sales, 1981; Sofos et al., 2005).

Coloración de los productos cárnicos en el proceso de curado: la formación del color de los productos cárnicos curados no depende del oxígeno sino de la acción del óxido nítrico y ocurre por dos vías:

Vía directa: el nitrito (NO_2), en medio (pH) ácido, libera ácido nitroso el cual se reduce a óxido nítrico (NO). Posteriormente el óxido nítrico se une al sexto punto de coordinación del átomo de hierro perteneciente al grupo hemo de la mioglobina para formar la nitrosilmioglobina (Figura 4), el cual es el principal pigmento responsable de la coloración roja intensa de los productos cárnicos. Posteriormente cuando los productos cárnicos se someten al tratamiento térmico de 50 a 60 °C o más, se produce la desnaturalización de la parte proteica de la molécula de mioglobina dando lugar a la conversión del hemocromógeno de la globina desnaturalizada de color rosado de los productos cárnicos curados (Lugo, 2008; Pérez, 2009).

Vía indirecta: la mioglobina es oxidada a metamioglobina para reaccionar con el óxido nítrico formando la nitrosilmetamioglobina la cual posteriormente se reduce transformándose en nitrosilmioglobina (Lugo, 2008).

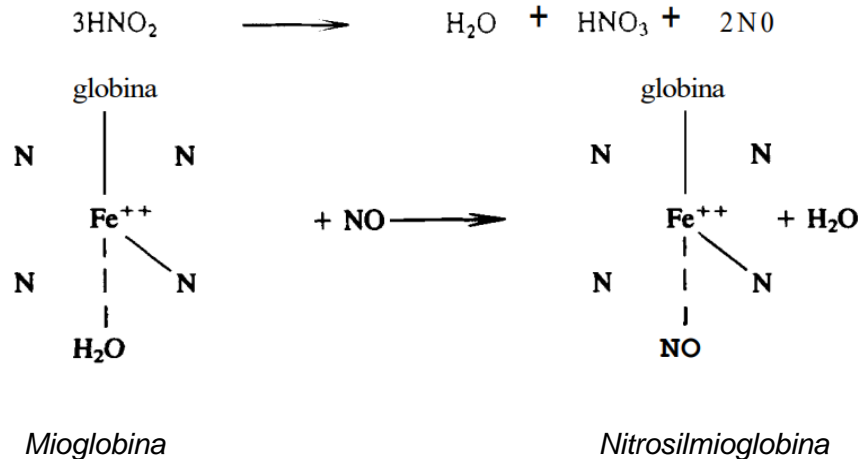


Figura 4. Transformación de la nitrosilmioglobina.
Fuente: (Hebbel, 2007).

El empleo de nitratos es común en el proceso de curado, no obstante, estos se deben transformar en nitritos por acción de bacterias nitratos reductoras como *Micrococcus spp.* y *Streptococcus spp.* durante un periodo de tiempo determinado. Simultáneamente al desarrollo de estas bacterias reductoras, si las condiciones de crecimiento y de proliferación son favorables (disponibilidad de sustrato) empiezan a desarrollarse microorganismos sal-tolerantes como las bacterias ácido lácticas especialmente *Lactobacillus spp.* hasta convertirse en la flora dominante y con ello la cantidad de ácidos orgánicos producidos por los mismos microorganismos aumenta ocasionando un descenso de pH del medio hasta llegar a valores inferiores a 5,5 en donde se descomponen los nitritos (Hebbel, 2007).

b) Control de pH: Los alimentos con un pH debajo de 4.5 son considerados como alimentos de bajo riesgo y requieren de un tratamiento térmico menos severo. La mayoría de los microorganismos patógenos en un pH menor a 4.2 se encuentran controlados sin embargo bacterias como las BAL y especies de mohos y levaduras pueden proliferar en valores por debajo de éste, el pH no solo afecta el crecimiento de microorganismos, sino que afecta procesos como la estabilidad de enzimas, proteínas y vitaminas (Majul et al., 2004).

▪ Inactivación térmica

Los microorganismos y las enzimas son susceptibles al calor. Los regímenes de calentamiento apropiados reducen, inhiben o destruyen la actividad de los microorganismos. Sin embargo, la desventaja que presenta es un deterioro nutricional por una excesiva cocción. Entre los principales procesos de tratamiento térmico tenemos: pasteurización,



esterilización, cocción, extrusión y fritura. En la industria de los productos cárnicos se emplea el método de cocción que, dependiendo del tipo de naturaleza del producto, sus enzimas, la concentración de microorganismos, las condiciones en que se procesa, se empleará una cierta temperatura a un tiempo determinado. Siendo la temperatura máxima de 85°C para evitar que se produzca la desnaturalización de las proteínas (Augusto et al., 2011; Lambert, 2013).

▪ Evitar la Recontaminación

Las herramientas de gestión de calidad deben implementarse en el proceso de conservación para evitar la contaminación o la recontaminación, aunque estas medidas no son métodos de conservación es importante que las industrias de los productos cárnicos se basen en técnicas que mejoren de manera indirecta la conservación de los mismos como Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), ISO 9000, Buenas Prácticas de Fabricación (GMP), Operación Estándar Procedimientos (SOP), Estudios de Riesgos y Operabilidad (HAZOP) y Gestión Total de Calidad (TQM) (Majul et al., 2004; M. S. Rahman, 2012).

○ **Envasado al vacío:** Se basa en la eliminación total del aire del interior del envase, sin que sea reemplazo por otro gas, existiendo un diferencial de presión entre el interior y exterior del envase. Gracias a este método se consigue una atmósfera libre de oxígeno que extiende la vida útil del producto. El producto cárnico es colocado en un empaque de baja permeabilidad al oxígeno (película plástica flexible o material de envase semirrígido), el aire es eliminado y la bolsa es adecuadamente sellada. Esta atmósfera libre de oxígeno es susceptible de sufrir cambios o de ser indirectamente modificada durante el almacenamiento. Los alimentos metabólicamente activos como la carne y los derivados cárneos continúan con sus actividades respiratorias conllevando al consumo de oxígeno residual presente en los tejidos del producto, se aumenta el vacío, se acumula CO₂ y vapor de agua. Este método de conservación brinda grandes ventajas como: proporcionar un contenedor o envase adecuado, evitar la contaminación del producto cárnico, evitar la pérdida de peso por evaporación, mejorar las condiciones de almacenamiento y de transporte y la forma de presentación al consumidor (Jelen, 2009; Mendoza, 2008; Villegas, 2007).

Mecanismo de acción del CO₂: el dióxido de carbono (CO₂) al entrar en contacto con el agua del producto cárnico, forma de ácido carbónico (H₂CO₃) que actúa como un agente bacteriostático. El CO₂ promueve un cambio en el pH del medio al absorberse en la superficie



de producto cárnico provocando que el ácido carbónico se ionice y retrase el crecimiento microbiano mediante la interferencia del ácido carbónico y el pH con deshidrogenasas celulares o con la descarboxilación enzimática. La absorción del CO₂ depende en gran medida del contenido de grasas y de la humedad de los productos cárnicos, es así que en aquellos productos con elevado contenido de humedad y de grasas la absorción del CO₂ será mayor, conduciendo a un fenómeno llamado “colapso de envase” evidenciado a temperaturas de refrigeración. El CO₂ inhibe las reacciones de oxidación de la mioglobina, de las grasas y de los compuestos sensibles (vitaminas) de la carne y sus derivados y ejerce una acción eficaz en contra mohos y bacterias Gram negativas como *Pseudomonas ssp.*, mismas que provocan cambios fisicoquímicos y sensoriales en la superficie de producto como pérdida de color y liberación de aromas desagradables. Las BAL y las levaduras son muchos más resistentes a concentraciones altas de CO₂, crecen a menor velocidad y producen cambios sensoriales menos evidentes que los originados por las bacterias Gram negativas (Flores-Rondón et al., 2011; Mendoza, 2008).

Termoformadora: se fundamenta en la técnica del termoformado, proceso que consiste en otorgarle una forma deseada a una lámina plana de material termoplástico sobre un molde o matriz, aplicando calor y presión. Gracias a esta técnica se pueden obtener productos en perfecto estado para su almacenaje y distribución. Este tipo de envasado utiliza dos rollos de film: una a partir de la cual se elaborarán las bandejas y otra que formará las tapas del envase (Chile et al., 2011).

Etapas del termoformado

a) Calentamiento: una o ambas caras del plástico son sometidos a calor por radiadores eléctricos durante un tiempo suficiente para que el termoplástico alcance su elasticidad deseada.

b) Formado: la lámina del plástico alcanza la forma del molde. Se clasifica en; termoformado por presión o soplado, termoformado por vacío y termoformado mecánico (Chile et al., 2011).

Propiedades físicas del Film: los Films tienen buena resistencia mecánica, son fácilmente adheribles y presentan baja velocidad de transmisión del vapor de agua y baja permeabilidad a los gases (Chile et al., 2011).



1.7 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Las BAL son tolerantes a la presencia de CO₂, nitritos, humo, concentraciones de sal relativamente altas y a valores de pH bajos. Es por esto que las condiciones existentes en las carnes envasadas al vacío y en los productos cárnicos favorecen el crecimiento de estos microorganismos. Las BAL poseen acción conservadora por producir bacteriocinas en contra bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Salmonella* spp (Ramírez et al., 2011).

Morfología: son cocos, cocobacilos o bacilos Gram positivos, no esporulados e inmóviles.

Fisiología: son anaeróbios, microaerófilicos o aerotolerantes; oxidasa y catalasa negativas, no reducen el nitrato a nitrito, producen ácido láctico como el principal o único producto de su fermentación de donde obtienen energía ya que no cuentan con ciclo de Krebs funcional (Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

1.7.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los principales hábitats de las BAL son: las frutas, verduras, leche y derivados, productos cárnicos, mucosas de cuerpo de mamíferos y alimentos fermentados y ricos en azúcares. La gran mayoría de BAL son mesófilos y otras pueden ser psicrófilos, termófilos y hasta termodúricas. *Lactococcus lactis*, y *Leuconostoc mesenteroides* son mesófilas y *Lactobacillus* spp. y *Streptococcus* spp. son termófilas. Las BAL son considerados ácidos tolerantes ya que algunas pueden crecer a valores de pH tan bajos como 3.2 y otras a valores tan altos como 9.6 pero la gran mayoría crecen a pH entre 4 y 4.5, pueden producir gas (CO₂) pero no producen hidrógeno, carecen de actividad respiratoria porque les falta una enzima que degrada el peróxido de hidrógeno llamada catalasa, esto se debe a que las BAL son incapaces de sintetizar el grupo porfirínico (citocromos) y contienen un grupo hemina que les permite poner en marcha la cadena respiratoria con el oxígeno como aceptador de electrones (Aznar, 2006; Huertas & Adolfo, 2010; Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

Las BAL como *Lactobacillus sakei* y *Lactobacillus Curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc gasicomitatum* y *Carnobacterium* spp, son consideradas especies bacterianas alterantes ya que su actividad metabólica puede provocar acidez, decoloración, producción de ácidos orgánicos como acético o fórmico que dan lugar a malos sabores/olores o la formación de limos que confieren viscosidad o exudado lechoso al producto cárnico, formación de CO₂ e hinchazón del empaque, sin afectar la inocuidad del producto, pero sí su calidad sensorial (Aznar, 2006; Ramírez et al., 2011).

1.7.2 CLASIFICACIÓN

Actualmente se conoce como el grupo de BAL a las bacterias del orden *Lactobacillales* y *Bifidobacteriales* (Tabla 1) (Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

Tabla 1. Clasificación de las BAL con los géneros más relevantes en alimentación y salud. Fuente: (Aznar, 2006).

Reino: Bacteria					
Filo	Clase	Subclase	Orden	Familia	Género
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>		<i>Lactobacillales</i>	<i>Aerococcaceae</i>	
				<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>
				<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>
				<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
					<i>Pediococcus</i>
				<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>
					<i>Oenococcus</i>
					<i>Weissella</i>
				<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>
					<i>Streptococcus</i>

Los principales géneros de BAL que presentan forma de “cocos” y con menor número de especies son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus* y *Streptococcus* (Tabla 1). El género de BAL que presenta forma de “bacilos” y que reúne mayor número de especies corresponde a *Lactobacillus*. En la actualidad las especies descritas pertenecientes al género de *Lactobacillus* son más de 100 y están en continuo aumento (Aznar, 2006).

1.7.3 METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

La fructosa-1,6-bifosfato-aldolasa y la fosfoetolasa, son enzimas que intervienen en la transformación del azúcar en ácido láctico. La utilización de una u otra vía depende de la de la enzima que se encuentre presente (Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

-Vía homofermentativa: fermentan las hexosas (glucosa, manosa, galactosa o fructosa) interviene la fructosa-1,6-bifosfato-aldolasa, utilizan la glucólisis vía Embden-Meyerhof-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico (único producto final). Se produce más de 85% de ácido láctico a partir de glucosa (Figura 5). Este grupo está compuesto por: *Lactococcus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.* (Huertas & Adolfo, 2010; Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

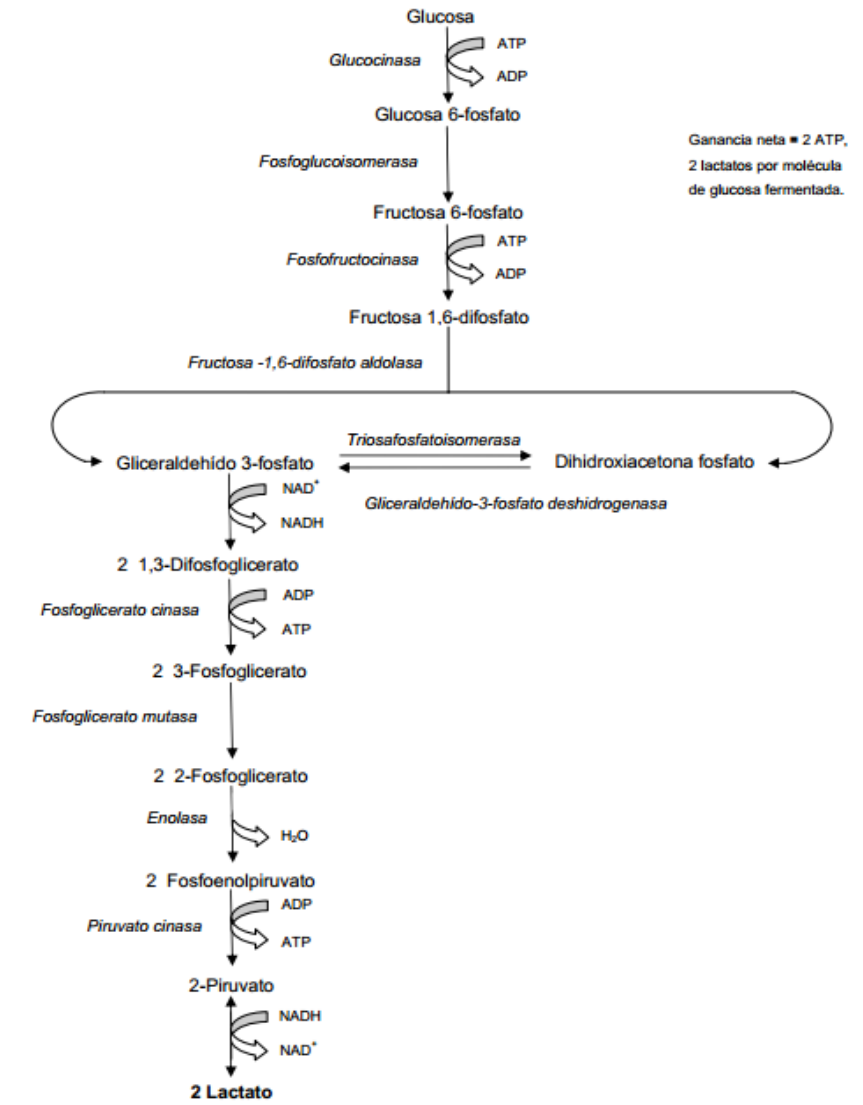


Figura 5. Vía homofermentativa de la glucosa por BAL.
Fuente: (Hayek, Saeed, Salam A, Ibrahim, 2013).

-Vía heterofermentativa: fermentan 1 mol de glucosa, interviene la fosfocetolasa, utiliza la vía 6-fosfogluconato/fosfocetolasa (6-PG/PK) o de las pentosas fostato y como producto final además de obtener 1 mol de ácido láctico, se forman cantidades equimolares de etanol o ácido acético y CO₂ (Figura 6). Producen solamente 50% de ácido láctico. Este grupo está compuesto por: *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* y *Pediococcus spp.* (Huertas & Adolfo, 2010; Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).

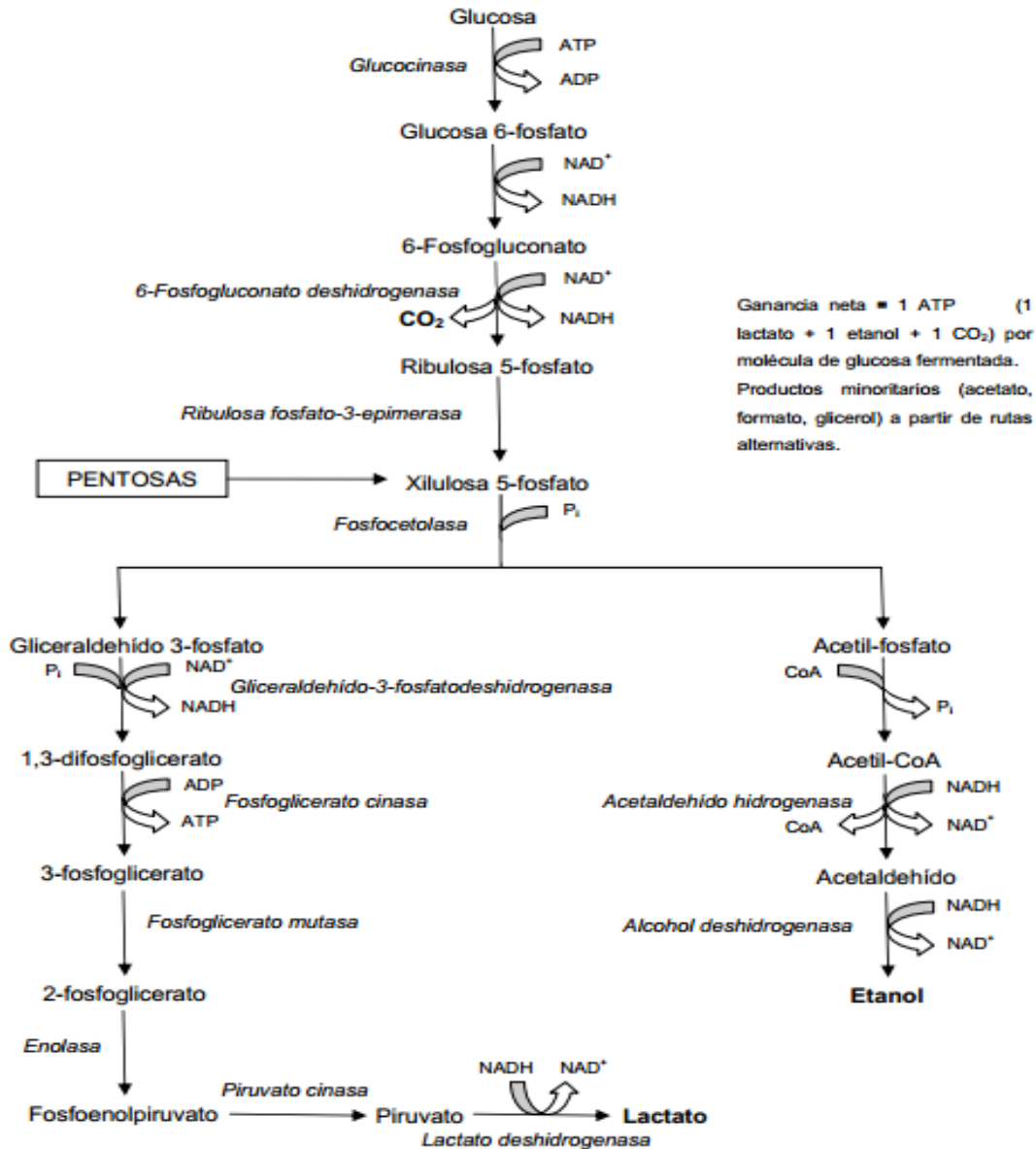


Figura 6. Vía heterofermentativa de la glucosa por BAL.

