



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

**“Determinación de *Lactobacillus spp.* en productos cárnicos terminados empacados al vacío e identificación de la fuente de contaminación en la cadena de producción”**

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

**Autores:**

**Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco**

**CI: 0705638930**

**María Belén Quizhpe Mogrovejo**

**CI: 1104808355**

**Directora:**

**Dra. Silvia Johana Ortiz Ulloa, PhD**

**CI: 0301082897**

**Asesor:**

**Dra. Silvana Patricia Donoso Moscoso, MSc**

**CI: 0102590569**

**Cuenca - Ecuador**

**Julio 2018**



## RESUMEN

Este trabajo tuvo como finalidad determinar la presencia de *Lactobacillus spp.* en productos cárnicos terminados empacados al vacío e identificar la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción en una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca.

Los productos cárnicos que se analizaron fueron jamón sandwichero, salchicha vienesa, mortadela especial y carne fileteada de res, analizados en un periodo comprendido entre el 31 de enero y el 01 de marzo del 2018. Las muestras fueron sometidas a una prueba de estabilidad acelerada para determinar el inicio del deterioro de los mismos, y a un análisis microbiológico de las etapas consideradas puntos de control en la cadena de producción y producto terminado empacado al vacío. Por otro lado, se analizaron 21 superficies de los equipos en contacto con los productos cárnicos durante tres días consecutivos, usando para las determinaciones microbiológicas tanto de productos y superficies placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup>.

La prueba de estabilidad acelerada evidenció que la salchicha vienesa y la carne fileteada de res fueron los productos que presentaron deterioro mostrando recuentos de  $3,2 \times 10^7$  UFC/g y muy numeroso para contar (MNPC) respectivamente. Los resultados obtenidos de los cuatro productos cárnicos terminados reflejan que en general la carne fileteada de res es la que presenta la mayor carga bacteriana ( $8,2 \times 10^2$  UFC/g). Sin embargo, en relación a los resultados de los productos cárnicos cocidos, la salchicha vienesa fue el producto que presentó la mayor carga bacteriana ( $5,3 \times 10^2$  UFC/g). En cuanto a las superficies los resultados demostraron que existe una mayor contaminación en el área de producción.

**PALABRAS CLAVES:** *LACTOBACILLUS SPP.*, PRODUCTOS CÁRNICOS, BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS, EMPAQUE AL VACÍO.



## ABSTRACT

The purpose of this work was to determine the presence of *Lactobacillus* spp. in finished meat products vacuum packed and identify the source of contamination within the production chain in a sausage factory in the city of Cuenca.

The meat products analyzed were, ham sandwiches, Viennese sausage, special mortadella and filleted beef, analyzed in a period between January 31 and March 1, 2018. The samples were subjected to an accelerated stability test to determine the beginning of the deterioration of the same, and a microbiological analysis of the stages considered control points in the production chain and finished product vacuum packed. On the other hand, 21 surfaces of the equipment in contact with the meat products were analyzed during three consecutive days, using for the microbiological determinations of both products and surfaces plates for counting of Lactic Acid Bacteria 3M® Petrifilm®.

The accelerated stability test showed that the Viennese sausage and filleted beef were the products that showed deterioration showing counts of  $3.2 \times 10^7$  CFU/g and very numerous to count (MNPC) respectively. The results obtained from the four finished meat products reflect that, in general, filleted beef is the one with the highest bacterial load ( $8.2 \times 10^2$  CFU/g). However, in relation to the results of cooked meat products, the Viennese sausage was the product that presented the highest bacterial load ( $5.3 \times 10^2$  UFC/g). As for the surfaces, the results showed that there is greater contamination in the area of raw meat management.

**KEYWORDS:** LACTOBACILLUS SPP., BACTERIA LACTIC ACID, VACUUM PACKING, MEAT PRODUCT



## ÍNDICE

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	3
AGRADECIMIENTOS .....	13
DEDICATORIA .....	14
INTRODUCCIÓN .....	15
1. MARCO TEÓRICO .....	17
1.1. Proceso de elaboración de embutidos .....	17
1.2. Alimentos cárnicos empacados en atmósferas protectoras o modificadas	19
1.2.1 Empacado en atmósfera controlada .....	20
1.2.2 Empacado en atmósfera modificada (EAM) .....	20
1.2.3 Empacado al vacío .....	21
1.3 Deterioro de productos cárnicos empacados al vacío .....	22
1.4 Bacterias ácido lácticas .....	22
1.4.1 Género <i>Lactobacillus</i> .....	23
1.4.1.1. Generalidades bioecológicas de los <i>Lactobacillus</i> .....	24
1.4.1.2. Papel de los <i>Lactobacillus spp.</i> en el deterioro de productos cárnicos.	24
2. METODOLOGÍA .....	28
2.1. Tipo de investigación .....	28
2.2. Área de estudio .....	28
2.3. Muestreo y tamaño de la muestra .....	28
2.3.1. Muestreo de productos cárnicos .....	28
2.3.2. Muestreo de superficies en contacto con los productos cárnicos .....	29
2.4. Toma de muestra .....	30
2.4.1. Toma de muestras para la prueba de estabilidad .....	30
2.4.2. Toma de muestra de productos cárnicos .....	31
2.5. Materiales, equipos y reactivos .....	31
2.6. Métodos y técnicas de análisis .....	32
2.6.1. Recuento de bacterias ácido lácticas en placas petrifilm. ....	32
2.6.2. Obtención de la dilución ideal para la siembra de los productos cárnicos	33
.....	33



2.6.4. Procedimiento para la siembra microbiológica de las muestras.....	34
2.6.5. Procedimiento para la siembra y análisis microbiológicos de superficies .....	34
2.7. Manejo estadístico de los datos.....	34
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>36</b>
3.1. Variación general de la carga bacteriana en los productos cárnicos .....	36
3.2 Resultados de las pruebas de estabilidad acelerada .....	38
3.2.1 Estabilidad acelerada en la carne de res fileteada.....	38
3.2.2 Estabilidad acelerada en el jamón sandwichero .....	39
3.2.3 Estabilidad acelerada en mortadela especial .. ¡Error! Marcador no definido.	
3.2.4 Estabilidad acelerada en salchicha vienesa.... ¡Error! Marcador no definido.	
3.5. Concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las superficies de contacto dentro las tres áreas de producción de la fábrica.....	48
3.5.1 Área de carnes.....	48
3.5.2 Área de producción.....	49
3.5.3 Área de empaques .....	50
<b>4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>53</b>
4.1 CONCLUSIONES.....	53
4.2 RECOMENDACIONES.....	54
<b>5. REFERENCIAS.....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>64</b>
Anexo 1. Certificado otorgado por la empresa, asegurando el cumplimiento total del trabajo de investigación presente por parte.....	66
Anexo 2. Relación de cada superficie con el producto cárnico en proceso. .. ¡Error! Marcador no definido.	
Anexo 3. Procedimiento para obtener la dilución ideal .....	67
Anexo 4. Guía de interpretación Petrifilm para bacterias ácido lácticas.....	68



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA N° 1.</b> Cronograma y puntos de muestreo de los productos carnicos.....	28
<b>TABLA N° 2.</b> Plan de muestreo de las superficies en contacto.....	29
<b>TABLA N° 3.</b> Valores promedios $\pm$ desviación estándar de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> , en los cuatro productos cárnicos evaluados en las diferentes etapas de la cadena de producción.. ..	36
<b>TABLA N° 4.</b> Valores maximos de concentracion de BAL en su respectiva dilución en cada etapa de producción .. ..	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Logaritmo de los valores de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> inicial y final de la prueba de estabilidad acelerada. ....	40
<b>FIGURA 2.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las etapas de la cadena de producción de la carne de res empacada al vacío.....	42
<b>FIGURA 3.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las etapas de la cadena de producción del jamón sandwichero empacado al vacío.. ....	43
<b>FIGURA 4.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las etapas de la cadena de producción de la mortadela especial empacada al vacío.....	45
<b>FIGURA 5.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las etapas de la cadena de producción de la salchicha vienesa empacada al vacío.. ....	46
<b>FIGURA 6.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en las materias primas cárnicas crudas.....	47
<b>FIGURA 7.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en los cuatro productos cárnicos terminados.....	48
<b>FIGURA 8.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en seis superficies de contacto en el área de carnes.....	49
<b>FIGURA 9.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en siete superficies de contacto en el área de producción.....	50
<b>FIGURA 10.</b> Valores promedios de la concentración de <i>Lactobacillus spp.</i> en ocho superficies de contacto en el área de empaques.....	51
<b>FIGURA 11.</b> Valores de la carga bacteriana en las superficies de contacto evaluadas dentro de tres áreas de la cadena de producción: Carnes, Producción y Empaques.....	52

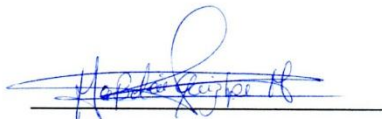
Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio  
Institucional

---

Yo, **María Belén Quizhpe Mogrovejo** en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “**DETERMINACIÓN DE *Lactobacillus spp.* EN PRODUCTOS CÁRNICOS TERMINADOS EMPACADOS AL VACÍO E IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE CONTAMINACIÓN EN 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, Octubre de 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "María Belén Quizhpe Mogrovejo", written over a horizontal line.

**María Belén Quizhpe Mogrovejo**

**C.I.: 1104808355**



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio  
Institucional

---

Yo, **Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco** en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "**DETERMINACIÓN DE *Lactobacillus spp.* EN PRODUCTOS CÁRNICOS TERMINADOS EMPACADOS AL VACÍO E IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE CONTAMINACIÓN EN 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, Octubre de 2018

A handwritten signature in blue ink, reading "Magaly Matamoros", written over a horizontal line.

**Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco**

C.I: 0705638930

Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, **María Belén Quizhpe Mogrovejo** autora del trabajo de titulación “**DETERMINACIÓN DE *Lactobacillus spp.* EN PRODUCTOS CÁRNICOS TERMINADOS EMPACADOS AL VACÍO E IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE CONTAMINACIÓN EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, Octubre de 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "María Belén Quizhpe Mogrovejo", written over a horizontal line.

**María Belén Quizhpe Mogrovejo**

**C.I: 1104808355**

Cláusula de Propiedad Intelectual

Yo, **Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco**, autora del trabajo de titulación "**DETERMINACIÓN DE *Lactobacillus spp.* EN PRODUCTOS CÁRNICOS TERMINADOS EMPACADOS AL VACÍO E IDENTIFICACIÓN DE LA FUENTE DE CONTAMINACIÓN EN 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, Octubre de 2018

A handwritten signature in blue ink, reading "Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco", written over a horizontal line.

**Magaly Elizabeth Matamoros Tinoco**

**C.I.: 0705638930**



## GLOSARIO

**Carne 60/40:** es una mezcla de 60% de carne y 40% de grasa.

**CDM:** se refiere al contenido de músculo de difícil acceso extraído de los huesos.

**Emulsificado:** es el proceso mediante el cual la mezcla de las materias primas y el agua forman una masa homogénea y resistente a la separación de las fases.

**Emulsión de cuero:** es una dispersión de cuero de cerdo, finamente picado, en hielo.

**Estabilidad acelerada:** Prueba que permite evaluar la carga inicial de bacterias ácido lácticas como indicador mínimo de deterioro del producto antes de cumplirse el tiempo de vida útil del mismo.

**Nitrificación:** es la adición de sales nitradas, al 10% de nitrito de sodio, a la mezcla, dejándola durante varias horas para la formación del color rosado característico de cada producto.



## AGRADECIMIENTOS

Es importante para nosotras agradecer a todas las personas que fueron parte de nuestras vidas durante el tiempo que nos llevó cumplir esta gran meta, que nos brindaron apoyo incondicional y con las que también contamos en algún momento para formar un verdadero equipo de trabajo.

A nuestra familia, que ha sido nuestro principal pilar fundamental de apoyo y sustento para poder estar el día de hoy en este momento de nuestras vidas, gracias por los consejos impartidos, por ser nuestros guías y por creer en nosotras.

A todas las personas que colaboraron para la realización del presente trabajo, al Sr. Lautaro Jetón, Presidente Ejecutivo de Italimentos Cía. Ltda., por abrirnos sus puertas para el desarrollo de nuestro trabajo de titulación, a los Ingenieros Javier Moscoso y José Becerra, por el apoyo y guía durante los periodos de estudio, así como por las enseñanzas y conocimientos que compartieron con nosotras.

A todo, el personal que labora en la empresa, quienes colaboraron también para que este proyecto se haya realizado de la mejor manera.

Agradecemos especialmente a la Dra. Mariana Saá y a la Dra. Silvana Donoso, por brindarnos su apoyo y conocimientos en la realización de este trabajo.



## DEDICATORIA

*A Dios, por las veces en las que  
entendíamos su presencia en  
cada uno de nuestros pasos y  
decisiones.*

*A nuestra familia, por ser el  
apoyo para dar este gran paso  
en nuestras vidas.*



## INTRODUCCIÓN

En Ecuador la industria de los productos cárnicos se desarrolla bajo las más estrictas normas sanitarias de manejo y conservación, como lo indica la RTE INEN 056, que tiene como objeto “establecer los requisitos que debe cumplir la carne y los productos cárnicos con la finalidad de prevenir los riesgos para la salud y la vida de las personas y evitar prácticas que pueden inducir a error a los usuarios” (p.9). (INEN, 2013)

Aunque los productos cárnicos se desarrollen bajo estas estrictas normas, se debe tener en cuenta que estos alimentos son fácilmente perecederos debido a que la carne fresca, usada como materia prima base de estos productos, por sus propiedades químicas (alto contenido de agua, elevada cantidad de nutrientes y niveles bajos de pH) es muy vulnerable a la proliferación microbiana. Además, los factores extrínsecos implicados en la elaboración de los productos cárnicos como la temperatura, humedad relativa y gases atmosféricos, en niveles inadecuados pueden favorecer la contaminación y desarrollo de microorganismos en el producto. (Ray 2004; Schmidt, 1984; Bulla 2010; Kamenik, 2013)

Las alteraciones de los productos cárnicos producidas por microorganismos, se centran principalmente en la descomposición y la producción de gases como dióxido de carbono que alteran el empaque y el producto final. Con el objetivo de prolongar la vida útil de estos productos, en los últimos años se ha popularizado el uso de métodos de empaques al vacío y atmósferas modificadas, debido a que estos limitan el crecimiento de especies microbianas relacionadas con la descomposición. Es así que bajo estas condiciones de empaque y de refrigeración, la microflora que predomina en la carne es usualmente dominada por las bacterias ácido lácticas (BAL) representadas principalmente por microorganismos del género *Lactobacillus*, que pueden llegar a producir el abombamiento del empaque por la producción de gas y consecuentemente la presencia de olores (como amoníaco), sabores desagradables y cambios de color en las carnes empacadas al vacío. Muchas de estas bacterias contaminan los productos cárnicos luego del tratamiento térmico y antes del empacado al vacío mediante el contacto con los equipos usados, superficies y/o con el personal que los manipula, multiplicándose durante el almacenamiento como producto terminado. (Ray, 2004; Flores, 2008; Ossa et al., 2010)



El deterioro por abombamiento se presenta frecuentemente en la industria cárnica, debido a varios factores tales como la dificultad de mantener las condiciones adecuadas de cadena de frío. Este problema se ve reflejado en las pérdidas económicas significativas que llegan a presentarse en la industria, por lo cual es de gran importancia determinar el microorganismo asociado frecuentemente con el deterioro de los productos cárnicos. En particular, se considera importante evaluar la incidencia de *Lactobacillus spp.* como microorganismo asociado al deterioro de productos cárnicos en una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca.

## **HIPÓTESIS**

Los embutidos y la carne de res fileteada empacados al vacío como producto terminado presentan altos recuentos de *Lactobacillus spp.*, lo que genera un proceso de deterioro en los productos finales.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia de *Lactobacillus spp.* en productos cárnicos terminados empacados al vacío e identificar la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción en una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la presencia de *Lactobacillus spp.* en diferentes puntos de muestreo dentro de la cadena de producción de cada uno los productos empacados al vacío.
- Determinar, mediante análisis microbiológicos, la presencia de bacterias del género *Lactobacillus* en cuatro productos cárnicos elaborados dentro de la fábrica.
- Identificar las posibles superficies involucradas con la contaminación de cada producto cárnico, tomando en cuenta los puntos de muestreo en la cadena de producción.



## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Proceso de elaboración de embutidos

En la elaboración de embutidos generalmente se emplean tres tipos de materia prima cárnica: carne de res, carne de pollo y carne de cerdo en estado fresco o congelado, que varían según el producto a desarrollar. (Benalcázar y Wilches, 2010).

El proceso al que se someten estas materias primas cárnica para su conversión en producto terminado y empacado al vacío es muy variado dependiendo del tipo de embutido que se va a desarrollar. A continuación, se describe de manera general este proceso siguiendo principalmente la descripción dada por Jiménez y Carballo (1989), Zurbruggen (2009) y Benalcázar y Wilches (2010).

