

UCUENCA

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción

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

Autoras:

Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez

C.I.: 0105062434

Correo electrónico: dayisdiaz98@gmail.com

Geanella Nicole Loayza Galarza

C.I.: 0706956828

Correo electrónico: nicol9958@hotmail.com

Directora:

Dra. Jéssica Andrea León Vizñay. Mgt.

C.I.: 0104848098

CUENCA, ECUADOR

12-enero-2023

Resumen:

El presente estudio se aplicó en jamones empacados al vacío elaborados en una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca en el período de abril a julio de 2022. En el mismo, se detalla la influencia de las bacterias ácido lácticas “BAL” en estos productos cárnicos, mismos que presentan alteraciones organolépticas, como hinchazón del empaque y sinéresis antes de su fecha de expiración teórica. El propósito de esta investigación fue la determinación de BAL y la identificación de las posibles fuentes de contaminación, para proporcionar un plan de acciones correctivas internas que permitan controlar su proliferación y el deterioro de los jamones.

En efecto, para el análisis experimental se emplearon placas 3M® Petrifilm® específicas para la determinación de BAL y se realizó un estudio de estabilidad acelerada en los productos finales listos para su distribución a los puntos de venta y consumo. Además, se realizó un seguimiento analítico de cada lote de producción, desde la recepción de materia prima hasta el empaque de los productos; y de las superficies inertes, tanto de equipos como utensilios empleados para la obtención de los jamones. Adicionalmente, para corroborar los análisis realizados, se estudiaron las superficies vivas, correspondientes a las manos de los operarios.

Los resultados de todos los análisis, responden a los objetivos planteados y conducen al área responsable de la inestabilidad de los jamones de la empresa debido a un problema de contaminación cruzada. Los valores de las cargas bacterianas de cada proceso y producto estudiado mostraron variaciones de la actividad de las BAL en toda la cadena de producción, lo cual concuerda con las condiciones de trabajo e higienización de equipos implicados en la tecnología alimentaria, evidenciadas en las semanas de estudio.

Tras la finalización del estudio, se obtuvieron respuestas y se dio inicio a nuevos desafíos internos de control del área responsable de la contaminación cruzada con el fin de mejorar su nivel empresarial y disminuir la inestabilidad de sus jamones, como las pérdidas por devolución.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas. Jamones. Estabilidad acelerada. Biopelículas. Contaminación cruzada.

Abstract:

The study was applied to vacuum packed hams made by a Cuenca's city sausage factory during the period of April 2022 to July 2022. It explains the influence of lactic acid bacteria (BAL) in meat products, which shows organoleptic alteration such as swelling of packaging and syneresis before the expiration date. The purpose of this investigation was to determine BAL and identify the possible contamination sources to provide internal corrections actions that allow control of the proliferation and subsequent damage of hams.

For the experimental part, the specific 3M® Petrifilm® plates were used for the determination of BAL and an accelerated stability study of final products ready for distribution to points of sale and consumption. In addition, analytical monitoring of each production batch was carried out, from the reception of raw materials to the packaging of the products; and inert surfaces, both equipment and utensils used to obtain hams. In addition, to corroborate the analyses, the living surfaces, corresponding to the hands of the operators, were studied.

The results of the analyzes respond to the previously stated objectives and lead to the area responsible for the instability of the company's hams due to a cross-contamination problem. The values of the bacterial loads of each process and product studied show how the BAL activity varies in the production chain and coincided with the working conditions and sanitation of the equipment involved in food technology, evidenced in the weeks of study.

After the completion of the study, answers were not the only outcome, but also new internal control challenges were initiated in the cross-contamination responsible area for the sausage factory, with the goal of improving its business level and reducing the instability of its hams operations, such as losses derived from returns.

Keywords: Lactic acid bacteria. Hams. Accelerated stability. Biofilm. Cross-contamination.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
ÍNDICE GENERAL.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE ANEXOS.....	8
AGRADECIMIENTOS.....	16
INTRODUCCIÓN.....	17
1. MARCO	
TEÓRICO.....	20
1.1. Productos cárnicos, embutidos y jamones.....	20
1.2. Composición de los productos cárnicos y su aporte en la nutrición humana.....	20
1.2.1. Carne como alimento completo.....	21
1.3. Transformación de la carne en músculo.....	22
1.4. Proceso de elaboración de los embutidos.....	22
1.4.1. Recepción de materia prima.....	23
1.4.2. Despiece.....	23
1.4.3. Salmuera y tenderizado.....	23
1.4.4. Picado, preparación de la masa y mezclado.....	24
1.4.5. Embutido, moldeado y cocci3n.....	24
1.4.6. Empaque, etiquetado y despacho.....	25
1.5. Alimentos cárnicos empacados al vac3o.....	26
1.6. Deterioro de los productos cárnicos empacados al vac3o.....	27
1.7. Bacterias 3cido l3cticas.....	27
1.7.1. Especies de BAL presentes en los productos cárnicos.....	28
1.7.2. Influencia de las BAL en el deterioro de los alimentos cárnicos..	28
1.8. Contaminaci3n de las superficies inertes con los alimentos cárnicos...	29
1.8.1. Etapas de formaci3n de biopel3culas.....	29
1.9. Estabilidad acelerada en los alimentos.....	31
2. METODOLOG3A.....	32
2.1. Tipo de estudio.....	32
2.2. 3rea de estudio.....	32
2.3. Muestreo y tama3o de muestra.....	32

2.3.1.	Muestreo de producto en proceso.....	32
2.3.2.	Muestreo de producto terminado.....	33
2.3.3.	Muestreo de superficies inertes.....	34
2.3.4.	Muestreo de superficies vivas.....	35
2.4.	Toma de muestra.....	36
2.4.1.	Toma de muestra de producto en proceso.....	36
2.4.2.	Toma de muestra de producto terminado.....	36
2.4.3.	Toma de muestra de superficies inertes.....	37
2.4.4.	Toma de muestra de superficies vivas.....	37
2.5.	Materiales, equipos y reactivos.....	38
2.6.	Métodos y técnicas de análisis.....	39
2.6.1.	Bacterias ácido lácticas en placas Petrifilm.....	39
2.6.2.	Procedimiento para la siembra en placas Petrifilm.....	39
2.7.	Procedimientos para los análisis microbiológicos de las muestras.....	39
2.7.1.	Producto en proceso y producto terminado.....	39
2.7.2.	Superficies inertes.....	40
2.7.3.	Superficies vivas.....	40
2.8.	Manejo estadístico de datos.....	40
3.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	41
3.1.	Determinación de cargas microbiológicas de BAL en producto en proceso.....	41
3.2.	Cargas microbiológicas de BAL en producto terminado.....	45
3.3.	Cargas microbiológicas de BAL en superficies inertes.....	48
3.4.	Cargas microbiológicas de BAL en superficies vivas.....	52
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	55
4.1.	Conclusiones.....	55
4.2.	Recomendaciones.....	55
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
6.	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cronograma y puntos de muestreo de BAL en producto en proceso	33
Tabla 2. Cronograma de muestreo de BAL en producto terminado	34
Tabla 3. Cronograma de muestreo de BAL en superficies inertes	35
Tabla 4. Cronograma de muestreo de BAL en superficies vivas	36
Tabla 5. Resultados de recuentos de BAL en las semanas de producción	41
Tabla 6. Resultados de recuentos de BAL en producto terminado	45
Tabla 7. Resultados de recuentos de BAL en las superficies inertes	48
Tabla 8. Resultados de recuentos de BAL en las superficies vivas previo y posterior al receso	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de formación de biopelículas en superficies	30
Figura 2. Dinámica de la actividad ácido láctica en producto en proceso durante las etapas de producción	42
Figura 3. Recuento de la actividad ácido láctica en producto terminado en las semanas de producción	47
Figura 4. Actividad ácido láctica en superficies inertes	51
Figura 5. Variación de actividad ácido láctica previo y posterior al receso en los operarios del área de empaques	53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Letras código del tamaño de muestra	63
Anexo 2. Planes de muestreo simple para inspección normal	63
Anexo 3. Procedimiento para la obtención de la dilución ideal	64
Anexo 4. Placas 3M Petrifilm para recuento de bacterias ácido lácticas	65
Anexo 5. Modo de empleo de las placas 3M Petrifilm para la inoculación, incubación de las muestras e interpretación de resultados	66
Anexo 6. Ilustración de los patrones de burbujas de las colonias heterofermentativas de BAL que se deben cuantificar como una colonia	66
Anexo 7. Ilustración de los patrones de burbujas de las colonias heterofermentativas de BAL que se deben cuantificar como dos colonias	66
Anexo 8. Patrones de interpretación de resultados para recuentos de BAL	67

Cláusula de Propiedad Intelectual

Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez, autora del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 12 de enero de 2023



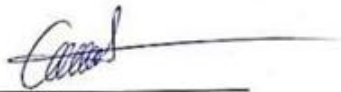
Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez

C.I: 0105062434

Cláusula de Propiedad Intelectual

Geanella Nicole Loayza Galarza, autora del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 12 de enero de 2023



Geanella Nicole Loayza Galarza

C.I: 0706956828

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción", 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, 12 de enero de 2023



Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez

C.I: 0105062434

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Geanella Nicole Loayza Galarza, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción", 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, 12 de enero de 2023



Geanella Nicole Loayza Galarza

C.I: 0706956828

GLOSARIO

Acidificación: Disminución de pH debido a la formación y/o acumulación de iones hidrógeno.

DFD: Dark, firm, dry, que significa carne oscura, firme y seca.

Inocuidad: Ausencia de sustancias químicas, físicas y microbiológicas en los alimentos que puedan causar daño al ser humano.

Limo: Sedimento resultante de la descomposición de sustancias orgánicas.

Palatabilidad: Característica de un alimento que le hace agradable al paladar.

PSE: Pale, soft and exudative, que significa carne pálida, blanda y exudativa.

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Tripa: Envoltorio cilíndrico de origen natural o artificial que permite dar forma y protección a los productos cárnicos.

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a Dios, por ser quien ha guiado todo mi camino, al que me acompaña y siempre me levanta, por darme la fuerza para continuar este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis papás, Gina y Patricio, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, por ser el pilar fundamental en mi vida y ayudarme a alcanzar todos mis objetivos.

A mi padrastro, Miguel Ángel, por siempre escucharme, motivarme a ser mejor y compartir junto a mí todos mis logros.

Dedico de manera especial a mis hermanos, José Miguel, Sofía y Amelia, por ser quienes me han acompañado en toda la trayectoria, son mi mayor inspiración y las personas más importantes en mi vida.

A mi enamorado, Paolo, por todo su amor, ser mi persona incondicional y sobre todo extenderme su mano en situaciones difíciles.

A mis abuelos, Wilson, Susana, Cecilia y Rodrigo, por siempre creer en mí, ser mi apoyo incondicional en todo momento de mi carrera universitaria.

A mis tíos, Jairo, Diana, Jaqueline, Andrea, Luis, Elsa, por todo su cariño, consejos y deseos de superación que me han brindado a lo largo de esta etapa.

A mis bisabuelos, que desde el cielo me cuidan, y a Mario y Clotilde, que aún están aquí, gracias por ser parte de mi vida y acompañarme en este gran logro.

A mi amiga, Dayanarha, por siempre confiar en mí, por instruirnos y crecer juntas a lo largo de este tiempo, gracias por siempre estar en las buenas y malas.

Evelyn Dayana Diaz Gutiérrez

DEDICATORIA

Dedico todo el esfuerzo dispuesto en este trabajo de titulación a mi Padre celestial, por hacerse presente en mi vida con cada bendición u oportunidad. Y principalmente, por cumplir los deseos de mi corazón, no dejarme sola en los tiempos de prueba, sino más bien fortalecerme y dejarme una nueva enseñanza.

A mis abuelitos Faviola Piedad Alejandro Sarango y Luis Sebastián Galarza López, que me siguen acompañando y motivando desde su partida. Uno de los anhelos más grandes en la vida era tenerlos conmigo en esta etapa, me hubiese encantado entregar en sus manos mi título universitario, por cuestiones de la vida no pude cumplir ese sueño; pero, aunque no los tenga físicamente, les dedico con mucha fuerza y cariño este nuevo paso. Ustedes me criaron, me formaron y llenaron de alegría desde niña, les estoy eternamente agradecida, los amo y extraño con mi alma.

A mi amada mamá María de Lourdes Galarza Alejandro, mi mayor fuente de inspiración y ejemplo a seguir, a quien dedico en ofrenda no solo este, sino cada uno de mis logros pasados y venideros. Por su gran preocupación, paciencia y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida, por tenerme como prioridad, aconsejarme y demostrarme su lealtad y amor todos los días.

A mi amado papá Marco Antonio Loayza Paredes por su buen consejo, motivación e incluirme siempre dentro de sus oraciones.

A la persona que ocupa un lugar especial en mi vida, a quien amo y admiro mucho como profesional y persona. Por llenarme de amor, impulsarme a ser mejor, darme consejo oportuno y ser una grata compañía en buenos y malos momentos.

A mi familia y amigos que han estado pendientes de mi trayecto desde el primer momento, han compartido experiencias, alegrías y tristezas; y han fomentado en mí el deseo de superación.

Geanella Nicole Loayza Galarza

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios, por su protección, bendición y fortaleza en cada paso de nuestra formación personal y profesional. A nuestros padres por la confianza puesta en nosotras desde tiempos inmemorables, por instruirnos, aceptarnos, llenarnos de amor y forjarnos como las personas que somos en la actualidad.

A nuestra querida Universidad de Cuenca, por abrirnos las puertas, orientarnos con bases científicas y permitirnos concluir con una etapa importante de nuestras vidas. A nuestra tutora Dra. Jessica Andrea León Vizñay MGT. quien, con mucha empatía, nos ha dirigido, aconsejado y compartido un poco de su experiencia desinteresadamente como docente y tutora. Al Ing. David Vanegas M.Sc. por su ayuda y guía oportuna durante nuestra carrera universitaria y proceso de titulación.

A las autoridades y supervisores de cada área de la empresa que nos permitió realizar nuestro trabajo de titulación, por brindarnos la información requerida, por sus recomendaciones y palabras de aliento durante el periodo de análisis.

Al Ing. Jairo Gutiérrez por colaborarnos con el manejo estadístico de datos y las recomendaciones brindadas.

A todos quienes de una u otra manera nos han motivado con palabras de aliento, con su compañía, buenos deseos y/o nos han tenido presentes en sus oraciones.