Fuente: (Hayek, Saeed, Salam A, Ibrahim, 2013).

En base a estas rutas de fermentación de los azúcares las BAL se han dividido en:

Homofermentativas y heterofermentativas estrictas: Poseen sólo una enzima y pueden fermentar hexosas por la glucólisis y pentosas por la vía 6-PG/PK respectivamente.

Heterofermentativas facultativas: Poseen ambas enzimas y utilizar una u otra ruta dependiendo del azúcar presente (Mora Peñaflor & García Guerrero, 2007).



1.8 HINCHAZÓN O “SOPLAMIENTO DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS”

“Blown pack spoilage” se reportó por primera vez en países como U.S.A. y Reino Unido (1989), Nueva Zelanda (1996) e Irlanda (2000) revelando pérdidas de aproximadamente €375.000 (cifra que evidencia grandes pérdidas económicas para la industria de alimentos) (Morales, 2011; Ossa et al., 2010). El “soplamiento de los productos cárnicos empacados al vacío” se debe en gran medida a la pérdida de la cadena de frío durante la producción, el almacenamiento, el transporte y la comercialización, situación que potencia el crecimiento de microorganismos resistentes al tratamiento térmico o que pueden penetrar secundariamente durante la manipulación en las salas de lonchado y empacado. La cadena de frío es una cadena de suministro de temperatura controlada, por lo tanto, si una cadena de frío se mantiene intacta garantiza al consumidor que el producto que recibe no se ha salido de un rango de temperatura dada. En los productos cárnicos almacenados a temperaturas de refrigeración la microbiota alterante está dominada por las BAL como *Lactobacillus sakei* y *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc gasicomitatum* y *Carnobacterium spp.* microorganismos capaces de replicarse a grandes velocidades y en ausencia de oxígeno, debido a su actividad glicolítica producen CO₂ el cual altera el empaque y la calidad sensorial del producto (Gustavo Buelvas Salgado & Restrepo Flores, 2012; Tucker, 2011). Además, varios autores han reportado a las BAL, a las enterobacterias psicrotolerantes como *Hafnia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Rahnella spp.* y *Ewingella spp.*, en recuentos de 10⁶ UFC/g, relacionados con las muestras de jamones abombados empacados al vacío a 4°C. Adicionalmente, se reportó *Clostridium spp.* siendo muy frecuentes las especies de *C. gasigenes* y *C. estertheticum*, como causantes del “blown pack” o hinchazón de productos cárnicos en países como Nueva Zelanda (Brightwell et al., 2007; Broda et al., 2002).

1.9 CONTAMINACIÓN MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS

En la actualidad la vigilancia y el control higiénico de las superficies alimentarias ha adquirido un alto grado de interés debido a la notificación de ETA’s cuyas vías de contaminación implicadas han sido las superficies, los manipuladores, los equipos, los utensilios, las materias primas sin procesar, las instalaciones, los vectores y el medio ambiente. (Castillo & Guillermo, 2014; Jerez & Herrero, 2006).

Las partículas secas de residuos de alimentos en áreas de difícil acceso en las superficies y/o equipos sirven como una fuente de nutrientes para el desarrollo de microorganismos. Los indicadores de contaminación pueden ser microorganismos mesófilos alterantes como



Pseudomonas aeruginosa, patógenos como el *Staphylococcus aureus* o la *Listeria monocytogenes*, además de hongos y levaduras. Estos microorganismos pueden multiplicarse, colonizar las superficies, adherirse formando microcolonias y posteriormente generar el biofilm. Por cuánto, si las prácticas higiénicas rutinarias son deficientes los biofilms pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempos y contaminar a los productos alimenticios (Jerez & Herrero, 2006; Ossa et al., 2010b).

Los factores que intervienen en la contaminación microbiana de los alimentos no solo se deben a la formación del biofilm, sino también a la falta de higiene en las áreas de procesamiento, superficies contaminadas, contaminación cruzada, almacenaje en instalaciones inadecuadas y contaminación del personal (Jerez & Herrero, 2006).

La mayoría de riesgos biológicos presentes en los productos alimenticios terminados son debidos a fenómenos de contaminación cruzada. Es así que la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1995), en un estudio realizado en el ámbito europeo determinó que “casi el 25% de los brotes de toxiinfección alimentaria se asociaban a contaminaciones cruzadas”. Se denomina contaminación cruzada a la propagación de microorganismos de un alimento a otro en forma directa e indirecta (Castillo & Guillermo, 2014; Lasa et al., 2005).

- **Características de la matriz del biofilm:** la matriz proporciona a los microorganismos una concentración adecuada de nutrientes, permite mantenerse unidos y protegidos frente a cambios externos como la acción de los desinfectantes y fluctuaciones de temperatura y humedad. El biofilm es sintetizado por los propios microorganismos y está compuesto por agua (97 %), polisacáridos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y minerales. Su estructura no es sólida ya que presenta canales abiertos que permiten el flujo de agua, nutrientes y oxígeno a zonas profundas dentro de la comunidad de biofilm (Castillo & Guillermo, 2014; Lasa et al., 2005).

1.9.1 FASES DE FORMACIÓN DEL BIOFILM

La formación de biofilms sobre las superficies se produce a través de una serie de etapas:

-Acondicionamiento: el acondicionamiento empieza cuando una célula microbiana individual se adhiere a una superficie. Simultáneamente existe una interacción entre la fase sólida (superficie) – líquida (agua), provocando el transporte de moléculas orgánicas e inorgánicas y de microorganismos hacia las superficies por difusión o por los flujos turbulentos de líquidos. La acumulación de moléculas orgánicas e inorgánicas conduce a una mayor concentración de

nutrientes (sustratos) que dan origen a la formación de una “película o capa acondicionante” para la adherencia microbiana (Castillo & Guillermo, 2014).

- **Adhesión celular:** el proceso de adhesión se da en dos fases; una primera fase reversible, seguida de una segunda fase irreversible.

a) Fase reversible: es la unión débil entre los microorganismos y la superficie, actúan interacciones hidrófobas y fuerzas electrostáticas y de *Van der Waals*. En esta fase los microorganismos presentes en las superficies muestran movimientos brownianos y pueden ser eliminado de manera sencilla con una limpieza suave (Castillo & Guillermo, 2014).

b) Fase irreversible: es la unión firme entre los microorganismos y la superficie, mediada por la presencia de polímeros y apéndices extracelulares (cápsulas, fimbrias, fibrillas, pilis, etc.) En esta fase los microorganismos sintetizan la matriz de exopolisacáridos (sustancia extracelular polimérica) para establecer un contacto físico entre las células y la superficie. Esta unión irreversible es dependiente del tiempo y varía en función de la temperatura, disponibilidad de nutrientes y presencia de antibióticos. Varios estudios indican que las uniones irreversibles tienen lugar durante un periodo de tiempo de 20 minutos a 4 horas y a una temperatura de entre 4 y 20 °C. Los flagelos y las fimbrias de las bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*) son importantes en la etapa de adherencia a la superficie. Sin embargo, en bacterias Gram positivas inmóviles (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* y micobacterias) la motilidad no parece ser un requisito esencial, pues se ha descrito la participación de proteínas de superficie (AtlE, Bap, Esp) en el proceso de adherencia originado que muchas de estas bacterias sean capaces de formar un biofilm (Castillo & Guillermo, 2014; Lasa et al., 2005).

- **Formación y maduración del biofilm:** las bacterias adheridas se dividen por división binaria, las células hijas se desplazan sobre las superficies formando cúmulos celulares o “microcolonias” y los compuestos extracelulares producidos por los mismos interactúan con las moléculas orgánicas e inorgánicas del medio creando así el glicocáliz y por consiguiente la maduración del biofilm con una estructura altamente organizada. En un biofilm maduro, la mayor parte de su volumen está ocupada por la matriz organizada (75-95%) y unas pocas bacterias (5-25 %) que proporcionan una cubierta gelatinosa y deslizante a la superficie colonizada (Castillo & Guillermo, 2014; García, 2017).

- **Desprendimiento y dispersión de las bacterias:** cuando los biofilms han alcanzado una estructura altamente organizada y se produzcan alteraciones en los ecosistemas o la presencia de sustancias químicas, los propios biofilms provocarán que diversas bacterias se desprendan y se liberen de la matriz. Junto a estas células diversos nutrientes son liberados y transportados a otras superficies para colonizarlas y desarrollar nuevos biofilms (Castillo & Guillermo, 2014).

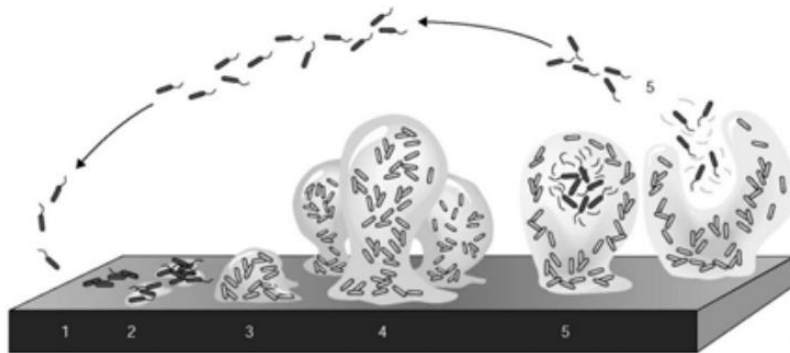


Figura 7. Fases de formación del biofilm: 1) Acondicionamiento, 2) Adhesión celular, 3 y 4) Formación y maduración y 5) Desprendimiento y dispersión de bacterias.

Fuente: (Castillo & Guillermo, 2014).

1.9.2 RESISTENCIA DE LOS BIOFILMS A LOS BIOCIDAS

En la industria alimentaria con el objetivo de evitar la adherencia bacteriana y el posterior desarrollo de biofilms se requiere del empleo de desinfectantes con acción bactericida residual, detergentes, surfactantes, calor y enzimas. Las bacterias adheridas a las superficies y los biofilms son entre 10 y 100 veces más resistentes que las bacterias en suspensión. La matriz extracelular del biofilm brinda protección a las comunidades microbianas evitando el acceso de los biocidas. La resistencia de los biofilms a la acción de los biocidas depende de la estructura tridimensional, pues entre más viejo y grueso sea, mayor resistencia posee y viceversa. Si se desorganiza su estructura pierde la resistencia. La eficacia del proceso de desinfección está directamente relacionada con la capacidad de limpieza previa para desligar y desorganizar la matriz extracelular, sobre todo en aquellas zonas donde queda humedad, puesto que se favorece las condiciones de crecimiento de los microorganismos. Los factores que afectan la acción de los desinfectantes son: la naturaleza y cantidad de microorganismos, tiempo de contacto y concentración del desinfectante, materia orgánica, localización y tipo de superficie y temperatura de acción del desinfectante. En condiciones normales las superficies de trabajo se limpian previamente antes de desinfectarse y la exposición de las bacterias a los



agentes limpiadores pueden reducir la resistencia microbiana (Castillo & Guillermo, 2014; Jerez & Herrero, 2006).

1.10 CONTROL HIGIÉNICO DE LAS SUPERFICIES

Un proceso de higienización adecuado elimina o reduce al mínimo los microorganismos patógenos o alterantes presentes en los alimentos. Uno de los principales objetivos de la industria alimentaria es proporcionar alimentos seguros a los consumidores, razón por la cual se han elaborado el sistema de APPCC (Análisis de peligros y puntos críticos de control) para determinar los riesgos de contaminación en las plantas de elaboración de alimentos y garantizar la inocuidad de los productos elaborados. Para una correcta higienización de las superficies en contacto se debe alternar el uso de dos o más métodos de limpieza ya que los microorganismos pueden adaptarse y sobrevivir a diferentes productos desinfectantes si son utilizados de forma individual. Otro método eficaz para prevenir o limitar la formación de biofilms es realizar frecuentemente una limpieza en intervalos cortos de tiempos e incrementar el tiempo de exposición del desinfectante (Castillo & Guillermo, 2014; García, 2017; Jerez & Herrero, 2006).

- DESINFECTANTES

Dentro de la industria de productos cárnicos los desinfectantes más empleados son:

Ácido peracético: es un desinfectante de alto nivel, a bajas concentraciones (0.01-0.2%) posee una rápida acción biocida frente a todos los microorganismos. El ácido peracético es una mezcla de ácido acético y peróxido de hidrógeno en solución acuosa. La actividad desinfectante del ácido peracético radica en su capacidad oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endosporas y levaduras. El mecanismo de oxidación del ácido peracético consiste en la transferencia de electrones de la forma oxidada del ácido a los microorganismos, provocando así su inactivación e incluso su muerte. El ácido peracético ejerce su actividad al descomponerse en ácido acético, peróxido de hidrógeno y oxígeno (productos no dañinos) (Diomedi et al., 2017; Jiménez Zabala et al., 2011).

Compuestos de amonio cuaternario: el mecanismo de acción de estos compuestos radica en que inactivan las enzimas productoras de energía y desnaturalizan las proteínas esenciales de la célula. La combinación de los compuestos de amonio cuaternario (aminas terciarias y amonios cuaternarios) presenta un amplio espectro biocida y acción rápida debido a que ambos compuestos actúan sinérgicamente. Los compuestos de amonio cuaternario ayudan a



remover los biofilms de las superficies. Sin embargo, presentan un inconveniente de que su eliminación requiere un exhaustivo aclarado (Diomedi et al., 2017).

Cloro e hipoclorito de sodio: el cloro es el biocida más efectivo ya que no solo elimina comunidades microbianas, sino que también destruye la matriz extracelular del biofilm. Pero se debe de manejar con precaución puesto que en concentración elevadas y por un tiempo de contacto largo corroe el acero inoxidable. El hipoclorito de sodio y los desinfectantes aniónicos han demostrado ser más efectivos que los compuestos de amino cuaternario para eliminar la matriz extracelular presentes en acero inoxidable (Diomedi et al., 2017).

2. METODOLOGÍA

En el presente estudio se identificó las fuentes de contaminación y se estableció las cargas microbiológicas de BAL que los productos cárnicos empacados al vacío pueden presentar antes de su liberación para su posterior comercialización. Cabe recalcar que no se realizó el aislamiento del género de las bacterias ácido lácticas debido ya que la técnica empleada nos permite únicamente diferenciar a las bacterias ácido lácticas homofermentativas de las heterofermentativas por sus rutas metabólicas.

2.1 Tipo de estudio

Se trata de un estudio observacional descriptivo de corte transversal

2.2 Área de estudio

Este estudio se realizó exclusivamente en el área de empaqueo de una empresa de embutidos de la ciudad de Cuenca- Ecuador, considerada como el área de mayor criticidad dentro del proceso de elaboración de los productos cárnicos al vacío, debido a que en etapas posteriores no existen medidas preventivas de control que disminuyan la carga microbiológica de BAL. La identificación de las fuentes de contaminación en las superficies en contacto se llevó a cabo en tres procesos considerados críticos por la empresa dentro de la misma área y siendo: recorte/rebanado, pesado y empaqueo.

El análisis de las cargas microbiológicas de BAL de los productos terminados empacados al vacío se realizó dentro del laboratorio de gestión de calidad perteneciente a la misma empresa.

2.3 Muestreo y toma de muestra de los productos cárnicos

Para el muestreo se consideraron cuatro de los productos cárnicos empacados al vacío elaborados dentro de la empresa, y que en el año 2018 reportaron altos porcentajes de devoluciones en relación al volumen de producción y que fueron atribuidos a la causa de pérdida de vacío por la posible presencia de bacterias en general siendo los productos: Picaditas 450 g, Jamón sandwichero 200 g, Mortadela especial 400 g y Salchicha de Freír ternera 450 g.

La toma de muestra de cada producto cárnico para establecer la carga microbiológica de BAL consistió en extraer una muestra representativa de acuerdo al tamaño del lote del producto y el nivel de inspección general según las tablas de letras y códigos del tamaño de muestra obtenida de la NTE INEN- ISO 2859-1:2009 "procedimientos de muestreo para inspección por atributos. Parte 1. Programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de calidad (NCA) para inspección lote a lote" (Anexo 1). Según el tamaño del lote elaborado de cada producto

cárnico, el tamaño de muestra para los productos cárnicos con un tiempo de vida útil de 45 días (jamón sandwichero y mortadela especial) corresponde a 50 unidades y para los productos con un tiempo de 30 días de vida útil (picaditas y salchicha de freír ternera) corresponde a 32 unidades, respectivamente (Tabla 2). Se aplicó un plan de muestreo “aleatorio simple” en dos tiempos de muestreo (días consecutivos) (Tabla 3) y en condiciones normales e ideales de empaçado. Las condiciones ideales de empaçado consistieron en hacer énfasis en las BPM y en los POES de limpieza y desinfección. Para el muestreo en éstas condiciones se tomaron los primeros productos que fueron empaçados reduciendo así el grado de contaminación y manipulación. En las condiciones normales de empaçado, la limpieza y desinfección de superficies se realizó al final de la jornada de trabajo y para realizar el muestreo las muestras tomadas fueron las últimas en empaçarse. En esta condición, el empaçado de las muestras en estudio se realizaron de manera indistinta, es decir, no influyó el orden de empaçado de los productos.

Tabla 2. Tamaño de muestra según el tamaño del lote del producto y el nivel de inspección general según las tablas de letras y códigos del tamaño de muestra obtenida de la NTE INEN- ISO 2859-1:2009.

PRODUCTO CÁRNICO		Tiempo de análisis	CONDICIONES NORMALES		CONDICIONES IDEALES	
			Día 1	Día 2	Día 1	Día 2
Salchicha Freír ternera 450 g	Picaditas 450g	T1	3	3	3	3
		T2	3	3	3	3
		T3	2	2	2	2
Jamón Sandwichero 200 g	Mortadela Especial 400 g	T1	3	3	3	3
		T2	3	3	3	3
		T3	3	3	3	3
		T4	4	3	4	3

*Condiciones normales e ideales de empaçado

*Los productos fueron distribuidos en 3 o 4 tiempos de análisis según tiempo de vida útil

Tabla 3. Cronograma de toma de muestras en el área de empacado.