#### 1.1.1. Elección y preparación de la materia prima

Una vez que la carne llega al área de recepción de la fábrica, ésta es sometida a un examen organoléptico riguroso a fin de verificar su calidad sensorial como materia prima (color, forma, tamaño, apariencia, textura, consistencia, olor), y también que la misma haya sido transportada cumpliendo con la cadena de frío (la temperatura de la carne debe estar entre 5-7°C) (Benalcázar y Wilches, 2010; Pastor, Afonso y Sastre, 2017). Cumplidos estos requerimientos, se procede a la descarga y pesado de la carne, para posteriormente transportarla a la cámara de frío, en la que se almacena a una temperatura menor a 10°C. En el caso de las carnes congeladas, estas son transportadas en piezas de 40 kg aproximadamente en un contenedor que mantiene la temperatura entre -15°C y -20°C para evitar el descongelamiento. Una vez que llega a la fábrica, y luego de una revisión estricta, es almacenada en las cámaras de frío hasta el momento de elaboración del embutido (Benalcázar y Wilches, 2010).

En el área de recepción también se realiza el desarme o despote de las piezas de carne, en el cual la carne es deshuesada y clasificada según su contenido de grasa y carne (Benalcázar y Wilches, 2010).

### 1.1.2. Picado y mezclado

La etapa de producción del embutido se inicia con el picado de la carne, que provoca la fragmentación de la misma a diferentes grados según el tipo de producto a elaborar. El picado es una actividad que debe realizarse en condiciones estrictas de higiene y refrigeración, ya que constituye una verdadera desorganización estructural en la que se destruyen las últimas barreras de defensa naturales que posee la carne, liberándose los nutrientes y líquidos celulares que a la vez favorecen un mejor desarrollo de los microorganismos presentes. (Zurbriggen, 2009).

La carne una vez picada se mezcla y se amasa con el resto de los ingredientes (condimentos y especias) y los aditivos para obtener una pasta uniforme, lo cual se logra en máquinas mezcladoras-amasadoras (Jiménez y Carballo, 1989). Esta actividad se realiza en condiciones de vacío para evitar la oxidación de los lípidos presentes (Zurbriggen, 2009), y alteraciones posteriores en el producto (decoloraciones, desarrollo microbiano, etc.) (Jiménez y Carballo, 1989).

### 1.1.3. Embutido, cocción y empackado

La fase de embutido, para lo cual, la masa cárnica se puede dejar en un periodo de reposo, bajo refrigeración (1-5°C), para favorecer la acción de aditivos y especias sobre los componentes cárnica y la grasa (Zurbriggen, 2009); o se procede inmediatamente a embutir las tripas (naturales o artificiales) con la masa, lo cual se hace empleando maquinas embutidoras especiales. En esta etapa, la manipulación higiénica de las tripas es fundamental para evitar la contaminación microbiana, ya que la pasta cárnica recién embutida presenta condiciones idóneas de pH (alrededor de 6) y actividad de agua (mayor a 0,96) para el desarrollo de los microorganismos. (Zurbriggen, 2009)

Una vez llenadas las tripas, algunos embutidos son sometidos a procesos de cocción (morcillas), ahumado (chorizos) o ambos (salchichas y mortadelas), con el fin de darle al embutido una consistencia firme (coagulación de las proteínas y deshidratación parcial del producto), fijar su color y prolongar su vida útil. El proceso de cocción se realiza a temperaturas de 75-80°C, durante tiempos de 10-120 minutos (dependiendo del tipo de

embutido) y con humedades relativas altas (98-100%). El ahumado, se hace en frío o en caliente (20-80°C), con periodos de tiempo también variables (30 minutos a 48 horas) y con humedades relativas de 60-70%; este proceso confiere al producto un aspecto y aroma característico, además de una desecación que contribuye a inhibir el crecimiento bacteriano (Jiménez y Carballo, 1989).

El último proceso antes del empaçado es el curado del embutido (salchichas), el cual consiste en la conservación de la carne mediante la adición de sal común, nitrato y/o nitrito sódico y otras sustancias como azúcares, fosfatos y ascorbatos, que en conjunto contribuyen a la inhibición del desarrollo bacteriano, al mejoramiento de su color, olor y sabor, y a la modificación de su estructura. Durante esta etapa los embutidos experimentan una serie de transformaciones físicas, químicas y microbiológicas, que resultan en una mayor estabilidad del producto y en el desarrollo de las propiedades organolépticas características (color, olor y sabor). Se realiza a temperaturas bajas (5-15°C), medias (15-22°C) o altas (22-27°C) dependiendo del producto. (Jiménez y Carballo, 1989) (Andujar et al., 2003).

Los embutidos adecuadamente curados (salchichas) se empaçan al vacío en sus diferentes presentaciones, para finalmente almacenarlos bajo tratamientos de refrigeración hasta su distribución comercial. El empaçado se realiza con máquinas empaçadoras al vacío, que retiran todo el oxígeno del interior del empaque (Benalcázar y Wilches, 2010).

## **1.2. Alimentos cárnicos empaçados en atmósferas protectoras o modificadas**

El papel del empaçado de la carne y los productos cárnicos no es solo proteger el producto y aumentar su vida útil, también ayuda a su venta. En el proceso de empaçado de la carne se han desarrollado varios métodos importantes, conocidos como sistemas de envasado de "atmósferas protectoras", o como sistemas de "atmósferas alteradas", los cuales cuentan con una larga historia de conservación en derivados cárnicos. Estos sistemas fueron originados fundamentalmente a comienzos del siglo XX, como consecuencia del deseo cada vez mayor en los consumidores por alimentos frescos, menos tratados y procesados con conservantes indeseables. Así, con la disponibilidad de la tecnología necesaria se logró la producción económica de muchos alimentos

convenientes y listos para el consumo, conservados en una atmósfera alterada (Ray, 2004) (Lagerstedt, 2011)

La finalidad de los sistemas de atmosfera modificada es mantener la calidad sensorial y prolongar su vida útil, la cual puede llegar a duplicarse con respecto al envasado tradicional en aire. (Gobantes, 2001) (Rodríguez, 1998)

Dentro de los sistemas de atmosferas protectoras o alteradas se conocen principalmente tres tipos de empacados: empacado en atmosfera controlada, empacado en atmosfera modificada y empacado al vacío. A continuación, se da una descripción general de cada método.

### **1.2.1 Empacado en atmósfera controlada**

Consiste en la inyección de un gas o mezcla de gases tras la eliminación del aire y se somete a un control constante durante el periodo de almacenamiento. Entre los gases más utilizados están el oxígeno, el dióxido de carbono y el nitrógeno, que ejercen su acción protectora, solos o combinados, en una proporción distinta a la que presentan en la atmosfera terrestre. (Gobantes, 2001).

En el empacado en atmósfera controlada, la atmosfera, dentro de una instalación de almacenamiento, se altera y los niveles de los gases se controlan continuamente y se ajustan según sea necesario, lo cual resulta una operación costosa; se utiliza principalmente para el almacenamiento a largo plazo de frutas y verduras para mantener su frescura (Ray, 2004).

### **1.2.2 Empacado en atmósfera modificada (EAM)**

Consiste en la extracción del aire del envase y la introducción de una atmósfera creada artificialmente, cuya composición no puede controlarse a lo largo del tiempo. El alimento queda encerrado en un material de envasado con alta barrera a los gases, en el cual el aire se elimina del paquete y luego se enjuaga con un gas particular o una combinación de gases, y el paquete queda herméticamente sellado. Dentro de este sistema, un método muy usado es el de una combinación de gases con alto contenido de oxígeno (80% de O<sub>2</sub> y 20% de CO<sub>2</sub>) (Lagerstedt, 2011) (Ray, 2004) (Colomé, 1999)

La acción antimicrobiana que ejerce el EAM puede ser producida por cambios en el potencial redox y en las concentraciones de  $\text{CO}_2$  según el método usado. El efecto inhibitor del  $\text{CO}_2$  sobre el crecimiento microbiano se produce a un nivel del 10% y este efecto aumenta con el aumento de la concentración del gas, pudiendo inhibir el crecimiento de bacterias deteriorantes facultativas a concentraciones muy altas. El  $\text{CO}_2$  inhibe el crecimiento bacteriano a través de varios mecanismos: una rápida penetración celular y la consecuente alteración en la permeabilidad celular; su solubilización a ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) en la célula con la reducción del pH dentro de las células; y la interferencia del mismo con varias rutas enzimáticas y bioquímicas, que a su vez ralentizan la tasa de crecimiento microbiano. (Ray, 2004)

### 1.2.3 Empacado al vacío

Este método es considerado en la actualidad uno de los más exitosos y populares para la conservación de los alimentos refrigerados implica la remoción del aire del paquete, el que luego se sella herméticamente. Así, en ausencia de atmósfera, se genera un vacío que elimina el oxígeno y a su vez causa que los microorganismos alterantes habituales, que son aerobios y por ende necesitan oxígeno, sean inhibidos en su crecimiento, aumentando de esta manera la seguridad y la vida útil de los alimentos siempre que se mantengan en refrigeración (Roncalés, 2010) (Ray, 2004).

En el empaçado al vacío, el aire extraído no es reemplazado con ningún gas, y el oxígeno residual dentro del empaque se consume rápidamente debido al crecimiento microbiano, alcanzándose en unos dos días niveles de  $\text{CO}_2$  de 20-30%. La extracción del aire se hace con equipos de alto vacío, y esta condición se mantiene con materiales de empaque especializados para cada tipo de producto, caracterizados por ser termoencogibles y con baja permeabilidad a los gases (Flores, 2008).

El envasado al vacío se utiliza predominantemente como empaques al por menor en muchos productos cárnicos frescos y listos para el consumo como carne de res, cerdo, cordero, pollo y pavo. Es un método que permite extender la vida útil de la carne, incluso más tiempo que el EAM con alto contenido de oxígeno. La vida útil de los alimentos cárnicos refrigerados puede variar desde 3-4 semanas en carnes frescas y hasta 8 semanas o más en carnes procesadas; aún puede ser más larga la duración de estos productos si los mismos tienen bajo nivel de actividad de agua ( $A_w$ ) o de pH, o ambos, y



además mantenidos en temperaturas de alrededor de 1-5°C y producidos bajo condiciones sanitarias. (Flores, 2008) (Ray, 2004) (Lagerstedt, 2011)

### 1.3 Deterioro de productos cárnicos empacados al vacío

Aunque el empacado al vacío supuso una revolución en la conservación de alimentos frescos no parece ser del todo la solución definitiva a los problemas de conservación de los mismos, ya que presenta ciertos inconvenientes, entre los cuales destaca el hecho de que muchos alimentos necesitan oxígeno para mantener el color, como ocurre con la carne fresca, por lo que en estos casos el vacío se usa sólo minoritariamente para la venta. El color de la carne cambia de un rojo oximioglobino a un color púrpura (mioglobina reducida), aspecto que no es atractivo para los consumidores. Otra desventaja importante es que, aunque el crecimiento de organismos aeróbicos (como los hongos y muchas especies de bacterias) es inhibido o prevenido en productos que son empacados al vacío, el método no evita el crecimiento de bacterias psicrótrofas anaeróbicas y anaeróbicas facultativas, que son los microorganismos predominantes en productos cárnicos empacados al vacío, especialmente en productos cárnicos de bajo pH. (Nápravnicová et al. 2002) (Ray, 2004) (Roncalés, 2010) (Lagerstedt, 2011) (Flores, 2008)

### 1.4 Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL), constituyen un grupo de bacterias con habilidad para metabolizar grandes cantidades de ácido láctico a partir de los carbohidratos (Ray, 2004; Parra, 2010), son un grupo natural de bacterias Gram positivas con propiedades anaeróbicas y aerotolerantes, normalmente no móviles, no formadoras de esporas, catalasa negativa (algunas cepas presentan una pseudocatalasa), con morfología de coco, coco-bacilo o bacilo, y pertenecen a la subdivisión *Clostridium* de las eubacterias Gram positivas (Vandamme et al., 1996, citado en Martin, 2005). El grupo está conformado por 12 géneros: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pedococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, y *Oenococcus* (Ray, 2004); entre los cuales, los más

frecuentemente encontrados en la carne y productos cárnicos son *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc* (Martin, 2005).

#### 1.4.1 Género *Lactobacillus*

Las bacterias del género *Lactobacillus* son consideradas entre las más importantes de las BAL por su dominancia y su gran aporte a la producción de ácido láctico durante la fermentación de los alimentos. Este género incluye un grupo heterogéneo de especies Gram positivas (con forma de barra tipo bacilos); de tamaño variado, desde muy cortas a muy largas. Pueden estar presentes como células individuales o en cadenas cortas a largas; la mayoría son inmóviles; pueden ser homofermentativas (producen solamente ácido láctico) o heterofermentativas (producen tanto ácido láctico como grandes cantidades de otros productos). Son catalasa negativos, pero algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno (Samaniego y Sosa del Castillo, 2000) (Martin, 2005) (Parra, 2010) (Ramírez, Rosas, Velázquez, Ulloa y Arce, 2011) (Mateauda, 2013) (Ray, 2004)

Los *Lactobacillus spp.* han sido clasificados en tres grupos sobre la base de sus patrones metabólicos de hexosas y ventosas, estos grupos son (Ray, 2004):

**Grupo I:** fermentan hexosas para producir principalmente ácido láctico y no fermentan pentosas; son homofermentativos obligados. Las especies representativas de este grupo son *Lab. delbrueckii*, *Lab. leichmanni*, *Lab. acidophilus* y *Lab. helveticus*.

**Grupo II:** este grupo de bacterias, dependiendo de los carbohidratos y las cantidades disponibles, pueden producir, o bien ácido láctico, o una mezcla de ácidos láctico, acético y fórmico, etanol y CO<sub>2</sub>. Son heterofermentativos facultativos, y entre las especies representativas de este grupo se encuentran *Lab. casei*, *Lab. plantarum*, *Lab. curvatus* y *Lab. sakei*.

**Grupo III:** fermentan carbohidratos para producir una mezcla de ácido láctico, acetato, etanol y CO<sub>2</sub>. Son heterofermentativos obligados, cuyas especies representativas son *Lab. fermentum*, *Lab. divergens*, *Lab. kefir*, *Lab. confuses*, *Lab. brevis*, y *Lab. reuteri*.

#### 1.4.1.1. Generalidades bioecológicas de los *Lactobacillus*

Las bacterias de *Lactobacillus spp.* están ampliamente distribuidas y pueden ser encontrados en una gran variedad de alimentos: vegetales; frutas, granos; semillas; productos lácteos; leche cruda y procesada; productos cárnicos crudos, procesados y fermentados, entre otros. Algunas especies habitan el tracto digestivo de animales, aves y humanos (Ray, 2004).