INTRODUCCIÓN

La mala manipulación de productos alimenticios ha sido la causa de varias enfermedades transmitidas por los alimentos, conocidas como “ETA”, en donde, estos se han presentado con recalcados signos de deterioro; por ello el consumidor asocia cualquier variación organoléptica con un producto en malas condiciones y lo cataloga como un peligro para su salud, por ende, genera su rechazo. Sin embargo, un producto aparentemente alterado no siempre produce enfermedad, sino que estos signos presentan otra etiología que físicamente también los vuelve poco llamativos al consumo.

La Norma ISO 2200:2005, se encarga del sistema de gestión de la inocuidad de los alimentos. Al hablar de inocuidad, se hace referencia a la inexistencia de peligros durante el consumo, por lo que establece un control durante toda la cadena alimentaria. Dentro de este control se encuentran requisitos microbiológicos y bromatológicos diferentes para cada producto alimenticio. En el caso de los productos cárnicos, estos deben cumplir con requisitos microbiológicos generadores de ETA, por lo cual la normativa establece límites de aceptación, rechazo y ausencia de acuerdo al tipo de microorganismo y al tratamiento tecnológico que sea expuesto el producto. En la actualidad, se cuentan con requisitos microbiológicos enfocados a microorganismos indicadores y también otros patógenos para el ser humano disponibles en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1338: 2012, entre ellos, aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Sin embargo, a pesar de que existe una normativa bien detallada de los requisitos necesarios para la obtención de productos cárnicos inocuos, en la industria alimentaria existe un fenómeno frecuente que influye en la baja de sus productos. Las biopelículas son asociaciones bacterianas que suelen afectar los rangos bacterianos post proceso, ocasionando contaminación y afectando la calidad de los alimentos. Considerando que son varios los microorganismos que pueden asociarse para formar biopelículas, las empresas han limitado sus estudios a un control microbiológico y bromatológico rutinario que abarca bacterias detalladas dentro de las exigencias de la normativa nacional para los productos cárnicos, otorgando menor importancia a un grupo bacteriano no productor de ETA, pero si relevante en la contaminación cruzada y repercusión en la vida útil de los alimentos, conocidas como BAL (Abee, Fernández, Nierop, & Smid, 2015).

Dentro de las características de inestabilidad que ocasionan las BAL se encuentran la sinéresis por pérdida de retención de agua, limosidad, enverdecimiento, acidez y abombamiento del empaque por pérdida del vacío gracias a la actividad del metabolismo

Geanella Nicole Loayza Galarza
Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez

anaeróbico de las bacterias (Londoño et al., 2018). Consecuentemente, esto genera pérdidas por devolución o cambio de productos para la empresa, debido al deterioro antes de la fecha de vencimiento establecida.

Para el control de deterioro de los productos por microorganismos deteriorantes como las BAL, se aplican diferentes métodos de conservación y protección por medio de empaque al vacío. Según Guerrero, Ramírez, & Reséndiz (2013), los empaques tienen la función de conservar y proteger el producto con la finalidad de mantener su integridad y calidad. En esto último, la inocuidad, el color, la frescura de la carne o productos cárnicos derivados, juegan un papel determinante para que el consumidor decida o no adquirirlo. Sin embargo, a pesar de los métodos de conservación empleados, la mala manipulación de los productos cárnicos después de la cocción puede provocar su contaminación.

En este contexto, la investigación permite el acceso a una herramienta técnica interna que controle la proliferación de este grupo bacteriano a través de un límite establecido; y consecuentemente, evite el deterioro del producto para que cuente con una mejor acogida por parte de los consumidores y una disminución de pérdidas económicas en la empresa.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de bacterias ácido lácticas en jamones rebanados empacados al vacío y sus posibles fuentes de contaminación, para proporcionar un plan de acciones correctivas internas que permitan controlar el crecimiento y deterioro del producto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las superficies en contacto y las posibles fuentes de contaminación dentro de la cadena de producción
- Identificar los cambios organolépticos que influyen en la calidad y aceptabilidad del producto por parte del consumidor.
- Estimar un límite permisible de la carga de bacterias ácido lácticas para evitar el deterioro del producto antes de su fecha de vencimiento.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Productos cárnicos, embutidos y jamones

Los productos cárnicos se definen como los alimentos procesados que han sido sometidos a diferentes tratamientos tecnológicos en base a la formulación final deseada. Se elaboran de forma total o parcial con carnes y/o subproductos de especies de abasto autorizadas, con o sin condimentos y aditivos autorizados para el consumo humano. Dentro de los productos cárnicos con mayor demanda se encuentran los embutidos, productos que han sido introducidos a presión en una envoltura, que puede ser natural, artificial o en una tripa. Los jamones forman parte de los embutidos, se trata de un producto cárnico que es separado de huesos, cartílagos, ligamentos y tendones; y sometido a un proceso de salmuerización y tratamiento térmico que permite la coagulación de las proteínas cárnicas. (NTE INEN 1217-2, 2013).

1.2. Composición de los productos cárnicos y su aporte en la nutrición humana

Los productos cárnicos son considerados alimentos completos debido a que satisfacen las necesidades biológicas del ser humano gracias a los macro y micronutrientes que contienen. La composición de la carne es entre un 71-76 % agua, 17-21 % de proteínas, 1-7 % de grasas, 1 % de carbohidratos y 2.5-3 % de sustancias solubles no nitrogenadas. Las proteínas de la carne se encargan del metabolismo basal, celular, de la regulación de procesos fisiológicos, constitución de membranas celulares, crecimiento, desarrollo, mantenimiento y reparación de tejidos (Williams, 2007). El valor nutricional de las proteínas está relacionado por su contenido de aminoácidos esenciales en su estructura. Los productos cárnicos son ricos en: isoleucina, leucina, valina, lisina, fenilalanina, treonina, metionina y triptófano (Bohrer, 2019).

El contenido de grasa en la carne es variable y depende de la especie animal, del origen, corte, cuidado durante la fase de crecimiento, sistema de alimentación y de los métodos de cocción empleados. Las grasas brindan un papel estructural en las membranas biológicas, proporcionan energía, favorecen la absorción y transporte de vitaminas liposolubles A, D, K y E y, además, participan en la respuesta inmune. Los productos cárnicos poseen principalmente grasas saturadas denominadas SFA (ácidos grasos saturados) que comprenden entre un 58 %, continúa con los MUFA (ácidos grasos monoinsaturados) 29 % y en menor porcentaje los PUFA (ácidos grasos poliinsaturados) con un 13 % de ácidos

totales, esto se debe a que la cantidad de grasas insaturadas en su mayoría son de origen vegetal (Schmid, 2010).

El contenido de hidratos de carbono, por lo general, se encuentra en mayor cantidad en las vísceras de los animales, principalmente el hígado en forma de glucógeno. La principal función de los carbohidratos es la transformación del músculo vivo en carne, con el fin de que el producto adquiera las características organolépticas óptimas para el consumo, es decir, los azúcares tienen un impacto indirecto en el color, textura y la capacidad de retención de agua de la misma (Arshad, 2018).

De igual manera, la carne posee minerales que son micronutrientes que no contienen carbono como el hierro, zinc, selenio y fósforo, mientras que en menor cantidad el manganeso, cobre, plomo, cromo y níquel, así como vitaminas de tipo A, E, D y vitaminas del complejo B como: B1, B2, B6, B12 y niacina, encargadas de suministrar nutrientes esenciales para el crecimiento, mantenimiento y desarrollo humano físico y cognitivo (Pereira & Vicente, 2013) (Arshad, 2018).

1.2.1. Carne como alimento completo

Alcanzar un buen estado de salud depende en mayor medida de la alimentación, misma que varía ampliamente por factores psicosociales, culturales, religiosos, económicos, etc. Actualmente, existe una creciente oferta de alimentos, siendo los productos de origen animal, como la carne, los de preferencia tanto por la satisfacción de su ingesta como por su valor nutricional, razones por lo cual se los asocia con salud y bienestar (Gaspar, s. f.).

La carne es un alimento de origen animal y su ingesta adecuada es clave para el correcto funcionamiento y respuesta del organismo. Esto se debe a que las proteínas en los alimentos comúnmente son clasificadas en función a la cantidad de aminoácidos que posea, identificándose como “completos” o “incompletos”; las proteínas de origen animal cuentan con un alto aporte de aminoácidos esenciales, convirtiéndolas en un alimento completo, a diferencia de las proteínas de origen vegetal que poseen una cantidad de aminoácidos esenciales limitante, situación que sugiere la combinación de varias fuentes vegetales para el alcance de los requerimientos diarios (Quesada & Gómez, 2019).

1.3. Transformación del músculo en carne

La conversión de músculo en carne se genera en tres fases: pre rigor, rigor mortis y post rigor. La fase de pre rigor ocurre posterior al sacrificio del animal, la circulación sanguínea y la regulación hormonal disminuye al igual que el aporte de oxígeno, provocando una serie de reacciones metabólicas. En primer lugar, a nivel de músculo se produce la conversión de glucógeno en ácido láctico mediante una glucólisis anaeróbica por lo que el contenido de ácido láctico aumenta, disminuyendo así el pH y la cantidad de adenosín trifosfato (ATP) (Contreras, s. f.).

Acompañado del descenso del pH, las fibras musculares sufren un acortamiento del sarcómero que genera una pérdida de contracción y relajación de estas. La falta de expansión de las fibras da lugar a una rigidez muscular o cadavérica denominada rigor mortis, es decir, en esta etapa la carne presenta la mayor dureza y agotamiento de las reservas energéticas, en donde el pH desciende hasta 5.6. La acidificación que ocurre a nivel del músculo provoca la desnaturalización de las proteínas que favorecen la exudación, es decir, mayor liberación de agua resultado que genera mayor jugosidad a la carne. Además, a medida que disminuye la temperatura, se produce la solidificación y oxidación de las grasas provocando el aroma característico de la carne (Sams, 1999).

La fase post rigor, conocida también como maduración y tenderizado, comprende una serie de modificaciones bioquímicas y estructurales de la carne mediada por la acción de las enzimas proteolíticas. En donde, se genera ruptura de las proteínas del tejido muscular provocando el ablandamiento, color y sabor característico de la carne (Khan & van den BERG, 1964).

1.4. Proceso de elaboración de embutidos

El proceso consiste en introducir con ayuda de presión una mezcla previamente preparada según la formulación del embutido en una tripa o envoltura de origen natural o sintética. De manera general, el flujo inicia con la recepción de materia prima, lavado y desinfección de canales, despiece, salmuera y tenderizado, picado, preparación de la masa y mezclado, continua con el embutido, moldeado y cocción, enfriamiento, rebanado, empaçado, etiquetado y finaliza con el despacho.

1.4.1. Recepción de materia prima

Esta fase tiene como fin la recepción, aprobación o rechazo de los ingredientes que componen a los productos a elaborar. Un riesgo primordial es la aceptación de ingredientes que no cuenten con buenas condiciones higiénicas, de tal manera que puedan representar un peligro para la salubridad de los productos donde se emplearán. Dentro de la recepción de materia prima se puede distinguir la cárnica y no cárnica constituida por condimentos, tripas o envolturas y aditivos permitidos. Ambas son sometidas a procedimientos controlados y estandarizados de inspección y comprobación del cumplimiento de directrices de compra. La materia prima cárnica ingresa en camiones de transporte hasta el área de recepción, donde se les realiza una inspección visual de la canal, pesaje y se verifican las condiciones de transporte como el mantenimiento de la cadena de frío, que debe oscilar entre 0 a 7 °C, para materia prima refrigerada y -12 °C para la congelada. En conformidad a estos requerimientos, se realiza la descarga y una limpieza inicial para luego ingresar a una cámara de frío con temperatura menor a 10 °C, donde se realiza la desinfección respectiva (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 1999).

1.4.2. Despiece

Consiste en el desposte de las piezas de carne, proceso mediante el cual se separa la región cárnica, grasa y se deshuesan las canales. Este proceso se realiza a una temperatura de 7°C ya que temperaturas inferiores dificultan la manipulación por parte de los operarios. En este punto también se vuelve a revisar que la canal no contenga sustancias extrañas y se verifica el pH para controlar las condiciones de calidad de la región muscular, debido a que si se presentan síntomas de estrés prolongado y duro antes del sacrificio, conocido como *Dark, Firm, Dry* con sus siglas en inglés DFD, que significa carne oscura, firme y seca; y *Pale, Soft and Exudative* o PSE, para referir a la carne pálida, blanda y exudativa por animales que cuenten con predisposición genética al síndrome de estrés porcino, y sean sometidos a un estrés corto y agudo, se puede obtener una sensibilización de la materia prima cárnica hacia la contaminación bacteriana (Acevedo, 2011).

1.4.3. Salmuera y tenderizado

La salmuera es un proceso que además de mejorar la vida útil, permite otorgar características organolépticas atractivas y deseadas a los diferentes productos cárnicos, en este caso, a los jamones. Consiste en someter la pulpa de la carne obtenida previamente en el despiece a una solución de agua, sal y otros ingredientes como proteína de soya, almidones, azúcar,

colorantes, saborizantes y algunos hidrocoloides, en concentración ideal del 4 %. Estos ingredientes sirven para la conservación del alimento y la absorción del agua por parte de las fibras de la carne; los fosfatos, por su parte, son secuestrantes de metales del agua (durezas) y tienen un efecto antioxidante por lo mismo. Su función principal es regular el pH de la salmuera y de la carne donde se inyecta, mejorando su vida útil (López, 2020).

Su administración se realiza con la ayuda de máquinas inyectoras provistas de agujas que actúan simultáneamente y facilitan su dosificación uniforme, a este proceso se conoce como tenderizado. Cuya finalidad es generar muchos orificios pequeños en la carne para ablandarla y repartir las soluciones interna y externamente.