PRODUCTOS CÁRNICOS	Condiciones Normales		Condiciones Ideales	
	Día 1	Día 2	Día 1	Día 2
Jamón Sanduchero	11 de junio	12 de junio	19 de junio	20 de junio
Picaditas	11 de junio	12 de junio	25 de junio	26 de junio
Mortadela Especial	11 de junio	12 de junio	26 de junio	27 de junio
Salchicha Freír Ternera	12 de junio	13 de junio	1 de julio	2 de julio

2.4 Muestreo y toma de muestra de las superficies en contacto en el área de empacado

Para el muestreo se consideraron 28 superficies (20 inertes y 8 vivas) las cuales se encuentran en contacto directo con los productos cárnicos dentro del área de empaque de la empresa, se realizó en dos tiempos de muestreo (días consecutivos) para cada condición (Tablas 4 y 5). Se analizó un total de 68 muestras por duplicado para lo cual se empleó un plan de muestreo por conveniencia considerando condiciones ideales y normales de empacado. La toma de muestra en condiciones ideales se realizó a las seis y media de la mañana, previo al inicio de la jornada diaria de empacado de los productos cárnicos, momento en el cual los equipos y utensilios se encuentran completamente limpios, desinfectados y en reposo. Por lo contrario, para la toma de muestra en condiciones normales se realizó a mitad del proceso de empacado de los productos cárnicos es decir cuando las superficies en contacto ya presentaban mayor grado de manipulación y contaminación. Para proceder a la toma de muestra de las superficies en contacto se empleó el método del hisopo de acuerdo a la norma sanitaria peruana para el análisis de superficies en contacto con alimentos y bebidas Resolución N° 461/07/MINSA según el tipo de superficies en contacto.

Tabla 4. Cronograma de toma de muestra de las superficies en contacto en condiciones normales

SUPERFICIES EN CONTACTO	11 Marzo	12 Marzo	13 Marzo	14 Marzo
Film Bandeja	X X X	X X X	X	X
Film Tapa	X X X	X X X	X	X
Rebanadora WEBER 1	X	X		
Banda Transportadora WEBER 1	X	X		



Balanza B0021	X	X		
Cuchillo Rebanado	X	X		
Mesa 1 Producto Rebanado	X	X		
Manos Operador 1 Rebanado (con guante)	X	X		
Manos Operador 2 Empacado (con guante)	X	X		
Picadora FOODLOGISTIK	X	X		
Jarra Picado	X	X		
Cuchillo Recorte	X	X		
Funda Picado	X	X		
Manos Operador 1 Picado (con guante)	X	X		
Manos Operador 2 Empacado (con guante)	X	X		
Rebanadora WEBER 2	X	X		
Banda Transportadora WEBER 2	X	X		
Balanza B0027	X	X		
Cuchillo Rebanado	X	X		
Mesa 1 Producto Rebanado	X	X		
Manos Operador 1 Rebanado (con guante)	X	X		
Manos Operador 2 Empacado (con guante)	X	X		
Separador salchicha INOTEC			X	X
Funda 1 Producto Cámara			X	X
Funda 2 Producto cortado			X	X
Cuchillo Corte			X	X
Manos Operador 1 Corte (con guante)			X	X
Manos Operador 2 Empacado (con guante)			X	X

- X: Superficies en contacto del Jamón Sanduchero
- X: Superficies en contacto de Picaditas
- X: Superficies en contacto de Mortadela
- X: Superficies en contacto de Salchicha Freír Ternera

Tabla 5. Cronograma de toma de muestra de las superficies en contacto en condiciones ideales

SUPERFICIES EN CONTACTO	20 Marzo	21 Marzo	25 Marzo	26 Marzo	27 Marzo	28 Marzo
Film Bandeja	X X	X X	X	X	X	X
Film Tapa	X X	X X	X	X	X	X
Rebanadora WEBER 1	X	X				
Banda Transportadora WEBER 1	X	X				
Balanza B0021	X	X				
Cuchillo Rebanado	X	X				
Mesa 1 Producto Rebanado	X	X				
Manos Operador 1 Rebanado (con guante)	X	X				
Manos Operador 2 Empacado (con guante)	X	X				
Picadora FOODLOGISTIK			X	X		
Jarra Picado			X	X		
Cuchillo Recorte			X	X		
Funda Picado			X	X		
Manos Operador 1 Picado (con guante)			X	X		

Manos Operador 2 Empacado (con guante)			X	X		
Rebanadora WEBER 2					X	X
Banda Transportadora WEBER 2					X	X
Balanza B0027					X	X
Cuchillo Rebanado					X	X
Mesa 1 Producto Rebanado					X	X
Manos Operador 1 Rebanado (con guante)					X	X
Manos Operador 2 Empacado (con guante)					X	X
Separador salchicha INOTEC	X	X				
Funda 1 Producto Cámara	X	X				
Funda 2 Producto cortado	X	X				
Cuchillo Corte	X	X				
Manos Operador 1 Corte (con guante)	X	X				
Manos Operador 2 Empacado (con guante)	X	X				

X: Superficies en contacto del Jamón Sanduchero

X: Superficies en contacto de Picaditas

X: Superficies en contacto de Mortadela

X: Superficies en contacto de Salchicha Freír Ternera

2.5. Materiales, equipos y reactivos

Materiales:

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas volumétricas de 10ml
- Pera pipeteadora universal
- Varillas de vidrio
- Erlenmeyer de 1000ml
- Vaso de precipitación de 500 y 1000ml
- Puntas descartables de 1ml
- Plantilla de acero inoxidable (100cm²)
- Hisopos estériles
- Papel de aluminio
- Bolsas Whirl-Pak
- Cuchillo

Equipos:

- BagMixer®; Marca: Interscience; Modelo: 400; Serie: 024230S10838
- Autoclave; Marca: All Amercian; Modelo: 75X; Serie: 0002020
- Autoclave; Marca: All Amercian; Modelo: 75X; Serie: H0003967
- Incubadora; Marca: LAB-LINE INSTRUMENTS; Modelo: 120; Serie: 0499 2819
- Balanza analítica; Marca: Citezon; Modelo: CZ103; Serie: 6325015019
- Contador de colonias



- Refrigerador; Marca: Mabe; Modelo: RMR10WJVESO; Serie: 0935407619
- Cocineta; Marca: Proctor Silex; Modelo: 34101P; Serie: 16GU97
- Destilador de Agua; Marca: FANEM; Modelo: 724; Serie: YAE-43544

Reactivos:

- Agua de peptona Tamponada Merck Milipore
- Agua destilada
- Alcohol etílico
- Placas 3M® Petrifilm™ para recuento de bacterias ácido lácticas

2.6 Método de análisis

2.6.1 Placas Petrifilm para recuento de bacterias ácido-lácticas.

Las placas para recuento de bacterias ácido lácticas 3M® Petrifilm™ constituyen un sistema de medio de cultivo listo para usarse, que contiene nutrientes, agentes selectivos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio (TTC) que facilitó el recuento de colonias. La placa contiene compuestos que eliminan el oxígeno, creando un ambiente anaeróbico para la recuperación de bacterias ácido lácticas homofermentativas y heterofermentativas en las industrias de alimentos y bebidas (Anexo 2) (*guía-interpretación-petrifilm-acido-láctica*, 2017).

2.6.2 Placas Petrifilm para el recuento de aerobios

Las Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios (Aerobic Count AC) constituyen un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilitó el recuento de las colonias (*Petrifilm_guias.pdf*, 2009)

2.6.3 Obtención de la dilución ideal para la siembra de los productos cárnicos y superficies en contacto

Para la obtención de la dilución ideal de siembra se realizaron ensayos en el producto cárnico considerado más crítico (Jamón Sanduchero) por presentar mayor porcentaje de devolución, conjuntamente con su superficie en contacto involucrada más crítica (banda transportadora). Los ensayos se realizaron en las etapas: después de cocción (pieza), empaçado y en un empaque que ha finalizado su periodo de vida útil y que se encontraba “soplado”. Una vez realizada la siembra y después de 48 horas de incubación se escogió la placa en el cual era posible el recuento de las colonias de bacterias ácido lácticas. Finalmente se determinó que los productos cárnicos en pieza, recién empaçados y las superficies en contacto se deben



sembrar a una dilución de 10^{-1} y en los empaques que han finalizado su vida útil se deben sembrar a una dilución de 10^{-6} (Anexo 3).

2.6.4 Procedimiento para establecer las cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos

Al tamaño de muestra obtenida tanto de las condiciones normales como de las ideales de empaqueo se distribuyó en 3 o 4 tiempos de análisis durante 30 o 45 días de acuerdo al tiempo de vida útil del producto:

-Tiempo de análisis 1: una vez finalizado el proceso de empaqueo (Día 1) del producto cárnico se estableció la concentración microbiológica inicial de BAL con la que inician los productos cárnicos.

-Tiempo de análisis 2,3 o 4: los productos cárnicos restantes obtenidos en condiciones normales de empaqueo se almacenaron a temperatura de almacenamiento normal (de 2 a 8 °C) mientras que los obtenidos en condiciones ideales de empaqueo se los almacenó a temperatura de almacenamiento ideal (3 ± 1 °C), a los cuales se les realizó el respectivo análisis microbiológico cada 15 días (Día 15, 30 ,45) según el tiempo de vida útil de cada producto con la finalidad de determinar el incremento o proliferación de BAL , así como también observar las alteraciones fisicoquímicas y organolépticas.

2.6.5 Procedimiento para el análisis microbiológico de los productos cárnicos

Para el análisis microbiológico de BAL además de recolectar los productos cárnicos a ser estudiados también se recolectó varias piezas cocidas de cada producto, de las cuales solo se utilizó una porción representativa de cada uno de ellas. Luego se procedió a preparar las muestras así; se tomó 10 g de muestra en 90 ml de agua de peptona al 0.1 % contenidos en una funda Whirl-pack, se homogenizó y se obtuvo la primera dilución 1/10. A partir de esta dilución se tomó 1 ml y se colocó en 9 ml de agua de peptona, hasta obtener las diluciones ideales requeridas. Finalmente se tomó 1 ml del cual se realizó la siembra sobre la placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M Petrifilm® y se procedió a leer los resultados a las 48 horas \pm 3 horas con ayuda de un contador de colonias. Cabe decir que para el caso de las picaditas al ser una mezcla heterogénea de varios subproductos para que la muestra examinada sea representativa se pesó 3.33 g de cada uno de ellos y se continuó con el mismo procedimiento indicado para el resto de productos.

2.6.6 Procedimiento para el análisis microbiológico de las superficies en contacto

Para el análisis microbiológico de superficies regulares/irregulares y superficies vivas se seleccionó el método de muestreo del hisopo, mismo que consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente el área determinada de muestreo.

-Método del hisopo en superficies inertes regulares e irregulares: se esterilizó 10 ml de solución diluyente en un tubo de ensayo con tapa hermética, se procedió a delimitar la superficie empleando una plantilla estéril de acero inoxidable de 100 cm² (10 cm x 10 cm), se humedeció un hisopo estéril en la solución diluyente y se frotó 4 veces sobre la superficie en contacto en direcciones opuestas. Una vez obtenida la muestra se devolvió el hisopo a la solución diluyente rompiendo la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos. A partir de esta solución se tomó 1 ml para realizar la siembra microbiológica en las placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M Petrifilm® y se procedió a leer los resultados a las 48 horas ± 3 horas con ayuda de un contador de colonias.

-Método del hisopo en superficies vivas (manos de operadores): se realizó el hisopado de la mano (derecha), palma, dorso, dedos y uñas y se colocó en 10 ml de agua de peptona, luego se tomó 1 ml y se continuó con el mismo procedimiento de siembra indicado anteriormente en superficies en contacto vivas regulares e irregulares.

-Cálculo y expresión de resultados:

- **Superficies regulares:** Se procedió a contar todas las colonias desarrolladas, se multiplicó por el factor de dilución correspondiente y por volumen del diluyente empleado (10 ml) y se dividió entre el área de la superficie hisopada (100 cm²). Los resultados fueron expresados en UFC/ cm² (Ministerio de Salud del Perú. MINSa, 2007).
- **Superficies irregulares:** Se procedió a contar todas las colonias desarrolladas, se multiplicó por el factor de dilución correspondiente y por el volumen de la solución diluyente utilizada (10 ml). Los resultados fueron expresados en UFC/ superficie muestreada (utensilio) (Ministerio de Salud del Perú. MINSa, 2007).
- **Superficies vivas:** se realizó los mismos cálculos anteriores y se reportó como UFC/ mano derecha o izquierda.

2.7 Manejo de datos estadísticos

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos se empleó el programa informático Microsoft Excel 2016 y se aplicó la estadística descriptiva en el cuál se determinó la media, desviación estándar y se realizaron gráficos de columnas agrupadas con el fin de comparar



las concentraciones microbiológicas de BAL de superficies en contacto entre condiciones normales e ideales de empaçado y de las cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos entre temperaturas normales e ideales de almacenamiento. Además, se utilizó gráficos circulares para mostrar las relaciones porcentuales de BAL en cada tipo de superficies en contacto (regular, irregular y vivas).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudio de BAL en las superficies en contacto

Los productos cárnicos al momento de ser elaborados pasan por diferentes tipos de superficies; vivas e inertes, regulares e irregulares, siendo que cada una de ellas aporta una concentración de BAL al producto terminado en diferentes proporciones, las cuáles por adición representan una concentración considerable que afecta la estabilidad del producto reduciendo su vida útil.

3.1.1 Jamón Sanduchero 200g

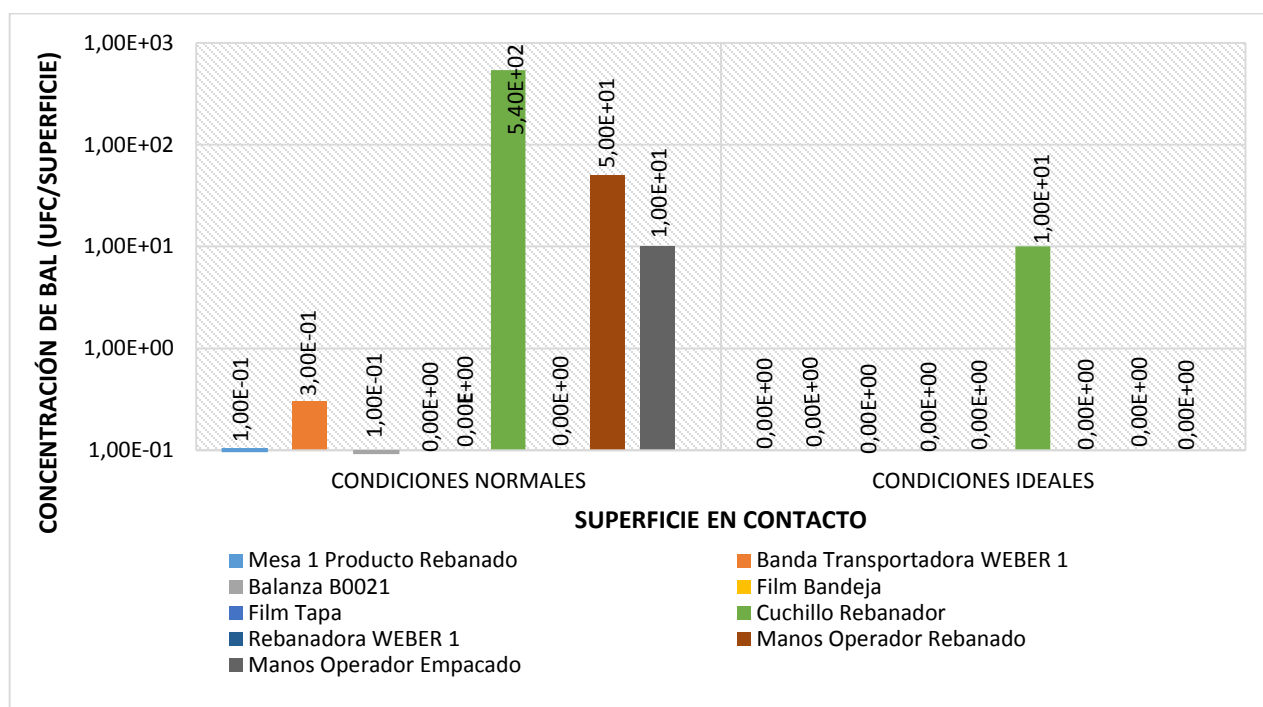


Figura 8. Concentración de BAL en las superficies en contacto del jamón sandwichero

En la Figura 8 se observa que dentro de las condiciones normales la superficie en contacto que presenta mayor concentración de BAL fue el cuchillo rebanador con una concentración de $5,4 \times 10^2$ UFC/ cuchillo, a diferencia del resto de superficies cuyas concentraciones se encuentran entre $0,1 \text{ UFC/cm}^2$ y $50 \text{ UFC/mano derecha}$ (Anexo 4). Además, a la dilución de 10^{-1} se registró ausencia de crecimiento de BAL en la rebanadora WEBER 1 y en el material de empacado (film bandeja y tapa). En condiciones ideales se observó que la única superficie en contacto que registró crecimiento fue el cuchillo con una concentración de 10 UFC/ cuchillo mientras que para el resto de superficies no se evidenció crecimiento.

Inicialmente se consideraba que la superficie en contacto de mayor criticidad era la banda transportadora. Sin embargo, al realizar el estudio se determinó que la superficie más crítica fue el cuchillo tradicional por presentar mayor recuento de BAL en ambas condiciones.

La pieza de jamón previo al proceso de rebanado se encuentra cubierta por su envoltura plástica, misma que no sufre un proceso de desinfección anterior, es así que cuando el cuchillo tradicional desprendió la envoltura plástica se produjo un arrastre de BAL que se encontraban en desde la superficie de la envoltura hasta el interior del producto. El cuchillo tradicional consta de una interfase mango-hoja, una zona interna poco accesible por los sistemas de limpieza y desinfección permitiendo la retención de microorganismos.

El acero inoxidable es el material de elección en las instalaciones industriales porque es resistente a los golpes y a la corrosión, es estable, inerte y de fácil limpieza. El cuchillo tradicional es fabricado de este material, pero a pesar de sus múltiples propiedades presenta diminutas oquedades que no se observan a simple vista según Jerez & Herrero (2006), lo cual permitió facilidad de adherencia microbiana y de materia orgánica por el incremento del número de puntos de adhesión.