En cuanto a sus requerimientos ecológicos, se ha evidenciado que los *Lactobacillus spp.* pueden crecer dentro de un amplio rango de temperaturas, según lo cual se han diferenciado varios grupos como: (i) mesófilos, al que corresponden la mayoría las especies, las cuales sobreviven entre los 30-40°C, siendo su temperatura ideal de incubación de 20-25°C; (ii) termófilos, las que pueden crecer a temperaturas mayores o iguales a 50°C, siendo su temperatura de incubación de 40-45°C; psicrotófas, las que son capaces de crecer a temperaturas de refrigeración (menores a 5°C); y termodúricas, las que sobreviven a tratamientos térmicos de pasteurización. (Ray, 2004) (Samaniego y Sosa del Castillo, 2000) (Parra, 2010)

En relación al pH, algunas especies pueden crecer en valores bajos (pH < 4,0), denominadas como acidúricas; pero en general crecen en medios ligeramente ácidos (4,5-6,4), y su crecimiento disminuye notablemente en pH neutros a ligeramente alcalinos. Tienen la habilidad de disminuir el pH por debajo de 4,0 en los sustratos donde habitan a través de la formación de ácido láctico, lo cual les permite inhibir el crecimiento de otros microorganismos competidores. En sus necesidades de oxígeno, se ha determinado que los *Lactobacillus spp.* son anaeróbicos facultativos, es decir, con capacidad de crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Ray, 2004) (Samaniego y Sosa del Castillo, 2000)

#### 1.4.1.2. Papel de los *Lactobacillus spp.* en el deterioro de productos cárnicos

Entre las especies alterantes de la carne y sus derivados se han mencionado principalmente las siguientes: *Lactobacillus viridiscens*, principal agente causante de enverdecimiento en productos cárnicos; y en general, del deterioro de productos cárnicos terminados empacados al vacío. *Lab. sakei*, la principal bacteria alterante de carnes empacadas al vacío; en particular, se ha asociado con daños sensoriales como agriado,





producción de gas (CO<sub>2</sub>) y limo en carnes y productos cárnicos procesados (ejemplo, en lonchas de jamón de cerdo cocido); también con la producción de ácidos grasos volátiles (como ácidos isovalérico e isobutírico) que provocan un olor caseoso en la carne. *Lab. curvatus* y *Lab. xylosus*, principales causantes de la descomposición de carne de cerdo empacada al vacío. *Lab. curvatus*, al igual que *Lab. sakei*, se ha asociado con la producción de ácidos grasos volátiles en la carne, y en general con el deterioro de productos cárnicos terminados empacados al vacío. En cuanto al fenómeno de abombamiento de productos cárnicos empacados al vacío, la mayoría de estudios atribuyen este fenómeno a las bacterias ácido lácticas en general, y confirmando mediante pruebas de PCR que el género *Lactobacillus spp.* es el microorganismo que mayoritariamente produce el abombamiento del empaque, seguido por el recuento de psicrófilos y luego de mesófilos. (Kamenik, 2013) (Pérez y Andujar, 2000) (Restrepo et al., 2001) (Ray, 2004) (Kamenik, 2013) (Rodríguez et al., 2013) (Flores, 2018) (Nápravníková et al., 2002) Ossa et al., 2010)

### **1.5 Estudios de estabilidad de alimentos procesados**

Estos estudios tienen como finalidad dar a conocer los cambios que experimentan las características físico-químicas y microbiológicas de un producto cuando este es expuesto a diferentes condiciones ambientales, como temperatura, humedad o luz. De esta forma se consigue definir de manera precisa las condiciones de almacenamiento de un producto, el tipo de envase más adecuado y determinar su periodo de caducidad. (Garre, 2013)

#### **1.5.1. Vida útil**

En la industria de alimentos los fabricantes necesitan conocer la vida útil de los productos con la finalidad de asegurar a los consumidores finales que el alimento adquirido mantiene todas las características en buen estado, la estabilidad de un producto depende de varios factores, como los ambientales, humedad, temperatura a la cual está expuesto, proceso térmico que sufre, calidad de materias primas, etc. Cuando existe exposición a estos factores se producen cambios en las cualidades (pérdida de nutrientes, cambios de olor, sabor o textura) impidiendo de este modo su comercialización. (García, Chacón y Molina, 2011)



### **1.5.2. Estabilidad acelerada**

La estabilidad acelerada ayuda a los fabricantes a predecir en tiempos cortos el comportamiento de los productos y anticiparse de esta forma a su evolución en condiciones habituales. Estos estudios acelerados consisten en incubar al alimento bajo condiciones controladas y a diferentes temperaturas, estas temperaturas por lo general deberán ser mayores a las temperaturas de almacenamiento y comercialización, permitiendo de este modo que las reacciones de deterioro se aceleren y obtener resultados importantes en tiempos cortos. (García, Chacón y Molina, 2011)

Esta prueba tiene como finalidad proporcionar información que indique el grado de estabilidad relativa del producto, tiempo de vida útil y compatibilidad entre la formulación y el material de acondicionamiento en las variadas condiciones a las que pueda estar sujeto desde su fabricación hasta su comercialización. (García, Chacón y Molina, 2011)

### **1.6. Monitoreo de la contaminación de las superficies en contacto con los productos cárnicos**

Las superficies que se encuentran en contacto con alimentos son todos aquellos objetos destinados a entrar en contacto directo o indirecto con los productos alimenticios, incluyendo dentro de las superficies a los utensilios y equipos. La presencia y retención de microorganismos sobre estas superficies es indeseable, pues esto implica una biotransferencia potencial desde un sustrato inerte a otro tipo de sustrato como podría ser el alimento que se encuentra en contacto, considerándose de este modo a las superficies una de las vías de contaminación de los alimentos más frecuente. (Álvarez, 2015)

#### **1.6.1 Formación de biofilm**

La formación de biofilm en las superficies de proceso favorece a la contaminación microbiológica de los productos procesados y pueden contener variedad de microorganismos.

Los biofilm se definen como comunidades complejas tanto de microorganismos como de polímeros extracelulares, fijadas sobre una superficie sólida en la cual se desarrolla, pueden presentar una única especie o diferentes especies. Estas biopelículas no están formadas únicamente por bacterias, sino de todo el material que se produce sobre la



matriz, principalmente se componen de polisacáridos, proteínas y algunas veces pueden contener lípidos, ácidos nucleicos y otros biopolímeros. (Ossa et al, 2010) (Álvarez, 2015)

La adherencia de las bacterias sobre las superficies del equipo y utensilios, es un proceso que se desarrolla en dos fases:

- La primera fase en la cual se da la retención de las bacterias en un film líquido sobre la superficie. En esta fase inicial la adherencia es reversible y está asociada a una interacción compleja entre las cargas y la hidrofobicidad de las células de la superficie, actuando tanto las fuerzas de Van de Waals, la interacción electrostática, y también las estructuras externas de las células microbianas (flagelos, fimbrias).
- La segunda fase la cual es irreversible, debido a que las células forman exopolímeros, los cuales proporcionan un ambiente adecuado para el crecimiento y siguiente adherencia de bacterias, otros microorganismos y residuos, que ayudaran a la formación de biofilms. La segunda fase de adherencia irreversible puede darse en aproximadamente 30 minutos hasta durar varias horas, dependiendo de factores, tales como tipo de bacteria y temperatura. (Moreno, 2006)

En la industria de alimentos la formación de biofilm es de importancia, debido a su capacidad para actuar como fuente persistente de contaminación microbiana, que puede llegar a producir una alteración del alimento, transmisión de enfermedades y numerosas pérdidas económicas por los productos que se llegan a desechar. La presencia de biofilm sobre las superficies ocasiona problemas como el incremento de la transferencia de calor o el aumento de la resistencia a agentes antimicrobianos en las superficies. Además, puede ocasionar deterioro, contaminación cruzada, contaminación en medioambientes de proceso y principalmente contaminación post-proceso, debido a la liberación continua de bacterias que afectan la producción y calidad de los productos. Se debe tomar en cuenta que en ocasiones estas bacterias presentes en los biofilms son patógenas para humanos de gran importancia en salud pública. (Ossa et al, 2010) (Álvarez, 2015)

## 2. METODOLOGÍA

En este estudio no se realizó el aislamiento de las bacterias del género *Lactobacillus*, para su identificación y cuantificación; no obstante, entre las bacterias ácido lácticas (BAL), las del género *Lactobacillus* han sido reportadas como las más abundantes y comunes en los productos cárnicos (Nápravníková et al., 2002; Ray, 2004; Carrillo y Audisio, 2007; Flores 2008; Ossa et al., 2010). En base a la evidencia encontrada en las bibliografías ya mencionadas y en los estudios realizados por Ossa et al. (2010) en los cuales se indica que el 89% de las cepas de las BAL encontradas correspondía a *Lactobacillus spp.*, se podría asumir, para los efectos del presente estudio, que todos los recuentos de BAL realizados corresponden con bacterias de *Lactobacillus spp.*

### 2.1. Tipo de estudio

Se trata de un estudio observacional, descriptivo de corte transversal.

### 2.2. Área de estudio

La presente investigación se desarrolló dentro de las instalaciones de una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca-Ecuador. Las determinaciones se llevaron a cabo en el laboratorio de análisis y gestión de calidad de la misma fábrica. Se realizó el recuento de bacterias ácido lácticas en muestras sometidas a la prueba de estabilidad acelerada, en los puntos de control de la cadena de producción relacionados a cada producto, en producto terminado y en las superficies más importantes de cada área que se encuentran vinculadas con el paso del producto en proceso.

### 2.3. Muestreo y tamaño de la muestra

#### 2.3.1. Muestreo de productos cárnicos

Se seleccionaron cuatro productos cárnicos empacados al vacío elaborados dentro de la fábrica, para los cuales ya habían sido reportados los mayores recuentos de *Lactobacillus spp.*, según el historial de datos aportados por la misma empresa en el mes de octubre del año 2016. A los cuatro productos cárnicos muestreados de forma al azar incluidos en el estudio se les aplicó la prueba de estabilidad acelerada para determinar el inicio del deterioro del producto. A continuación, se realizó el muestreo de los productos en la

cadena de producción en tres ocasiones, en periodos diferentes según las fechas de producción, en total se analizaron 69 muestras. En la tabla 1 se indica el cronograma junto con los puntos de control dentro de la cadena de producción para cada producto.

**TABLA 1.** Cronograma y puntos de muestreo de la cadena producción de los cuatro productos cárnicos.

Productos cárnicos	Cronograma	Puntos de muestreo en la cadena de producción						
		Recepción	Desinfección	Desarme	Mezclado	-	Enfriamiento	Empacado
Jamón sandwichero	Período 1 26 de febrero	Recepción	Desinfección	Desarme	Mezclado	-	Enfriamiento	Empacado
	Período 2 27 de febrero	Recepción	Desinfección	Desarme	Mezclado	-	Enfriamiento	Empacado
	Período 3 28 de febrero	Recepción	Desinfección	Desarme	Mezclado	-	Enfriamiento	Empacado
Salchicha vienesa	Período 1 08 de febrero	Recepción*	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
	Período 2 22 de febrero	Recepción*	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
	Período 3 26 de febrero	Recepción*	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
Mortadela especial	Período 1 27 de febrero	Recepción**	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
	Período 2 28 de febrero	Recepción**	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
	Período 3 01 de marzo	Recepción**	-	-	-	Emulsión	Enfriamiento	Empacado
Carne fileteada de res	Período 1 31 de enero	Recepción	Desinfección	Desarme	-	-	-	Empacado
	Período 2 01 de febrero	Recepción	Desinfección	Desarme	-	-	-	Empacado
	Período 3 02 de febrero	Recepción	Desinfección	Desarme	-	-	-	Empacado

Recepción materia prima\* Carne res 60/40, CDM cerdo, CDM pollo, Emulsión de cuero

Recepción materia prima\*\* Carne res 60/40, CDM cerdo, Emulsión de cuero

### 2.3.2. Muestreo de superficies en contacto con los productos cárnicos

Para este análisis se consideraron 21 superficies que se encuentran en contacto con los productos cárnicos durante el proceso de su elaboración en tres áreas diferentes de la empresa (Anexo 1), a través de las cuales se da el proceso de producción de los cuatro productos en estudio, analizadas en tres días consecutivos desde el 19 de marzo hasta el

21 de marzo según el plan de muestreo (Tabla 2), para un total de 63 muestras analizadas, con el objetivo de identificar posibles fuentes de contaminación de los productos cárnicos con *Lactobacillus spp.*

**TABLA 2.** Plan de muestreo de las superficies en contacto.

N°	Superficie del equipo en contacto			
		19 de marzo	20 de marzo	21 de marzo
1	Vc 99	X	x	X
2	Mesa 1	X	x	X
3	Balanza 1	X	x	X
4	Balanza 2	X	x	X
5	Mesa 2	X	x	X
6	Banda superior	X	x	X
7	Tenderizador	X	x	X
8	Molino	X	x	X
9	Mezclador 1	X	x	X
10	Mezclador 2	X	x	X
11	Mezclador 3	X	x	x
12	Embutidora 2	X	x	x
13	Embutidora 3	X	x	x
14	Tajadora 1 cuchilla	X	x	x
15	Tajadora 1 banda	X	x	x
16	Tajadora 2 cuchilla	X	x	x
17	Tajadora 2 banda	X	x	x
18	Termoformadora ULMA	X	x	x
19	Termoformadora VC99	X	x	x
20	Mesa bandeja – salchichas	X	x	x
21	Emp VC99 K7	X	x	x

## 2.4. Toma de muestra

### 2.4.1. Toma de muestras para la prueba de estabilidad

La toma de muestra de los cuatro productos cárnicos se realizó en el área de almacenamiento de logística de la fábrica, donde al azar se tomó dos muestras de cada

producto y se trasladó al laboratorio para el análisis microbiológico inicial y final de las mismas.

#### **2.4.2. Toma de muestra de productos cárnicos**

La toma de muestra de cada producto cárnico dentro de cada punto de muestreo en la cadena de producción, consistió en extraer una muestra representativa de acuerdo al tamaño del lote del producto y el nivel de inspección general según la tabla de letras y código del tamaño de muestra (Anexo 2), la letra obtenida permitió determinar el número de muestras correspondiente al tamaño del lote en una tabla adicional de planes de muestreo simple en inspección normal (Anexo 3), localizadas en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 2859-1:2009 que indica los procedimientos de “muestreo para inspección por atributos. Parte 1. Programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de calidad (NCA) para inspección lote a lote”. La porción extraída fue sometida posteriormente a un análisis microbiológico para la búsqueda de colonias de bacterias ácido lácticas.

#### **2.4.3. Toma de muestra de superficies en contacto con los productos**

La toma de muestra se realizó a las seis de la mañana, hora previa al inicio de la jornada diaria de producción de la fábrica, momento en que las máquinas y equipos se encontraban en reposo y consistió en delimitar la superficie a muestrear con una plancha de acero inoxidable estéril de dimensiones conocidas ( $100 \text{ cm}^2$ ), para luego aplicar el método del hisopo.

#### **2.5. Materiales, equipos y reactivos.**

Materiales:

- Espátula
- Lámparas de alcohol
- Hisopos
- Fundas Whirl-Pack
- Frascos de 100 ml tapa esmerilada.
- Tubos de ensayo de 13ml.

- Balón de aforo de 1000 ml.
- Vaso de precipitación de 250 y 1000 ml.
- Pipetas volumétricas de 10 ml
- Pipeta automática de 1ml.
- Peras de succión.
- Varillas de vidrio
- Puntas descartables de 1 ml.
- Gradilla.
- Plantilla de acero inoxidable

#### Equipos:

- Autoclave; Marca: All American; Modelo: 75X; Serie: 0003382
- Stomacher; Marca: Seward; Modelo: 400 Circulator; Serie: 48435
- Balanza analítica; Marca: Ohaus; Modelo: Traveler TA3001; Serie: 7131521545
- Incubadora; Marca: Boekel; Modelo: 132000; Serie: 07045
- Refrigerador; Marca: Indurama (EC); Modelo: RI-395; Serie: 101701870029
- Contador de colonias; Marca: POL-EKO-APARATURA SP. J.; Modelo: LKB2002\_Y; Serie: LKBC151397

#### Reactivos:

- Agua destilada
- Alcohol etílico.
- Agua de Peptona Tamponada 107228 - Merck Millipore
- Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento de bacterias ácido lácticas.

## 2.6. Métodos y técnicas de análisis

### 2.6.1. Recuento de bacterias ácido lácticas en placas petrifilm

Las placas Petrifilm™ constituyen un sistema de medio de cultivo listo para ser utilizado, el mismo que contiene nutrientes, agentes selectivos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador tetrazolio (TTC) que tiñe las colonias de rosado. El diseño de la placa Petrifilm para bacterias ácido lácticas brinda condiciones de anaerobiosis para el crecimiento de éstas gracias a que combina la tecnología de barrido con la utilización de films barrera para el oxígeno creando un ambiente anaeróbico autónomo que permite la



recuperación de bacterias ácido lácticas tanto homofermentativas como heterofermentativas. (Ciencia Aplicada a la vida, 2017)

### **2.6.2. Obtención de la dilución ideal para la siembra de los productos cárnicos**

Para obtener el dato acerca de la dilución más adecuada para realizar la siembra de materias primas (canales de res, canales de cerdo, carne deshuesada mecánicamente o CDM de Pollo, CDM de Cerdo, Carne 60/40 y emulsión de cuero) y las etapas previas a la cocción (desarme, mezclado y emulsificado), así como, para cada producto cárnico en las etapas posteriores a la cocción (enfriamiento y empaçado), se realizaron dos ensayos (Anexo 4), uno para cada etapa, finalmente se escogió la placa en la cual era posible el recuento de las colonias de bacterias ácido lácticas. Determinando que para materias primas cárnicas y etapas antes de la cocción la dilución a la cual se debe sembrar es  $10^{-4}$  y para productos terminados o después de la cocción sembrar a  $10^{-1}$ .

Para obtener la concentración de bacterias ácido lácticas en cada una de las muestras, expresada como UFC/g, se multiplicó por el factor de dilución correspondiente, 10000 para el caso de las materias primas y productos en proceso y de 10 para los productos terminados cocidos.