1.4.4. Picado, preparación de la masa y mezclado

El picado consiste en la fragmentación de las piezas de la canal destinadas a la elaboración del embutido; se realiza a una temperatura adecuada y con cuchillas que contengan filo. Esta etapa se caracteriza por comprometer las barreras de defensa estructurales de la canal al disminuir el tamaño de las piezas cárnicas y aumentar su superficie de exposición, a la vez que se liberan nutrientes y líquidos celulares, favoreciendo la proliferación de microorganismos. Una vez obtenidos los fragmentos, y con la previa dosificación y pesaje de los condimentos y aditivos pertinentes, se procede al amasado en equipos de mezclado con el fin de integrar todos los ingredientes y obtener una masa uniforme que finalmente se almacena en condiciones de refrigeración. Es importante destacar que el proceso de mezclado debe realizarse al vacío para evitar que se presente una oxidación de lípidos; asimismo, prevenir la obtención de una mezcla excesiva que provoque una mayor distribución de los microorganismos (Zurbriggen, 2009). Luego del picado y la previa preparación de la mezcla, la empresa de embutidos coloca la masa por un cierto tiempo en una cámara de refrigeración con una temperatura que puede oscilar entre 1 a 5 °C, esto con el fin de que, durante el periodo de reposo, de aproximadamente 24 horas, se favorezca la acción y difusión de los ingredientes no cárnicos adicionados como los condimentos y aditivos (Procedimientos Operativos Estandarizados, 2019).

1.4.5. Embutido, moldeado y cocción

La masa que ha pasado por un periodo de reposo es trasladada a un equipo de embutido que, con ayuda de presión, introduce la masa en la tripa natural o artificial previamente desinfectada, en este punto la mezcla se caracteriza por presentar una elevada carga microbiana, debido a que el pH se mantiene alrededor de 6.0 y la actividad acuosa (Aw)

presenta valores mayores a 0.96 (Zurbriggen, 2009). Para el proceso de moldeado, el embutido es colocado de forma holgada en moldes que brindan una forma específica, según sea el requerimiento. Un factor condicionante es el llenado del molde, debido a que, si se trata de productos con envase final, se descartarán los que presenten desniveles o grietas en el molde, o en el caso de los productos destinados a reempaque, como los rebanados, no se obtendrán piezas del mismo tamaño, por lo cual se descartarán.

Posteriormente, se somete al embutido a un proceso de cocción, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano, gelificar las proteínas miofibrilares, brindar aspecto y aroma característico. El tratamiento térmico varía según el producto, deben alcanzar como mínimo 70 °C en el núcleo con periodos de tiempo variables, según el tamaño del embutido (NTE INEN 1338-3, 2012). Inicia con un calentamiento a temperaturas bajas que permite la formación del rojo característico y estimula la proliferación de la flora microbiana, quienes a su vez fermentan los carbohidratos disponibles, disminuyendo el pH y provocando un desarrollo selectivo de bacterias; siendo el género *Lactobacillus spp.* el principal responsable de este proceso de acidificación y limitación de proliferación de gérmenes indeseables. Luego de haber sometido al embutido a altas temperaturas, se procede a un enfriamiento previo con agua fría hasta llegar aproximadamente a los 50 °C y se ingresa el lote a una cámara de refrigeración bajo un rango de 0 – 4 °C, para brindarle firmeza y continuar con la cadena de frío, donde permanece almacenado aproximadamente 72 horas hasta lograr el enfriamiento del núcleo (Procedimientos generales, 2020). Finalizado este proceso, se obtendrá el color deseado y característico del jamón, el endurecimiento o firmeza de la masa, la destrucción de microorganismos y la unión estable de los aditivos a la masa (Matute, 2014).

1.4.6. Empaque, etiquetado y despacho

El empaque del producto es un medio de protección física y química que permite prolongar su vida útil y que lo protege de posibles daños durante su almacenamiento o distribución. Los embutidos almacenados en las cámaras de frío pasan a un área de preparación y empaquetado, en donde, se separan los destinados a despacho a granel de los que serán rebanados para venta en porciones. Se emplea el empaquetado al vacío y finalmente, se procede al almacenamiento y despacho.

1.5. Alimentos cárnicos empacados al vacío

El empacado al vacío es un proceso de sellado y extracción de aire que se realiza con el fin de prevenir la oxidación, prolongar el tiempo de vida, proteger a los alimentos de la humedad, luz, y oxígeno durante el almacenamiento, transporte y distribución para garantizar su inocuidad. Genera una modificación del micro medio para evitar la proliferación bacteriana. La exclusión del oxígeno genera un ambiente micro aerobio, en donde, el oxígeno residual es consumido por acción microbiana; en los productos cárnicos cocidos, el aumento de CO₂ favorece el desarrollo de microbiota generadora de ácido láctico, principalmente del género *Lactobacillus spp.*, *Pediococcus spp.* y *Leuconostoc spp.* (Kim et al., 2013).

Se debe considerar que no todos los productos cárnicos presentan el mismo comportamiento cuando se encuentran empacados al vacío. El tiempo de vida útil y comportamiento varía de acuerdo a si se trata de productos cárnicos crudos, cocidos, refrigerados y procesados. Generalmente la carne empacada al vacío tiene un tiempo de vida útil de cuatro a seis semanas, siempre y cuando la manipulación del producto terminado sea la adecuada (Perlera, 2015). Además, el tipo de materia prima, los aditivos que posean, el proceso de producción, empacado, temperatura y conservación como producto terminado son variables que deben ser consideradas para garantizar una mayor calidad y seguridad alimentaria. El envasado al vacío consiste en colocar cortes de carne de diferente tamaño en bolsas de polipropileno y extraer el aire mediante el empleo de una cámara de aspiración generando un medio libre de oxígeno; las bolsas se cierran mediante un sellado por impulso térmico en la parte superior o a los lados de la funda (Seideman & Durland, 1983).

Uno de los principales beneficios del empacado al vacío es la reducción de la pérdida de peso por evaporación y debido a la película impermeable que se forma, evita la deshidratación de la superficie de la carne que normalmente ocurre cuando es expuesta a un sistema de refrigeración abierto. Además, este sistema preserva el color y brinda mayor frescura gracias a que la exclusión de oxígeno provoca que la mioglobina se encuentre reducida. Asimismo, el empacado al vacío evita la contaminación externa por aislamiento, ofrece mayor tiempo de consumo de un alimento a diferencia de la carne no envasada y prolonga la palatabilidad de la carne durante el almacenamiento evitando el deterioro prematuro (Arévalo, 2018).

1.6. Deterioro de los productos cárnicos empacados al vacío

Se considera deterioro del alimento a la pérdida de las características organolépticas del producto como: color, sabor, olor y textura; puede generarse debido a condiciones sanitarias deficientes de manufactura, almacenamiento, transporte y conservación. El empaque al vacío favorece la proliferación de BAL psicrótrofas debido a las condiciones anaeróbicas del medio, grupo bacteriano que, en su mayoría, es el responsable de la pérdida de estabilidad, por lo que se considera un indicador de deterioro (Chenoll et al., 2007).

Los signos de deterioro mayormente observados son la formación de limo en la superficie del producto, exudado, acumulación de gas que genera abombamiento del empaque, cambios de color principalmente se tornan verdosos, formación de colonias en la superficie del producto y acidificación por disminución del pH.

El principal grupo bacteriano causante del deterioro de los productos cárnicos empacados al vacío son los microorganismos anaerobios fermentativos conocidas como BAL homo y hetero fermentativas. Principalmente prevalece el género *Leuconostoc spp.* en embutidos, sin embargo, otros géneros como *Lactobacillus spp.* y *Pediococcus spp.* constituyen la microbiota de los embutidos y pueden ser parte de procesos madurativos que requieren ciertos alimentos. Durante el proceso de maduración las BAL pueden proliferar hasta alcanzar concentraciones entre E+08 y E+09 UFC/g (Hernández-Macedo et al., 2011).

El género *Leuconostoc spp.* es el principal responsable del deterioro de los productos cárnicos empacados al vacío bajo condiciones de refrigeración, las especies *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis* y *Leuconostoc fallax* provocan la pérdida del vacío por hinchazón del empaque debido a la gasificación producto del metabolismo bacteriano. De igual manera, se puede observar decoloración, agriado por descenso en el pH y el limo lechoso en la superficie de los productos cárnicos (Hernández-Macedo et al., 2011).

1.7. Bacterias ácido lácticas

Las BAL pertenecen al phylum *Firmicutes*, clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales* que comprende alrededor de 20 géneros, sin embargo, los más reconocidos son: *Lactobacillus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* y *Streptococcus spp.* En su mayoría las BAL son Gram positivas, no toxigénicas, con bajo potencial patogénico, anaeróbicos o aeróbicos facultativos, no forman esporas, inmóviles, tienen forma de cocos y bastones de longitud y grosor variable entre 0.5-0.8 um, son oxidasa y catalasa negativa, capaces de generar ácido láctico a partir

de la fermentación de carbohidratos. Las BAL son el grupo bacteriano más difundido en la naturaleza gracias a su capacidad de crecimiento en diversas condiciones ambientales, biológicas y en gran variedad de sustratos. La temperatura de crecimiento es el factor con mayor influencia en el crecimiento de las BAL por lo que se las puede clasificar como mesófilas o termófilas (Parra Huertas, 2010).

El género *Lactobacillus* es el de mayor importancia, contiene especies con diversas propiedades bioquímicas y fisiológicas, las BAL son capaces de crecer en medios halófilos, presentan cierta tolerancia a medios con pH ácido menor o igual a 5, son tolerantes a medios ricos en carbono y nitritos. Sus principales fuentes son la materia prima cárnica, no cárnica, y con especial importancia, los utensilios o equipos tecnológicos que intervienen en la elaboración de los alimentos (Ingraham & Ingraham, 1998).

1.7.1. Especies de BAL presentes en los productos cárnicos

La carne es considerada un medio apto para la proliferación bacteriana por su elevado contenido proteico, elevada actividad acuosa y pH 5.5 o ligeramente mayor a este (Barboza, y otros, 2011). Liderando los grupos que alteran a los productos cárnicos y sus derivados, se encuentran las BAL, continuando con *Brochothrix spp.*, *Pseudomonas spp.*, enterobacterias y micrococos. Enfatizando la población ácido láctica, los géneros *Lactobacillus spp.*, *Carnobacterium spp.* y *Leuconostoc spp.* se presentan mayoritariamente en carne bajo refrigeración y en atmósferas con oxígeno reducido, mientras que, los principales géneros y especies en los productos cárnicos empacados al vacío son *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* y *Leuconostoc spp.* En productos crudos, como las salchichas, lideran los géneros *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Weissella spp.*, *Pediococcus spp.*, y *Lactococcus spp.* (Mirás, 2019) (Buelvas, Patiño, & Restrepo, 2012).

1.7.2. Influencia de las BAL en el deterioro de los alimentos cárnicos

Las BAL cumplen un papel fundamental en los productos cárnicos, en concentraciones adecuadas contribuyen a la mejora de las características organolépticas de los productos, el aroma por hidrólisis de las grasas y la textura por promover la coagulación de las proteínas por medio de un proceso de proteólisis (Valencia, 2020).

Sin embargo, su concentración excesiva en los alimentos también puede generar características organolépticas indeseables, convirtiendo al producto vulnerable al rechazo por

el consumidor. Una de las principales alteraciones que pueden producir es el abombamiento del empaque, esto se produce por excesiva fermentación de azúcares generando la producción de ácido láctico, ácido acético y gas hidrógeno (Riquelme, 2017).

Además, en medios aerobios conducen a la formación de metabolitos del oxígeno como peróxido de hidrógeno, aniones superóxido y formación de radicales libres. La formación de peróxidos, al actuar como oxidantes, producen radicales libres que atacan los componentes celulares que resulta en efectos perjudiciales sobre la calidad organoléptica por lo que produce reacciones de decoloración como enverdecimiento y provoca rancidez de las grasas (Rodríguez Agudelo, 2013).

1.8. Contaminación de las superficies inertes con los alimentos cárnicos

Muchas empresas enfocan de forma muy estricta su cuidado microbiológico en los productos hasta un punto de la cadena de producción que asegure la ausencia de microorganismos, en el caso de los embutidos, este punto es la cocción. Sin embargo, las BAL se caracterizan por liderar la contaminación cruzada por el uso de tecnología de manera continua con diferentes productos, casos que no se presentan hasta después de la cocción. Esta acción genera biopelículas en la superficie en contacto con el alimento, de tal manera que se acumula carga bacteriana de producto a producto y origina una alteración considerable en algún alimento que presente mayor vulnerabilidad o que requiera de cuidados más especiales. Se denomina biopelícula a la asociación de bacterias en una superficie rodeada por una matriz constituida por proteínas, polisacáridos, fosfolípidos, ácidos teicoicos y nucleicos y demás sustancias poliméricas, que además de generar un microambiente con condiciones aptas para su supervivencia, crean una fortaleza de difícil eliminación con procesos comunes de lavado y desinfección (Ripollés & Rodríguez, 2018).

1.8.1. Etapas de formación de biopelículas

Su ciclo de constitución se basa en la adhesión a la superficie, establecimiento de una microcolonia, maduración y desprendimiento. Véase la figura 1.

- **Adhesión a la superficie:**

Esta primera etapa se caracteriza por el contacto de las células bacterianas a la superficie. Su unión depende de factores físicos como la gravedad, fuerzas de Van der Waals o cargas electrostáticas, la hidrofobicidad de la superficie, así como del sustrato; ya que mientras más

hidrófoba y menos polar sea la superficie en contacto, existirá menor repulsión de las bacterias. Esta etapa se divide en dos fases, la primera de unión reversible, que se caracteriza por la posible disociación de las bacterias a la superficie por falta de condiciones óptimas; y la segunda de unión irreversible, caracterizada por el desarrollo de polímeros extracelulares, conocidos como sustancias poliméricas extracelulares “EPS” (Martínez, 2014).

- **Establecimiento de la microcolonia y maduración**

Se trata de una etapa de crecimiento, en donde las primeras bacterias empiezan a dividirse y generar células hijas que se extienden dentro de todo el sitio de unión, de tal manera que, se crea una capa más heterogénea que enriquece la matriz extracelular por la formación de EPS. En conjunto a la fase de división está la maduración, en donde, se manifiestan modificaciones genéticas que intervienen en la velocidad de crecimiento bacteriano, haciéndolo más lento; y disminuyendo la susceptibilidad a tratamientos de desinfección, convirtiéndolo en una biopelícula más estable ante condiciones del medio (Nazar, 2007).

- **Desprendimiento**

Esta etapa se caracteriza por presentar muerte celular, degradación de la matriz y aumento de movilidad que favorece la dispersión ante fuerzas externas. Esta separación no solo ocasiona un espacio entre la microcolonia, sino que permite el paso de bacterias desde zonas altamente colonizadas a otras que podrían favorecer la extensión por formación de nuevas microcolonias (Araújo, 2019).