En el estudio realizado por Ossa et al., (2010), en las superficies en contacto (cuchillas de metal, máquina de tajado, mesa de producción y banda transportadora) dentro de la zona de tajado de una planta procesadora de alimentos, utilizando el método del hisopo se aislaron 2 cepas de BAL del género de *Lactobacillus spp* con propiedad para formar biopelículas (Ossa et al., 2010). Sustentándonos en este hecho, las biopelículas que se formen en la superficie del cuchillo pueden contaminar los bloques de jamón, ocasionar deterioro, contaminación cruzada y contaminación post-proceso por la liberación continua de bacterias que afectan la calidad y aparecer en el producto final ocasionando “blown pack”

3.1.2 Mortadela Especial 400g

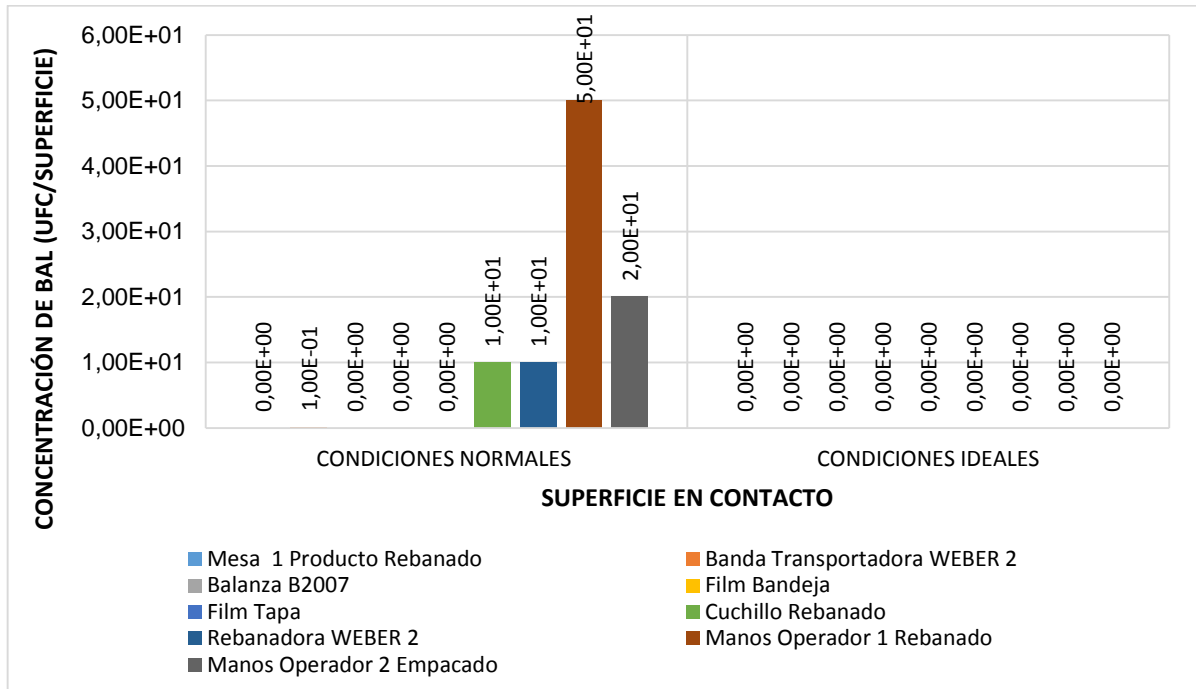


Figura 9. Concentración de BAL en las superficies en contacto de la mortadela especial

En la figura 9 se observa que en condiciones normales las superficies que registraron mayor crecimiento de BAL fueron las manos de los operadores 1 y 2 con concentraciones de 50 y 20 UFC/mano derecha (Anexo 4). El operador 1 se encarga de cortar los extremos de la pieza, desprender el film que envuelve la pieza con ayuda del cuchillo rebanador, coloca la pieza dentro de la rebanadora WEBER 2, pesar el producto rebanado y colocar en la mesa 1 de manera ordenada. El operador 2 es el encargado de tomar el producto rebanado de la mesa, acomodar y colocar dentro del film bandeja.

Los manipuladores pueden acumular microorganismos por contacto directo con objetos contaminados, tales como utensilios, materiales y equipos con procesos de limpieza y desinfección ineficientes. Dentro de la empresa en donde se realizó el estudio existe un plan de lavado de manos que consiste en una luz de alerta indicando que el proceso de lavado se debe realizar de manera inmediata. En el área de empaque esta luz se enciende cada hora y los manipuladores deben lavarse las manos, acción que es supervisada por el jefe de cada área. Además, los guantes se deben reemplazar cada vez que se empaque un nuevo producto. Sin embargo, en el periodo en el que se realizó el estudio se observó que los manipuladores no cumplían con las prácticas higiénicas establecidas ocasionando una contaminación biológica secundaria en el producto terminado.

En condiciones ideales a la concentración de 10^{-1} no se observó crecimiento de BAL en ninguna superficie en contacto, debido a que, en estas condiciones, el proceso de lavado de manos y cambio de guantes fueron controlados, reduciendo al mínimo la carga microbiana.

3.1.3 Picaditas 450 g

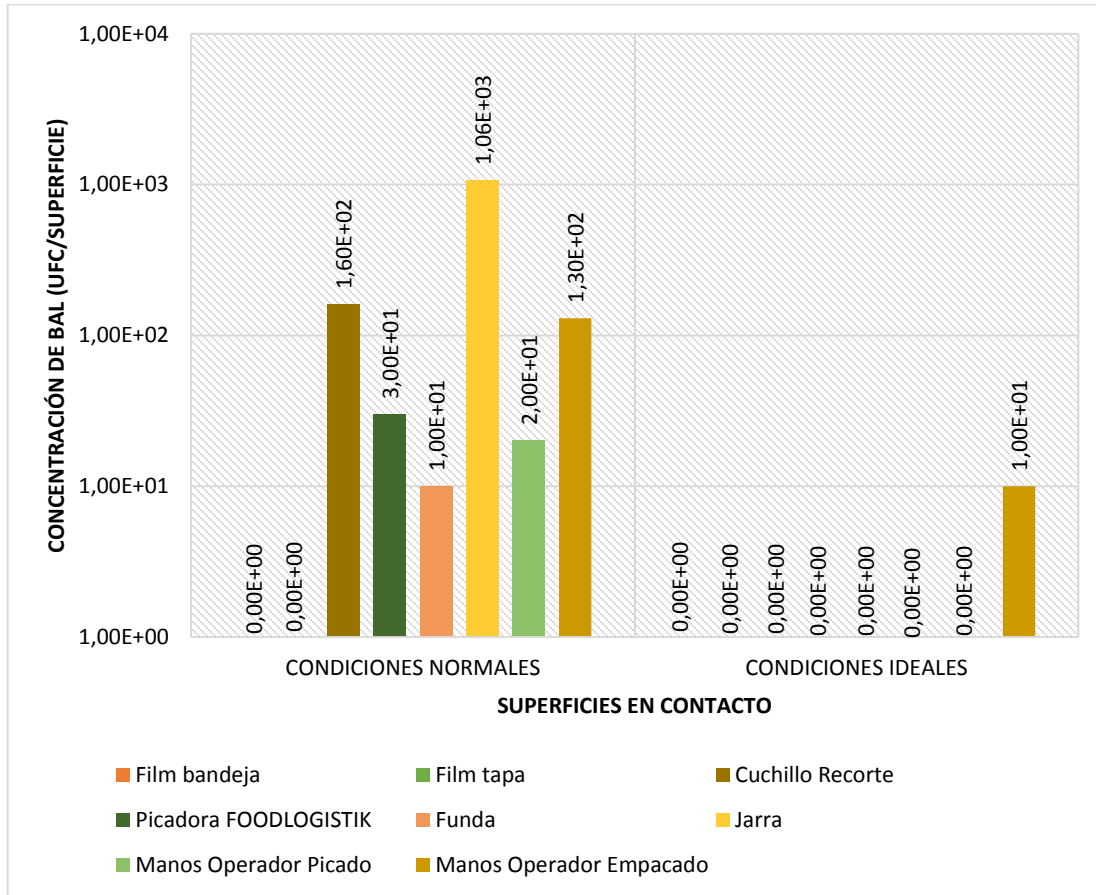


Figura 10. Concentración de BAL en las superficies en contacto de las picaditas.

En la figura 10 se observa que, en condiciones normales, existió crecimiento de BAL en seis superficies; el cuchillo presentó una concentración de $1,60 \times 10^2$ UFC/cuchillo (Anexo 4). La picadora FOODLOGISTIK empleado para cortar las piezas de los subproductos en forma de cuadrados y de tamaño mediano, registró una concentración de 30 UFC/picadora. Estos utensilios al entrar en contacto con el producto originan una contaminación cruzada.

Las manos de los operadores de picado y empacado registraron una concentración de 20 y $1,3 \times 10^2$ UFC/mano derecha, respectivamente, dando lugar una contaminación biológica secundaria.



La funda plástica en donde los subproductos picados son recogidos y recubiertos por un periodo de tiempo, presentó una concentración de 10 UFC/funda, concentración relativamente baja, que nos indica que las BAL están presente en los productos picados que conjuntamente con el grado de manipulación, pueden originar una contaminación de las superficies por arrastre de microorganismos.

Se registró mayor crecimiento de BAL, en la “la jarra” con una concentración de $1,06 \times 10^3$ UFC/jarra. Éste utensilio cumple con la función de tomar los subproductos picados y colocarlos en el film bandeja para su posterior empaçado. La jarra de picaditas en su estructura presenta defectos de superficie como pliegues, rugosidades, recovecos, y puntos ciegos (interfase mango-metal) que proporcionan protección a la suciedad y a los microorganismos y que a pesar de los procesos de limpieza y desinfección periódicos las bacterias pueden sobrevivir y multiplicarse, formar un biofilm e incluso causar corrosión del material.

En las condiciones ideales se registró crecimiento únicamente en las manos del operador que empaca con una concentración de 10 UFC/mano derecha a una dilución de 10^{-1} . Esto se le atribuye a que las superficies involucradas al inicio del proceso de empaçado no presentaron crecimiento de BAL por ende no existe arrastre de los microorganismos y la probabilidad de ocasionar una contaminación biológica secundaria es relativamente baja.

3.1.4 Salchicha de Freír ternera de 450 g

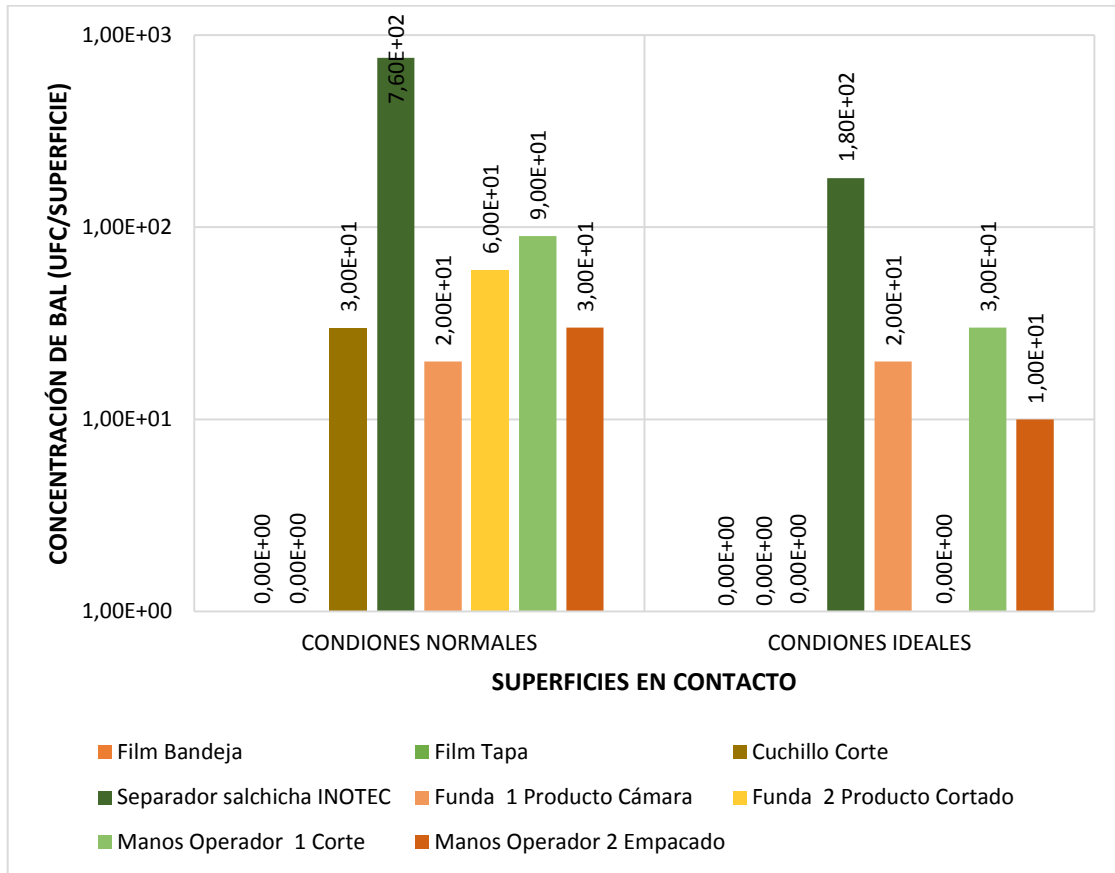


Figura 11. Cargas microbiológicas de BAL en las superficies en contacto de Salchicha Freír ternera.

En la figura 11 se observa que la superficie en contacto con mayor crecimiento de BAL fue el separador de salchicha INOTEC con una concentración de $7,6 \times 10^2$ y $1,8 \times 10^2$ UFC/separador (Anexo 4) en condiciones normales e ideales respectivamente, debido a que éste es el único equipo empleado para separar toda clase de salchicha fabricados en la empresa. La parte interna por donde se desplazan las salchichas para ser cortadas están fabricadas de un material flexible de caucho, un tipo de superficie hidrófoba que permite que las bacterias tiendan a desarrollarse. Además, en su estructura presenta defectos como; ranuras, rugosidades, espacios corroídos y vulnerabilidad al desgaste permitiendo que ciertos microorganismos se adhieran con facilidad para formar un biofilm.

Las manos de los operadores de corte y empaado en condiciones normales presentaron concentraciones de 9×10^1 y 3×10^1 UFC/mano derecha respectivamente, mientras que en condiciones ideales presentaron una concentración de 3×10^1 y 1×10^1 UFC/ mano derecha respectivamente. Estas concentraciones a pesar de ser mínimas, son debidas al

intercambio bidireccional de BAL transitorios entre: las manos del operador y la superficie en contacto contaminada dando como resultado una contaminación cruzada indirecta.

La funda 1 presentó concentraciones de BAL de 2×10^1 UFC/funda tanto en condiciones normales e ideales, dicha funda contiene a las salchichas durante el almacenamiento en cámaras luego del proceso de cocción hasta que sean llevadas al área de empaque dependiendo de la demanda en ventas. La funda 2 en la que caen las salchichas luego de pasar por el separador de salchichas INOTEC, presenta una concentración de 6×10^1 UFC/funda en condiciones normales y ausencia de crecimiento en condiciones ideales. La parte interna de las fundas plásticas se encuentra un ambiente libre de microorganismos pero que, al entrar en contacto directo con el producto, se contaminan y presentan cargas microbiológicas de BAL relativamente bajas.

3.2 Relación porcentual de BAL de las superficies en contacto

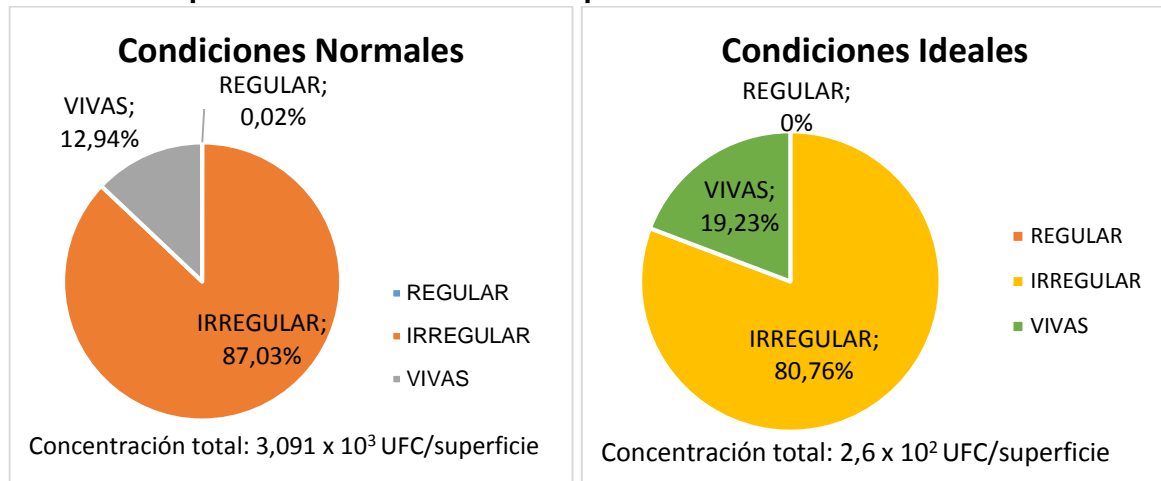


Figura 12. Porcentajes de BAL en las superficies en contacto.

El mayor crecimiento de BAL se evidenció en las superficies de tipo irregular presentando un 87,03 % y 80,76 % en condiciones normales e ideales respectivamente, debido a la limitación de los sistemas de limpieza y de desinfección en zonas de difícil acceso en los utensilios, materiales y equipos y que además son olvidadas por los operarios o simplemente se omiten al realizar el control de superficies. Las superficies irregulares permiten el alojamiento de diferentes microorganismos entre ellos las BAL que, junto con la disponibilidad de nutrientes y de materia orgánica facilitan la formación de biofilms ya que forman una barrera protectora de tal manera que los microorganismos son protegidos de la acción de los desinfectantes (resistencia a los biocidas) (Castillo & Guillermo, 2014; Jerez & Herrero, 2006).

3.3 Determinación de cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos empacados al vacío

3.3.1 Jamón Sanduchero 200 g

Se determinó la carga inicial de BAL en el día 1 de almacenamiento; reflejándose valores de $<1 \times 10^1$ y $1,50 \times 10^1$ UFC/g (Anexo 5) tanto en condiciones normales e ideales respectivamente. En ambas condiciones, con respecto al tiempo de almacenamiento, se observó un aumento directamente proporcional de las cargas microbiológicas de BAL en los días 15,30 y 45 (Figura 13).

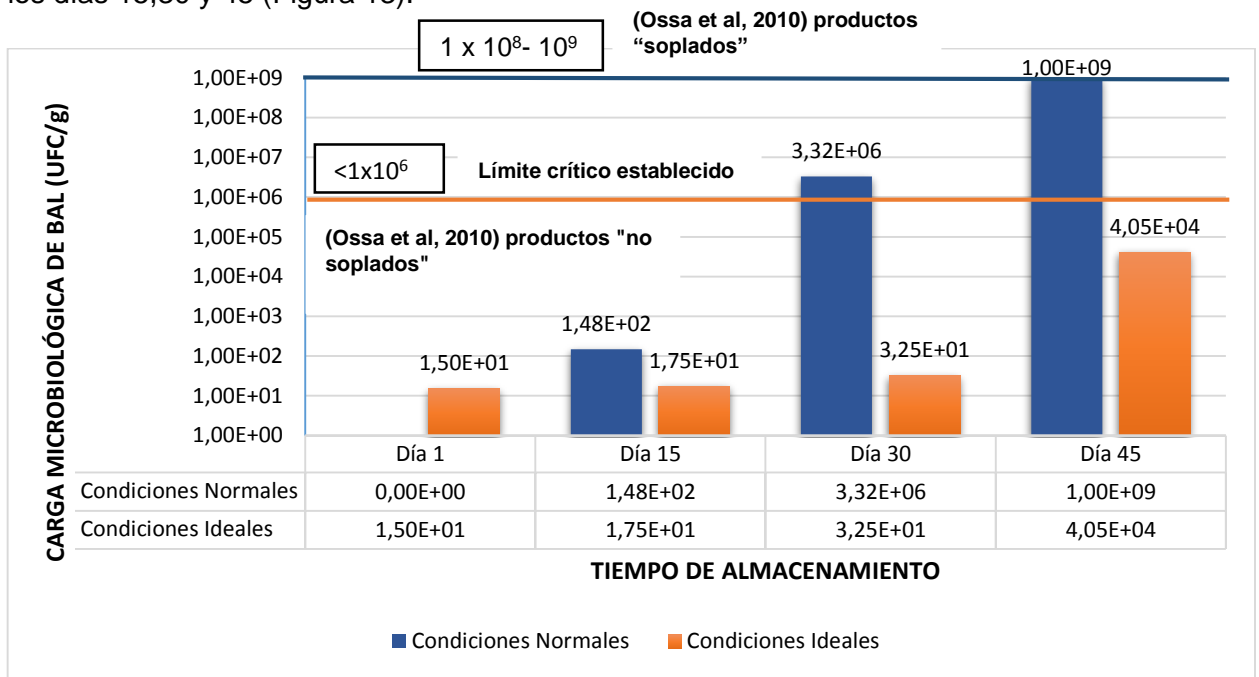


Figura 13. Cargas microbiológicas de BAL en el jamón sanduchero

En condiciones ideales el incremento de la carga microbiológica de BAL es menor debido a la temperatura de almacenamiento (3 ± 1 °C) que permite conservar las características sensoriales y ampliar el tiempo de vida útil del producto.