### **2.6.3. Procedimiento para la prueba de estabilidad acelerada**

Se tomaron dos muestras del producto de un mismo lote e inmediatamente se procedió a cuantificar el contenido de bacterias ácido lácticas de una de ellas, para lo cual se pesó 10 gramos de muestra y se agregó 90 ml de agua de peptona, se introdujo en el Stomacher a 290 rpm durante un minuto, se tomó 1 ml de la dilución, se colocó sobre la placa de petrifilm y se incubó durante 48 horas a 37°C (Anexo 5). La otra muestra se sometió a una temperatura de 40°C durante 24 horas, con el fin de romper la cadena de frío y alterar las condiciones de almacenamiento, para generar una temperatura favorable para el desarrollo de microorganismos. Al cabo de 24 horas se procedió a cuantificar la carga de bacterias ácido lácticas de la misma manera que se realizó en la muestra inicial, con ayuda de un contador de colonias. (García, Chacón y Molina, 2011)

#### **2.6.4. Procedimiento para la siembra microbiológica de las muestras**

Después de la preparación de la muestra, se tomó 1 ml de la dilución antes delimitada para cada etapa del proceso de la cadena de producción y se colocó sobre la Placa de Petrifilm, luego, se incubó las placas durante 48 horas a una temperatura de 37°C, para lo cual se empleó una estufa, seguido de este periodo de incubación se procedió a realizar el recuento de las colonias a través de un contador de colonias estándar y siguiendo las indicaciones de recuento de bacterias ácido lácticas de la guía de interpretación de 3M (Anexo 6).

#### **2.6.5. Procedimiento para la siembra y análisis microbiológicos de superficies**

Para cada superficie, se procedió de la siguiente manera: se colocaron 10 ml de agua de peptona al 0,1% en un tubo de ensayo y se procedió a esterilizar, luego se tomó un hisopo previamente esterilizado y se impregnó con el agua de peptona. El hisopo se frotó sobre la respectiva superficie de contacto evaluada, dentro de un área de muestreo de 100 cm<sup>2</sup> (10x10) y seguidamente se colocó en los 10 ml de solución de agua de peptona, a partir de ahí se tomó 1 ml para proceder a realizar la siembra sobre las placas de Petrifilm, y finalmente hacer el recuento de las colonias tal como se explicó anteriormente para el análisis de los productos cárnicos.

Para calcular la concentración de bacterias ácido lácticas por superficie, expresada como UFC/100cm<sup>2</sup> se multiplicó la cantidad obtenida en cada recuento por el volumen solución de diluyente usado que sería 10 ml y por el factor de dilución que en este caso sería 1 de acuerdo a la norma sanitaria peruana para el análisis de superficies en contacto con alimentos y bebidas Resolución N° 461/07/MINSA. (MINSA, 2007)

#### **2.7. Manejo estadístico de los datos**

Los valores de los recuentos de bacterias ácido lácticas obtenidos de los 3 análisis fueron promediados con el fin de obtener un valor promedio para cada producto cárnico en cada etapa de la cadena de producción y para cada superficie de contacto. Adicionalmente, se aplicó la estadística descriptiva en el cual se determinó la media, desviación estándar y se realizó gráficas de tendencia para: (1) observar cómo se manifiesta el comportamiento de la carga bacteriana de bacterias ácido lácticas obtenido para un mismo producto cárnico en cada una de las etapas de la cadena de producción, (2) comparar la concentración de



bacterias ácido lácticas obtenidos para cada una de las materias primas crudas empleadas en la elaboración de los cuatro productos cárnicos estudiados (etapa de recepción), (3) comparar los valores promedios de concentración de bacterias ácido lácticas obtenidos para los cuatro productos cárnicos terminados (etapa de empaçado), y (4) para comparar entre los valores promedios de concentración de bacterias ácido lácticas encontrados en las superficies de contacto muestreadas dentro de una misma área de la fábrica (carnes, producción, empaques). El análisis estadístico se realizó el programa Microsoft Excel 2016.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Variación general de la carga bacteriana en los productos cárnicos

Los resultados obtenidos de carga bacteriana registrada en los cuatro productos cárnicos considerados en el presente estudio, de manera general, varió en un rango muy amplio de valores promedios, y con valores elevados en cuanto a la dispersión de los datos en cada punto de control analizado (tabla 3). Los valores promedios obtenidos van desde niveles menor a 10 UFC/g, en las etapas de enfriamiento y empaquetado de los diferentes productos, hasta valores mayores a  $10^6$  UFC/g, encontrados principalmente en las materias primas cárnicas crudas (etapa de recepción), en la etapa de emulsificado de la salchicha vienesa y de la mortadela especial, así como en la recepción y desinfección de la materia prima del jamón sandwichero. En ningún caso se obtuvieron recuentos iguales o superiores a  $10^7$  UFC/g, que es el nivel crítico de deterioro por contaminación microbiana en productos cárnicos (Ray, 2004; Ossa et al., 2010), de acuerdo a este dato se podría asumir que al encontrar valores superiores a  $10^6$  UFC/g en materias primas cárnicas crudas como canales de cerdo y carne de res 60/40 revela que dichas carnes llegan a la fábrica con niveles de contaminación potenciales para los productos cárnicos, ya que aportarían cargas elevadas a la cadena de producción de los mismos, lo cual de no tratarse con las medidas sanitarias adecuadas, representaría una gran amenaza sobre la calidad final de los productos terminados.

**Tabla 3.** Valores promedios  $\pm$  desviación estándar de la concentración de *Lactobacillus spp.*, en los cuatro productos cárnicos evaluados en las diferentes etapas de la cadena de producción.

Etapas de la cadena de producción		Recuento de <i>Lactobacillus spp.</i> , (UFC/g)			
		Carne de res fileteada	Jamón sandwichero	Mortadela especial	Salchicha vienesa
Recepción de la materia prima	Canales de res	$4,2 \times 10^4$ $\pm 3,2 \times 10^4$	-	-	-
	Canales de cerdo	-	$1,0 \times 10^6$ $\pm 1,7 \times 10^6$	-	-
	Carne res 60/40	-	-	$1,4 \times 10^6$ $\pm 1,4 \times 10^6$	$3,5 \times 10^6$ $\pm 2,4 \times 10^6$
	CDM cerdo	-	-	$8,4 \times 10^5$ $\pm 1,7 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$ $\pm 4,2 \times 10^5$
	CDM pollo	-	-	-	$2,4 \times 10^5$ $\pm 3,1 \times 10^5$
	Emulsión de cuero	-	-	$4,6 \times 10^5$ $\pm 4,4 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$ $\pm 6,2 \times 10^5$
Almacenamiento luego de la desinfección		$4,6 \times 10^4$ $\pm 2,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^6$ $\pm 2,3 \times 10^6$	-	-
Almacenamiento luego del desarme (despiece)		$1,2 \times 10^4$ $\pm 1,9 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$ $\pm 1,5 \times 10^4$	-	-
Mezclado		-	$2,6 \times 10^4$ $\pm 3,7 \times 10^4$	-	-
Emulsificado		-	-	$1,6 \times 10^6$ $\pm 1,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$ $\pm 8,0 \times 10^5$
Enfriamiento		-	0 $\pm 0,00$	7 $\pm 5,8$	3 $\pm 5,8$
Empacado		823,33 $\pm 159,5$	285,0 $\pm 492,5$	3 $\pm 5,0$	527 $\pm 886,4$

**Tabla 4.** Valores máximos de concentración de BAL en su respectiva dilución en cada etapa de producción

Producto	Etapas de Proceso	Dilución	Máxima concentración
Carne de Res Fileteada	Recepción de materia prima	$10^{-4}$	$6,0 \times 10^4$
	Almacenamiento luego de la desinfección	$10^{-4}$	$7,8 \times 10^4$
	Almacenamiento después del desarme	$10^{-4}$	$3,5 \times 10^5$
	Empacado	$10^{-1}$	$7,8 \times 10^2$
Jamón Sanduchero	Recepción de materia prima	$10^{-4}$	$3,0 \times 10^6$
	Almacenamiento después de desinfección	$10^{-4}$	$4,1 \times 10^6$
	Almacenamiento luego de desarme (cerdo 80/20)	$10^{-4}$	$3,0 \times 10^4$
	Mezclado	$10^{-4}$	$1,0 \times 10^4$
	Enfriamiento	$10^{-1}$	$1,0 \times 10^4$
	Empacado	$10^{-1}$	$1,0 \times 10^4$
Mortadela Especial	Materia prima cárnica (carne 60/40)	$10^{-4}$	$3,0 \times 10^6$
	Materia prima cárnica (CDM cerdo)	$10^{-4}$	$1,0 \times 10^6$
	Emulsión de cuero	$10^{-4}$	$7,8 \times 10^5$
	Emulsificado	$10^{-4}$	$2,3 \times 10^6$
	Enfriamiento	$10^{-1}$	$1,0 \times 10^1$
	Empacado	$10^{-1}$	0
Salchicha Vienesa	Materia prima cárnica (CDM cerdo)	$10^{-4}$	$1,1 \times 10^6$
	Res 60/40	$10^{-4}$	$6,3 \times 10^6$
	materia prima cárnica (CDM pollo)	$10^{-4}$	$6,0 \times 10^5$
	materia prima cárnica (emulsión cuero)	$10^{-4}$	$2,4 \times 10^6$
	Emulsificado	$10^{-4}$	$4,8 \times 10^5$
	Enfriamiento	$10^{-1}$	$1,0 \times 10^1$
	Empacado	$10^{-1}$	$3,2 \times 10^3$

### 3.2 Resultados de las pruebas de estabilidad acelerada

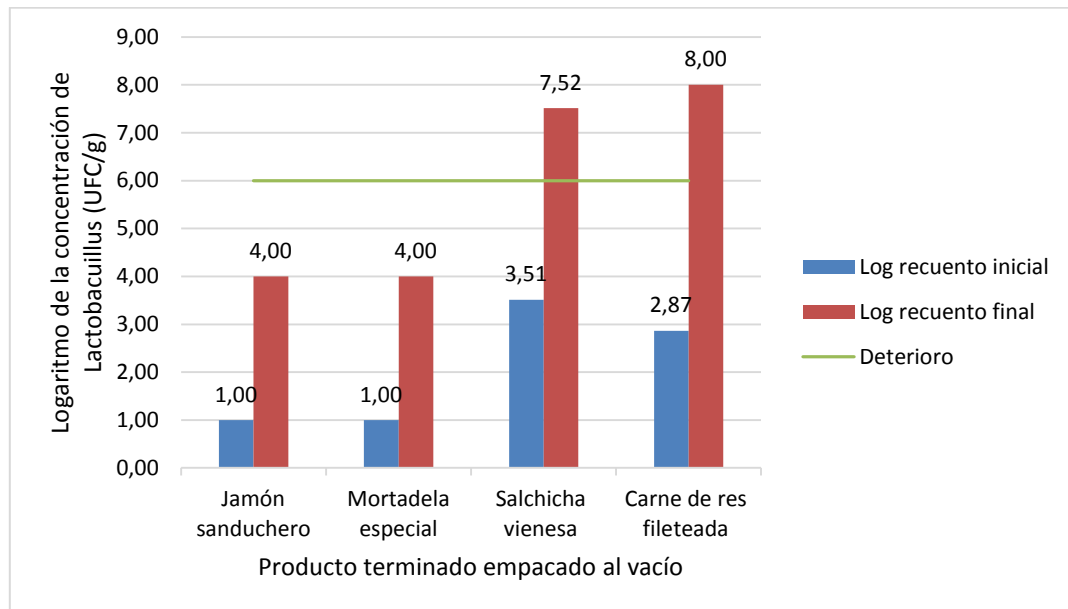
#### 3.2.1 Estabilidad acelerada en la carne de res fileteada

En la prueba de estabilidad acelerada realizada al producto terminado (empacado al vacío) se obtuvo que a partir de una carga inicial de 823 UFC/g, el recuento aumentó hasta valores superiores a  $10^5$  UFC/g, superando el límite establecido por Ossa en 2010 (Figura1). Esto parece indicar que la carga bacteriana inicial en el producto terminado tiene poca estabilidad y que la misma es un indicador de que el crecimiento de *Lactobacillus spp.* en el empaque puede provocar un deterioro prematuro de la calidad del producto antes de su fecha de caducidad, tal como efectivamente ocurrió con las dos muestras sometidas a la prueba de estabilidad, las cuales presentaron deterioro por abombamiento del empaque. (Ray, 2004; Flores, 2008; Ossa et al., 2010).

### **3.2.2 Estabilidad acelerada en productos procesados terminados empacados al vacío**

La prueba de estabilidad acelerada en estos productos determinó para jamón sandwichero una carga inicial de 380 UFC/g, el crecimiento de las colonias no alcanzó las  $10^5$  UCF/g al igual que ocurrió para mortadela especial que presentó una carga final en el producto empacado al vacío menor de  $10^5$  UFC/g partiendo de una carga inicial menor a 10 UFC/g (Figura 1). Estos resultados indican que la carga bacteriana tanto para jamón sandwichero como para mortadela especial empacada al vacío se mantiene estable en niveles de inocuidad, por lo que no habría riesgos de un deterioro prematuro de la calidad del producto antes del cumplimiento de su vida útil.

En relación a la prueba de estabilidad acelerada realizada a este producto, hay que aclarar primero, que durante la época en que se realizó el muestreo se presentaron varias devoluciones del mismo, por presentar signos claros de deterioro (abombamiento del empaque y cambios en la coloración). Basado en este hecho, se decidió realizar una prueba de estabilidad acelerada al producto usando el mismo lote del primer muestreo, en el cual el recuento inicial de colonias fue de  $3,25 \times 10^3$  UFC/g. La muestra analizada desarrolló abombamiento del empaque a las 24 horas, en una temperatura de 40 °C, alcanzando una concentración bacteriana de  $3,28 \times 10^7$  UFC/g. Por lo tanto, la concentración de  $3,25 \times 10^3$  UFC/g representaría un marcador inicial importante de deterioro del producto antes de cumplirse su vida útil (Figura 1).



**FIGURA 1.** Logaritmo de los valores de la concentración de *Lactobacillus spp.* inicial y final de la prueba de estabilidad acelerada.

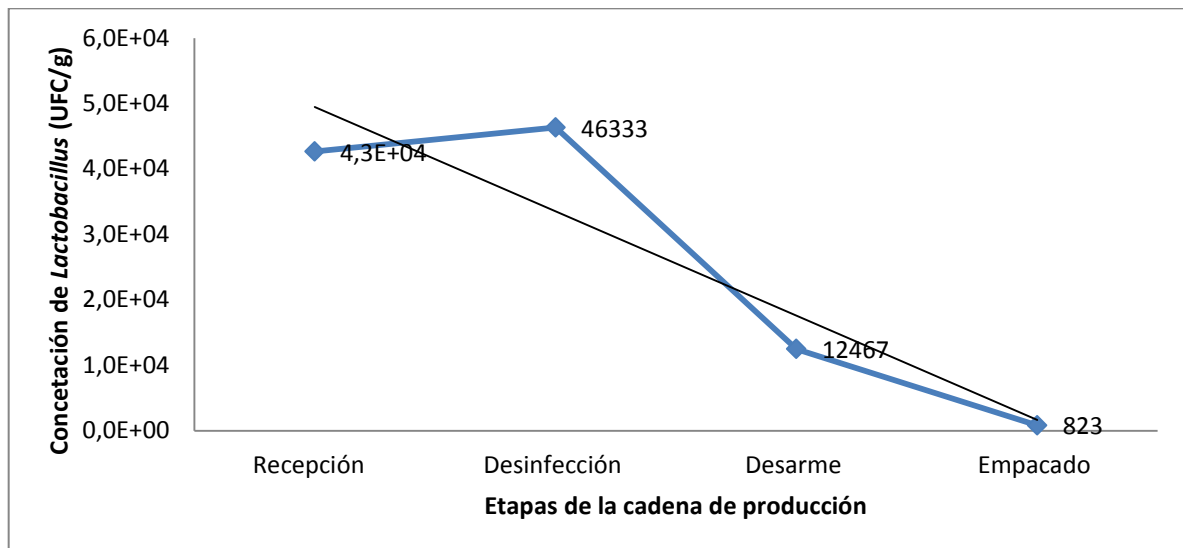
### 3.3 Resultados de los productos cárnicos y sus puntos de control en la cadena de producción.