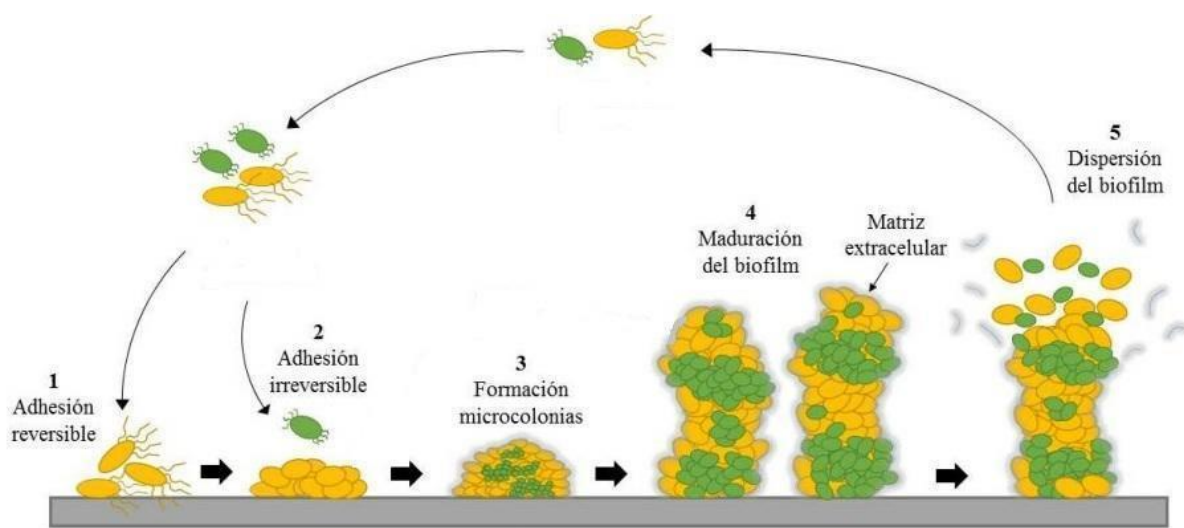


Figura 1. Proceso de formación de biopelículas en superficies (Ripollés & Rodríguez, 2018).

1.9. Estabilidad acelerada en los alimentos

Las pruebas de estabilidad acelerada consisten en seguimientos que se realizan a productos que se almacenan bajo condiciones de estrés que estiman el tiempo total de vida útil mediante la obtención de datos en un periodo de tiempo significativamente más corto. Tienen como objetivo principal acelerar el deterioro del producto sin generar alteraciones de los mecanismos normales de cambios (Ashurst, 2016).

Los estudios de estabilidad acelerada tienen aplicabilidad para cualquier proceso de deterioro, ya sea de origen químico, físico, microbiológico o sensorial. Los parámetros que se manipulan son temperatura, luz, humedad y pH; para lo cual, es estrictamente necesario el conocimiento de la ecología microbiológica durante el almacenamiento para la obtención de datos reales (Nuñez, 2013).

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de estudio

Es de tipo observacional, descriptivo de corte transversal.

2.2. Área de estudio

La investigación se realizó en el laboratorio de control de calidad de una empresa de embutidos en la ciudad de Cuenca - Ecuador. Se determinó la presencia y recuento de BAL en jamones como producto en proceso, producto terminado, superficies inertes y superficies vivas. El estudio se realizó solo en jamones por consenso con la empresa.

2.3. Muestreo y tamaño de la muestra

Se seleccionaron los jamones, en virtud a información otorgada por la empresa acerca de devoluciones de producto debido a pérdida de características organolépticas como “abombamiento” y sinéresis, correlacionadas con BAL. Los embutidos fueron muestreados al azar y se les aplicó pruebas de estabilidad acelerada para verificar el inicio de la pérdida de sus características. Para lo cual, se ejecutó el muestreo de los productos con sus respectivas condiciones de elaboración en tres periodos de tiempo, correspondientes a cada producción diaria de jamón. Todos los análisis pertinentes fueron realizados por duplicado.

2.3.1. Muestreo de producto en proceso

Se realizó el muestreo, de tres producciones consecutivas de jamones. El muestreo se ejecutó al azar en diferentes áreas de la cadena de fabricación: producción, tratamiento térmico y empaque, obteniéndose 25 muestras. Para tal propósito se empleó el siguiente cronograma:

Tabla 1. Cronograma y puntos de muestreo de BAL en producto en proceso

PERÍODO DE MUESTREO									
PRODUCTO EN PROCESO	SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3		
	12/04/2022	13/04/2022	15/04/2022	18/04/2022	19/04/2022	21/04/2022	13/05/2022	14/05/2022	16/05/2022
Recepción de materia prima	X			X			X		
Lavado y desinfección	X			X			X		
Despiece	X			X			X		
Salmuera	-	-	-	X			X		
Tenderizado	-	-	-	X			X		
Emulsificado		X			X			X	
Cocción		X			X			X	
Antes de rebanar			X			X			X
Después de rebanar			X			X			X

Nota: En la semana 1 no se realizó el muestreo de la salmuera y tenderizado debido a que inicialmente no se consideraron estos procesos para el estudio.

2.3.2. Muestreo de producto terminado

Se muestrearon un total de 14 jamones empacados al vacío que fueron seleccionados al azar en 3 periodos de tiempo de acuerdo con las especificaciones de la norma ecuatoriana NTE INEN-ISO 2859-1:2009. La investigación se realizó para tres periodos consecutivos de producción de jamón, basándose en el tamaño de lote y el nivel de inspección según la tabla de letras y código de tamaño de muestra que se detallan en el Anexo 1 y 2, respectivamente.

Los empaques corresponden al día 1 de empaquetado, día 6, día 15, día 21 y sus respectivas contramuestras. El día 1 representa a los jamones con un día de almacenamiento post producción; el día 6 se consideró debido a que la empresa informó un inicio de “abombamiento del empaque” y sinéresis; el día 15 para el monitoreo de las características organolépticas y verificación de carga bacteriana ascendente; finalmente, el día 21, donde se

realizó la prueba de estabilidad acelerada, que extrapola los 45 días del periodo de validez del producto. Para este fin se siguió el cronograma de muestreo expuesto en la tabla 2.

Tabla 2. Cronograma de muestreo de BAL en producto terminado

PRODUCTO TERMINADO	PERÍODO DE MUESTREO											CONDICIONES DE CULTIVO
	PRODUCCIÓN 1			PRODUCCIÓN 2				PRODUCCIÓN 3				
	15/04/2022	20/04/2022	05/05/2022	22/04/2022	27/04/2022	06/05/2022	12/05/2022	18/05/2022	23/05/2022	01/06/2022	07/06/2022	
Día 1	X			X				X				30°C +/- 2°C por 48 horas
Día 6		X			X				X			
Día 15	-	-	-			X				X		
Día 21			X				X				X	40°C +/- 2°C por 24 horas
Fecha caducidad del producto: 45 días												

2.3.3. Muestreo de superficies inertes

Se muestreó en tres semanas de producción, se consideraron superficies que mantengan contacto con el producto cárnico y sean representativas de todas las áreas de la cadena de producción, obteniéndose 31 muestras, de las cuales 9 superficies corresponden a la primera semana y 11 superficies a la segunda y tercera semana respectivamente, esto debido a la adición de superficies por conveniencia en la investigación. Se priorizaron las superficies inertes después del punto crítico de control de los jamones equivalente a la cocción. El método empleado fue el hisopado según la Guía Técnica Peruana 2007 para el “análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”. Los periodos de tiempo para cada superficie se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Cronograma de muestreo de BAL en superficies inertes

ÁREA	SUPERFICIE A MUESTREAR	PERÍODO DE MUESTREO										
		SEMANA 1			SEMANA 2				SEMANA 3			
		13/04/2022	14/04/2022	15/04/2022	18/04/2022	19/04/2022	20/04/2022	21/04/2022	13/05/2022	14/05/2022	15/05/2022	16/05/2022
Producción	Coche	X			X				X			
	Tenderizador	-			X				X			
	Mezclador	-				X				X		
Tratamiento térmico	Canastilla de cocción	X				X				X		
	Marmita de enfriamiento		X								X	
	Repisa de semiterminado		X								X	
Empaque	Mesa			X				X				X
	Cuchillas			X				X				X
	Banda Weber			X				X				X
	Balanza			X				X				X
	Termoformadora			X				X				X

2.3.4. Muestreo de superficies vivas

Se empleó un muestreo por conveniencia en la última semana de estudio debido a que se evidenció la necesidad de determinar la influencia de la manipulación de los jamones por parte de los operarios, con el fin de que la empresa no enfoque su control solo a los procesos y tecnología empleada, sino que también mantenga un control más riguroso de las medidas de higienización de los materiales que utiliza el personal. Para lo cual se consideraron 3 superficies vivas (manos) de 3 operarios del área de empaques, encargados de la manipulación de productos cárnicos en la mesa, rebanadora y termoformadora. Se consideró el muestreo antes y después de su periodo de receso. Para la toma de muestra se aplicó el método de enjuague según la Guía Técnica Peruana 2007 para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas; obteniéndose un total de 6 muestras analizadas según el cronograma de la tabla 4.

Tabla 4. Cronograma de muestreo de BAL en superficies vivas

PERÍODO DE MUESTREO	SUPERFICIES VIVAS		
07/07/2022	Operador 1	Operador 2	Operador 3
PREVIO AL RECESO	X	X	X
POSTERIOR AL RECESO	X	X	X

2.4. Toma de muestra

2.4.1. Toma de muestra de producto en proceso

Se realizó el seguimiento del proceso de elaboración en las tres producciones consecutivas de jamones. Para cada producción se ejecutó lo siguiente: En el día 1 se muestrearon 10 g de carne de las canales destinadas a la producción de dicho lote; se tomó una segunda muestra finalizados los procesos de lavado y desinfección, seguidos por un nuevo muestreo en el desarme de las canales, en el proceso de adición de la pasta de salmuera por tenderizado se ejecutó la cuarta toma de muestra. Tras 24 horas de reposo, para el día 2, se recogió una muestra de emulsificado finalizando con la toma de muestra posterior a la cocción. Para el día 3 de la producción se obtuvo una muestra de los jamones sin tripa previo a su paso por la rebanadora y una última muestra después de rebanar. Se recalca que cada análisis se efectuó por duplicado.

2.4.2. Toma de muestra de producto terminado

Se recogieron cuatro muestras de producto terminado para la semana 1, correspondientes al día 1, 6, 21 y contramuestra; y cinco para la semana 2 y 3, correspondientes al día 1, 6, 15, 21 más su contramuestra. Esto debido a que a partir de la siembra del día 15 de la primera semana de análisis se verificó inicio de sinéresis en el empaque, por ende, se incluyó este día en los siguientes análisis. El día 1, 6 y 15 de siembra, fueron realizados en condiciones normales, mientras que el día 21 se realizó en condiciones aceleradas. Para el empleo de este último, se expuso un empaque de producto terminado a condiciones aceleradas de almacenamiento bajo una temperatura de 40 °C, con el fin de romper la cadena de frío y permitir la obtención de condiciones favorables para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas.

2.4.3. Toma de muestra de superficies inertes

Se realizó el muestreo de las superficies después del contacto con los jamones de las áreas de producción, tratamiento térmico y empaques mediante el empleo de hisopos estériles. Se priorizó el muestreo bajo las condiciones normales de trabajo de la empresa. En el área de producción, se muestreó el coche de acero inoxidable que contenía la mezcla destinada a embutirse; por su parte, la superficie del tenderizador, luego de un proceso de lavado, se muestreó la región donde iba a pasar la mezcla de jamón y la pared de mezclador previo a paso de la masa. En el área de tratamiento térmico, se muestreó la canastilla de cocción destinada a llevar los jamones con tripa y la pared de la marmita de enfriamiento anterior a su contacto. Dentro de esta área se encuentra una sección de enfriamiento, denominada “semiterminado”, donde se realizó el muestreo de la repisa que mantuvo contacto con los bloques de jamones. Finalmente en el área de empaques, se muestreó la mesa ubicada al lado de la rebanadora, donde se encontraban los bloques de jamones destinados a rebanar; el muestreo del resto de superficies se ejecutó previo al paso de estos productos para verificar las condiciones en las que se encontraban las superficies que los recibieron de inmediato, es decir, de donde se podría conducir la contaminación; vale recalcar, que tanto las cuchillas como la banda Weber, balanza y termoformadora no tuvieron un lavado tras el cambio de producto a rebanarse.

2.4.4. Toma de muestra de superficies vivas

Se consideraron tres superficies vivas pertenecientes al personal del área de empaque de un solo lote de producción, esto debido al nivel de contaminación por bacterias ácido lácticas evidenciada en las dos primeras semanas de estudio. El muestreo se realizó mediante el método de enjuague, antes y después del receso de los operarios. Como condiciones de muestreo, el personal se encontraba con guantes, dispuestos según sus funciones laborales y sin lavarse las manos durante la solicitud de toma de muestra. Se inició con la toma de muestra de las manos del operario encargado de sacar la envoltura del jamón y del corte para el paso por la rebanadora, asimismo, se muestrearon las manos del operario que rebana y pesa las rodajas de jamón, y finalmente al encargado del empaque al vacío mediante el manejo de la termoformadora.

2.5. Materiales, equipos y reactivos

Materiales

- Cuchillos
- Espátula
- Papel aluminio
- Papel film
- Hisopos
- Stomachers de 250 cc
- Tubos de ensayo de 10 cc
- Pipetas volumétricas de 10 cc
- Pera de succión
- Lámpara de alcohol

Equipos

- Estufa: Marca: Memmert Modelo: 100-800
- Autoclave: Marca: Trident Modelo: 25X-1 Serie: CE 0434
- Refrigerador: Marca: Indurama Modelo: VFV 520
- Base de licuadora: Marca: Osterizer Modelo: Blender Serie: BLST 4655-013/700W
- Balanza digital: Marca: CAMRY EHA 901

Reactivos

- Agua destilada
- Buffer de agua de peptona
- Alcohol etílico
- Placas 3M® Petrifilm® para recuento de bacterias ácido lácticas

2.6. Métodos y técnicas de análisis

2.6.1. Bacterias ácido lácticas en placas Petrifilm

Las placas Petrifilm son medios de cultivo simplificados listos para usar, que no requieren una preparación previa de agar, reconocidos y validados por la AOAC o, en español, Asociación Oficial de Químicos Analistas (3M Petrifilm, 2017). Estos medios están constituidos por nutrientes, agentes selectivos, agente gelificante, indicador de tetrazolio para el recuento de colonias y compuestos que eliminan el oxígeno generando condiciones anaeróbicas. Tras su uso se recuperan colonias pequeñas o grandes, ya sean homofermentativas y heterofermentativas, a través de la visualización de la coloración del gel que va de azul oscuro a rosa-morado (3M Petrifilm, 2022).