En condiciones normales a partir del día 30, las características organolépticas declinaron progresivamente (Anexo 7), e incluso se evidenció la presencia de exudado conocido como “lechosidad”, pérdida del vacío e hinchazón o “soplamiento” del producto y siendo aún más evidente para los productos del día 45.

En un estudio realizado por Ossa et al., (2010) se caracterizó la diversidad microbiana y la calidad microbiológica e higiénico sanitaria de 10 marcas de jamones de cerdo cocidos “abombados” y “no abombados” comprados en diferentes supermercados de Bogotá D.C y

refrigerados bajo las mismas condiciones del consumidor ($6-9 \pm 0.1^\circ\text{C}$), durante 45 días. Se identificaron 139 cepas aisladas del producto terminado de las cuales el 99% (137 cepas) pertenecían al grupo de BAL y el 1% restante eran levaduras. De las 139 cepas aisladas, 37 pertenecen a géneros de BAL como *Leuconostoc spp.*, *Lactococcus spp.*, *Oenococcus spp.*, y 100 al género *Lactobacillus spp.* De las 10 muestras, 4 presentaban abombamiento y reflejaban recuentos de BAL 1×10^8 - 10^9 UFC/g y 6 no presentaba abombamiento arrojando recuentos menores de 1×10^6 UFC/g, disminuyendo 3 valores exponenciales respecto a las muestras abombadas.

La carga final de BAL en el día 45 fue de 1×10^9 recuentos que coinciden con los propuestos por Ossa et al., (2010) para productos “soplados”, quien menciona que la temperatura de almacenamiento (de 2 a 8 °C) es un factor importante que influye en el crecimiento microbiológico de BAL.

En condiciones ideales, en el día 45 la carga microbiológica de BAL fue de $4,05 \times 10^4$ UFC/g, recuentos que de igual manera coinciden con respecto a los propuestos por Ossa et al., (2010) para productos no soplados, debido a que la temperatura de almacenamiento mantuvo a los productos fuera de la zona de peligro; es decir, las BAL retrasaron su crecimiento ya que se mantendrían a temperaturas inferiores a 5 °C (Erkmen & Bozoglu, 2016). No obstante, a pesar de que las características organolépticas presentaron poca variación, las características de empaque “soplamiento” permanecieron sin cambios (Anexo 7) e incluso después de finalizar su periodo de vida útil.

Para obtener un producto cárnico procesado de calidad, es imprescindible controlar las temperaturas de cocción y de almacenamiento; tratamientos que permiten inhibir el crecimiento microbiano, eliminar riesgos asociados al deterioro, conservar cualidades sensoriales, ampliar la vida útil e inocuidad (Gonzalez, Suárez, & Martínez, 2010).

Gonzalez et al., 2010 estudió la influencia del proceso de cocción y las temperaturas de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del jamón de cerdo tajado y empacado determinando que el producto más estable es el que se somete a temperaturas de cocción de hasta 75 °C y que se encuentra almacenado a 4 °C por el periodo de vida útil (Gonzalez, Suárez, & Martínez, 2010). Durante el proceso de cocción de las piezas jamón (3,5 kg) se alcanzan temperaturas de 74 - 76 °C y se almacenaron a una temperatura de cámara de congelación de -2 °C para posteriormente pasar al proceso de rebanado y envasado. Los recuentos microbiológicos de BAL de las

piezas de jamón cocidas proporcionaron un recuento de $< 1,0 \times 10^1$ UFC/ g; lo que indicaría que el proceso de cocción fue eficaz. Sin embargo, a estas temperaturas puede sobrevivir una carga microbiana residual de BAL, es decir; aquellas que son termófilas o termodúricas que, junto a cualquier operación posterior a la cocción, como el pelado, loncheado y envasado incrementará los riesgos de contaminación post-proceso.

3.3.2 Picaditas 450 g

El análisis microbiológico de BAL de las piezas cocidas reflejaron recuentos de $2,0 \times 10^1$ UFC/ g (Anexo 6), indicándonos que el producto parte con una carga microbiana relativamente baja antes del proceso de empaclado.

(Ossa et al, 2010) productos "no soplados"

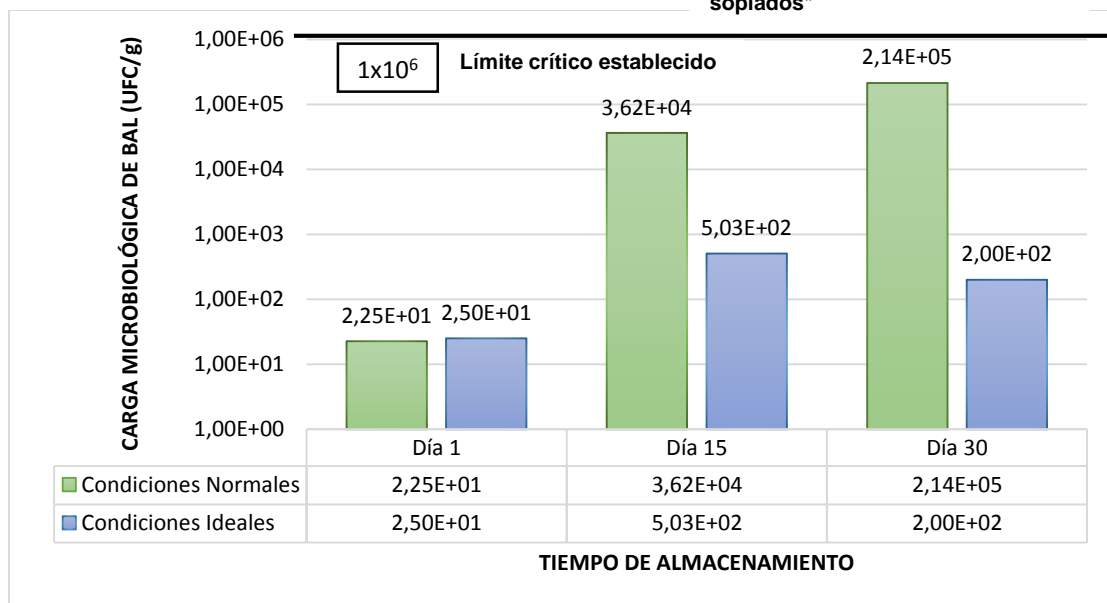


Figura 14. Cargas microbiológicas de BAL en las picaditas

En condiciones normales, la carga inicial de BAL fue de $2,25 \times 10^1$ UFC/g (Anexo 5) incrementándose proporcionalmente con respecto al tiempo de almacenamiento llegando hasta una carga final de $2,14 \times 10^5$ UFC/g para el día 30. Se determinó que el incremento de BAL en la etapa de empaclado es consecuencia del tiempo de exposición prolongado al ambiente de los embutidos picados, y además al contacto directo con determinadas superficies.

Durante la toma de muestra de los productos cárnicos se observó que los embutidos picados permanecían recubiertos por una funda plástica, por un tiempo aproximado de 6-8 horas a temperaturas que oscilan entre 2-10 °C del área de empaque. Por cuanto al ser un producto picado la superficie de contacto se incrementa y el proceso de oxidación de la



mioglobina puede ocurrir a gran velocidad dando lugar inclusive a reacciones de oxidación de los lípidos (Majul et al., 2004). Durante este tiempo, la oxidación de la mioglobina no ocurrió a pesar de permanecer expuestos a la acción del oxígeno y a la luz, ya que la funda plástica es impermeable a la acción del oxígeno.

No obstante, tomando en consideración que las bacterias cuando se encuentran en temperaturas de 5-60 °C crecen con mayor rapidez (tiempo estimado de 20 minutos) se estableció que pudieron proliferar microorganismos alterantes como las BAL.

En condiciones normales la superficie con mayor recuento microbiológico fue la jarra la cual registró una concentración de $1,06 \times 10^3$ UFC/jarra debido a la facilidad de adherencia microbiana por sus defectos de superficie originando un arrastre de BAL hacía el producto terminado.

En condiciones ideales, en el día 1 la carga inicial de BAL fue de $2,5 \times 10^1$ UFC/g, incrementándose aproximadamente en 1 unidad exponencial hasta el día 15 proporcionando valores de $5,03 \times 10^2$ UFC/g y la carga final en el día 30 de 2×10^2 UFC/g. La tasa de crecimiento al final de la vida útil disminuye debido al agotamiento de nutrientes en la fase estacionaria del crecimiento bacteriano. Además, en el análisis de superficies se observó que no existió arrastre de microorganismos ya que se registró crecimiento únicamente en las manos del operador que empaca con una concentración de 10 UFC/mano derecha.

Al finalizar el tiempo de vida útil de este producto, los recuentos de BAL no sobrepasaron los recuentos de BAL propuesto por Ossa et al., (2010) de $< 1 \times 10^6$ UFC/g para productos “no sopladados” y de 1×10^8 - 10^9 UFC/g para productos “soplados” en ambas condiciones a pesar de estar expuesto a contaminación post-proceso. En condiciones normales, a partir del día 15 de almacenamiento, el deterioro de las características organolépticas fue fácilmente apreciable (Anexo 7), se evidenció la presencia de exudado o “lechosidad”, pero el soplamiento del envase se presentó en el día 30. En condiciones ideales en el día 30, el deterioro de las características organolépticas fue evidente pero no se evidenció soplamiento del producto. Al ser un producto cocido que sufre contaminación post-proceso el tiempo de vida útil se reduce a 30 días a pesar de estar elaborado con piezas de jamón cuya vida útil es de 45 días.

Un inconveniente que se evidenció en la elaboración de dicho producto fue la aparición de partículas de grasa que se disponían en forma de película alrededor de la pieza de recorte



naranja. La grasa es una materia prima fundamenta que influye sobre la facilidad de corte, jugosidad y aporta ligazón que favorece la formación de la emulsión de los componentes de la masa del producto cárnico.

En el empaçado al vacío, la absorción del CO₂ depende del contenido de grasas y de la humedad de los productos cárnicos, es así que, en las picaditas al presentar un elevado contenido de grasas, la absorción del CO₂ es mayor, conduciendo al fenómeno conocido como “colapso del envase” evidenciado en condiciones normales.

3.3.3 Mortadela especial 400 g

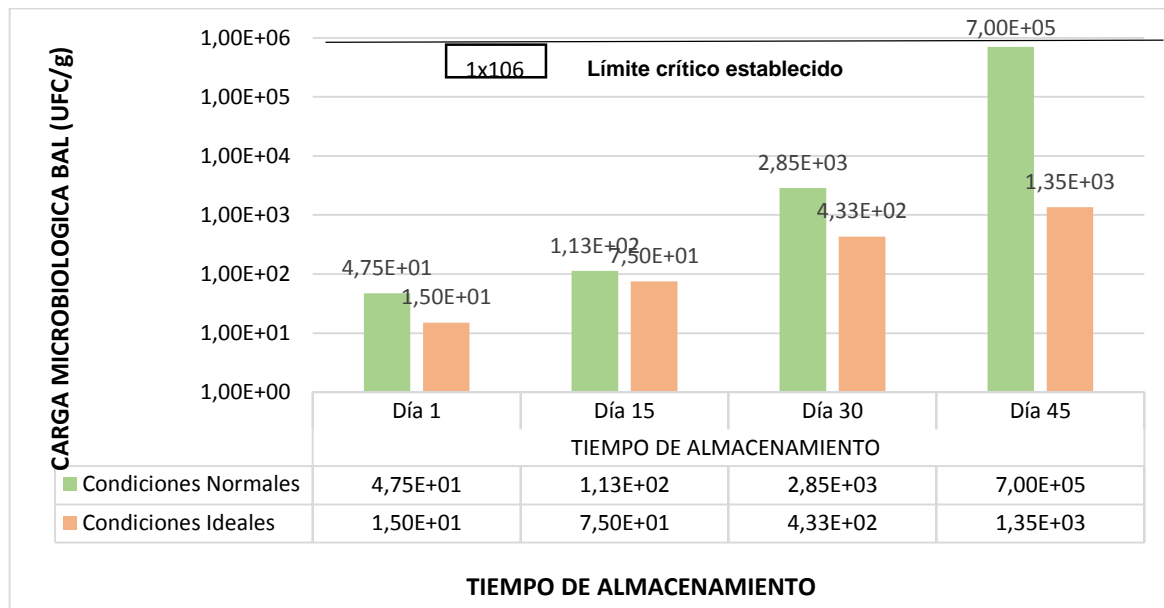


Figura 15. Cargas microbiológicas de BAL en la mortadela especial

Las BAL se encontraron en concentraciones de $5,0 \times 10^1$ UFC/g (Anexo 6) en piezas después de cocción, siendo la flora láctica dominante los *Lactobacillus spp.* y *Leuconostoc spp.*, al tener la característica de resistir al tratamiento térmico y causar deterioro, que además con las superficies en contacto involucradas durante el proceso de empaçado aumentan la carga microbiológica de las BAL.

La mortadela especial al finalizar el proceso de empaçado en condiciones normales en el día 1 presentó una concentración de $4,75 \times 10^1$ UFC/g (Anexo 5) mientras que en condiciones ideales fue de $1,50 \times 10^1$ UFC/g lo que indica que en las piezas y en el área de empaçado están presentes las BAL siendo el destino final el producto cárnico empaçado al vacío. En la figura 15 se observa una comparación de cargas microbiológicas de BAL en las dos condiciones de empaçado y almacenado, evidenciando que hasta el día 30 no existe



una variabilidad considerable en las mismas. Además, se observó un crecimiento ligeramente variable en los días 1, 15, 30 en condiciones normales e ideales y finalmente en el día 45 la carga microbiológica fue mayor en las condiciones normales que las ideales con una variación de 2 unidades exponenciales.

El inicio del deterioro de la mortadela especial se observó a partir del día 30 en condiciones de almacenamiento normales (de 2 a 8°C) en donde ya existió producción de exudado o “lechosis” pérdida del vacío e hinchazón o “soplamiento” del empaque relacionados con la oxidación de componentes como lípidos, vitaminas y proteínas cuyos subproductos son compuestos aromáticos que ocasionan el rechazo sensorial de los consumidores. A diferencia de las mortadelas que fueron almacenados en condiciones ideales (3°C) las cuales conservaban la mayoría de sus características organolépticas (Anexo 7) dentro del rango aceptable para los consumidores. Los cambios físicos de los productos son los primeros en ser evidenciados como un descenso de pH, presencia de exudado, seguidos de los cambios sensoriales (olor, color, sabor) debido a que al ser empacados al vacío el producto retarda el proceso oxidativo permitiendo que los cambios sensoriales se presenten en los días posteriores de almacenamiento, sucediendo con mayor velocidad en las mortadelas almacenadas a temperatura de refrigeración, por lo que el rompimiento de la cadena de frío que sufren las mortadelas dentro de la empresa acelera enormemente la proliferación de las BAL seguidos de microorganismos mesófilos.

3.3.4 Salchicha freír ternera 450 g

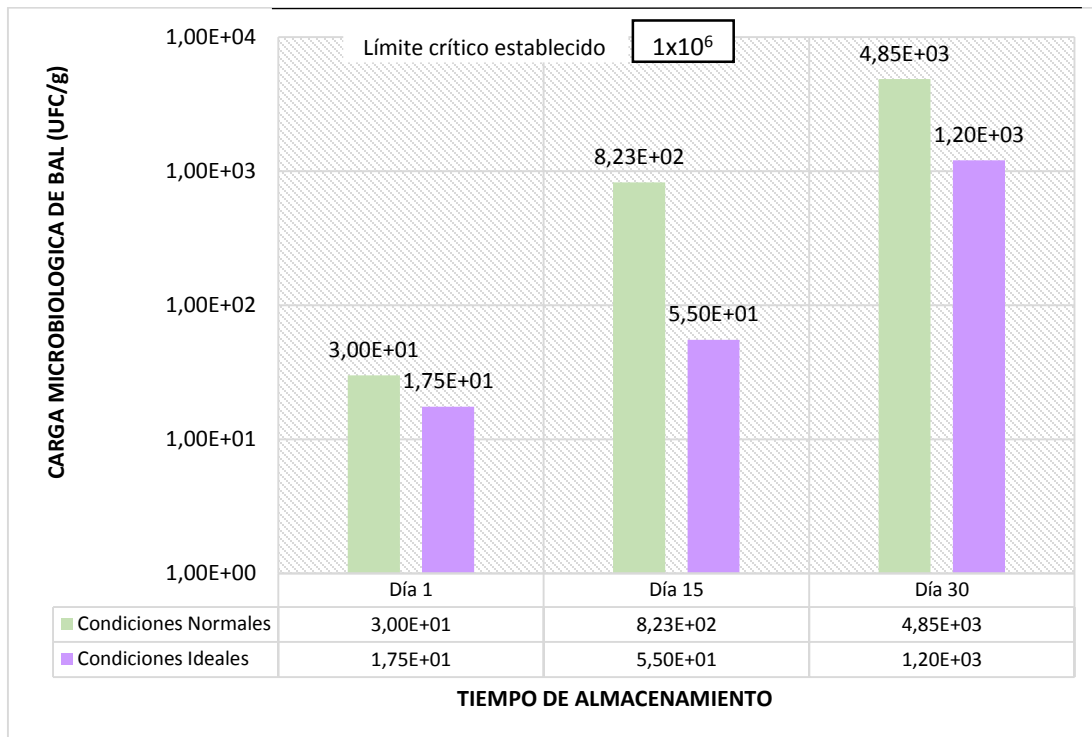


Figura 16. Cargas microbiológicas de BAL en la salchicha freír ternera

Terminado el proceso de cocción se realizó el análisis microbiológico de BAL obteniendo una concentración inicial de $1,5 \times 10^2$ UFC/g (Anexo 6), las salchichas son almacenadas en cámaras que se encuentran a una temperatura de 3°C hasta que inicie su proceso de empaclado.

En el área de empaque la salchicha freír ternera pre-cocida es sometida a un proceso de desinfección debido a que está recubierta únicamente por la tripa comestible a diferencia del resto de los productos cárnicos analizados que en un inicio se encuentran en piezas cubiertas por una capa plástica que son desprendidas. Posterior a la desinfección las salchichas pasan por el separador de salchichas INOTEC siendo la superficie de contacto con mayor crecimiento de BAL con una concentración de $7,6 \times 10^2$ UFC/separador y $1,8 \times 10^2$ UFC/separador en condiciones normales e ideales respectivamente. Finalizado el proceso de empaclado de la salchicha freír ternera se realizó el análisis microbiológico de BAL obteniendo recuentos de 3×10^1 UFC/g en condiciones normales y $1,75 \times 10^1$ UFC/g en ideales, confirmando que tanto en el producto cárnico como en las superficies de contacto están presentes las BAL. En la figura 16 se observa como aumenta gradualmente la concentración de BAL durante el periodo de almacenamiento hasta la finalización de su

vida útil (30 días) en ambas condiciones. El crecimiento en las condiciones ideales se da a una velocidad menor que en las normales, atribuidos a que las BAL proliferan con mayor facilidad a temperatura de refrigeración 2-8°C (condiciones normales). Sin embargo, en ninguna de las dos condiciones (normales e ideales) la salchicha freír ternera alcanza o sobrepasa concentraciones de deterioro $>10^6$ UFC/g, esto puede atribuirse a que el material de empaque empleado en este producto está compuesto de multicapas laminadas en los que se mezclan polímeros con diversas propiedades (polietileno, polipropileno, poliamida, copolímero de vinil acetato-etileno, etilén vinil alcohol, entre otros) otorgando una barrera alta contra el efecto del oxígeno (Cruz et al., 2013). Además, se observó que las características organolépticas (olor, sabor) no sufrieron cambios hasta el día 15 en ambas condiciones y la aparición de exudado lechoso en la superficie del producto fue evidente hasta el día 30 (Anexo 7). Cabe recalcar que en condiciones ideales no se observó hasta la finalización de la vida útil del producto la pérdida del vacío ni la aparición de gas e hinchazón del empaque (Anexo 7) atribuido a varios factores entre ellos el material laminado del cual está formado el empaque que permite el control de los gases específicamente del oxígeno evitando el ingreso por ende la proliferación de microorganismos aerobios y la permeabilidad del vapor de agua, además evita que se produzca decoloración del producto ya que el material está tratado contra los rayos ultravioleta. Este material confiere una relación contenido- envase para evitar la migración de componentes y residuos de los materiales de empaque hacia los alimentos ya que podría contribuir a la presencia de alteraciones en las características sensoriales y nutritivas del producto (Cruz et al., 2013).