#### 3.3.1 Carne de res fileteada

En la carne fileteada empacada al vacío, la concentración de *Lactobacillus spp.* en promedio varió desde un valor de  $4,2 \times 10^4$  UFC/g (carga inicial) a 823 UFC/g (carga final en el producto empacado). Como se indica en la figura 2, se produjo una reducción progresiva en la carga bacteriana desde la recepción de la materia prima hasta la etapa de empacado, con un ligero incremento en la etapa de almacenamiento de la materia prima luego de la desinfección. Este incremento podría tener sentido ya que en la empresa las canales de res reciben un tratamiento de desinfección con una solución de ácido láctico al 2,5%, lo cual podría propiciar en la carne condiciones de acidez ideales para el desarrollo de bacterias de *Lactobacillus spp.* que crecen en un rango de pH de 4,5–6,4. Esta solución desinfectante además actuaría sobre otros microorganismos contaminantes, provocando ello una ventaja competitiva para las bacterias del género *Lactobacillus*, que, además, como miembros importantes de las BAL, se caracterizan por la producción de ácido láctico. (Ray, 2004)



Con respecto al desarme, hay que tomar en cuenta que esta actividad provoca un aumento del área superficial de la carne que entra en contacto con posibles fuentes de contaminación bacteriana, como son los equipos involucrados en su procesamiento (sierras, cuchillas y superficies). A pesar de ello, la concentración de *Lactobacillus spp.* no mostró incremento en esta etapa como podría esperarse, lo cual podría deberse a varias razones: (1) tiempo de exposición de la carne con el medio es mínimo, (2) las canales están a una temperatura ambiente de 4°C, manteniéndose así la cadena de frío, para la que en general se recomienda un rango de -1 a 5°C y por lo tanto, la carne pueda resistir la manipulación y el empaclado hasta su ingreso nuevamente en las cámaras de frío. (Tirado, 2005)



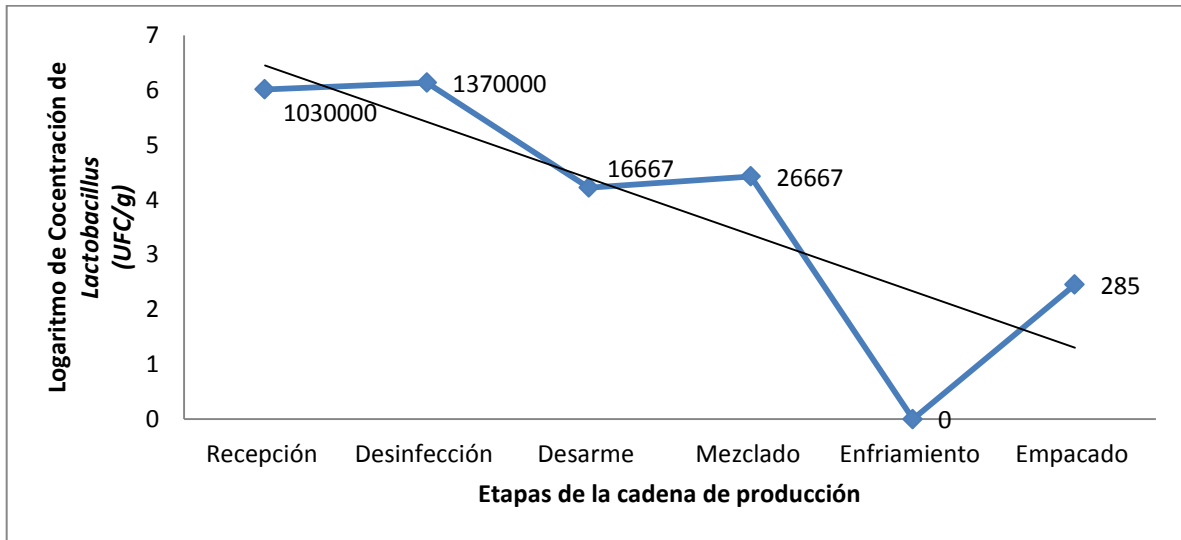
**FIGURA 2.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en las etapas de la cadena de producción de la carne de res fileteada empacada al vacío.

En estudios realizados por Flores en 2008, sobre la evolución e identificación de bacterias ácido lácticas presentes en carne de res picada y empacada al vacío determinaron que el grupo de bacterias que formaban parte de la flora bacteriana normal de la misma capaces de generar fermentación sin alterar el producto fueron las bacterias ácido lácticas en concentraciones de  $10^6$  -  $10^7$  UFC/g. Luego realizaron la clasificación de las BAL en homofermentativas y heterofermentativas con el objetivo de identificar sus características las mismas que determinaron que las del grupo homofermentativas que solo producen ácido láctico son las que producen fermentación sin la alteración de la carne cruda y que la heterofermentativas al producir no solo ácido láctico si no también ácido acético,

acetoína que disminuyen el pH favoreciendo el desarrollo de las BAL produciendo  $\text{CO}_2$ , que a valores de concentración similares a  $10^6 - 10^7$  UFC/g a los cuales se produce la fermentación por BAL homofermentativas, las heterofermentativas producen descomposición, cambios de color, olor y abombamiento. A partir de esto los autores realizaron la identificación de las BAL en carne de empacada al vacío almacenada por dos semanas a  $5^\circ\text{C}$  estableciendo que el género predominante fue especies heterofermentativas de *Lactobacillus* con un 76% del recuento del contenido total de BAL.

### 3.3.2. Jamón sandwichero

Los resultados obtenidos para el jamón sandwichero (Figura 3) evidencian que la concentración de *Lactobacillus spp.* en la cadena de producción de este producto cárnico varía considerablemente, desde valores superiores a  $10^6$  UFC/g en las dos primeras etapas (recepción de la materia prima y almacenamiento luego de la desinfección) hasta valores menores a  $10^3$  UFC/g en el producto final (empacado). En promedio, la carga bacteriana inicial (recepción de la materia prima, carne de cerdo cruda) fue de  $1,0 \times 10^6$  UFC/g. Se observó además que hubo una disminución progresiva de la carga bacteriana a lo largo de la cadena de producción, notándose que la concentración inicial de *Lactobacillus spp.* se mantuvo similar entre la etapa de recepción y desinfección, con disminución similar para la etapa de desarme y mezclado; y una disminución apreciable para la etapa de enfriamiento, que se podría explicar por las altas temperaturas a la cual es sometido el producto para su cocción. El producto final empacado al vacío tuvo una ligera elevación comparada con la baja concentración encontrada en el enfriamiento, esto podría ser causado debido a que los jamones una vez cocidos pasan a las cámaras de enfriamiento para luego dirigirse al área de empacado, donde se rebanan y se colocan en su empaque primario, para luego pasar por la máquina de empaque que genera el vacío en las unidades. Era posible entonces que se dé un incremento considerable de la carga bacteriana por la exposición que tiene con diferentes superficies (cuchilla, rebanadoras, bandas de las tajadoras, superficies de las termoformadoras y empacadoras al vacío), especialmente cuando los equipos se usan continuamente por un largo tiempo.



**FIGURA 3.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en las etapas de la cadena de producción del jamón sandwichero empacado al vacío.

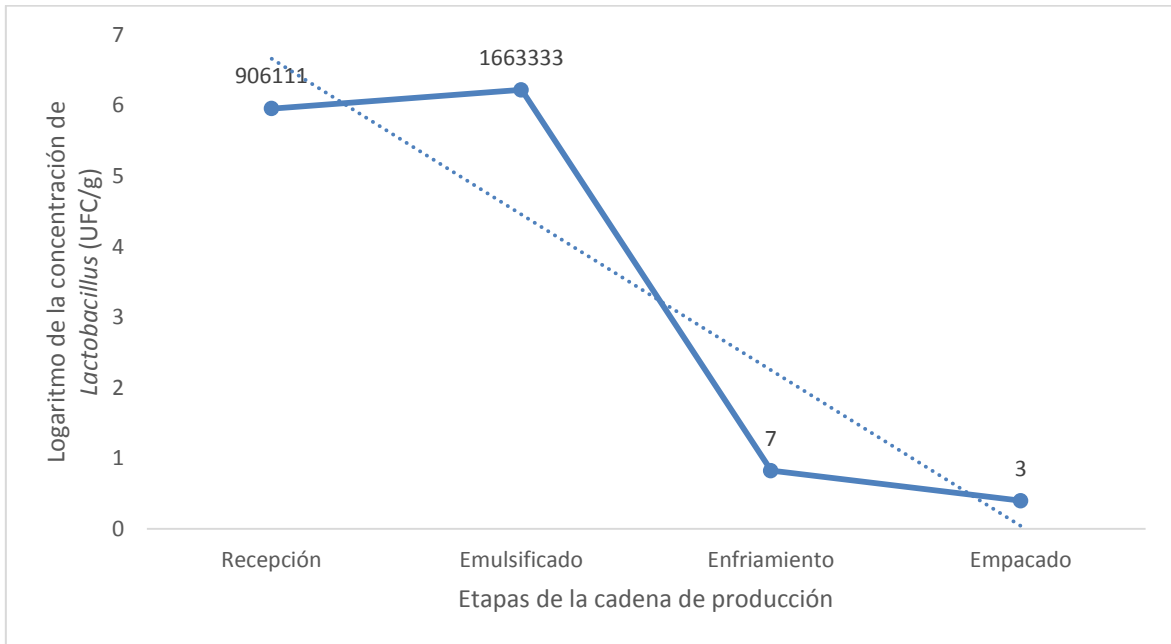
Al comparar los resultados aquí presentados con los obtenidos por Ossa et al. (2010) para el proceso de producción del jamón de cerdo cocido empacado al vacío, es interesante notar que la carga bacteriana inicial registrada en este estudio ( $1,03 \times 10^6$  UFC/g) supera el valor de carga inicial reportado por estos autores ( $10^5$  UFC/g), pero, en el producto terminado empacado al vacío, la carga (285 UFC/g) resultó muy similar a la de del estudio en cuestión ( $10^2$  UFC/g). Esa carga final la detectaron los autores en el producto terminado empacado al vacío sin daño por abombamiento del empaque, mientras que en el producto terminado con distensión del empaque la carga fue de  $10^8$  UFC/g. Por lo tanto, las cargas relativamente altas de *Lactobacillus spp.* en las etapas de recepción y desinfección ( $>10^6$  UFC/g) podrían interpretarse como niveles potencialmente críticos de contaminación dentro de la cadena de producción, ya que, de no tomarse oportunamente las medidas de control adecuadas, el crecimiento bacteriano podría favorecerse e incrementar hasta niveles indicadores de daño ( $\geq 10^7$  UFC/g). Sin embargo, este riesgo en las dos primeras etapas parece ser superado con los tratamientos que posteriormente recibe el producto, tal como lo evidencia el hecho de haber encontrado cargas bacterianas muy bajas ( $< 10^3$  UFC/g) en las etapas finales (enfriamiento y empacado). Es decir, se deduce que las condiciones de manejo en las etapas previas al empacado fueron adecuadas y que la empresa aplica buenas prácticas de manufactura.

De las etapas de almacenamiento de la materia prima luego de la desinfección y del desarme de las canales, se esperaría una mayor tendencia al incremento de la carga bacteriana, debido al uso de ácido láctico para la desinfección y al aumento de superficie de la carne y su exposición a fuentes de contaminación bacteriana (superficies) en la etapa de desarme.

Después del desarme, la carne de cerdo entra en contacto con diferentes superficies (bandas y tinas entre otras) para ser transportada desde el área de carnes hasta el mezclador en el área de producción, donde se realiza el mezclado con la materia prima no cárnica durante hora y media, para luego dejarla en reposo durante toda la noche a fin de que se cumpla el proceso de nitrificación; después, a la mañana siguiente pasa al proceso de homogeneización que dura 15 minutos. Durante todo este lapso se da un aumento de la temperatura en el interior de la masa del producto, que favorece la multiplicación bacteriana. Esto se vio reflejado en los resultados obtenidos (Figura 3), al notarse un ligero incremento en la carga bacteriana registrada en la etapa de mezclado.

### 3.3.3 Mortadela especial

Para la mortadela especial (Figura 4), destaca en primer lugar, el promedio de la carga inicial de las tres materias primas base en la elaboración de este producto, luego de esta etapa inicial, se observa un aparente incremento de la carga bacteriana en la etapa de emulsificado, con respecto al promedio de la carga inicial. En este producto, al igual que los anteriores, se da un evidente descenso de la carga de *Lactobacillus spp.*, en las etapas finales de la producción (enfriamiento y empaçado), alcanzándose en ambos casos niveles inferiores a 10 UFC/g, lo que sugiere que el producto final está casi exento de carga bacteriana, hecho que además revela que las condiciones de manejo del producto en las etapas previas al empaçado fueron adecuadas. Es evidente que el proceso de cocción elimina casi en su totalidad la carga bacteriana, quedando un remanente inferior a 10 UFC/g.

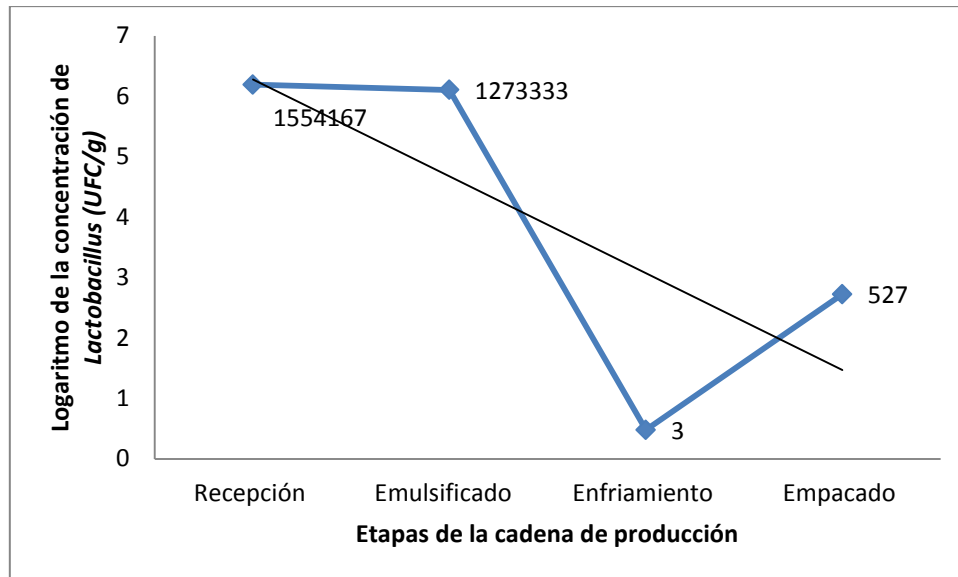


**FIGURA 4.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en las etapas de la cadena de producción de la mortadela especial empacada al vacío.

### 3.3.4 Salchicha vienesa

Según los recuentos de colonias para la salchicha vienesa dentro de la cadena de producción (Figura 5), la carga inicial promedio de las cuatro materias primas cárnicas varió ampliamente, desde  $2,47 \times 10^5$  (Res 60/40) hasta  $3,56 \times 10^6$  (CDM pollo) UFC/g. La mayor variabilidad en los recuentos muestrales se registró en la carne de res industrial tipo 60/40, tendencia que también se observó para este mismo tipo de materia prima en la mortadela especial, esta gran variabilidad encontrada podría deberse por la procedencia de esta materia de diferentes mercados de la ciudad, siendo remanentes del fileteado de una canal entera (tabla 3). La masa emulsificada de las cuatro materias primas con un promedio de  $1,27 \times 10^6$  UFC/g, resulto con una ligera disminución de la concentración, al igual que en la mortadela especial, también ocurrió un descenso significativo de la carga de *Lactobacillus spp.* en las dos últimas etapas de la producción (enfriamiento y empacado). Esta reducción considerable de la carga bacteriana final, lógicamente resulta luego del tratamiento de cocción que recibe el producto al final de la producción. De acuerdo con estos resultados, el lote de la salchicha vienesa terminada (empacada al

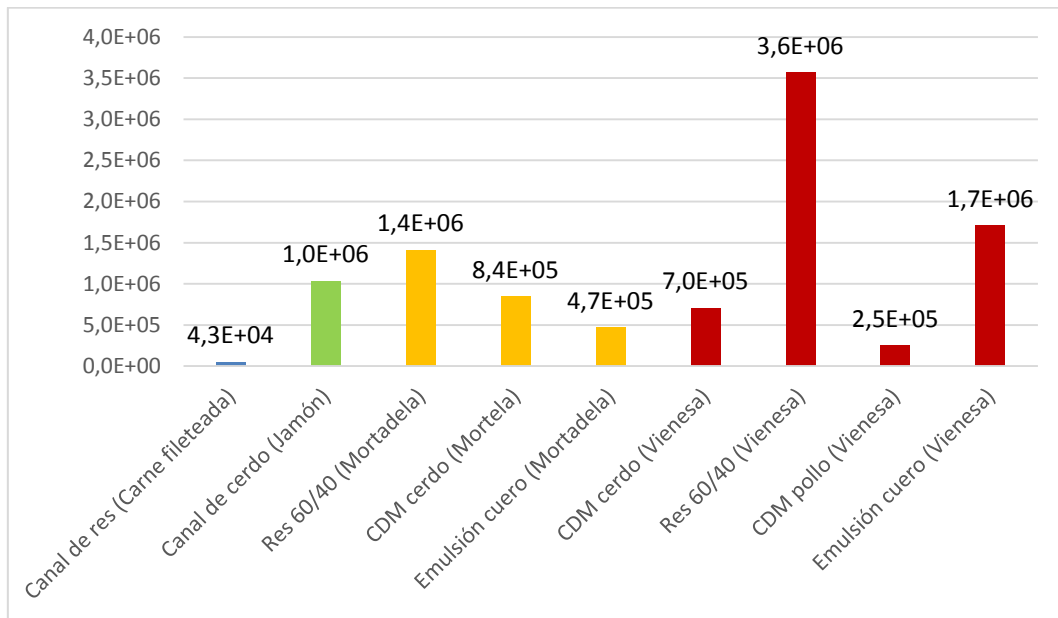
vacío) evaluado en el estudio, aparentemente no mostró niveles de riesgo de contaminación bacteriana, dado que la carga bacteriana promedio al final de la producción fue de 527 UFC/g.