2.6.2. Procedimiento para la siembra en placas Petrifilm

Para obtener la dilución adecuada de cada uno de los procesos de la cadena de producción (Recepción de materia prima, lavado y desinfección, despiece, salmuera, tenderizado, emulsificado, cocción, empaquetado) se realizó un análisis previo para identificar los puntos de mayor contaminación y los de disminución de carga microbiológica. La aplicación de una dilución adicional variaba según las condiciones de trabajo que se visualizaban en cada semana de estudio. Véase el Anexo 3.

Se inoculó 1ml de la dilución previamente obtenida, se extendió el inóculo en toda el área del medio de cultivo y se incubó bajo las condiciones de tiempo y temperatura adecuadas, según el tipo de estudio de estabilidad; siendo de 30 +/- 2 °C por 48 horas para condiciones normales y 40 °C +/- 2 °C por 24 horas para pruebas de estabilidad acelerada. Los Anexos 4 y 5, muestran ilustraciones del kit y modo de empleo de las placas 3M Petrifilm.

Finalmente, para el recuento se consideraron las colonias rosas o moradas, grandes o pequeñas, con o sin gas, siendo las homofermentativas las colonias no asociadas a gas, mientras que las heterofermentativas son las productoras de gas, para mayor comprensión obsérvese el Anexo 6, 7 y 8 respectivamente.

2.7. Procedimientos para los análisis microbiológicos de las muestras

2.7.1. Producto en proceso y producto terminado

Tanto para producto en proceso como para producto terminado se obtuvieron 10 g de muestra que se colocaron en un stomacher con 90 ml de agua de peptona al 0.1 % para la disminución del tamaño de partícula bajo el empleo de una base de licuadora a 290 rpm y la preparación

de las respectivas diluciones. Posteriormente se inoculó 1 ml en la placa Petrifilm, con su duplicado y se incubó en una estufa durante 48 horas a 30 +/- 2 °C para producto en proceso y durante 24 horas a 40 °C para pruebas de estabilidad acelerada en producto terminado. Finalizado este tiempo, se cuantificó la carga bacteriana según las especificaciones de las placas 3M Petrifilm para BAL.

2.7.2. Superficies inertes

Se empleó el método del hisopado según la Guía Técnica Peruana 2007 para el “análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”, con aplicación para superficies inertes regulares e irregulares. Consistió en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en agua de peptona al 0.1 % estéril a un ángulo de 30 ° en cada área de 10 cm x 10 cm. Posteriormente, se colocó el hisopo en un tubo con 10 ml de agua de peptona al 0.1 % y se recogió una alícuota de 1 ml de solución previamente homogeneizada para sembrar en las placas Petrifilm con su respectivo duplicado incubando a 48 horas a 30 +/- 2 °C, para posteriormente realizar el respectivo recuento.

2.7.3. Superficies vivas

Se aplicó el método de enjuague según la Guía Técnica Peruana 2007, en el cual se colocó el agua de peptona al 0.1 % en una bolsa estéril, se introdujo las manos del operario hasta nivel de las muñecas, se le pidió que se frote los dedos y las palmas de la mano con 90 ml de agua de peptona al 0.1 % y tras un proceso de homogeneizado del contenido a través de movimientos laterales con la funda cerrada, se tomó una alícuota de 1 ml para sembrar por duplicado en las Placas Petrifilm e incubar 48 horas a 30 +/- 2 °C, para posteriormente realizar los análisis microbiológicos respectivos.

2.8. Manejo estadístico de datos

Una vez obtenidos los resultados de cada recuento dependiente de su dilución y duplicado en cada semana, se empleó el programa Microsoft Office LTSC Profesional Plus Excel 2021, haciendo uso de recursos gráficos como líneas de tendencia o de barras. A fin de representar la actividad ácido láctica en cada punto de muestreo en la cadena de producción, se empleó una línea de tendencia, para visualizar las fluctuaciones de carga bacteriana en cada proceso.

Tanto para producto terminado, superficies inertes y superficies vivas, se emplearon gráficos de barra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Determinación de cargas microbiológicas de BAL en producto en proceso

Los resultados de los análisis microbiológicos para BAL presentaron diferentes cargas por cada punto de la cadena de producción. En la tabla 5 se presentan los resultados por semana de elaboración de los jamones.

Tabla 5. Resultados de recuentos de BAL en las semanas de producción

NOMBRE	RECUESTO UFC/g		
	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
Recepción Materia prima	2,00E+05	1,50E+05	1,40E+05
Lavado y desinfección	4,00E+04	3,40E+04	3,50E+04
Despiece	5,40E+04	5,30E+04	6,00E+04
Salmuera	-	4,50E+02	4,40E+02
Tenderizado	-	4,10E+03	4,00E+03
Emulsificado	4,00E+05	4,00E+05	7,00E+04
Cocción	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Antes de Rebanar	1,00E+03	3,40E+02	1,20E+03
Después de Rebanar	2,10E+03	1,20E+03	2,40E+03

Nota: Los valores representan a la media de n=2 por duplicado

El análisis microbiológico del producto en proceso fluctúa de acuerdo con los puntos de desinfección y tratamientos tecnológicos. Tal es que, en la recepción de materia prima cárnica se evidencia una carga inicial elevada, que luego de un proceso de lavado y desinfección con ácido láctico disminuye; en el despiece, por fragmentación de la materia cárnica, aumenta y nuevamente se presenta una disminución tras la exposición a salmuera por el tenderizado, debido a la adición de sus aditivos y condimentos; finalizando con un emulsificado con carga mayor. Tras la cocción de la masa, al ser un proceso térmico, no se evidencia crecimiento; sin embargo, después del enfriamiento y posterior manipulación en el área de empaques, los

recuentos ascienden, cargas que acompañan el empacado al vacío y, por ende, son el inicio de la inestabilidad del producto terminado.

De los tres períodos de estudio, la semana 1 y 3 son las que reflejan mayor actividad ácido láctica en los jamones después de haber pasado por un proceso de rebanado y previo a su empacado al vacío, debido a que en estas semanas los jamones fueron rebanados en la tarde, es decir, las superficies tuvieron contacto con otros productos con anterioridad. Mientras que la semana 2, a pesar de presentar las mismas características, es la que presenta una carga menor, debido a que este lote fue destinado a rebanar antes de medio día, por lo que no fueron muchos los productos cárnicos que antecedieron el equipo de rebanado.

PRODUCTO EN PROCESO

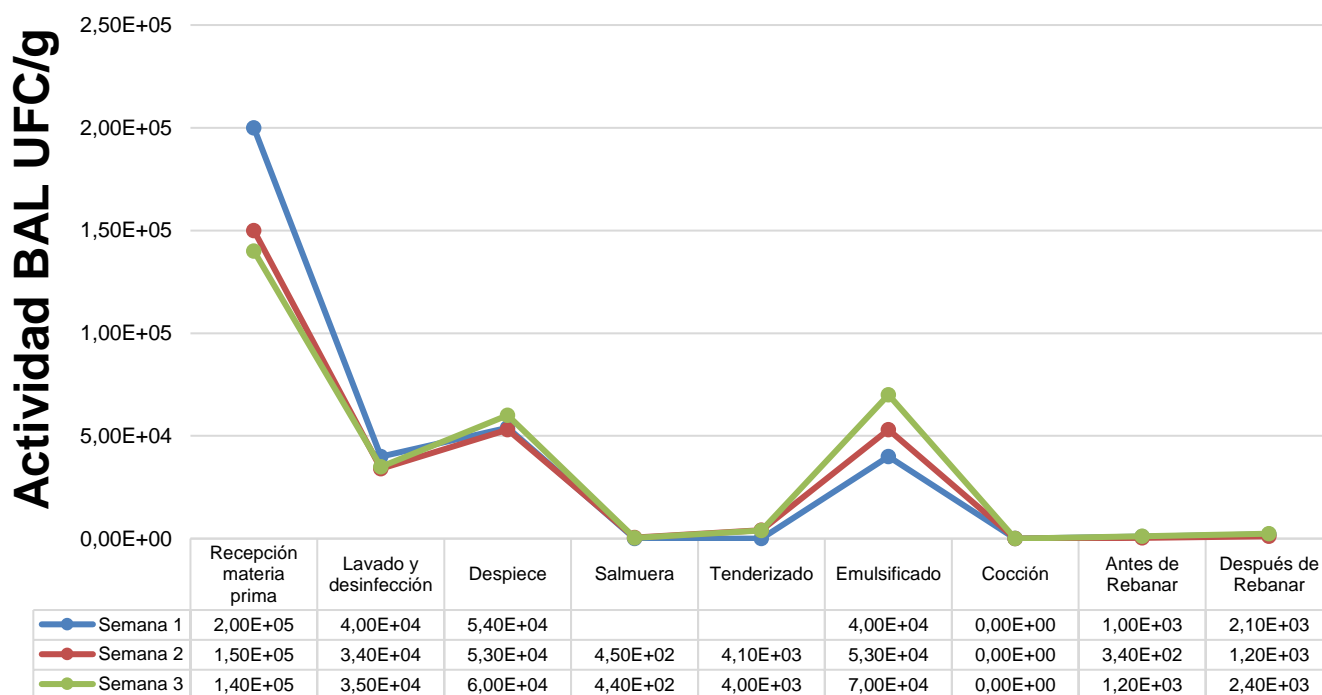


Figura 2. Dinámica de la actividad ácido láctica en producto en proceso durante las etapas de producción

En la figura 2 se puede apreciar que las canales ingresan con una carga considerablemente alta de BAL. Velebit et al., 2021 menciona que cuanto mayor sea la contaminación inicial de la carne mayor es la probabilidad de la multiplicación de microorganismos psicrófilos y psicrotrofos durante el enfriamiento. Luego de la corroboración de conformidades para la aceptación de estos canales, se realiza una limpieza con agua y dos desinfecciones con ácido láctico a partir de lo cual se consigue una disminución de dicha carga, que para el caso de la

semana 1 pasó de $2,00 \text{ E}+05$ UFG/g a un recuento de $4,00 \text{ E}+04$ UFG/g con el empleo de una dilución menor de $1,00 \text{ E}-2$.

Esto se debe a que los tejidos internos de las canales no presentan contaminación microbiana, sino que ésta proviene del contacto de la región externa de los animales con algunas superficies luego de su sacrificio, mismas que para este caso pueden ser las paredes de los camiones de transporte (Suquinaula, 2012). La máxima contaminación del canal se debe a que los procesos se realizan manualmente, por lo que se puede alcanzar un recuento de $2,00 \text{ E}+07$ UFC/cm² en los canales y de $6,00 \text{ E}+03$ a $6,00 \text{ E}+08$ UFC/cm² en las superficies de cuchillos (Velebit et al., 2021). Consiguientemente, la contaminación microbiana también puede estar presente en las pieles de los animales por lo que dependiendo del área muestreada puede haber recuentos que van desde $1,00 \text{ E}+04$ a $1,00 \text{ E}+09$ UFC/cm². De acuerdo con Velebit et al., otros, (2021), las áreas con mayor riesgo de contaminación son la parte distal de la pata y el pecho debido a la proximidad con el suelo, polvo y material fecal.

En la semana 2 la materia prima muestra una carga de $1,50 \text{ E}+05$ menor en comparación a la semana 1, para este caso las condiciones de lavado y desinfección mejoraron al ver una ligera disminución en su valor a $3,40 \text{ E}+04$. Por su parte, la semana 3 recibió las canales con menos carga de BAL para la producción con un valor de ingreso de $1,40 \text{ E}+05$ que tras la desinfección llegó a una carga similar a las otras dos semanas $3,50 \text{ E}+04$. Estos resultados indican que tanto la recepción de materia prima cárnica como el proceso de lavado y desinfección permanecen con operaciones estandarizadas constantes que brindan un mismo rango de resultados, es decir, no permite un ingreso a carnicería con cargas disparadas.

Durante el proceso de despiece, se obtiene una mayor superficie de contacto y por ende la carga bacteriana también se va a elevar. Para este caso el recuento ascendió a $5,40 \text{ E}+04$. El despiece de la semana 2 mostró un valor de $5,30 \text{ E}+04$ que se mantuvo bajo las mismas características del proceso; y el de la semana 3 de $6,00 \text{ E}+04$ fue el valor más elevado. El recuento microbiano puede aumentar cien veces más el valor en comparación a los valores iniciales, sin embargo, depende de las condiciones de operación (Velebit et al., 2021).

Durante la semana 1 no se obtuvieron datos de la salmuera y tenderizado, debido a que, al no representar un punto de control y ya contar con datos de carga elevada como recepción y lavado; y carga nula en cocción, no se consideraron necesarios. Sin embargo, con el fin de visualizar la actividad ácido láctica al obtener una mayor exposición de la fracción proteica de la carne a condimentos y aditivos, se consideraron ambos procesos en las siguientes semanas.

Al adicionar la salmuera al tenderizado se provoca una mayor penetración y concentración de solutos en la carne, generando la disminución de carga en la semana 2, a un valor de $4,50E+02$ y en la semana 3 de $4,40 E+02$; no es nula debido a que algunas especies BAL tienen la capacidad de crecer en la materia cárnica en presencia de sales y condiciones de almacenamiento bajo refrigeración, como lo que sucede tras el reposo de 24 horas de la masa final; esta propiedad bioquímica se exhibe por la proteína Lp_3562 halo tolerante con acción lipasa (Chaillou et al., 2005)(Esteban-Torres et al., 2015).

El molido y picado de la carne permite que los microorganismos se distribuyan en todo el entorno favoreciendo el crecimiento, los cuales ingresan por el empleo de materia prima no cárnica contaminada, aire, manos de los operadores y utensilios en contacto. Estudios han demostrado que ciertos condimentos como la pimienta negra molida a menudo están contaminadas con agentes patógenos. Velebit et al., (2021), demuestra que el 65 % de especies como el ajo en polvo y verduras secas como la cebolla, son fuentes de BAL que pueden estar asociados al deterioro, sin embargo, se puede controlar con termo tecnología.