A pesar de que el producto una vez finalizado el proceso de empackado parte con una concentración de BAL tanto en condiciones normales como ideales similares al resto de productos, la proliferación de las mismas se presentó a una menor velocidad debido a la variación en el empaque empleado por ende los cambios tanto químicos como organolépticos que producen el rechazo del consumidor se observó al final de la vida útil (día 30) ya que las BAL no encontraron un medio favorable fácilmente de proliferar.

3.4 Resultados del deterioro fisicoquímico de los productos cárnicos

3.4.1 pH

Al finalizar el proceso de empackado, todos los productos cárnicos en estudio presentaron un pH de 7 (rango de pH óptimo para el crecimiento de la mayoría de microorganismos). Sin embargo, a medida que transcurría el tiempo de almacenamiento el pH descendía



lentamente hasta que al finalizar su vida útil los valores fueron de pH 6 y pH 5 en condiciones ideales y normales respectivamente (Anexo 8). Las BAL se consideran bacterias ácido tolerantes porque pueden crecer a valores de pH tan bajos como 3.2 y otras a valores tan altos como 9.6 y como consecuencia de su metabolismo producen principalmente ácido láctico produciendo acidificación del medio. Como se evidenció anteriormente, las BAL ingresaron en la cadena de elaboración de los productos cárnicos y provocaron cambios sensoriales y fisicoquímicos como el descenso de pH.

3.4.2 Nitratos y nitritos

Al finalizar el tiempo de vida útil, todos los productos cárnicos conservaron su coloración rosada, gracias al empleo de un material de empaque impermeable al oxígeno que impidió la oxidación del óxido nítrico a compuestos porfirínicos nitrificados de color verdoso. Conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento de los productos en estudio, en condiciones ideales se pudo observar que los nitratos lentamente se reducían a nitritos, mientras que en condiciones normales se reducían rápidamente gracias a las condiciones de almacenamiento (Anexo 8), lo cual permitió el desarrollo de bacterias nitrato reductoras conjuntamente con bacterias sal-tolerantes como las BAL ocasionando un aumento de la cantidad de ácidos orgánicos y un descenso de pH hasta llegar a valores inferiores a 5.5 en donde se descomponen los nitritos.

3.5 Estudio de aerobios mesófilos

La materia prima empleada para la elaboración de los productos cárnicos por su composición y características físico-químicas, son un excelente medio para el desarrollo y proliferación de microorganismos que están involucrados en el pronto deterioro de los productos terminados (Zea G & Rios de Selgrad, 2004).

Este estudio se realizó en cuatro etapas del proceso de elaboración de los productos cárnicos, con el objetivo de verificar que la concentración microbiológica de aerobios mesófilos después de la etapa de cocción disminuye, evidenciando así la efectividad del proceso de cocción y la calidad higiénico-sanitaria del proceso.

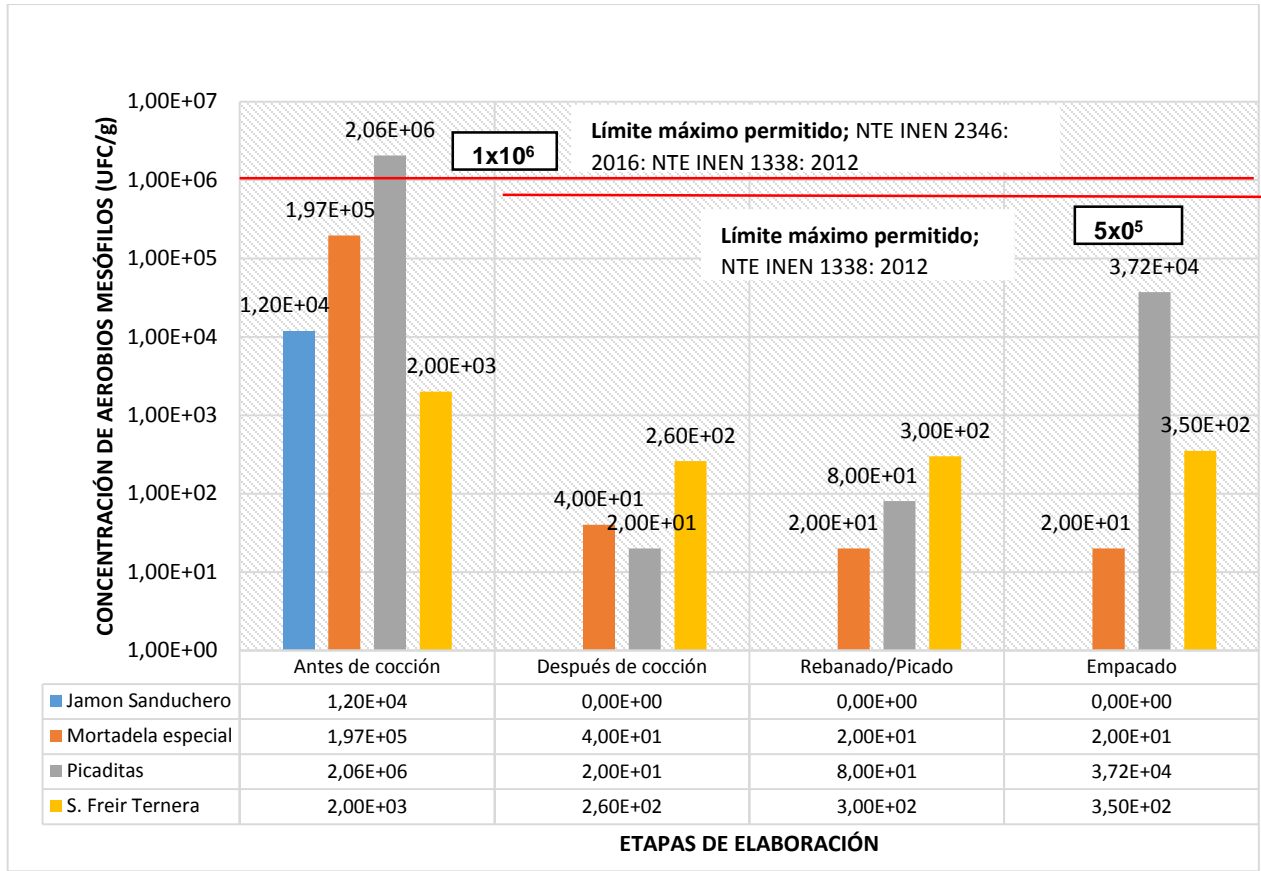


Figura 17. Recuento de aerobios mesófilos en cuatro etapas de elaboración de los productos cárnicos.

En la etapa de cocción las variables de tiempo y temperatura se establecieron de acuerdo al tipo de producto cárnico. Así, la pieza del jamón sandwichero se cocina a una temperatura de 74-76 °C por un tiempo de 3 horas y 30 minutos, la pieza de mortadela y las que conforman las picaditas a 78-80 °C (recorte rojo, naranja y blanco) durante 4 horas. La salchicha de freír ternera es el único producto en estudio que es pre-cocida a una temperatura de 72 °C durante 30 minutos. Posteriormente los productos son llevados a duchas de enfriamiento hasta que la temperatura descienda a 40 °C por un tiempo de 2 a 3 horas, seguido se almacenan en cámaras en donde la temperatura es de 3 °C para finalmente ser empacados.

Como se observa en la Figura 17 en la etapa previa a la cocción el producto cárnico con mayor concentración de aerobios mesófilos fue las “Picaditas 450 g” con un recuento de 2,06 x10⁶ UFC/g (Anexo 9) el cual de acuerdo a la NTE INEN 2346: 2016; “Carne y menudencias comestibles de animales de abasto” excede el límite máximo permitido de 1,0x10⁶ UFC/g, debido a que este producto se encuentra conformado por la mezcla de

varios subproductos como recorte blanco, naranja y rojo; además de que la materia prima empleada para su preparación no recibe ningún proceso de desinfección previo en comparación con la materia prima utilizada para la elaboración del resto de los productos estudiados. Después del proceso de cocción de cada producto cárnico, se puede observar que el recuento de aerobios mesófilos disminuye progresivamente. De esta manera se comprobó que el proceso de cocción es llevado de manera eficaz. En los procesos posteriores de picado/rebanado/corte y la de empaçado se observó un ligero aumento del recuento de aerobios mesófilos (Figura 17) atribuidos a la manipulación que sufren los productos por parte de los operadores y a las superficies que se encuentran en contacto. Sin embargo, las concentraciones microbiológicas de aerobios mesófilos en los productos cárnicos terminados no sobrepasan el límite máximo permitido de 5×10^5 UFC/g para productos cocidos y de 1×10^6 UFC/g para productos precocidos, por lo tanto, cumple con la NTE INEN 1338: 2012; carne y productos cárnicos, productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos.

3.5. Instructivo Interno referencial

Tabla 6. Instructivo interno referencial de BAL de autoría propia.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS-COCIDOS - PRECOCIDOS. REQUISITOS.
1. OBJETIVO
1.1 Esta normativa establece los requisitos microbiológicos de bacterias ácido lácticas (BAL) que deben cumplir los productos cárnicos curados – cocidos - precocidos a nivel de producto terminado previo a la liberación del mismo.
2. ALCANCE
2.1 Esta normativa se aplica a los productos cárnicos curados-cocidos-precocidos; Jamón sandwichero 200g, Mortadela Especial 400g, Picaditas 450g y Salchicha de Freir ternera 450g.
2.2 Es de uso exclusivo de la empresa de embutidos de la Cuenca.
3. DEFINICIONES
3.1 <i>Bacterias ácido lácticas:</i> son un conjunto de bacterias Gram-positivas, no esporuladas, en forma de cocos o bastones y catalasa negativa con un metabolismo estrictamente fermentativo produciendo ácido láctico como el mayor producto final de la fermentación de los azúcares vía Embden-Meyer –glucólisis y en otras ocasiones producen además etanol, acetato y CO ₂ por la vía del ácido-6-fosfogluconico.

3.2 Producto cárnico procesado: es la carne que ha sufrido un proceso de transformación mediante procesos de salazón, curado, fermentado y ahumado con la finalidad de conservarla y mejorar su sabor

3.3 Producto cárnico curado: es una técnica de preservación que a más de la adición de cloruro de sodio se añade sales curantes permitidas (nitrito y/o nitros de sodio ó potasio) y adyuvantes (azúcares, fosfatos, ascorbatos, entre otros).

3.4 Producto cárnico precocido: son los productos sometidos a un tratamiento térmico superficial, previo a su consumo requiere tratamiento térmico completo; se los conoce también como parcialmente cocidos.

3.5 Producto cárnico cocido: son los productos sometidos a tratamiento térmico que deben alcanzar como mínimo 70 °C en su centro térmico o una relación tiempo temperatura equivalente que garantice la destrucción de microorganismos patógenos.

3.6 Producto cárnico refrigerado: son los productos cárnicos que se mantienen a una temperatura entre 0-4 °C

3.7 Jamón: producto cárnico, curado-madurado ó cocido ahumado o no, embutido, moldeado o prensado, elaborado con músculo sea este entero o troceado, con la adición de ingredientes y aditivos de uso permitido

3.8 Mortadela: es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingrediente y aditivos alimentarios permitidos; embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

3.9 Salchicha: es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingrediente y aditivos alimentarios permitidos; embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, crudas, cocidas, maduras, ahumadas o no.

3.10 Picaditas: mezclas de embutidos (recortes blanco, naranja y rojo), medianamente cortadas, versátiles para la preparación de diferentes platos.

4. MATERIALES Y MEDIOS DE CULTIVO

4.1 Materiales

4.1.1 Pipetas volumétricas de 10ml

4.1.2 Gradillas

4.1.3 Erlenmeyer de 100ml

4.1.4 Tubos de ensayo

4.1.5 Balanza analítica

4.1.6 Autoclave

4.1.7 Incubadora

4.1.8 Refrigerador

4.1.9 Destilador de agua

4.1.10 BagMixer

4.2 Medios de cultivo

4.2.1 Placas petrifilm 3M para Bacterias ácido lácticas (agar MRS)

4.2.2 Agua peptonada al 0,1% (diluyente).

5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

5.1 Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la NTE INEN-ISO 6887-2 (microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Preparación de las muestras de análisis, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico)

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Para cada dilución el ensayo se hará por duplicado. En cada placa Petrifilm 3M bien identificadas se colocará 1ml de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior.

6.2 Bajar con cuidado la película superior sobre la muestra para evitar que atrape burbujas de aire.

6.3 Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.

6.4 Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.

6.5 Incubar la placa para recuento de bacterias ácido lácticas 3M por 48 ± 3 horas a 28- 37°C.

6.6 El rango ideal de recuento es menor a 300 colonias sin gas y de 150 colonias con gas.

6.7 todas las colonias sin importar su tamaño o la intensidad del color.

6.8 En caso de placas con demasiadas colonias para el conteo se recomienda pasar a la dilución siguiente o diluir más la muestra hasta tener un recuento dentro del rango ideal de recuento.

6.9 Colonias rojas e íntimamente asociadas a gas dentro del diámetro de una colonia son definidas con BAL heterofermentativas, las colonias rojas sin gas están definidas como BAL homofermentativas

6.10 Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

7. CALCULOS

7.1 Caso general (placas menores a 300 colonias sin gas y 150 colonias con gas)

7.2 No contar las colonias que han crecido fuera del área de inoculación o sobre la espuma por cuanto están fuera de la influencia selectiva del medio.

$$N = \frac{\text{Número de colonias contadas o calculadas}}{\text{Cantidad total de muestra sembrada}} \quad N = \frac{\sum C}{V * n * d}$$

$\sum C$ = suma de las colonias contadas

V = volumen inoculado

n = número de placas seleccionadas

d = factor de dilución

7.3 Redondear los resultados obtenidos a dos cifras significativas. Cuando la tercera cifra comenzando por la izquierda es menor que 5, mantener inalterada la segunda cifra. Si la tercera cifra

es mayor o igual a cinco, incrementar en una unidad la segunda cifra. Expresar como un número entre 1,0 y 9,9 multiplicando por 10^x , donde x es la correspondiente potencia de 10.

7.4 Recuentos estimados

7.4.1 Cuando el número de colonias sin gas es mayor a 300, colonias con gas mayor a 150 y cuando las colonias con o sin gas sea mayor a 150; se puede estimar el recuento. Se determina el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una placa para recuento de bacterias ácido lácticas 3M Petrifilm es aproximadamente 30 cm².

8. INFORME DE RESULTADOS

8.1 Informar con N de microorganismos por gramo de muestra utilizando solo dos cifras significativas, según lo indicado en el numeral 7.3

8.2 El resultado obtenido se expresará de la siguiente manera: UFC/g

9. REQUISITOS

TABLA 1. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos.

PRODUCTO CÁRNICO	REQUISITOS	límite crítico
Jamón Sanduchero 200g	bacterias ácido lácticas, * UFC/ g	$1,5 \times 10^2$
Mortadela Especial 400g	bacterias ácido lácticas, * UFC/ g	$1,1 \times 10^2$
Picaditas 450g	bacterias ácido lácticas, * UFC/ g	5×10^2

TABLA 2. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos pre-cocidos.

PRODUCTO CÁRNICO	REQUISITOS	límite crítico
Salchicha freír ternera 450 g	Bacterias ácido Lácticas, * UFC/ g	$8,2 \times 10^2$

10.2 Requisitos complementarios

10.2.1 La temperatura de almacenamiento de los productos terminados en los lugares de expendio debe estar entre 0°C y 4°C (refrigeración).

4. CONCLUSIONES

A nivel nacional no existe una normativa de referencia de bacterias ácido lácticas en la cual las empresas de embutidos puedan regirse para evitar que sus productos previos a su liberación se encuentren con concentraciones microbiológicas por encima del límite crítico lo cual posteriormente altera la calidad sensorial y reducir la vida útil del producto.

Las fuentes de contaminación más frecuentes en el área de empaçado son las superficies en contacto (equipos, utensilios y manipuladores), puesto que actúan como uno de los reservorios potenciales más importantes en donde se alojan las BAL. El mayor crecimiento de BAL se evidenció en las superficies irregulares presentando un 87,03 % y 80,76 % en condiciones normales e ideales respectivamente, debido a que la limpieza y desinfección llevada a cabo por el personal no se realiza de manera minuciosa en toda el área de la superficie.

Las condiciones de anaerobiosis que brinda el sistema de empaçado al vacío de los productos cárnicos, permitieron el desarrollo de bacterias alterantes como las BAL, en donde encontraron el sustrato idóneo para su actividad metabólica. Las BAL estuvieron presentes en el producto terminado por re-contaminación después del termo-proceso (pasteurización), por contaminación cruzada desde superficies y por la inadecuada manipulación. Lo anterior sumado a problemas con el mantenimiento de la cadena de frío durante el empaçado y almacenamiento ocasionó el deterioro del producto conocido como “blown-pack” o “soplamiento” y posiblemente acorto la vida de anaquel de acuerdo a los resultados obtenidos de las cargas microbiológicas de BAL de los productos cárnicos almacenados en temperaturas normales e ideales (Anexo 5), de las características organolépticas (Anexo 7) y del análisis fisicoquímico (Anexo 8)

Para reducir el porcentaje de devoluciones del producto se ha elaborado un instructivo interno referencial de uso exclusivo para la empresa en donde consta los requisitos microbiológicos de BAL que los productos cárnicos cocidos y pre-cocidos deben cumplir previo a la liberación del producto terminado:

-Jamón Sanduchero 200 g, el límite de aceptación es $< 1 \times 10^1$ UFC/g y el límite crítico es mayor a $1,5 \times 10^2$ UFC/g.

-Mortadela especial 400 g, el límite de aceptación es de $< 1 \times 10^1$ UFC/g y el límite crítico es mayor a $1,1 \times 10^2$ UFC/g.



-Picaditas 450 g, el límite de aceptación es de $< 1 \times 10^1$ UFC/g, el límite crítico es mayor a 5×10^2 UFC/g.

-Salchicha de freír ternera 450 g, el límite de aceptación es de $< 1 \times 10^1$ UFC/g, límite crítico es mayor a $8,2 \times 10^2$ UFC/g.