**FIGURA 5.** Valores promedios de la concentración de *Lactobacillus spp.* en las etapas de la cadena de producción de la salchicha vienesa empacada al vacío.

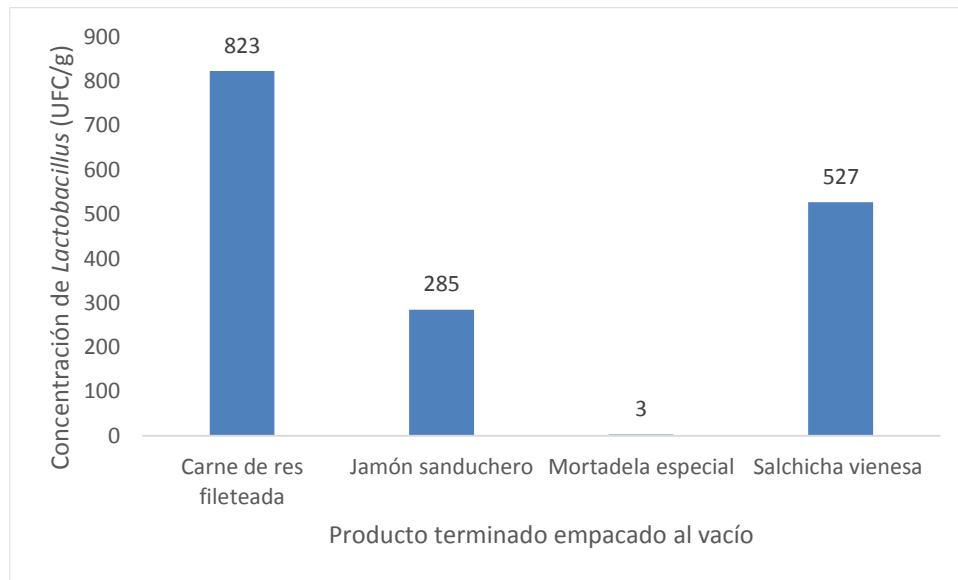
### 3.4. Comparación de la carga inicial y final de *Lactobacillus spp.* entre los cuatros productos cárnicos

Las cargas iniciales de *Lactobacillus spp.* encontradas en los cuatro productos, según cada materia prima usada en su elaboración, se muestran de manera comparativa en la Figura 6. Se observa que, la materia prima cárnica con valores mínimos de carga bacteriana fueron la canal de res, en la carne fileteada ( $4,2 \times 10^4$  UFC/g) y que la carne de res industrial 60/40, empleada en la salchicha vienesa ( $3,5 \times 10^6$  UFC/g) es en cambio la materia prima que más carga bacteriana aportaría en la producción, representando un riesgo elevado de contaminación cruzada (Tabla 3).



**FIGURA 6.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en las materias primas cárnicas crudas. Cada color indica un producto cárnico diferente.

La concentración final de *Lactobacillus spp.* (etapa de empaqueo), en general resultó muy variable entre los cuatro productos evaluados, siendo la carne de res fileteada la que presentó la mayor carga bacteriana al final de la cadena de producción, esto debido a la falta de la etapa de cocción que se da en los tres productos siguientes, ahora bien, la salchicha vienesa, es el producto empaqueo al vacío que presentó la mayor carga bacteriana en relación a los productos cocidos como jamón sandwichero y mortadela especial. (Figura 7).



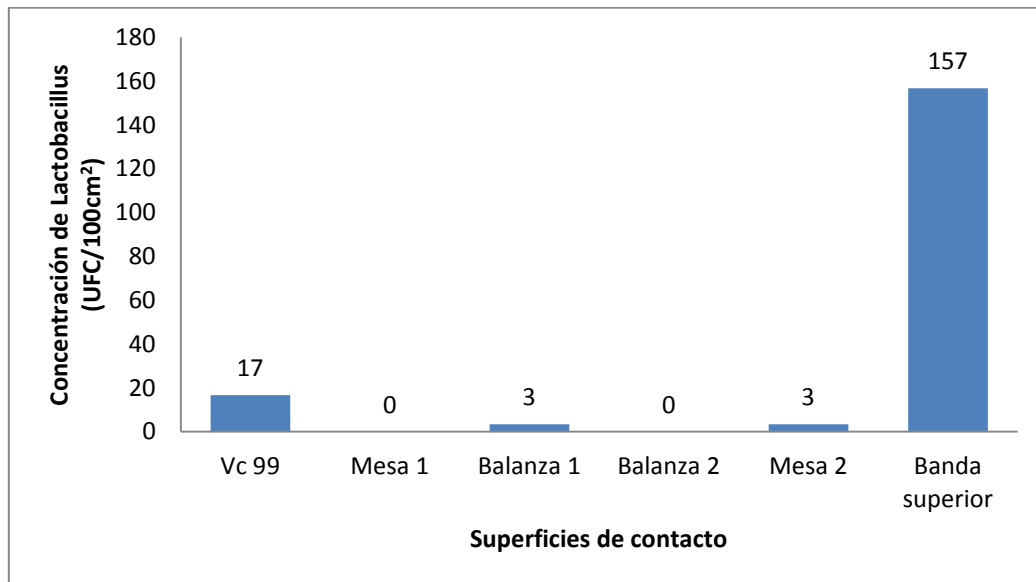
**FIGURA 7.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en los cuatro productos cárnicos terminados (empacados al vacío).

### 3.5. Concentración de *Lactobacillus spp.* en las superficies de contacto dentro las tres áreas de producción de la fábrica

#### 3.5.1 Área de carnes

En el área de carnes (Figura 8), la superficie de la banda superior fue la que presentó la mayor carga de *Lactobacillus spp.* (157 UFC/100cm<sup>2</sup>). La carga bacteriana de esta superficie difirió especialmente con la carga promedio de las superficies de la mesa 1 y de la balanza 2, aunque solamente la banda superior fue la que presentó más de 100 UFC/100cm<sup>2</sup>. Estos resultados nos podrían indicar que en esta área la superficie que representa mayor peligro de contaminación bacteriana para las carnes crudas que allí son procesadas es principalmente la banda superior; además que las carnes de res y de cerdo utilizadas para la elaboración de los demás productos cárnicos pueden contaminarse durante el desarme de las canales, cuando éstas entran en contacto con dicha superficie.

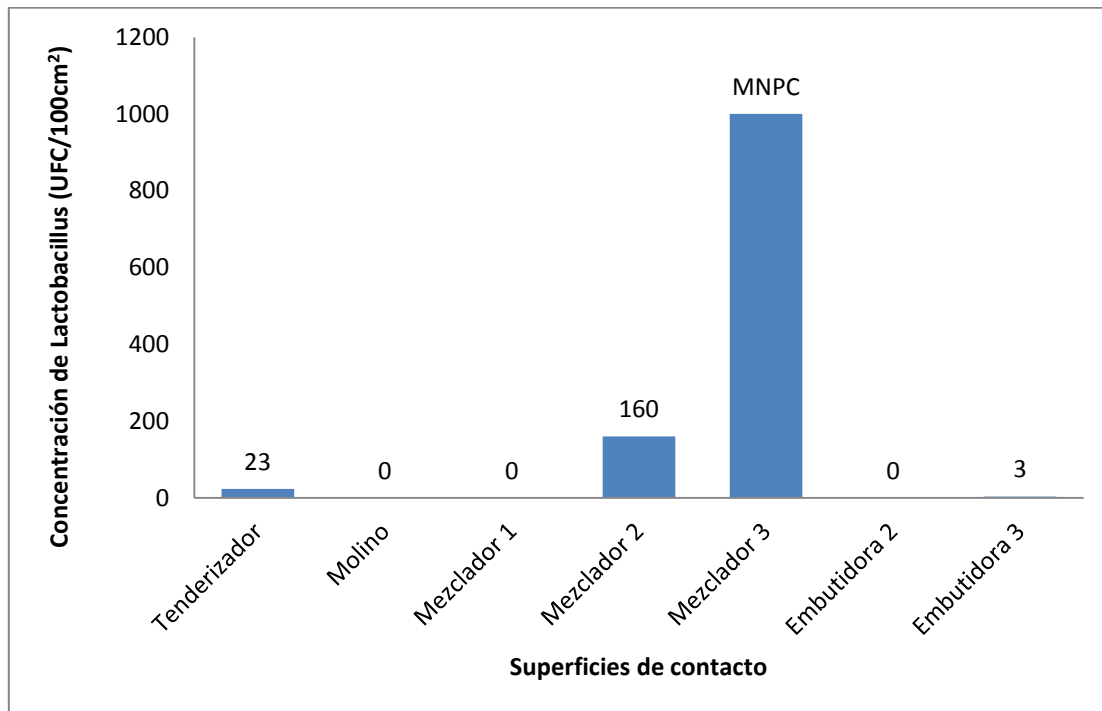




**FIGURA 8.** Valores promedios de la concentración de *Lactobacillus spp.* en seis superficies de contacto en el área de carnes.

### 3.5.2 Área de producción

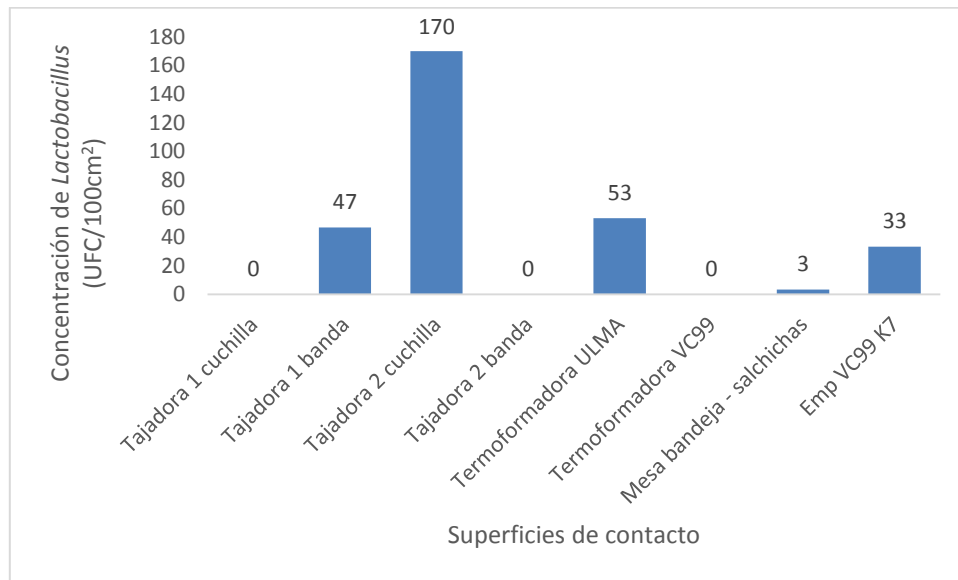
Para las siete superficies evaluadas en el área de producción (Figura 9) se encontró un resultado similar al del área de las carnes, ya que en casi todas se registraron concentraciones bacterianas menores a 100 UFC/100cm<sup>2</sup>. Solamente en las máquinas mezcladoras 2 y 3 la carga bacteriana se registró en concentraciones superiores a 100 UFC/100cm<sup>2</sup>. Se deduce entonces que en esta superficie posiblemente el tratamiento de limpieza no es aplicado adecuadamente, y que la misma es una fuente potencial de contaminación microbiana para los productos cárnicos durante su procesamiento. Para la superficie de la máquina mezcladora 3, la carga bacteriana resultó extremadamente alta (MNPC), por lo que se hace evidente que en esta superficie no han sido aplicados eficientemente los tratamientos de limpieza, y que la misma representa una fuente importante de contaminación bacteriana para los productos cárnicos que allí son procesados.



**FIGURA 9.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus* spp. en siete superficies de contacto en el área de producción

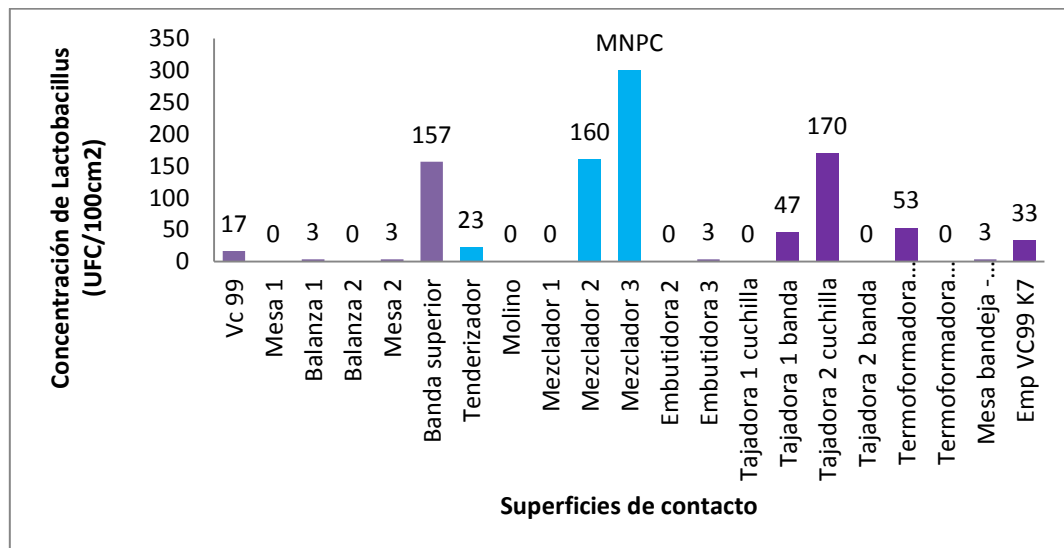
### 3.5.3 Área de empaques

En el caso de las superficies del área de empaques (Figura 10), la más contaminada fue la de la cuchilla de la tajadora 2, pero todas las superficies resultaron en general, con concentraciones menores a 100 UFC/100cm<sup>2</sup>. Este resultado revela por consiguiente que habría poco riesgo de que los productos cárnicos terminados resulten contaminados al entrar en contacto con las superficies de los equipos respectivos que se utilizan en la etapa de empacado. Esta presunción se apoya en el hecho de haber encontrado en este estudio cargas bacterianas relativamente bajas en los productos ya terminados (etapa de empacado, Figura 6), y en tal caso, serían las salchichas vienesas y el jamón sandwichero las que pudieron, en parte, contaminarse con alguna de las superficies involucradas en el proceso de empacado, como la bandeja de salchichas, la empacadora al vacío y la cuchilla de la tajadora 2 que rebana jamones y mortadelas.



**FIGURA 10.** Valores promedio de la concentración de *Lactobacillus spp.* en ocho superficies de contacto en el área de empaques.

Finalmente se hizo una comparación entre sí, a través de los valores de las cargas bacterianas de cada una de las superficies de contacto correspondientes a cada área de la fábrica (figura 11).



**FIGURA 11.** Valores de la carga bacteriana en las superficies de contacto evaluadas dentro de tres áreas de la cadena de producción: Carnes, Producción y Empaques.



De acuerdo con las observaciones anteriores, se puede señalar en general que de todas las superficies con las que los productos cárnicos en sus diferentes etapas de la cadena de producción entran en contacto, las más contaminadas con carga bacteriana son: la superficie de la banda superior en el área de manejo de las carnes crudas; la superficie de los mezcladores 2 en el área de producción; y la superficie de la cuchilla de la tajadora 2 en el área de empaques. Los mayores recuentos de bacterias en estas superficies estarían relacionados directamente con la presencia de residuos orgánicos en las mismas, producto de la deficiencia en el lavado. Este proceso de desinfección en la fábrica varía según el área de trabajo. El área de carnes se desinfecta en las noches con ácido peracético (3%), y luego en las mañanas se aplica una solución de hipoclorito de sodio (4%). El área de producción también se desinfecta solo en las noches, usando hipoclorito de sodio (4%) martes y jueves y ácido peracético (3%) lunes, miércoles y viernes, cuyo uso se alterna para evitar resistencia bacteriana. En el área de empaques, las superficies de los diferentes equipos se desinfectan con un espumante que resulta de la mezcla de jabón ACL 40, agua y aire.

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 CONCLUSIONES

En este estudio se realizó la determinación de bacterias ácido lácticas que representa principalmente la presencia de *Lactobacillus spp.* en productos cárnicos empacados al vacío (carne de res fileteada, jamón sandwichero, salchicha vienesa, mortadela especial) e identificar su fuente de contaminación dentro de la cadena de producción en una fábrica de embutidos de la ciudad de Cuenca.