En la obtención de la masa final con aditivos y condimentos, considerando que se le aplica un reposo de 24 horas, existió una mayor proliferación bacteriana; por consiguiente, para su análisis se emplearon diluciones mayores de $1,00 E-03$ y $1,00 E-04$ con un valor final de $4,00 E+05$ para la semana 1 y 2. Sidhu et al. (2004) mencionan que las BAL pueden sobrevivir a procesos de desinfección y con el reposo de la masa, que aún cuenta con materia cárnica cruda, actuar como reservorios al contribuir con su potenciación de carga, situación que reflejó la semana 3, ya que fue la que presentó mayor carga de BAL, con un valor de $7,00E+04$.

Para el proceso de cocción debido a la influencia de la transformación térmica, no se obtuvo crecimiento en ninguna semana de producción, por lo que se demostró que esta fase se efectúa de manera correcta. Esto se debe a que a pesar de que existen especies de BAL mesófilas que cuentan con una temperatura óptima de crecimiento que oscila entre $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$; y termófilas que resisten un rango mayor de $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, la mayoría son inactivadas inmediatamente a temperaturas superiores a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Freire et al., 2021). Vale recalcar que el resultado de este recuento se debería mantener en los siguientes procesos de la cadena de producción, sin embargo, es aquí donde interviene la contaminación cruzada, ante esto (Cabeza et al., 2018) indican que las BAL pueden presentarse nuevamente en los alimentos cárnicos cocidos por medio de las superficies de equipos o utensilios que sirven como vehículos de contaminación, ya sea durante el corte o la fase de empaclado.

Luego de un proceso de enfriado y almacenamiento, los jamones son enviados al área de empaques, en donde se extrae la envoltura que le brinda protección de los agentes externos contaminantes, por lo que el producto experimenta su primer contacto con superficies y utensilios previo al proceso de rebanado. Como se argumentó anteriormente, es este el punto de partida para la contaminación cruzada, representando un valor de 1,00 E+03 para la semana 1; 3,40 E+02 para la semana 2 y 1,20 E+03 para la 3. Estos resultados indican que la semana 2 tuvo mayor contaminación cruzada antes de pasar por el equipo de rebanado.

Dichas cargas se potencian aún más con las acciones consecuentes de rebanado, por el segundo contacto con otros utensilios del área que poseen su propia carga, manteniéndose dicho trayecto hasta llegar a un valor elevado para la semana 3 de 2,10 E+03, lo que indica que las condiciones de manipulación en el paso por los siguientes equipos y superficies inertes tuvieron un mayor déficit de control, lavado y desinfección en esta semana. Este último dato es el causante de la inestabilidad, ya que el producto se despacha con una carga inicial que puede aumentar debido a la utilización de las propiedades de los jamones empacados por parte de las BAL, es decir, su elevada actividad acuosa, las condiciones microaerófilas y ácidas del medio, repercutiendo en su vida útil.

3.2. Cargas microbiológicas de BAL en producto terminado

En la tabla 6 se presentan las cargas microbiológicas de BAL de acuerdo a los días 1,6,15 y 21 de almacenamiento de producto terminado. Aprovechando el amplio tiempo de espera del día 6 al 21 de la producción 1, se consideró el día 15 como punto de control de aumento de BAL para las siguientes producciones.

Tabla 6. Resultados de recuentos de BAL en producto terminado

NOMBRE	RECuento UFC/g		
	PRODUCCIÓN 1	PRODUCCIÓN 2	PRODUCCIÓN 3
Día 1	2,30E+03	1,30E+03	3,00E+03
Día 6	3,50E+03	4,10E+03	2,30E+05
Día 15	-	8,00E+04	4,00E+06
Día 21	2,30E+06	3,00E+07	3,00E+07

Nota: Los valores representan a la media de n=2 por duplicado

En el estudio es posible estimar los datos del crecimiento de BAL en función del tiempo. Considerando el periodo de almacenamiento mediante pruebas de estabilidad acelerada hasta el análisis del día 21; se decidieron realizar dos estudios en condiciones normales ($30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 h) durante el tiempo de espera, ambos estudios equivalen al día 1 y 6 después del empaque al vacío de los jamones.

Para el análisis de los resultados de producto terminado de la tabla 6, fue necesario secuenciar los datos obtenidos del producto en proceso de la tabla 5 y figura 2, debido a que el valor del proceso “después de rebanar” representa la carga de ingreso al almacenamiento de los jamones empacados al vacío. En efecto, se evidenció que a pesar de mantener las condiciones normales de almacenamiento y temperaturas, siguiendo las recomendaciones expresadas en las etiquetas, la carga obtenida después de rebanar fue de $2,10 \text{ E}+03 \text{ UFC/g}$ en la semana 1; por su parte, la semana 2 tuvo la menor carga de partida y finalmente, la semana 3 con una carga de $2,40 \text{ E}+03 \text{ UFC/g}$ de BAL que, tras 24 horas de empacarse el recuento fue de $3,00\text{E}+03 \text{ UFC/g}$, como se observa en la producción 3 de la tabla 6 y figura 3, valor predictivo de mayor contaminación cruzada y por ende, inestabilidad en comparación a las dos semanas de producción anterior. Con estos datos, se demuestra la influencia que generó la contaminación inicial en el área de empaques.

Para el día 6, también bajo condiciones normales, se emplearon diluciones que reflejaron un recuento mayor para todas las semanas, destacando la carga de $2,30 \text{ E}+05 \text{ UFC/g}$ de la semana 3, valor que continuó en ascenso. Este día es clave para la empresa debido a que, según información brindada por la misma, era en donde iniciaba la pérdida de estabilidad de producciones anteriores, con las consecuentes devoluciones y pérdidas económicas dentro del periodo de vida útil.

Pasado el tiempo de análisis de la primera semana y con el inicio de la segunda, se consideró el día 15, bajo condiciones normales, como nuevo punto de análisis para verificar el incremento de la carga de BAL, que efectivamente, aumentó a $8,00 \text{ E}+04 \text{ UFG/g}$ en esta semana y llegó a un valor de $4,00 \text{ E}+06 \text{ UFG/g}$ en la semana 3, lo que respalda la agregación celular resultante de una contaminación inicial del producto terminado con biopelículas (Chaillou et al., 2005).

Con la prueba de estabilidad acelerada empleada para el día 21 se determinó un recuento de $2,30 \text{ E}+06 \text{ UFG/g}$ para la semana 1, una carga de $3,00 \text{ E}+07 \text{ UFG/g}$ para la segunda y tercera semana. Según Ossa et al., (2010) en su estudio de la caracterización de diversidad microbiana y la calidad microbiológica e higiénico sanitaria de 10 marcas de jamones de cerdo

Geanella Nicole Loayza Galarza
Evelyn Dayana Díaz Gutiérrez

cocidos abombados y no abombados. De las 139 cepas aisladas, 37 pertenecieron a géneros de BAL. De las 10 muestras analizadas, 4 presentaban abombamiento y reflejaban recuentos de BAL de $1,00 \text{ E}+08$ – $1,00 \text{ E}+09$ UFC/g y 6 no presentaban abombamiento, arrojando recuentos menores de $1,00 \text{ E}+06$ UFC/g. Por otro lado, en condiciones ideales, una carga de $4,05 \text{ E}+04$ UFC/g fue el recuento óptimo, debido a que el empleo de buenas condiciones de almacenamiento retrasó el crecimiento de las BAL manteniendo temperaturas menores a 5°C y, por ende, al producto fuera de la zona de peligro.

Esto indica que al superar el límite máximo permisible de $1,00 \text{ E}+06$ UFC/g, con límite óptimo de $4,05 \text{ E}+04$ UFC/g, los jamones presentarán deterioro a pocos días de cumplir con el periodo de vida útil estipulado en el empaque, destacando que tanto la semana 2 y 3 tendrán mayores características de inestabilidad.

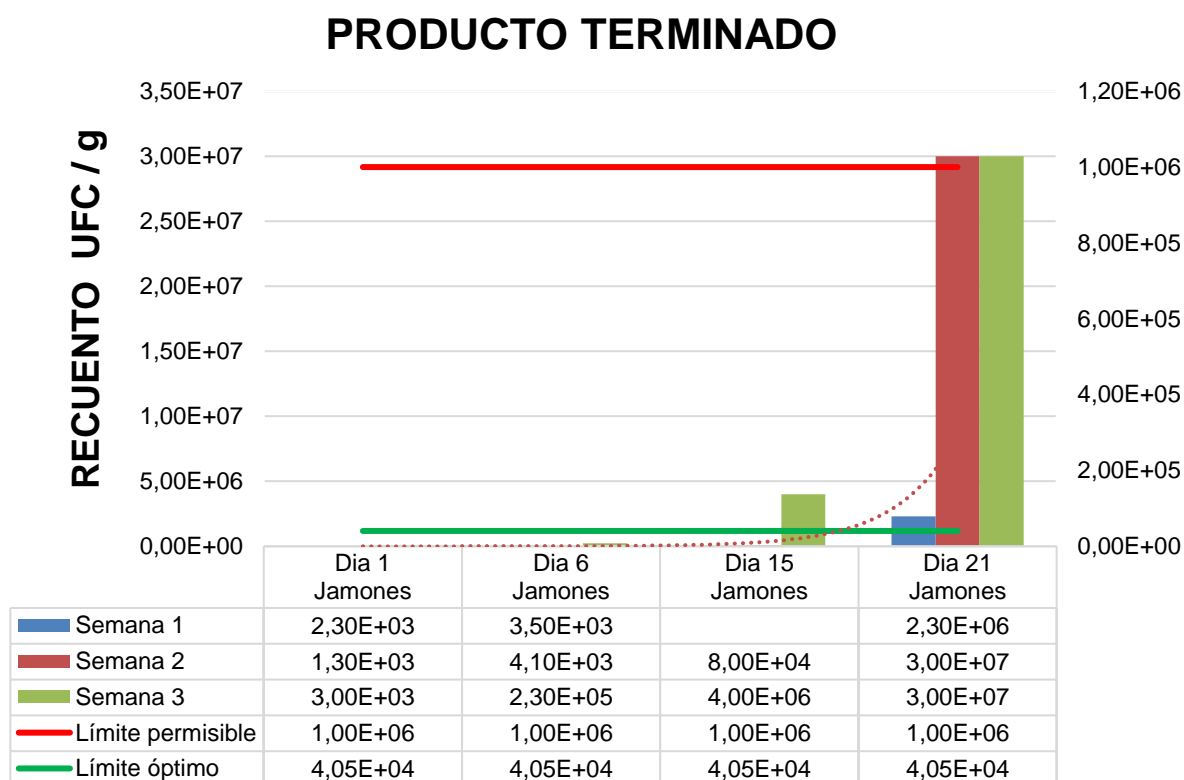


Figura 3. Recuento de la actividad ácido láctica en producto terminado en las semanas de producción

3.3. Cargas microbiológicas de BAL en superficies inertes

Para las superficies inertes analizadas, destaca el área de empaques, debido a que luego de la cocción de los jamones no se obtuvo crecimiento, sin embargo, posterior al contacto con la mesa y rebanadora nuevamente se evidencia crecimiento, situación que presenta riesgo para la conservación de sus características durante el tiempo, los resultados por área y semana de análisis se presentan en la tabla 7.

Además, se enfatiza que de acuerdo a la superficie que esté en contacto con los productos cárnicos se provocan diferencias en el crecimiento de bacterias ácido lácticas provocadoras de biopelículas. En un estudio realizado por Padilla, Cepeda, Salgado, Iturriaga, & Arvizu, (2015), se determinó que las superficies regulares presentan una incidencia del 10 % del crecimiento de BAL en comparación a las superficies irregulares que fue del 30 – 36 % de acuerdo al equipo o utensilio analizado. Este mencionado nos permite corroborar con la figura 4 la variación que existe en la carga microbiana dentro de una misma área de análisis.

Tabla 7. Resultados de recuentos de BAL en las superficies inertes

ÁREA	SUPERFICIE	RECuento UFC/cm ²		
		SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
PRODUCCIÓN	Coche	4,00E+01	6,00E+01	2,00E+01
	Tenderizador	-	7,00E+01	4,00E+01
	Mezclador	-	1,00E+01	8,00E+01
TRATAMIENTO TÉRMICO	Canastilla de cocción	0,00E+00	5,00E-02	5,00E-02
	Marmita de enfriamiento	4,00E-02	2,00E-01	2,00E-01
	Repisa de semiterminado	2,70E-01	1,10E+01	1,10E+01
EMPAQUES	Mesa	1,40E+01	3,80E-01	8,00E+01
	Cuchillas	2,00E+02	1,80E+02	8,00E+02
	Banda Weber	3,30E+01	2,50E-01	1,50E-02
	Balanza	2,00E+01	6,00E+01	5,90E-03
	Termoformadora	3,10E+01	4,50E-01	6,20E-01

Nota: Los valores representan a la media de n=2 por duplicado

UCUENCA

Se consideraron las principales superficies de utensilios o equipos que mantienen contacto directo con el producto en diferentes áreas de fabricación: producción, tratamiento térmico y empaques. El área de producción está conformada por el mezclador, tenderizador y coche de transporte de acero inoxidable. Inicialmente se había considerado solo al coche para el área de producción, debido a que las superficies luego del proceso de cocción son las ocasionantes de la contaminación cruzada, sin embargo, al igual que en producto en proceso, con el fin de obtener más datos para visualizar la actividad ácido láctica del área, se consideraron las superficies del tenderizador y la mezcladora en las siguientes semanas.

En la figura 4 se observa que el coche presentó una carga de $6,00 \text{ E}+01 \text{ UFG/g}$ para la semana 2, superior al resto de semanas analizadas, esto debido a que en esta semana se visualizó un saneamiento deficiente en comparación a las demás semanas. El tenderizador también tuvo una carga mayor en la semana 2, con un valor de $7,00 \text{ E}+01 \text{ UFG/g}$, por la transferencia de la carga adquirida durante el contacto con el coche; y la superficie del mezclador fue mayor en la semana 3, con una carga de $8,00 \text{ E}+01 \text{ UFG/g}$, también por menor grado de higienización.

A pesar del continuo ascenso de cargas en las superficies, estas no generan mayor riesgo al estar en contacto con los jamones, debido a que serán sometidos a un proceso térmico de inactivación bacteriana.