5. RECOMENDACIONES

- Conocer la flora bacteria residente de cada área de la línea de producción y del ambiente y así obtener información valiosa para diseñar los programas de limpieza y desinfección con mayor eficiencia.
- Un punto crítico de control como la cadena de frío debe ser monitorizado, puesto que favorece el desarrollo de bacterias psicotróficas que siendo mesófilas pueden desarrollarse aceleradamente a temperaturas ente 0-4 °C o a temperaturas mayores entre 6-8 °C cuando se pierde la continuidad en la refrigeración.
- Para evitar la contaminación cruzada las herramientas de trabajo deben higienizarse de forma continua y cuidadosa durante toda la jornada de trabajo y al final de la misma.
- Designar en el área de empaque al vacío a un personal que se encargue de monitorear y verificar que el proceso de limpieza y desinfección se realice correctamente y que cumpla de manera estricta el instructivo de limpieza.
- Realizar una limpieza previa a la desinfección, utilizar la concentración y el tiempo de contacto adecuado y finalmente aclarar y secar las superficies tras la desinfección.
- Para evitar que los microorganismos adquieran resistencia a los biocidas cambiar periódicamente los desinfectantes y evaluar nuevas opciones.
- Mantener actualizado el plan de limpieza y desinfección.
- Realizar estudios microbiológicos complementarios del *Clostridium spp.* debido a que son microorganismos relacionados con el soplamiento de los empaques.
- Una compañía nacional e internacional certificadora en calidad valide los resultados obtenidos con un tamaño de lote mayor de acuerdo al volumen de producción y procurar que las condiciones de empaçado y almacenado sean las mismas.

6. REFERENCIAS

- ARCSA. (2019). *Base de Datos – Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria*. <https://www.controlsanitario.gob.ec/base-de-datos/>
- Augusto, P. E. D., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M. (2011). Thermal inactivation of lactobacillus plantarum in a model liquid food: thermal inactivation of *L. plantarum*. *Journal of Food Process Engineering*, 34(4), 1013-1027. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00529.x>
- Aznar, R. (2006). *¿Qué son las bacterias lácticas?* 8.
- Bibliotecas, D. N. de, Agudelo Flórez, A. C., Agudelo Flórez, A. C., & Agudelo Flórez, A. C. (2009). *Repositorio institucional UN* [Masters, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín]. http://bdigital.unal.edu.co/7626/10/43010785._2009_Parte4.pdf
- Brightwell, G., Clemens, R., Ulrich, S., & Boerema, J. (2007). Possible involvement of psychrotolerant Enterobacteriaceae in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 334-339. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.024>
- Broda, D. M., Bell, R. G., Boerema, J. A., & Musgrave, D. R. (2002). The abattoir source of culturable psychrophilic Clostridium spp. Causing «blown pack» spoilage of vacuum-packed chilled venison. *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 817-824. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01757.x>
- Calvo. (2009, enero). *Mioglobina*. <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/mioglobina.html>
- Castillo, R., & Guillermo, A. (2014). *Evaluación del nivel de contaminación de superficies y la eficacia de productos desinfectantes a corto y largo plazo nuevos métodos*. Universidad Autónoma de Barcelona, <https://ddd.uab.cat/record/116383>
- Chile, L. E. M., Paredes, F. A. M., Jácome, J. C., & Paredes, F. S. (2011). *Diseño y construcción de una máquina termoformadora de plástico con control automático para la empresa miviltech soluciones industriales S.A.* 5.
- Codex Alimentarius FAO-WHO. (1995). *Codexalimentarius FAO-WHO*. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/search/es/?cx=018170620143701104933%3Aqq82jsfba7w&q=192&cof=FORID%3A9&siteurl=www.fao.org%2Ffao-who-codexalimentarius%2Fes%2F&ref=www.google.com%2F&ss=1069j603893j3>



- Cruz, R.-C., Ramirez Bribiesca, J., I., G.-L., & Cruz Monterrosa, R. (2013). Empaque para la conservación de carne y productos cárnicos, pag: 10. Factores alimenticios que influyen en la calidad de la carne de rumiantes, pag: 23. *Agroproductividad*, 6, 10,23.
- Diomedi, A., Chacón, E., Delpiano, L., Hervé, B., Jemenao, M. I., Medel, M., Quintanilla, M., Riedel, G., Tinoco, J., & Cifuentes, M. (2017). Antisépticos y desinfectantes: Apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Revista chilena de infectología*, 34(2), 156-174. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000200010>
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (Eds.). (2016). Principles of Food Spoilage. En *Food Microbiology: Principles into Practice* (pp. 269-278). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch15>
- Flores-Rondón, C., Leal, M., Ruiz-Ramírez, J., Sánchez, E., Moreno, M., & Castro, G. (2011). Tiempo de almacenamiento e identificación de bacterias ácido lácticas en carnes de res picada empacadas al vacío. *Revista Científica*, 9.
- García, M. T. (2017). Microbial biofilms. *Microbial biofilms*, 33.
- Gaspar, T. V. (2010). *Nutricional de la carne*. 76.
- González, M. I., Suárez, H., & Martínez, O. (2010). Influencia del proceso de cocción y temperatura de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del jamón de cerdo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23(3), 336-348.
- Guia-interpretacin-petrifilm-acido-lactica.pdf*. (2017). Recuperado 19 de noviembre de 2019, de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409672O/guia-interpretacin-petrifilm-acido-lactica.pdf>
- Gustavo Buelvas Salgado, & Restrepo Flores, C. E. (2012). *Redalyc. Efecto de la cadena de frío sobre el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, la calidad fisicoquímica y la alteración de jamones cocidos lonchados empacados al vacío*. http://www.academia.edu/10929961/Redalyc.Efecto_de_la_cadena_de_frio_sobre_el_crecimiento_de_bacterias_ácido_lácticas_la_calidad_fisicoquímica_y_la_alteración_de_jamones_cocidos_lonchados_empacados_al_vacío.
- Hayek, Saeed, Salam A, Ibrahim. (2013, julio). *Limitaciones actuales y desafíos con las bacterias del ácido láctico: Una revisión*. Limitaciones actuales y desafíos con las bacterias del ácido láctico: una revisión. https://file.scirp.org/Html/10-2700895_40133.htm
- Hebbel, D. H. S. (2007). *Carne y productos cárnicos*. 111.



- Huertas, P., & Adolfo, R. (2010). Review. bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.
- Jelen, P. (2009). Foods, 2. Food Technology. En Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (Ed.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (p. a11_523). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. https://doi.org/10.1002/14356007.a11_523
- Jerez, J. J. R., & Herrero, M. M. H. (2006). *Importancia del control higiénico de las superficies...* 182.
- Jiménez Zabala, A., Otazua Font, M., Maiztegi Gallastegi, P., Serrano Ibarbia, E., Juaristi Arrieta, A., & Santa Marina Rodríguez, L. (2011). Situación de los desinfectantes de uso ambiental y en industria alimentaria registrados en España tras la publicación de la directiva 98/8/CE. *Revista Española de Salud Pública*, 85(2), 175-188.
- Lambert, R. J. W. (2013). A model for the thermal inactivation of micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3), 500-507. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02009.x>
- Lasa, I., Pozo, J. L. del, Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(2), 163-175.
- Lugo, E. B. (2008). Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas en embutidos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 160-187.
- Majul, E. M., Jiménez, M. J. M., & Ramón, A. N. (2004). Estimación de la ingesta diaria potencial de nitritos en productos cárnicos de mayor consumo en adolescentes. *Respyn Revista de Salud Pública y Nutrición*, 5(3). <http://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/129>
- Mendoza, B. (2008). *Conservación de carne de conejo empacada al vacío*. 1, 92.
- Ministerio de Salud del Perú. MINSa. (2007): *DIGESA - Dirección General de Salud Ambiental*http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm
- Molins, P. D. (2009). *Calidad y deterioro de platos "sous vide" preparados a base de carne y pescado y almacenados en refrigeración*. 339.
- Mora Peñafior, N., & García Guerrero, A. (2007). *Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos*. ICBI-BD-UAEH. <http://200.57.56.70:8080/xmlui/handle/231104/190>
- Morales, I. D. (2011). *Efecto de la adición de harina de chocho (lupinus mutabilis sweet) en la elaboración de embutidos (salchicha tipo frankfurt)*. 135.
- Msagati. (2012). Preservatives. En *Chemistry of Food Additives and Preservatives* (pp. 224-243). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118274132.ch15>



- Munne. (2014). Los indicadores de compra y consumo de carnes. *AECOC*.
<https://www.aecoc.es/articulos/los-indicadores-de-compra-y-consumo-de-carnes-entendiendo-al-comprador/>
- Nollet, L. M. L. (2012). Shelf Life of Meats. En L. M. L. Nollet (Ed.), *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality* (pp. 232-245). Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781118352434.ch16>
- Nte_inen_1217-2. (2013). Recuperado 18 de noviembre de 2019, de
https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1217-2.pdf
- OMS. (2015). *OMS | Carcinogenicidad del consumo de carne roja y de la carne procesada*. WHO. <http://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/es/>
- Ossa, J., Coral, A., & Vanegas, M. (2010). Microbiota de jamones de cerdo cocidos asociada al deterioro por abombamiento del empaque. *MVZ Córdoba*.
<https://doi.org/10.21897/rmvz.318>
- Pérez. (2009, febrero 14). *Cambios de coloración de los productos cárnicos* [Revista].
http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol14_2_00/ali07200.htm?fbclid=IwAR0etkikRfos7AwKhZpapYdJyp6xO4RkFHmGA1KZr3wB_smyX5zU7hL15R8
- Petrifilm_guias.pdf*. (2009). Recuperado 13 de febrero de 2020, de
http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf
- Rahman, M. S. (2012). Chilling, Freezing and Thawing Process Design. En *Handbook of Food Process Design* (pp. 430-459). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781444398274.ch16>
- Ramírez, J. C. R., Ulloa, P. R., Velázquez, M. Y., Ulloa, J. A., & Romero, F. A. (2011). *Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud*. 7, 16.
- Reyes, Jeiner, Rodríguez, & Totosaus. (2010). *Fig. 1. Estados de oxidación-reducción de la mioglobina*. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Estados-de-oxidacion-reduccion-de-la-mioglobina_fig1_266461462
- Rodríguez, M. H., & Gallego, A. S. (2010). *Tratado de nutrición*. Ediciones Díaz de Santos.
- Sales. (1981). *The Health Effects of Nitrate, Nitrite, and N-Nitroso Compounds: Part 1 of a 2-part Study*. National Academies.
- Sanchez, J. D. (2015, mayo 4). *OPS/OMS | Peligros biológicos*. Pan American Health Organization / World Health Organization.
https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es



- Seideman, S. C., & Durland, P. R. (2010). VACUUM PACKAGING OF FRESH BEEF: A REVIEW. *Journal of Food Quality*, 6(1), 29-47. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1983.tb00755.x>
- Silverstein, T. P., Kirk, S. R., Meyer, S. C., & Holman, K. L. M. (2015). Myoglobin structure and function: A multiweek biochemistry laboratory project: Myoglobin Structure and Function. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 43(3), 181-188. <https://doi.org/10.1002/bmb.20845>
- Sofos, P. M., Sofos, J. N., & Brannen, A. L. (2005). *Antimicrobials in Food*. CRC Press.
- Tirado, J., Paredes, D., Velazquez, G., & Torres, J. A. (2012). Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados microbial growth in refrigerated meat products crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 66-76. <https://doi.org/10.1080/11358120509487673>
- Tucker, G. S. (2011). Food Biodeterioration and Methods of Preservation. En R. Coles & M. Kirwan (Eds.), *Food and Beverage Packaging Technology* (pp. 31-57). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444392180.ch2>
- Ur Rahman, U., Sahar, A., Ishaq, A., Aadil, R. M., Zahoor, T., & Ahmad, M. H. (2018). Advanced meat preservation methods: A mini review. *Journal of Food Safety*, 38(4), e12467. <https://doi.org/10.1111/jfs.12467>
- Villegas, J. P. J. (2007). *Efecto del pH sobre la conservación de carne de bovino de corte oscuro (DFD) Envasada al vacío, almacenada a 0 ° C*. 91.
- Vindas. (2018, agosto 11). *Variación del contenido de nitrito de sodio residual en diferentes lotes de salchichas de una misma formulación de una empresa productora costarricense* [Revista]. Variación del contenido de nitrito de sodio residual en diferentes lotes de salchichas, de una misma formulación de una empresa productora costarricense. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/pensamiento-actual/article/view/29525/29647>
- Zea G, Z. A., & Rios de Selgrad, M. (2004). Evaluación de la calidad microbiológica de los productos cárnicos analizados en el Instituto Nacional de Higiene «Rafael Rangel» durante el período 1990-2000. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35(1), 17-24.



ANEXOS

Anexo 1. Código alfabético del tamaño de la muestra

Tamaño del lote	Niveles especiales de inspección				Niveles generales de inspección		
	S-1	S-2	S-3	S-4	I	II	II
2 a 8	A	A	A	A	A	A	B
9 a 15	A	A	A	A	A	B	C
16 a 25	A	A	B	B	B	C	D
26 a 50	A	B	B	C	C	D	E
51 a 90	B	B	C	C	C	E	F
91 a 150	B	B	C	D	D	F	G
151 a 280	B	C	D	E	E	G	H
281 a 500	B	C	D	E	F	H	J
501 a 1 200	C	C	E	F	G	J	K
1 201 a 3 200	C	D	E	G	H	K	L
3 201 a 10 000	C	D	F	G	J	L	M
10 001 a 35 000	C	D	F	H	K	M	N
35 001 a 150 000	D	E	G	J	L	N	P
150 001 a 500 000	D	E	G	J	M	P	Q
500 001 en adelante	D	E	H	K	N	Q	R

Planes de muestreo simple para la inspección normal

Letra código tamaño de la muestra	Tamaño de la muestra	Nivel de calidad aceptable (NCA), en porcentaje de elementos no conformes y no conformidades por 100 unidades (inspección normal)																									
		0,010	0,015	0,025	0,040	0,065	0,10	0,15	0,25	0,40	0,65	1,0	1,5	2,5	4,0	6,5	10	15	25	40	65	100	150	250	400	650	1 000
A	2	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
B	3	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
C	5	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
D	8	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
E	13	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
F	20	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
G	32	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
H	50	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
J	80	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
K	125	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
L	200	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
M	315	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
N	500	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
P	800	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Q	1 250	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
R	2 000	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓

- ↓ = Utilizar el primer plan de muestreo bajo la flecha. Si el tamaño de la muestra es igual o excede el tamaño del lote, efectuar el 100% de la inspección
- ↑ = Utilizar el primer plan de muestreo por encima de la flecha
- Ac = Valor de aceptación
- Re = Valor de rechazo

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2859-1 “Muestreo por inspección de atributos. Parte 1. Programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de calidad (NCA) para inspección lote a lote”

Anexo 2. Guía de interpretación 3M® Petrifilm™ Bacterias ácido lácticas

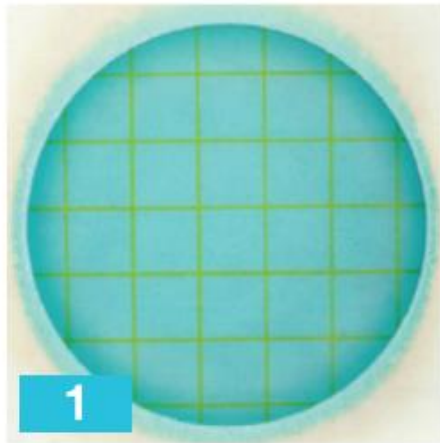


Figura 1
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 0

Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® sin colonias.

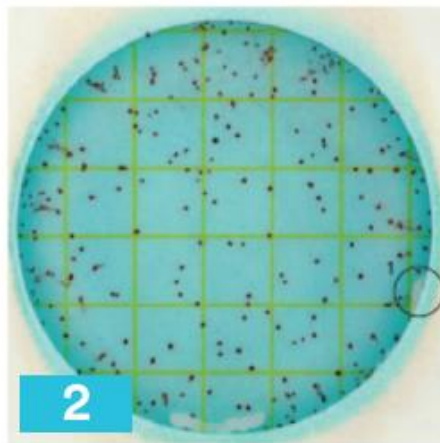


Figura 2
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 236

El rango ideal de recuento es menor a 300 colonias sin gas. La aparición de burbujas puede ser resultado de la inoculación incorrecta (círculo 1) de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® o por aire atrapado en la muestra; tienen una forma irregular y no están relacionadas con un colonia roja. No cuente las colonias que se encuentra por fuera del área delimitada o en la espuma de hule.

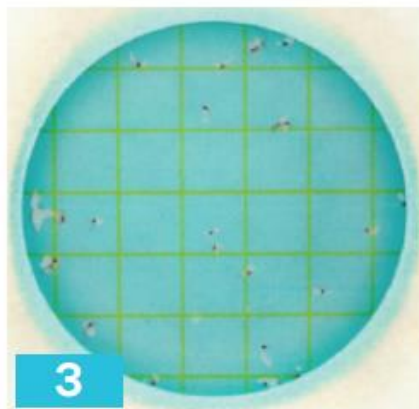


Figura 3
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 24

El rango de ideal de recuento es menor a 150 colonias con gas. Los patrones de las burbujas de gas pueden variar de tamaño y forma. La burbuja de gas puede romper la colonia, de modo que ésta delinea la burbuja.

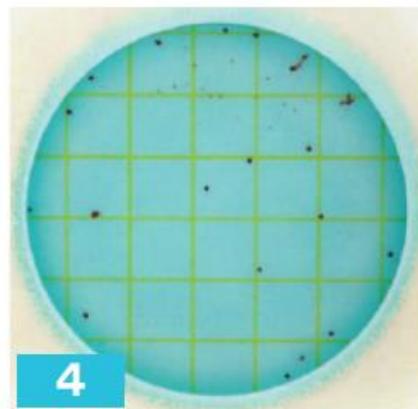


Figura 4
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 38

Contar todas las colonias sin importar su tamaño o la intensidad del color.

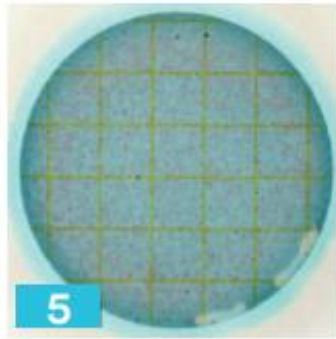


Figura 5
Recuento total de Bacterias
Ácido Lácticas = MNPC (muy
numerosas para contar)



Figura 6A
Recuento total de Bacterias
Ácido Lácticas = MNPC (muy
numerosas para contar)



Figura 6B
Recuento total de Bacterias
Ácido Lácticas = 0

Es posible que las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® con demasiadas colonias para conteo (MNPC) tengan una o más de las siguientes características: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/o un color de gel intenso que puede ir de azul a rosa-morado. Una alta concentración de colonias en las placas hará que toda el área de crecimiento se torne de azul oscuro a morado con una aureola rosa alrededor de la orilla exterior del área de crecimiento. En estos casos se recomienda pasar a la dilución siguiente o diluir más la muestra hasta tener un recuento dentro del rango ideal de recuento.

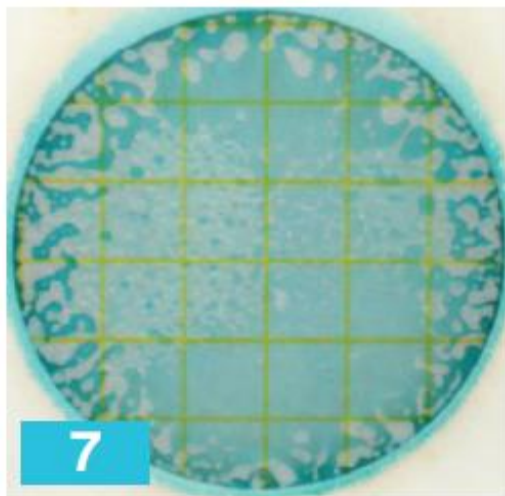


Figura 7
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas =
MNPC (muy numerosas para contar)

Una alta concentración de colonias generadoras de gas (BAL heterofermentativas) en las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® producirán una distribución irregular de muchas burbujas de gas. En estos casos se recomienda pasar a la dilución siguiente o diluir más la muestra hasta tener un recuento dentro del rango ideal de recuento.