La prueba de estabilidad realizada a los cuatro productos en estudio evidenció que, una carga inicial aproximada de  $3,3 \times 10^3$  UFC/g para salchicha vienesa empacada al vacío y una carga inicial alrededor de  $8,2 \times 10^2$  UFC/g para la carne de res empacada al vacío, representaría un marcador inicial importante de deterioro del producto antes de cumplirse su vida útil. Estos valores son únicos debido a que la prueba de estabilidad se realizó una sola vez para cada producto y generan solo una idea aproximada del contenido de BAL inicial causante de deterioro.

En cuanto a las materias primas se demostró que la canal de res es la materia prima que en general aportó la menor carga bacteriana dentro de la cadena de producción de la fábrica, mientras que la carne de res 60/40 empleada en la salchicha vienesa, fue la materia prima que más carga bacteriana aportaría en la producción de embutidos de la fábrica.

Los resultados del análisis microbiológico de los cuatro productos cárnicos en de la etapa de empacado fueron muy diferentes entre sí, resaltando la mayor carga bacteriana para la carne de res fileteada y salchicha vienesa como producto final.

Los resultados del análisis microbiológico de las superficies en contacto con los productos cárnicos, mostraron que la más contaminada por carga bacteriana fue el área de producción, seguidas por el área de empaques y finalmente el área de manejo de las carnes crudas. Los mayores recuentos de bacterias en estas superficies podrían estar relacionadas directamente con la presencia de residuos orgánicos en las mismas.



#### 4.2 RECOMENDACIONES

- Mejorar el control de la cadena de frío de los productos cárnicos durante el almacenamiento y transporte, tanto dentro como fuera de la fábrica.
- Mejorar los procesos de monitoreo y control del procedimiento de lavado y desinfección de las canales en la etapa de recepción para disminuir la carga bacteriana inicial.
- Mejorar los procedimientos y planes de limpieza de desinfección de las superficies en contacto con los productos en proceso y terminados.
- Considerar el cambio de ácido orgánico actualmente usado (ácido láctico) debido a los picos observados luego del procedimiento de desinfección de las canales debido a la posible resistencia por parte de la BAL al mismo, pudiendo cambiar su uso por ácido paracético o hipoclorito en concentraciones bajas para que no se produzca el enverdecimiento de los productos.



## 5. REFERENCIAS

- Álvarez, J.C. (2015). *Evolucion de la contaminación de superficies durante los procesos productivos en pymes del sector cárnico* (Tesis doctoral). Universidad de la Rioja, Logroño, España. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/46567.pdf>
- Andrade, A. F. (2012). *Propuesta de la creación del Departamento de Comercialización y Marketing, en la fábrica de embutidos La Ibérica en la ciudad de Riobamba Periodo 2012* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2835>
- Andujar, G., Perez, D. y Venegas, O. (2003). *Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos*. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria. Recuperado de <https://anatomiyplastinacion.wikispaces.com/file/view/Quimica+y+bioquimica.pdf>
- Ávila, E. (2016). *Determinación de Lactobacillus en productos cárnicos procesados en la empresa Italimentos* (Seminario de alimentos). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.
- Bazzan, E. (2008). Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas en embutidos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 160-187. Recuperado de [http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v2n2/Nacameh\\_v2n2\\_160BazanLugo.pdf](http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v2n2/Nacameh_v2n2_160BazanLugo.pdf)
- Benzo, M. T., Zogbi, A., Zurbruggen, C., Sequeira, G., Dalla-Santina, R., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J. A., López-Santoveña, F., y Rosmini, M. R. (2009). Efecto del picado sobre el color de pastas utilizadas en la elaboración de embutidos crudos-curados. *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias*, 8(1), 37-48. Recuperado de <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FAVEveterinaria/article/view/1478/2358>
- Benalcázar, J. A., y Wilches, P. E. (2010). *Análisis del trabajo en la fábrica de embutidos "La Italiana" aplicado a las líneas de producción de embutidos* (Tesis de pregrado).



- Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador. Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/917/13/UPS-CT001888.pdf>
- Carrillo, L., y Audiso, M. C. (2007). *Manual de microbiología de los alimentos* (Primera Edición). Capítulo 2. *Bacterias*. Jujuy, Argentina: Leonor Carrillo. Recuperado de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/>
- Cervellini, A., Nario, F., y Díaz, M. (2015). Mejora de la seguridad alimentaria en embutidos secos mediante el uso de starters. Tesina de la Orientación Tecnológica de los Alimentos. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA, Tandil, Argentina. Recuperado de <http://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/451>
- Colomé, E., Tecnología del envasado de alimentos procesados en atmosfera modificada., Alimentos, equipos y tecnología., Vol. 5, Madrid – España., Pp 109 - 113
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. CFPRS. (2016). *Contaminación Cruzada Frente Registros*. Recuperado de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/168378/TRIPTICO CONTAMINACION CRUZADA WEB.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/168378/TRIPTICO_CONTAMINACION_CRUZADA_WEB.pdf)
- Egan, A. F., Shay, B. J., y Rogers, P. J. (1989). Factors affecting the production of hydrogen sulphide by *Lactobacillus sake* L13 growing on vacuum packaged beef. *Journal of Applied Microbiology*, 67(3), 255-262. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.1989.tb02493.x>
- Flores, C. H. (2008). *Evolución e identificación de bacterias ácido lácticas presentes en carnes de res picadas y empacadas al vacío* (Tesis de maestría). Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Recuperado de [http://tesis.luz.edu.ve/tde\\_arquivos/59/TDE-2014-05-14T10:50:57Z-4694/Publico/flores\\_rondon\\_carolina\\_helsinski.pdf](http://tesis.luz.edu.ve/tde_arquivos/59/TDE-2014-05-14T10:50:57Z-4694/Publico/flores_rondon_carolina_helsinski.pdf)
- Flores, C.H., Leal, M., Ruiz, J., Sánchez, E., Moreno, M., Castro, G., y Barboza, Y. (2011). Tiempo de almacenamiento e identificación de bacterias ácido lácticas en carnes de res picada empacadas al vacío. *Revista Científica FCV-LUZ*, XXI(15), 425-433. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95919362009>
- García, C., Chacón, G., Molina, M. (2011) Evaluación de la vida útil mediante pruebas aceleradas por temperatura. *Ingeniería*. 21(2), 31-38.





- Garre, J. (2013), Laboratorios Entema: Our factory your team. <http://www.entema.es/blog/importancia-de-los-estudios-de-estabilidad/>
- Garriga, M., Martín, B., Bover-cid, S., y Aymerich, T. (2006). *Recomendaciones sobre prácticas higiénicas para embutidos fermentados. Guía práctica*. Traducida de la versión original. ADIV Association. Recuperado de <https://www.recercat.cat/bitstream/handle/2072/4687/guiacastell%C3%A0.pdf?sequence=3>
- Gobantes, y otros., *Invasado de Alimentos., Alimentación, equipos y tecnología., Vol. 1, París – Francia., 2001., Pp 75 – 80*
- Grande, M. J., Lucas, R., López, M. C., Pérez, R., y Gálvez, A. (2011). Bioconservación de alimentos cárnicos. *Anales*, 24(1), 111-123. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4247301.pdf>
- Heredia, N., Dávila-Aviña, J. E., Solís, L., y García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8(1), 20-42. Recuperado de [http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v8s1/Nacameh\\_v8s1\\_20-42Heredia-et al.pdf](http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v8s1/Nacameh_v8s1_20-42Heredia-et al.pdf)
- Heredia, J., Garnica, R. (1994). *Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la elaboración de productos cárnicos*. D.F. México: Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios. Recuperado de <http://www.cofepris.gob.mx/Documents/Bibliografias/aplianacarni.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN. (2012a). *Carne y productos cárnicos. Definiciones*. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1217:2012 (Primera edición). Recuperado de [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte\\_inen\\_1217.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/nte_inen_1217.pdf)
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN. (2012b). *Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos*. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1338:2012. Tercera revisión (Primera edición). Recuperado de [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/NORMAS\\_2014/ACO/17122014/nte-inen-1338-3r.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/NORMAS_2014/ACO/17122014/nte-inen-1338-3r.pdf)



- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN. (2009). *Procedimientos de muestreo para inspección por atributos. Parte 1. Programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de calidad (AQL) para inspección lote a lote*. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 2859-1:2009. (Segunda edición).
- Jiménez, F., y Carballo, J. (1989). *Principios básicos de elaboración de embutidos*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hojas Divulgadoras Núm. 4/89 HD. Cuesta de San Vicente, Madrid: Rivadeneyra, S. A. Recuperado de [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1989\\_04.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1989_04.pdf)
- Kamenik, J. (2013). The microbiology of meat spoilage: a review. *Maso International*, 1, 3-10. Recuperado de <http://www.maso-international.cz/the-microbiology-of-meat-spoilage-a-review/>
- Kamenik, J., y Steinhäuser, L. (2013). Meat products-definition, main groups and quality requirements: a review. *Maso International*, 2, 91-97. Recuperado de <http://www.maso-international.cz/category/volume-022013/>
- Lagerstedt, A. (2011). *Packaging Methods and Storage Time. Effects on Beef Quality* (Doctoral Thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. Recuperado de <https://pub.epsilon.slu.se/8031/>
- Liguin, A. F. (2012). *Formulación, evaluación, control de calidad de carne de cuy marinada y envasado al vacío para la Corporación de Productos Cuyícolas Señor Cuy* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2580/1/56T00348.pdf>
- Maldonado, A. P. (2010). *Influencia de la adición de humo líquido en la estabilidad y aceptabilidad de chorizo especial ahumado* (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. Recuperado de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2228>
- Martín, B. (2005). *Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, seguridad y mejora tecnológica* (Tesis de doctorado). Universitat de Girona, Girona, España. Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/7790/Tbmi.pdf?sequence=4>



- Mariño, M. A. (2015). *Evaluación del cumplimiento de la NTE 1338: 2010 de productos cárnicos embutidos en el mercado central de la ciudad de Guayaquil* (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8130>
- Mateada, J. P. (2013). *Estudio de la microflora bacteriana y cambios fisicoquímicos en carne bovina envasada al vacío y almacenada en frío* (Tesis de pregrado). Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. Recuperado de <http://docplayer.es/27952523-Estudio-de-la-microflora-bacteriana-y-cambios-fisicoquimicos-en-carne-bovina-ensada-al-vacio-y-almacenada-en-frio.html>
- Méndez, M. (2015). *Producción y consumo de embutidos en el Ecuador y su impacto en la economía ecuatoriana. Caso Empresas ECARNI S.A. "Don Diego" durante 2009-2012* (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/9615>
- Moreno, B., (2006), *Higiene e inspección de Carnes-I*, Barcelona, España, Díaz de Santos.
- Naprávníková, E., Vorlová, L., y Malota, L. (2002). Changes in hygienic quality of vacuum-packed pork during storage. *Acta Veterinaria Brno*, 71, 255-262. Recuperado de [https://actavet.vfu.cz/media/pdf/avb\\_2002071020255.pdf](https://actavet.vfu.cz/media/pdf/avb_2002071020255.pdf)
- Ministerio de Salud del Perú. MINSA. (2007). *Norma sanitaria para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas*. Resolución N° 461/07/MINSA. Recuperado de: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma\\_consulta/proy\\_microbiologia.htm](http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm)
- Orellana, F. E., y Palacios, K. E. (2016). *Caracterización y análisis de la cadena de suministros de productos cárnicos; embutidos en Ecuador Periodo 2015* (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/25568>
- Organización Mundial de la Salud. (2007). *Manual sobre cinco claves para la inocuidad de los alimentos*. Recuperado de <http://www.who.int/foodsafety/publications/5keysmanual/es/>
- Organización Panamericana de la Salud. OPS. (2011). *Capacitación en higiene para manipuladores de alimentos. Guía metodológica y práctica*. Panamá: Organización



- Panamericana de la Salud. Recuperado de [https://www.paho.org/pan/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=publications&alias=374-capacitacion-en-higiene-para-manipuladores-de-alimentos-guia-metodologica-y-practica&Itemid=224](https://www.paho.org/pan/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publications&alias=374-capacitacion-en-higiene-para-manipuladores-de-alimentos-guia-metodologica-y-practica&Itemid=224)
- Ossa, J. A., Restrepo, S., Coral, A., y Vanegas, M. C. (2010). Caracterización de la microbiota en la cadena de producción de jamón de cerdo cocido asociado al deterioro por abombamiento del empaque. *Alimentos Hoy*, 19(21), 1-19. Recuperado de <http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/48>
- Pastor, R., Alfonso, A. y Sastre, S. (2017). *Consideraciones sobre la manipulación de productos cárnicos, de la pesca y productos congelados*. Cátedra Banco de Alimentos de la UPM. Recuperado de <https://www.bancodealimentos.es/wp-content/uploads/2017/10/MANIPULACION-DE-CARNE-PESCADOS-Y-PRODUCTOS-CONGELADOS.pdf>
- Parra, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-105. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1692-35612010000100012](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1692-35612010000100012)
- Pastor, R., Afonso, A., y Sastre, S. (2017). *Consideraciones sobre la manipulación de productos cárnicos, de la pesca y productos congelados*. Cátedra Banco de Alimentos de la UPM. Recuperado de <https://www.bancodealimentos.es/wp-content/uploads/2017/10/MANIPULACION-DE-CARNE-PESCADOS-Y-PRODUCTOS-CONGELADOS.pdf>
- Pérez, D., y Andújar, G. (2000). Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 14(2), 114-123. Recuperado de [http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol14\\_2\\_00/ali07200.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol14_2_00/ali07200.htm)
- Pérez, M. L., y Ponce, E. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio. Tecnología de Carnes*. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México. Recuperado de <http://docplayer.es/68174368-Manual-de-practicas-de-laboratorio.html>
- Petrifilm 3M. (2004). *3M placas Petrifilm™ para el recuento de aerobios. Recomendaciones de uso*. Recupeerado de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount\\_19100.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount_19100.pdf)



- Prado, L. A. (s.f). *Microbiología de la carne fresca y procesada*. Universidad Autónoma Metropolitana. Recuperado de <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/lapb/MicroCARNES.pdf>
- Pulla, P. V. (2010). *Embutidos crudos y cocidos*. Curso: *Procesos Agroindustriales III*. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Puerto Maldonado, Perú. Recuperado de <http://www.monografias.com/trabajos-pdf4/embutidos-crudos-y-cocidos/embutidos-crudos-y-cocidos.pdf>
- Ramírez, J. C., Rosas, P., Velázquez, M. Y., Ulloa, J. A., y Arce, F. A. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2(7), 1-16. Recuperado de <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>
- Ray, B. (2004). *Fundamental food microbiology*. Third Edition. Washington, USA: CCR Press. Recuperado de <http://nuristianah.lecture.ub.ac.id/files/2014/09/fundamental-food-microbiology.pdf>
- Restrepo, D. A., Arango, C. M., Amézquita, A. A., y Restrepo, R. A. (2001). *Industria de Carnes*. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de <https://decarnes.wikispaces.com/file/view/Libro+de+carnes.pdf>
- Robina, R. (2012). *Algunas definiciones prácticas*. Instituto Nacional de Carnes. 2º Congreso del Campo al Plato (2002) y con actualizaciones en el 2009 y 2012. Recuperado de [http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas\\_definiciones\\_practicas.pdf](http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/6351/1/algunas_definiciones_practicas.pdf)
- Rogriguez., M.(1998), *Envasado de Alimentos bajo atmosfera protectora., alimentación, equipos y tecnología., Vol. 5, Madrid- España., Pp 87 - 92*
- Rodríguez, E., Hernández, M., y Álvarez, B. L. (2013). Caracterización del deterioro microbiano de jamón de pavo y cerdo empacado al vacío. *Mundo Lácteo y Cárnico*. [info@mundolacteoycarnico.com](mailto:info@mundolacteoycarnico.com). p. 28-30. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/157556476/Caracterizacion-del-Deterioro-Microbiano-de-Jamon-de-Pavo-y-Cerdo-Empacado-al-Vacio>
- Roncalés, P. (2010). *Optimización de los sistemas de envasado y de la conservación de alimentos*. Zaragoza, España: Academia de Farmacia “Reino de Aragón”. Recuperado de <http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento33.pdf>