Para el área de tratamiento térmico se analizó la canastilla de cocción, encargada de la recepción de productos recién cocidos destinados a una fase de enfriamiento, la variación de crecimiento para las tres semanas es casi nulo, situación que destaca el buen control de sanitización del área.

Por otro lado, se analizó la pared de la marmita de enfriamiento, en la cual se colocan los jamones en bloque que salen directamente de los hornos de cocción con la finalidad de disminuir la temperatura y puedan ser posteriormente almacenados en las cámaras de refrigeración, obteniéndose un crecimiento mayor en la semana 2 y 3 de $2,00 \text{ E}-01 \text{ UFC/g}$.

Asimismo, en la sección de semiterminado, donde se logra el enfriamiento del núcleo del alimento tras su almacenamiento en condiciones de refrigeración de $0 - 4 \text{ }^\circ\text{C}$, se analizó la superficie de las repisas de acero inoxidable, también con el mayor crecimiento para la semana 2 y 3 representado con el valor de $1,10 \text{ E}+01 \text{ UFC/g}$. Las cargas tanto de la canastilla de cocción, como de la marmita de enfriamiento y la repisa, no representan peligro inminente a los jamones, debido a que hasta aquí ellos cuentan con su envoltura física, la cual es una

protección del producto cárnico frente al ambiente exterior. La tripa presenta múltiples beneficios en el proceso de embutición por servir de molde y brindar forma, sin embargo, uno de los más importantes es la conservación de integridad física de los productos con el objetivo de no afectar las siguientes fases tecnológicas de la cadena de producción; esto lo logra debido a otras propiedades como resistencia a cambio de temperaturas y elasticidad (Sarabia, 2012).

En empaques, al tratarse de un área de mayor cuidado por no existir otro punto de control en las siguientes etapas, se consideraron algunas superficies como: mesa de extracción de tripa, cuchillas del equipo de rebanado, banda Weber correspondiente a la sección que recoge y traslada las fracciones de jamones hacia la gaveta receptora; y termoformadora. Siendo el equipo de rebanado en donde se demostró mayor contaminación, catalogándose como la fuente de contaminación en la cadena de producción de los jamones en la empresa.

La semana 3 resultó ser la producción con peores condiciones de trabajo, destacándose como el periodo con más riesgo de presentar devoluciones debido a la evidente afectación de la estabilidad. La mesa, donde se ubican los productos próximos a rebanarse para extraerlos de su envoltura física, presentó el valor de contaminación más alto con $8,00 \text{ E}+01$ UFC/g, resultando ser la primera fase de contaminación cruzada de los productos, posiblemente por no existir una buena sanitización, además de que no solo los jamones pasan por esta superficie, sino también mortadelas de diferente tipo y fuente proteica; al pasar varios productos y no realizar una limpieza por cada cambio de producto, existe sustrato disponible para la proliferación bacteriana que se arrastra a los jamones.

SUPERFICIES INERTES

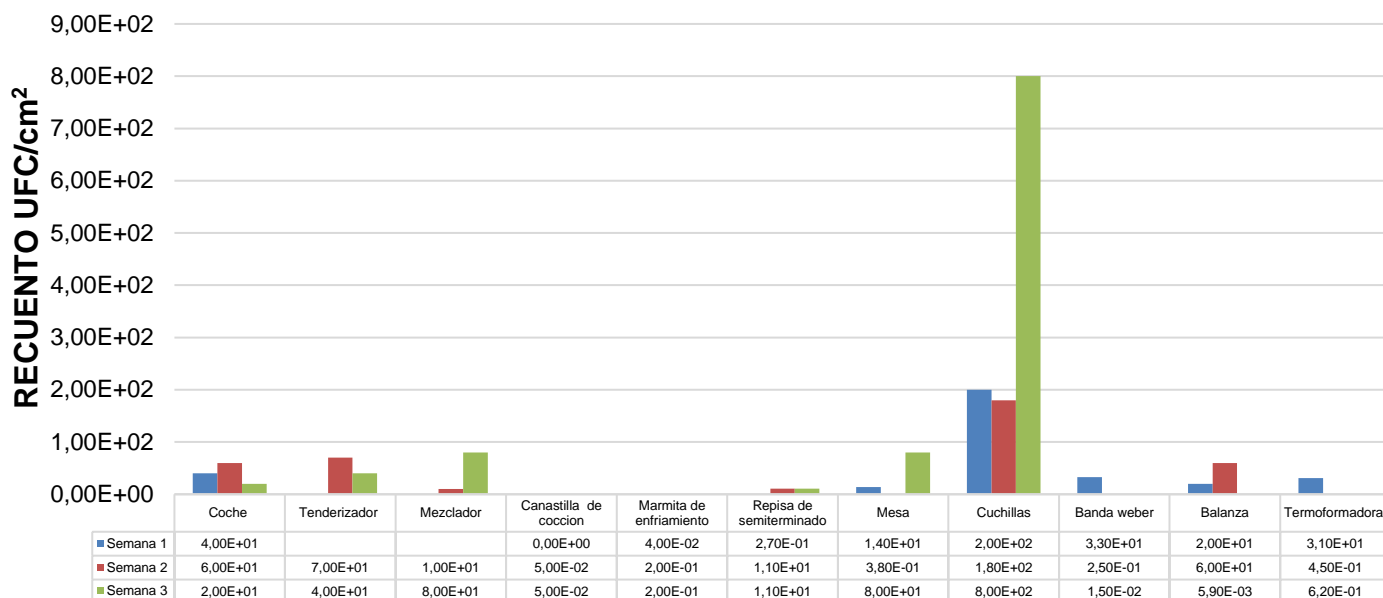


Figura 4. Actividad ácido láctica en superficies inertes. Los resultados de las superficies inertes regulares se expresan en UFC/cm²; mientras que, para las cuchillas, por tratarse de una superficie irregular, se expresa en UFC/cuchillas.

En la figura 4 se observa que el valor de las cuchillas de la rebanadora fue la más crítica de las superficies, al tratarse de una superficie irregular provoca mayor dificultad de obtener garantía de un lavado y desinfección eficiente. Chia-Min et al., (2006), mencionan que los microorganismos tienen la capacidad de adherirse a las cuchillas y a la superficie de la cortadora durante la operación de rebanado y que la rotación de la cuchilla acumula la mayoría de los restos de embutidos en las esquinas de acuerdo sea la dirección. La colonización de bacterias patógenas y/o causantes del deterioro se genera debido a la superficie irregular, que impide una correcta limpieza y saneamiento. Sidhu et al., (2004) manifiestan que la mayor parte de desinfectantes que se derivan del amonio cuaternario, permiten la proliferación de BAL contribuyendo a la diseminación de resistencia por medio de biopelículas que lideran la contaminación cruzada y, por ende, el deterioro de productos cárnicos tras su empaque final.

La banda Weber es una cinta que recepta las rebanadas de los productos que han pasado por las cuchillas en la rebanadora, tras la obtención de valores altos en la semana 1 y 2, se emplearon mayores diluciones, con lo cual también se obtuvo un mayor recuento en la semana 3. Se recalca que la cinta presentaba desgaste en la continuidad de la banda, razón por la cual puede acumularse una pequeña cantidad de los productos cárnicos y generar

biopelículas. Tanto los equipos de tecnología alimentaria como las cintas de transporte representan fuentes de contaminación para el procesamiento de productos cárnicos al mantener reservorios de bacterias, posiblemente por el paso de diferentes tipos de productos (Padilla, Cepeda, Salgado, Iturriaga, & Arvizu, 2015).

Por último, se evidenció que tanto la balanza, destinada a pesar los gramos de producto rebanado a empacarse; como la termoformadora, equipo donde se realiza el empaqueo al vacío, también presentaron recuentos altos en las 3 semanas de estudio, debido también a condiciones laborales deficientes.

La contaminación cruzada superficial genera grandes riesgos en todas las etapas de producción, despacho, almacenamiento y transporte. Sheen & Cheng-An (2011), mencionan que dicha contaminación se genera por la influencia de tres vías: equipos, aire y manos. Recalcando la importancia de establecer modelos empíricos que predigan la transferencia de bacterias ácido lácticas entre la carne y la cuchilla de la rebanadora como existe para los microorganismos patógenos causantes de ETA, ya que este grupo bacteriano resulta en un acortamiento de la vida útil de los alimentos.

3.4. Cargas microbiológicas de BAL en superficies vivas

Encadenando los resultados anteriores, se vio la necesidad de no solo considerar las condiciones de las superficies inertes del área de empaques, sino también de sus operarios, con el fin de verificar la correcta higiene y sanitización. Las condiciones de trabajo de los operarios afectan directamente a los productos de su manipulación, ya que, al no tener especial cuidado con las características de cada producto y accionar de la misma manera con todos, se puede contaminar con la carga de un producto a otro. En la tabla 8 se exponen los resultados de los recuentos para superficies vivas.

Tabla 8. Resultados de recuentos de BAL en las superficies vivas previo y posterior al receso

SUPERFICIE VIVA	RECuento UFC/manos	
	PREVIO AL RECESO	POSTERIOR AL RECESO
OPERADOR 1	4,00E+03	9,00E+03
OPERADOR 2	8,20E+03	1,30E+04
OPERADOR 3	4,00E+03	9,40E+03

La empresa maneja periodos de tiempo de receso entre labores, aproximadamente cada dos horas y media de producción se permite un descanso de breves minutos a los operarios, con el fin de verificar su reingreso a las áreas con un lavado y desinfección adicional. A pesar de estas acciones, durante la toma de muestra previo y posterior al receso, se pudo corroborar que efectivamente, los operarios no cumplían con cada recomendación de higienización de manos, ya que tras reintegrarse a su zona de labores reutilizaban los guantes sin lavado previo con los cuales manipulaban todos los productos destinados a rebanarse en el área de empaques. Estos resultados fueron los mismos en cada caso y sus valores, reflejados en la figura 5 verifican una vez más que el foco de contaminación cruzada está representado por la rebanadora.

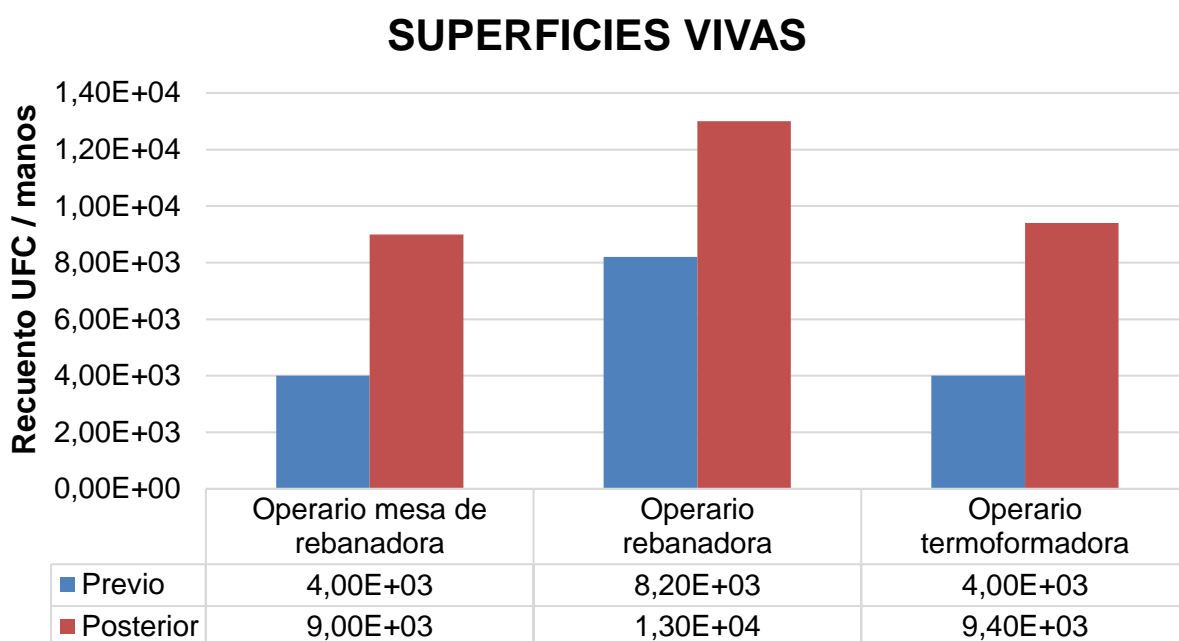


Figura 5. Variación de actividad ácido láctico previo y posterior al receso en los operarios del área de empaques

Los resultados guardan estrecha relación con la dinámica de la carga de BAL en el área de empaques con sus superficies inertes correspondientes (mesa, rebanadora y termoformadora) e indican que efectivamente existe una mayor carga de BAL en los guantes después del periodo de descanso para los tres operarios, esto se debe a la proliferación de BAL en los guantes que contienen sustrato de los productos cárnicos manipulados hasta el momento; esta carga con la que el personal regresa a laborar, pasa directamente a los productos cocidos en su proceso de empaclado, influyendo también negativamente en su estabilidad. Además, si los operarios cumplieran con un lavado de manos posterior a su receso, con los guantes puestos y dentro del área de empaque, esta carga disminuiría

UCUENCA

considerablemente y no representaría otro foco de contaminación cruzada para los productos. En la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 3039:2015 se menciona que en el caso de que los operarios hagan uso de guantes, el reemplazo de estos y el lavado de manos frecuente es de carácter obligatorio.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se identificó la fuente de contaminación cruzada equivalente al área de empaques, específicamente el equipo para rebanar. Los resultados reflejan proliferación del grupo bacteriano en varias áreas de la cadena de producción, que comprometen tanto al producto en proceso como a producto terminado. Sin embargo, presenta mayor relevancia el área de empaques, debido a que no existe otro punto de control que pueda asegurar una nueva disminución de carga bacteriana para el posterior despacho del producto.
- Los cambios organolépticos que acompañaron a la pérdida de estabilidad de los jamones fueron el abombamiento del empaque y la sinéresis, evidenciados a partir del día 15, mismos que incrementaron hasta el último día de análisis correspondiente al día 21.
- Finalmente, para evitar el deterioro del producto antes de su fecha de vencimiento se estimó un límite óptimo de $4,05 \text{ E}+04 \text{ UFC/g}$ para mantener la seguridad de que los jamones no pierdan su estabilidad, que sirve como punto de partida para la prevención y control temprano de los jamones por parte de la empresa.