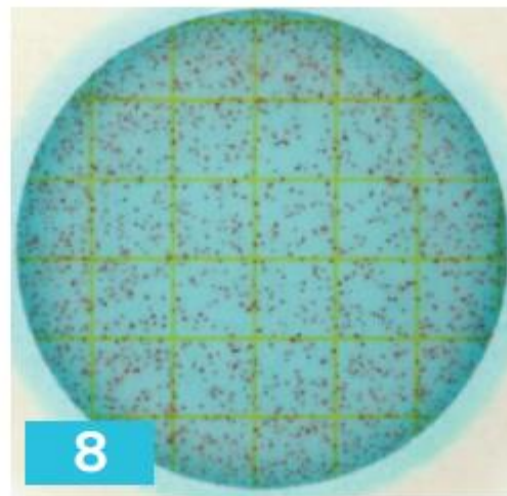


Figura 8
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 1,500

Cuando el número de colonias sin gas es mayor a 300, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm².

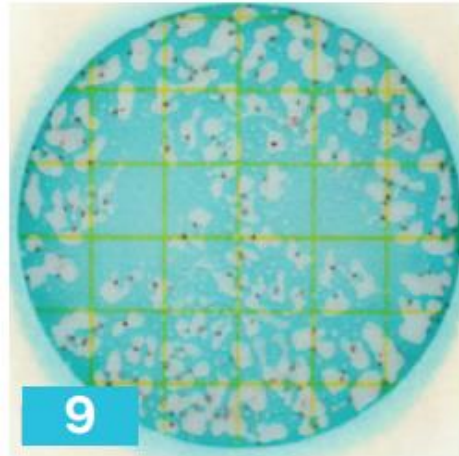


Figura 9
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 250

Cuando el número de colonias con gas es mayor a 150, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm².

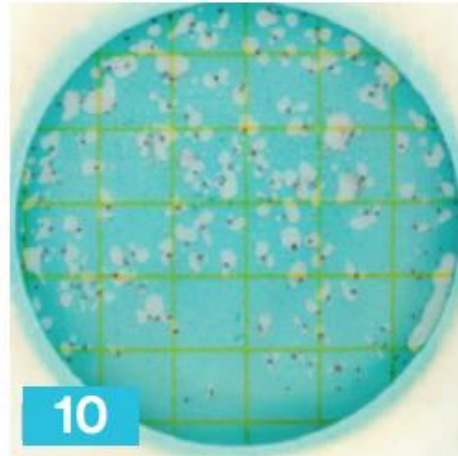


Figura 10
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 165

Se debe estimar el recuento en las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® cuando el número de colonias con o sin gas sea mayor a 150. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm².

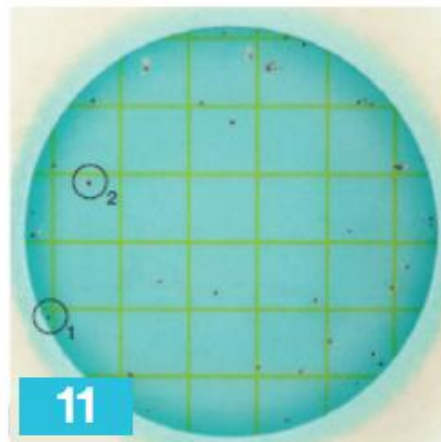


Figura 11
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 41
Homofermentativas: 13
Conteo heterofermentativas: 28

En la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® se puede diferenciar las colonias de Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas de las heterofermentativas. Las Bacterias Ácido Lácticas heterofermentativas (círculo 2) están definidas como colonias rojas e íntimamente asociadas a gas atrapado (a una distancia no mayor al diámetro de una colonia). Las colonias rojas sin gas (círculo 1) están definidas como Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas.

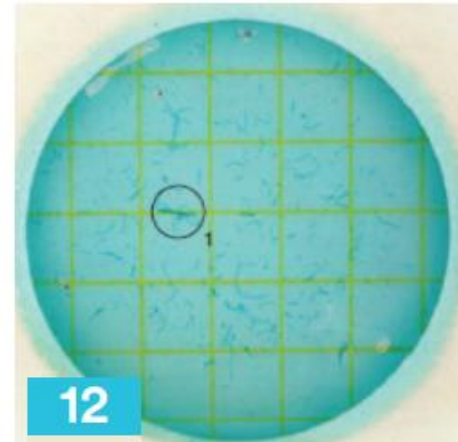


Figura 12
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 4
Conteo homofermentativo: 1
Conteo heterofermentativo: 3

Las partículas de alimento (círculo 1) tienen una forma irregular y/o filamentosa; no enumerar. La aparición de burbujas puede ser resultado de una inoculación inapropiada o incorrecta de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® o por aire atrapado dentro de la muestra; tienen una forma irregular y no están asociadas a una colonia roja; no enumerar.

Almacenamiento



1

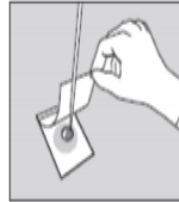
Almacenar los paquetes sin abrir de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® a temperatura de congelación o refrigeración igual a -20 a 8°C (-4 a 46°F). Usar antes de su fecha de caducidad indicada en el empaque. Es recomendable que las bolsas se atemperen a temperatura ambiente antes de usarlas. La fecha de caducidad también se puede leer en la parte superior de las placas.



2

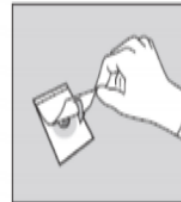
Para cerrar un paquete abierto doble el extremo superior y séllelo con cinta adhesiva; para evitar la exposición a la humedad, no refrigerar los paquetes abiertos. Almacenar los paquetes sellados en un ambiente fresco y seco (20-25°C/<60% HR) o en un congelador \geq -15°C (5°F) por un lapso no mayor a cuatro semanas.

Inoculación



3

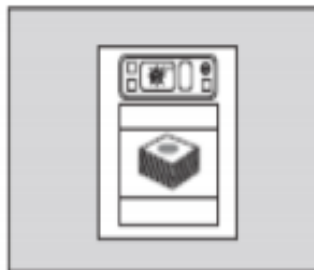
Colocar la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® en una superficie plana y nivelada. Levantar la película superior y colocar la pipeta perpendicularmente al área de inoculación, verter 1mL de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior. Asegúrese de no tocar la placa con la punta de la pipeta.



4

Bajar con cuidado la película superior sobre la muestra para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer. Colocar el Difusor 3M® Petrifilm® (#6425 del catálogo) en el centro de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® sobre el inóculo. Presionar con suavidad en el centro del Difusor 3M® Petrifilm® para distribuir la muestra uniformemente. No gire ni deslice el difusor. Retirar el Difusor 3M® Petrifilm® y espere sin mover la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® como mínimo por un minuto hasta que solidifique el gel.

Incubación



5

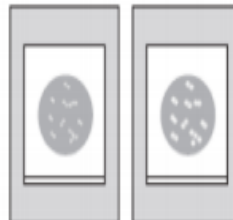
Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas de no más de 20; incubar la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® por 48±3 horas a 28-37°C.

Interpretación



6

El recuento de las Placas Petrifilm® 3M® puede realizarse con un contador de colonias estándar o con una lupa con luz. Contar todas las colonias rojas sin importar el tamaño o la intensidad del color. No cuente las colonias que han crecido fuera del área de inoculación o sobre la espuma de de espuma por cuanto están fuera de la influencia selectiva del medio.



7

Las Bacterias Ácido Lácticas heterofermentativas se definen como colonias que son rojas e íntimamente asociadas a gas, dentro del diámetro de una colonia. Las colonias rojas sin gas están definidas como Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas.

Burbujas

Las ilustraciones a continuación muestran ejemplos de varios patrones de burbuja asociados con colonias que producen gas. Es posible ver más de un patrón de burbuja en una Placa para recuento Ácido Láctico 3M® Petrifilm®. Las imágenes a continuación deben enumerarse como una colonia.



Las imágenes a continuación deben enumerarse como dos colonias.



Número de Catálogo	Descripción del Material	Cantidad
6461	Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®	50 placas/caja
6462	Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®	500 placas/caja

Anexo 3. Tabla de la dilución ideal

Producto cárnico	Etapas/superficie	Dilución	Recuento (UFC/g)	Dilución ideal
Jamón Sanduichero	Después de cocción (pieza)	10^{-1}	1×10^1	10^{-1}
		10^{-2}	$<1 \times 10^2$	
		10^{-3}	$<1 \times 10^3$	
	Empacado	10^{-1}	1×10^1	10^{-1}
		10^{-2}	$<1 \times 10^2$	
		10^{-3}	$<1 \times 10^3$	
	Soplado	10^{-1}	MNPC	10^{-6}
		10^{-2}	MNPC	
		10^{-3}	MNPC	
		10^{-4}	MNPC	
		10^{-5}	MNPC	
		10^{-6}	$2,4 \times 10^7$	
	Banda Transportadora	10^{-1}	$4,4 \times 10^2$	10^{-1}
		10^{-2}	$<1 \times 10^2$	
		10^{-3}	$<1 \times 10^3$	

Anexo 4. Tabla de resultados de BAL en superficies en contacto

PRODUCTO CÁRNICO	SUPERFICIE EN CONTACTO		Condiciones Normales	Condiciones Ideales
Jamón Sanduchero 200g	Regular	Mesa 1 Producto Rebanado	0,1 UFC/cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Banda Transportadora WEBER 1	0,3 UFC/cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Balanza B0021	0,1UFC/cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film Bandeja	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film Tapa	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
	Irregular	Cuchillo Rebanador	5,4 x10 ² UFC/ cuchillo	10 UFC/ cuchillo
		Rebanadora WEBER 1	< 10 UFC/ Rebanadora	< 10 UFC/ Rebanadora
	Vivos	Manos Operador Rebanado	50 UFC/ mano derecha	< 10 UFC/ mano derecha
		Manos Operador Empacado	10 UFC/ mano derecha	< 10 UFC/ mano derecha
Picaditas 450 g	Regular	Film bandeja	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film tapa	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
	Irregular	Cuchillo Recorte	1,6 x10 ² UFC/ cuchillo	< 10 UFC/ cuchillo
		Picadora FOODLOGISTIK	30 UFC/Picadora	< 10 UFC/Picadora
		Funda Picado	10 UFC/Funda	< 10 UFC UFC/Funda
		Jarra Picado	1,06 x10 ³ UFC/Jarro	< 10 UFC/Jarro
	Vivos	Manos Operador 1 Picado	20 UFC/ mano derecha	< 10 UFC/ mano derecha
		Manos Operador 2 Empacado	1,3 x 10 ² UFC/ mano derecha	10 UFC/ mano derecha

PRODUCTO CÁRNICO	SUPERFICIE EN CONTACTO		Condiciones Normales	Condiciones Ideales
Mortadela especial 400g	Regular	Mesa 1 Producto Rebanado	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Banda Transportadora WEBER 2	0,1 UFC/cm ²	< 0,1UFC/ cm ²
		Balanza B2007	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film Bandeja	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film Tapa	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
	Irregular	Cuchillo Rebanado	10 UFC/cuchillo	< 10 UFC/cuchillo
		Rebanadora WEBER 2	10 UFC/Rebanadora	< 10 UFC/Rebanadora
	Vivos	Manos Operador 1 Rebanado	50 UFC/mano derecha	< 10 UFC/mano derecha
Manos Operador 2 Empacado		20 UFC/mano derecha	< 10 UFC/mano derecha	
Salchicha Freír ternera 450 g	Regular	Film Bandeja	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
		Film Tapa	< 0,1 UFC/ cm ²	< 0,1 UFC/ cm ²
	Irregular	Cuchillo Corte	30 UFC/ cuchillo	<10 UFC/ cuchillo
		Separador salchicha INOTEC	7,6 x10 ² UFC/ Separador	1,8 x10 ² UFC/Separador
		Funda 1 Producto Cámara	20 UFC/ Funda	20 UFC/ Funda
		Funda 2 Producto Cortado	60 UFC/ Funda	< 10 UFC/ Funda
	Vivos	Manos Operador 1 Corte	9 x 10 ¹ UFC/ mano derecha	3 x10 ¹ UFC/ mano derecha
		Manos Operador 2 Empacado	3 x 10 ¹ UFC/ mano derecha	1 x 10 ¹ UFC/ mano derecha



Anexo 5. Tabla de resultados de las cargas microbiológicas de BAL en los productos cárnicos

Condiciones	Tiempo de análisis	Productos cárnicos			
		Jamón sandwichero UFC/g	Mortadela especial UFC/g	Picaditas UFC/g	Salchicha ternera freír UFC/g
Normal	T1	$<1 \times 10^1$	$4,75 \times 10^1 \pm 1,48 \times 10^1$	$2,25 \times 10^1 \pm 4,33$	$3 \times 10^1 \pm 1,22 \times 10^1$
	T2	$1,48 \times 10^2 \pm 5,45 \times 10^1$	$1,13 \times 10^2 \pm 1,3 \times 10^1$	$3,62 \times 10^4 \pm 2,27 \times 10^4$	$8,23 \times 10^2 \pm 2,46 \times 10^2$
	T3	$3,32 \times 10^6 \pm 3,29 \times 10^6$	$2,85 \times 10^3 \pm 2,14 \times 10^3$	$2,14 \times 10^5 \pm 4,78 \times 10^4$	$4,85 \times 10^3 \pm 2,54 \times 10^3$
	T4	1×10^9	$7 \times 10^5 \pm 6,77 \times 10^5$	_____	_____
Ideal	T1	$1,50 \times 10^1 \pm 8,29$	$1,5 \times 10^1 \pm 5,00$	$2,5 \times 10^1 \pm 1,5 \times 10^1$	$1,75 \times 10^1 \pm 8,29$
	T2	$1,75 \times 10^1 \pm 5,00$	$7,5 \times 10^1 \pm 4,33$	$5,03 \times 10^2 \pm 2,64 \times 10^2$	$5,5 \times 10^1 \pm 5,00$
	T3	$3,25 \times 10^1 \pm 1,48 \times 10^1$	$4,33 \times 10^2 \pm 1,93 \times 10^2$	$2 \times 10^2 \pm 6,68 \times 10^1$	$1,2 \times 10^3 \pm 1,33 \times 10^3$
	T4	$4,05 \times 10^4 \pm 7,12 \times 10^3$	$1,35 \times 10^3 \pm 8,92 \times 10^2$	_____	_____

Anexo 6. Tabla de resultados de las cargas microbiológicas de BAL en las piezas de los productos después de cocción

Producto cárnico	Recuentos de BAL
Jamón Sandwichero 200g	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/ g
Mortadela Especial 400g	$5,0 \times 10^1$ UFC/g
Picaditas 450g	$2,0 \times 10^1$ UFC/ g
Salchicha Freír Ternera 450g	$1,5 \times 10^2$ UFC/ g

Anexo 7. Tabla de características organolépticas

Cambios de las características organolépticas en temperatura ideal (3±1 °C)														
Características Organolépticas	Jamón Sanduchero 200g				Mortadela Especial 400g				Picaditas 450g			Salchicha Freír ternera 450g		
	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D1	D15	D30
Pérdida de sabor y olor	X	X	X	√	X	X	X	√	X	X	√	X	X	√
Cambios de pH	X	√	√	√	X	√	√	√	X	√	√	X	√	√
Decoloración	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Exudado lechoso	X	X	X	√	X	X	X	√	X	X	√	X	X	√
Pérdida del vacío	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Producción de gas e hinchazón de empaque	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X= No; √=Sí

Cambios de las características organolépticas en temperatura normal (2-8 °C)														
Características Organolépticas	Jamón Sanduchero 200g				Mortadela Especial 400g				Picaditas 450g			Salchicha Freír ternera 450g		
	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D1	D15	D30
Pérdida de sabor y olor	X	X	√	√	X	X	X	√	X	√	√	X	X	√
Cambios de pH	X	√	√	√	X	√	√	√	X	√	√	X	X	√
Decoloración	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
Exudado lechoso	X	X	√	√	X	X	√	√	X	√	√	X	X	√
Pérdida del vacío	X	X	√	√	X	X	√	√	X	√	√	X	X	√
Producción de gas e hinchazón de empaque	X	X	√	√	X	X	X	√	X	X	√	X	X	√

X= No; √=Sí

Anexo 8. Tabla de análisis fisicoquímico de los productos cárnicos

Análisis fisicoquímico en temperatura ideal (3±1 °C)												
Producto cárnico	pH				Nitratos (mg/dl)				Nitritos (mg/dl)			
	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45
Jamón Sanduchero 200g	7	6	6	6	50	50	25	25	10	10	5	5
Mortadela Especial 400g	7	6	6	6	50	50	25	25	10	10	5	5
Picaditas 450g	7	6	6	—	50	25	10	—	10	5	1	—
Salchicha Freír ternera 450g	7	6	6	—	10	10	0	—	1	1	0	—

Análisis fisicoquímico en temperatura normal (2-8 °C)												
Producto cárnico	pH				Nitratos (mg/dl)				Nitritos (mg/dl)			
	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45	D1	D15	D30	D45
Jamón Sanduchero 200g	7	6	5.5	5	25	10	0	0	5	1	0	0
Mortadela Especial 400g	7	6	6	5	100	100	50	0	20	20	10	0
Picaditas 450g	7	6	5.5	—	50	0	0	—	10	0	0	—
Salchicha Freír ternera 450g	7	7	6	—	10	0	0	—	1	0	0	—

Anexo 9. Tabla de resultados de Aerobios Mesófilos.

PRODUCTO CÁRNICO	ETAPA	RESULTADO	LÍMITE MÁXIMO PERMITIDO	
Mortadela especial 400g	Antes de cocción	1,97x10 ⁵ UFC/g	NTE INEN 2346: 2016; carne y menudencias comestibles	1,0 X 10 ⁶ UFC/g
	Después de cocción	4 x10 ¹ UFC/g	NTE INEN 1338: 2012; productos cárnicos cocidos	5,0 X 10 ⁵ UFC/g
	Rebanado	2 x10 ¹ UFC/g		
	Envasado	2 x10 ¹ UFC/g		
Jamón sandwichero 200g	Antes de cocción	1,2 x10 ⁴ UFC/g	NTE INEN 2346: 2016; carne y menudencias comestibles	1,0 X 10 ⁶ UFC/g
	Después de cocción	<1,0x10 ¹ UFC/g	NTE INEN 1338: 2012; productos cárnicos cocidos	5,0 X 10 ⁵ UFC/g
	Rebanado	<1,0x10 ¹ UFC/g		
	Envasado	<1,0x10 ¹ UFC/g		
Picaditas 450g	Antes de cocción	2,06 x10 ⁶ UFC/g	NTE INEN 2346: 2016; carne y menudencias comestibles	1,0 X 10 ⁶ UFC/g
	Después de cocción	2 x10 ¹ UFC/g	NTE INEN 1338: 2012; productos cárnicos cocidos	5,0 X 10 ⁵ UFC/g
	Picado	8 x10 ¹ UFC/g		
	Envasado	3,72 x10 ⁴ UFC/g		
Salchicha freír ternera 450g	Antes de cocción	2x10 ³ UFC/g	NTE INEN 2346: 2016; carne y menudencias comestibles	1,0 X 10 ⁶ UFC/g
	Después de cocción	2,6 x10 ² UFC/g	NTE INEN 1338: 2012; productos cárnicos precocidos	1,0 X 10 ⁶ UFC/g
	Corte	3 x10 ² UFC/g		
	Envasado	3,5 x10 ² UFC/g		