4.2. Recomendaciones

- Establecer nuevos protocolos de limpieza mediante la rotación de desinfectantes e implementación de tratamientos enzimáticos dirigidos a la detección y eliminación de biopelículas ocasionantes de la contaminación cruzada.
- Validar concentraciones y efectividad del proceso de lavado y desinfección para mejorar los planes de limpieza de las superficies en contacto del área de empaque.
- Capacitar a los operarios acerca de qué son las biopelículas, el manejo y empleo correcto de nuevos productos de sanitización y operaciones de lavado y desinfección mucho más rigurosas, verificando su cumplimiento diario. Asimismo, exigir el cambio de guantes previo a la manipulación de productos más sensibles y controlar su lavado de manos durante la jornada laboral.
- Tanto para la gestión y aprovisionamiento, así como para la vigilancia del cumplimiento de estos nuevos protocolos y recomendaciones es indispensable contar con el apoyo de las autoridades pertinentes.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abee, T., Fernández, M., Nierop, M., & Smid, E. (2015). Characterisation of biofilms formed by *Lactobacillus plantarum* WCFS1 and food spoilage isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 23-29.

Acevedo, C. (2011). *DESARROLLO DEL MANUAL DE DESPOSTE DE CERDO PARA LA EMPRESA CARNE VALLY S.A.* Obtenido de http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/387/1/Manual_desposte_carne_vally_SA.pdf

Araújo, C. (2019). *Formación de biofilms por bacterias.* Obtenido de https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/88065/TFG%20CRISTINA%20ANDREA%20ARA_UJO%20CUEVAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Arévalo, E. (2018). Scribd. Recuperado 15 de mayo de 2022, de <https://es.scribd.com/document/443122382/EMPACADOS-AL-VACIO-pdf>

Arshad, M. S. (2018). *Meat Science and Nutrition.* BoD – Books on Demand.

Ashurst, P. (2016). 12 - The Stability and Shelf Life of Fruit Juices and Soft Drinks. Woodhead Publishing, 347-374.

Barboza, Y., Castro, G., Flores, C., Leal, M., Ruiz, J., Sánchez, E., & Moreno, M. (2011). TIEMPO DE ALMACENAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN CARNES DE RES PICADA EMPACADAS AL VACÍO. *Revista Científica*, XXI(5), 425-433.

Bohrer, B. M. (2019). An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Science and Human Wellness*, 8(4), 320-329. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.11.006>

Buelvas, G., Patiño, J., & Restrepo, C. (2012). 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. *Rev. Lasallista Investig.*, 9(2), 55-64.

Cabeza-Herrera, E. A., Laguado-Corredor, G. E., Suarez-Quintana, W. H. (2018). Modelamiento del Crecimiento de Bacterias Ácido Lácticas en Chorizo Cocido Empacado al Vacío bajo condiciones isotérmicas de refrigeración. *BISTUA REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS*, 17(1), 124. <https://doi.org/10.24054/01204211.v1.n1.2019.3154>

Contreras, E. (s. f.). *Química y bioquímica de la carne*. Recuperado 14 de junio de 2022, de https://www.academia.edu/28854423/Qu%C3%ADmica_y_bioqu%C3%ADmica_de_la_carne

Chaillou, S., Champomier-Vergès, M.-C., Cornet, M., Crutz-Le Coq, A.-M., Dudez, A.-M., Martin, V., Beaufile, S., Darbon-Rongère, E., Bossy, R., Loux, V., & Zagorec, M. (2005). The complete genome sequence of the meat-borne lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* 23K. *Nature Biotechnology*, 23(12), 1527-1533. <https://doi.org/10.1038/nbt1160>

Chia-Min, L., Takeuchi, K., Zhang, L., Dohm, C., Meyer, J., Salón, P., & Doyle, M. (01 de enero de 2006). *Contaminación cruzada entre equipos de procesamiento y carnes frías*. Obtenido de https://watermark.silverchair.com/0362-028x-69_1_71.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAtwwggLYBgkqhkiG9w0BBwagggLJMIICxQIBADCCAr4GCSqGSIlb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMbSIIAIRplgpb-qvAgEQgIICj1uqlw8r33J1m34ymYSC_uzLciaIWM8Ly6ie

Chenoll, E., Macián, M. c., Elizaquível, P., & Aznar, R. (2007). Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: Population analysis by rDNA-based methods. *Journal of Applied Microbiology*, 102(2), 498-508. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03081.x>

Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., de las Rivas, B., & Muñoz, R. (2015). Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 246-252. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.063>

Freire, T. T., Silva, A. L. T. e, Ferreira, B. K. O., & Santos, T. M. dos. (2021). Bactérias ácido lácticas suas características e importância: Revisão. *Research, Society and Development*, 10(11), e513101119964-e513101119964. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19964>

Gaspar, T. V. (s. f.). *GUIA NUTRICIONAL DE LA CARNE*. Obtenido de <https://www.fen.org.es/aplicaciones/fedecarne-fen/pdf/guiaNutricion.pdf>

Gorbeña, J. C. R., & Sáenz, T. A. (2017). Bacterias ácido lácticas. *Biotempo*, 8, 54.

Guerrero, I., Ramírez, E., & Reséndiz, V. (2013). Empaque para la conservación de carne y productos cárnicos. *Agro Productividad*, 10-16. Obtenido de <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/449/329>

Hernández-Macedo, M. L., Barancelli, G. V., & Contreras-Castillo, C. J. (2011). Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1-11. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000100001>

Herrera, E. A. C. (s. f.). Bacterias ácido-lácticas (BAL): Aplicaciones como cultivos estarter para la industria láctea y cárnica. *Sites.Google.Com*. Recuperado 23 de mayo de 2022, de https://www.academia.edu/992789/Bacterias_%C3%A1cido_l%C3%A1cticas_BAL_aplicaciones_como_cultivos_est%C3%A1rter_para_la_industria_l%C3%A1ctea_y_c%C3%A1rnica

Huertas, R. A. P. (s. f.). *Bacterias ácido-lácticas*. 6.

Ingraham, J. L., & Ingraham, C. A. (1998). *Introducción a la microbiología*. II. Reverte.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (1999). *Guía para la Aplicación del Sistema de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (ARPC)*. Obtenido de <http://repiica.iica.int/docs/BV/AGRIN/B/E21/XL2000600197.pdf#page=99&zoom=auto,-99,792>

ISO 22000:2005(es), Sistemas de gestión de la inocuidad de los alimentos—Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria. (s. f.). Recuperado 13 de septiembre de 2022, de <https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:22000:ed-1:v1:es>

Kim, Y. H. B., Stuart, A., Rosenvold, K., & Maclennan, G. (2013). Effect of forage and retail packaging types on meat quality of long-term chilled lamb loins. *Journal of Animal Science*, 91(12), 5998-6007. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6780>

Khan, A. W., & van den BERG, L. (1964). Some Protein Changes During Post-Mortem Tenderization in Poultry Meat. *Journal of Food Science*, 29(5), 597-601. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1964.tb00416.x>

Liu, J.-M., Lu, F., Fehér, C., Cao, M., & Jensen, P. R. (2022). *Lactic Acid Bacteria: Microbial Metabolism and Expanding Applications*. Frontiers Media SA.

López, C. (2020). Salmuera en alimentos. doi:10.13140/RG.2.2.12158.00324

Londoño Parra, J. S., Cabrera Torres, K. R., Centro de Investigación y Desarrollo Cárnico, González Hurtado, M. I., & Centro de Investigación y Desarrollo Cárnico. (2018). Modelo de

predicción probabilística de deterioro en jamón de cerdo cocido. *Revista Vitae*, 64-74.
<https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v25n2a02>

3M Petrifilm. (11 de Abril de 2017). *3M Petrifilm Lactic Acid Bacteria Count Plate Becomes First-Ever Lactic Acid Bacteria Test to Gain Independent Validation*. Obtenido de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1385416O/3m-petrefilm-lactic-acid-bacteria-count-plate-ptm-approval-press-release.pdf>

3M Petrifilm. (2022). *3M™ Petrifilm™ Placas Bacterias Ácido Lácticas 6461*. Obtenido de https://www.3m.com.mx/3M/es_MX/p/d/v000253965/

Martínez, S. (2014). *Capacidad deterioradora y de formación de biopelículas de bacterias ácido lácticas aisladas de una planta procesadora de jamón cocido rebanado y su interacción con *Listeria monocytogenes**. Obtenido de <http://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/602/1/RI001539.pdf>

Matute, L. (2014). *EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE COCCIÓN (TIEMPO Y TEMPERATURA), EN LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS, MICROBIOLÓGICAS Y NUTRICIONALES DEL JAMÓN A BASE DE CARNE DE CUY*". Obtenido de http://192.188.51.77/bitstream/123456789/19137/1/7220_1.pdf

Mirás, I. (2019). *Estudio de la población de bacterias ácido lácticas de un embutido cárnico mediante MALDI TOF*. Obtenido de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/37043/TFG-M-N1662.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Nazar, J. (2007). Biofilms bacterianos. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, 61-72.

Núñez, M. (2013). *Métodos de estimación de la vida útil de los alimentos*. doi:10.13140/RG.2.1.1159.9840

NTE_INEN_1217-2. (2013). *CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DEFINICIONES*. Recuperado 15 de mayo de 2022, de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1217-2.pdf

NTE_INEN_1338-3. (2013). *CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y*

PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS. REQUISITOS. Recuperado 15 de mayo de 2022, de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf

NTE_INEN_3039. (2015). *SERVICIOS DE RESTAURACIÓN. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA.* Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_3039.pdf

Ossa, J., Coral, A., & Vanegas, M. (2010). Microbiota de jamones de cerdo cocidos asociada al deterioro por abombamiento del empaque. *Revista MVZ Córdoba*, 15(2), 2078-2086.

Padilla, J., Cepeda, L., Salgado, L., Iturriaga, M., & Arvizu, S. (01 de diciembre de 2015). Detección y genotipado de *Leuconostoc* spp. en una planta procesadora de embutidos. *J Food Prot.* doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-192>

Parra Huertas, R. A. (2010). REVIEW. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS: PAPEL FUNCIONAL EN LOS ALIMENTOS. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.

Pereira, P. M. de C. C., & Vicente, A. F. dos R. B. (2013). Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93(3), 586-592. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018>

Procedimientos generales . (2020). Procedimientos generales para verificación de temperaturas de termómetros de las cámaras de refrigeración, congelación y áreas refrigeradas. Cuenca .

Procedimientos Operativos Estandarizados. (2019). Diagrama de flujo de jamón especial de pierna tipo I. Cuenca.

Quesada, D., & Gómez, G. (2019). ¿Proteínas de origen vegetal o de origen animal?: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*, 2(1), 79-86. <https://doi.org/10.35454/rncm.v2n1.063>

Ripollés, C., & Rodríguez, J. (2018). *Supervivencia de listeria monocytogenes sobre superficies de contacto con alimentos : un abordaje multidisciplinar de un problema complejo.* Obtenido de ISBN: 9788449080661

Riquelme, M. (2017). Bacterias ácido lácticas: Bacterias que enferman a los alimentos . *Safe Food*, 1-12.

Rodríguez Agudelo, N. (2013). Efecto de la bacteria ácido láctica b2® como biopreservante, sobre los patógenos de interés, la microbiota natural y las propiedades fisicoquímicas en un producto cárnico terminado. *Universidad de La Sabana*. <https://intellectum.unisabana.edu.co/handle/10818/10327>

Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). *Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico*. 36(2), 6.

Sams, A. (1999). Meat quality during processing. *Poultry Science*, 78(5), 798-803. <https://doi.org/10.1093/ps/78.5.798>

Sarabia, L. (2012). "Efecto del Uso de Bactoferm™ LHP (*Pediococcus acidilactici* & *Pediococcus pentosaceus*), Bactoferm™ F-RM-52 (*Lactobacillus curvatus* & *Staphylococcus carnosus*), Bactoferm™ F-LC (*Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus curvatus* and *Staphylococcus xylosus*). Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3076/1/AL464.pdf>

Seideman, S. C., & Durland, P. R. (1983). 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>

Sidhu, M. S., Langsrud, S., & Holck, A. (2004, julio 7). *Disinfectant and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Food Industry* (world) [Research-article]. <https://Home.Liebertpub.Com/Mdr; Mary Ann Liebert, Inc.> <https://doi.org/10.1089/107662901750152846>

Suquinaula, V. (2012). *Desarrollo de una mezcla antimicrobiana para la desinfección de canales de res y cerdo en la empresa ITALIMENTOS*. Obtenido de <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/1379/1/09576.pdf>

Sheen, S., & Cheng-An, H. (30 de agosto de 2011). Modelado de la contaminación cruzada superficial en carne lista para comer a través de la operación de corte*. *Food and Nutrition Sciences*. doi:10.4236/fns.2011.29125

Teusink, B., & Molenaar, D. (2017). Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought. *Current Opinion in Systems Biology*, 6, 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.07.005>

Valencia, V. (2020). *Determinación de la capacidad conservante de bacterias ácido lácticas (Lactobacillus plantarum, Pediococcus acidilactici) y mesófilas (Streptococcus lactis, Streptococcus diacetylactis) aplicada en salami para evitar el uso de conservantes artificiales.* Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18681/1/UPS-CT008737.pdf>

Vásquez M, S. M., Suárez M, H., & Zapata B, S. (2009). UTILIZACIÓN DE SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE. *Revista chilena de nutrición*, 36(1), 64-71. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182009000100007>

Velebit, B., Lakicevic, B., Semenova, A., Revutskaya, M., Yushina, Y., & Nasonova, V. (10 de 06 de 2021). FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TRANSMISIÓN MICROBIANA EN UNA PLANTA DE PROCESAMIENTO DE CARNE. *Instituto de Higiene y Tecnología de la Carne, Belgrado.* doi:<https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-2-183-190>

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2021.612285>

Williams, P. (2007). Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics*, 64(s4), S113-S119. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x>

Zurbriggen, C. (2009). *COMPARACIÓN DE LOS DIVERSOS FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL DESARROLLO DEL COLOR EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE ELABORACIÓN DE ASTAS DE PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDO- CURADOS.* Obtenido de <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/265/tesis.pdf?sequence=1>

Zhang, Y., Zhu, L., Dong, P., Liang, R., Mao, Y., Qiu, S., & Luo, X. (2018). Bio-protective potential of lactic acid bacteria: Effect of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* on changes of the microbial community in vacuum-packaged chilled beef. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(4), 585-594. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0540>