- Rubio, R. (2014). *Productos cárnicos fermentados-curados funcionales y seguros. Nueva vía de ingestión de probióticos* (Tesis doctoral). Universitat de Girona, Girona, España. Recuperado de <http://dugi-doc.udg.edu:8080/bitstream/handle/10256/9821/trrm.pdf?sequence=5>
- Samaniego, L. M., y Sosa del Castillo, M. (2000). *Lactobacillus spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora*. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior. Recuperado de <http://beduniv.reduniv.edu.cu/index.php?page=13&id=212&db=0>
- Siegel, S., y Castellan, N. J. (1995). *Estadística No Paramétrica: aplicada a las ciencias de la conducta*. 4ª Edición. México: Editorial Trillas.
- Schmidt, H. (1984). *Carne y productos cárnicos. Su tecnología y Análisis*. Santiago de Chile, Chile: Fundación Chile. Recuperado de <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/121407>
- Solanilla, J. F. (2009). *Elaboración de productos cárnicos*. Universidad de Tolima, Colombia. Recuperado de <https://es.scribd.com/doc/49105447/Elaboracion-de-productos-carnicos>
- Statistix 7. (2000). Analytical Software for Windows. Versión 7.
- Tirado, J., Paredes, D., Velázquez, G., y Torres, J. A. (2005). Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados Microbial growth in refrigerated meat products. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(1), 66-76. DOI: 10.1080/11358120509487673 Recuperado de <https://doi.org/10.1080/11358120509487673>
- Tirado, J., Paredes, D., Velázquez, G., y Torres, J. A. (2006). Control de la cadena de frío para productos cárnicos refrigerados. *Industria Alimentaria*, Marzo/Abril, 22-26. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/264003181\\_Control\\_de\\_la\\_cadena\\_de\\_frío\\_para\\_productos\\_carnicos\\_refrigerados\\_Cold\\_chain\\_control\\_for\\_refrigerated\\_products](https://www.researchgate.net/publication/264003181_Control_de_la_cadena_de_frío_para_productos_carnicos_refrigerados_Cold_chain_control_for_refrigerated_products)
- Universidad Católica Agropecuaria del Trópico Seco (UCATSE). Pbro. "Francisco Luis Espinoza Pineda". Fundación 1968-2011. (s.f). *Tecnología de cárnicos*. Agroindustria II. Ingeniería Agropecuaria. Recuperado de <https://ricarducatse.files.wordpress.com/2011/02/folleto-carnico-2012.pdf>



- Vaca, L. G. (2013). *Régimen simplificado de determinación presuntiva para el sector carnico del Ecuador* (Tesis de maestría). Instituto de Altos Estudios Nacionales, Universidad de Postgrado del Estado, Quito, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.iaen.edu.ec/handle/24000/3963>
- Venegas, O., y Valladares, C. 1999. Clasificación de los productos cárnicos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 13(1), 63-67. Recuperado de [http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol13\\_1\\_99/ali11199.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol13_1_99/ali11199.pdf)
- Victoria-León, T., Totosaus, A., Guerrero, I., y Pérez-Chabela, M. L. (2006). Efecto de bacterias ácido lácticas termoresistentes en salchichas cocidas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(2), 135-141. DOI: 10.1080/11358120609487684 Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358120609487684>
- Zurbruggen, C. J. (2009). *Comparación de los diversos factores que influyen sobre el desarrollo del color en las distintas etapas de elaboración de pastas de productos cárnicos crudos-curados* (Tesis de maestría). Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. Recuperado de <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/265/tesis.pdf?sequence=1>
- 3M. Ciencia. Aplicada a la Vida. (2017). Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup>. Guía de interpretación. Recuperado de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409672O/guia-interpretacion-petrefilm-acido-lactica.pdf>
- Giraldo, G. I. (1999). *Métodos de estudio de vida de anaquel de los alimentos*. Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Colombia. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/51276/1/metodosdeestudiodevidadeanaqueldelosalimentos.pdf>



## ANEXOS





**Anexo 1. Relación de cada superficie con el producto cárnico en proceso.**

N°	Equipo en contacto	Área	Producto en contacto			
			Carne fileteada de res	Jamón sandwichero	Mortadela especial	Salchicha vienesa
1	Vc 99	Carnes	X			
2	Mesa 1	Carnes	X			
3	Balanza 1	Carnes	X			
4	Balanza 2	Carnes	X		X	X
5	Mesa 2	Carnes	X		X	X
6	Banda superior	Carnes	X	X	X	X
7	Tenderizador	Producción		X		
8	Molino	Producción		X	X	X
9	Mezclador 1	Producción		X		
10	Mezclador 2	Producción		X	X	X
11	Mezclador 3	Producción			X	X
12	Embutidora 2	Producción		X	X	X
13	Embutidora 3	Producción		X	X	X
14	Tajadora 1 cuchilla	Empaques		X	X	
15	Tajadora 1 banda	Empaques		X	X	
16	Tajadora 2 cuchilla	Empaques		X	X	
17	Tajadora 2 banda	Empaques		X	X	
18	Termoformadora ULMA	Empaques		X	X	X
19	Termoformadora VC99	Empaques		X	X	X
20	Mesa bandeja - salchichas	Empaques				X
21	Emp VC99 K7	Empaques				X



Anexo 2. Código alfabético del tamaño de la muestra

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

Anexo 3. Planes de muestreo simple para la inspección normal

Letra código del tamaño de muestra	Tamaño de la muestra	Limite aceptable de calidad, AQL, en porcentaje de ítems no-conformes y no conformidades por 100 ítems (inspección normal)																									
		0,010	0,015	0,025	0,040	0,065	0,10	0,15	0,25	0,40	0,65	1,0	1,5	2,5	4,0	6,5	10	15	25	40	65	100	150	250	400	650	1000
A	2	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
B	3	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
C	5	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
D	8	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
E	13	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
F	20	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
G	32	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
H	50	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
J	80	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
K	125	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
L	200	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
M	315	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
N	500	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
P	800	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Q	1250	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
R	2000	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓

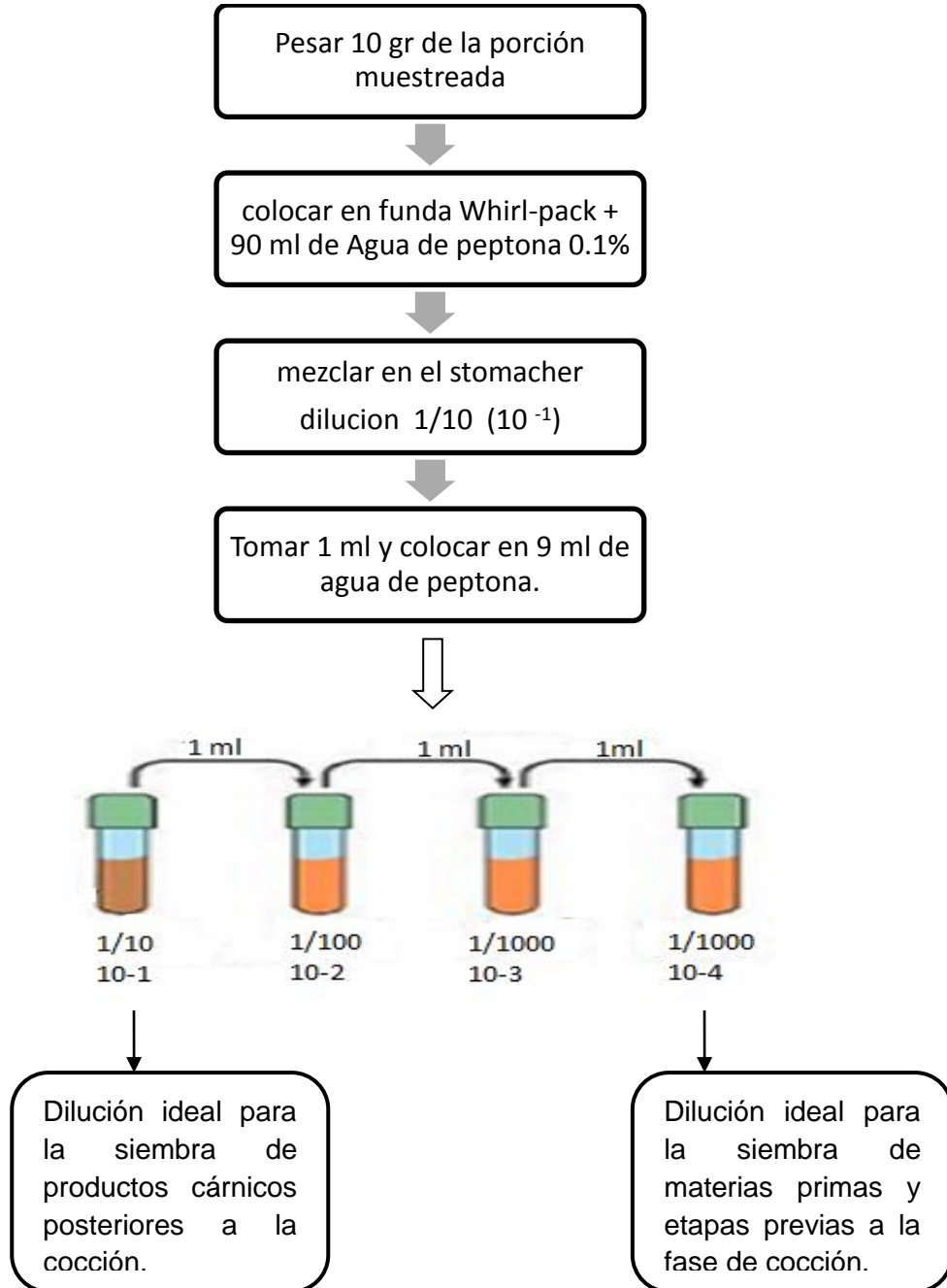
↘ = Usar el primer plan de muestreo de debajo de la flecha. Si el tamaño de la muestra iguala, o excede, el tamaño de la muestra, hacer una inspección al 100%.

↗ = Usar el primer plan de muestreo por encima de la flecha.

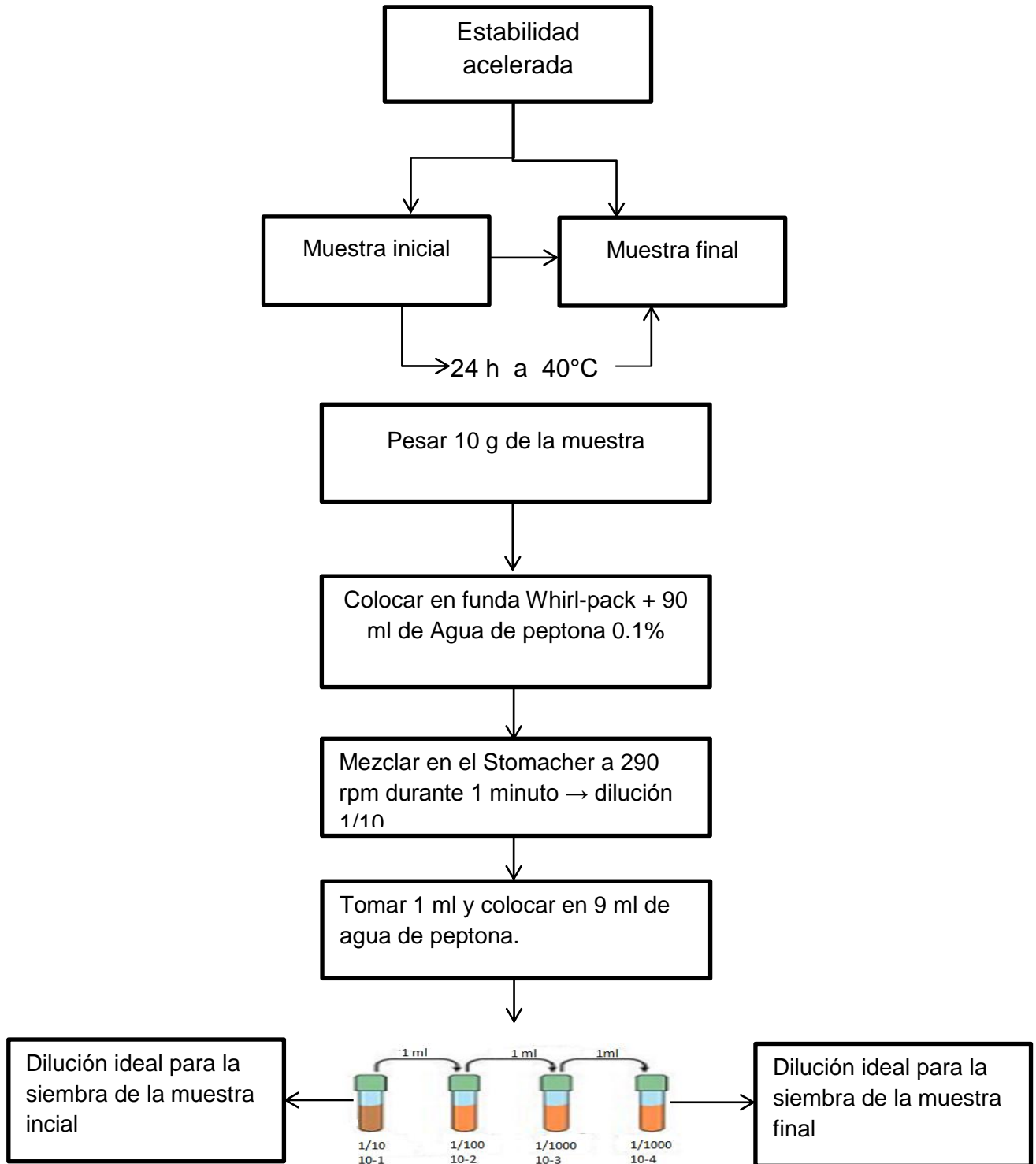
Ac = Número de aceptación.

Re = Número de rechazo.

**Anexo 4. Procedimiento para obtener la dilución ideal**



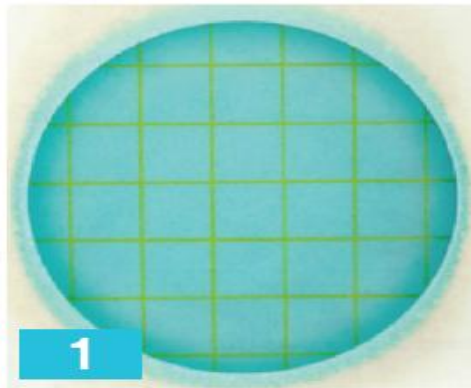
**Anexo 5. Procedimiento para realizar la estabilidad acelerada**



Incubar a 37°C por 48 h

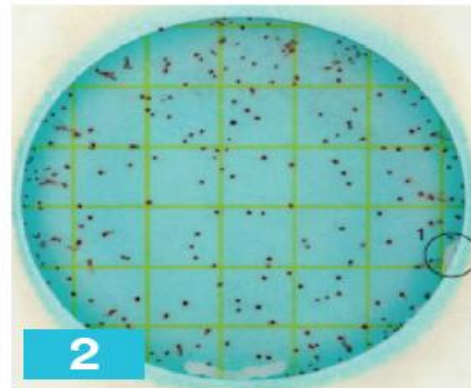
Anexo 6. Guía de interpretación Petrifilm para bacterias ácido lácticas

**Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®**



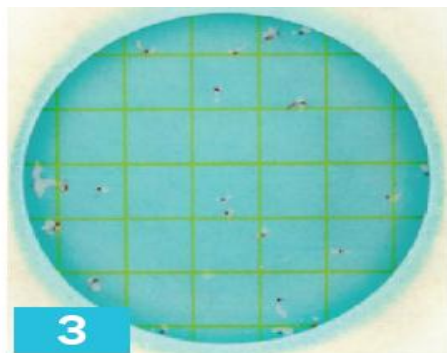
**Figura 1**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 0

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



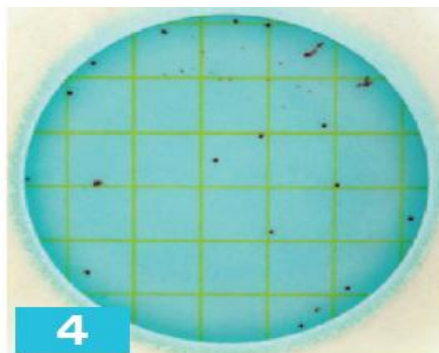
**Figura 2**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 236

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



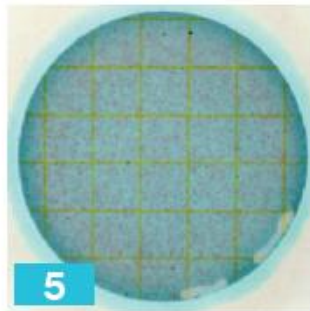
**Figura 3**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 24

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



**Figura 4**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 38

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



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

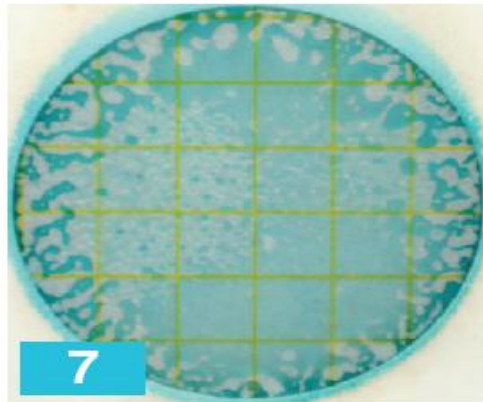


**Figura 6A**  
Recuento total de Bacterias  
Ácido Lácticas = MNPC (muy  
numerosas para contar)



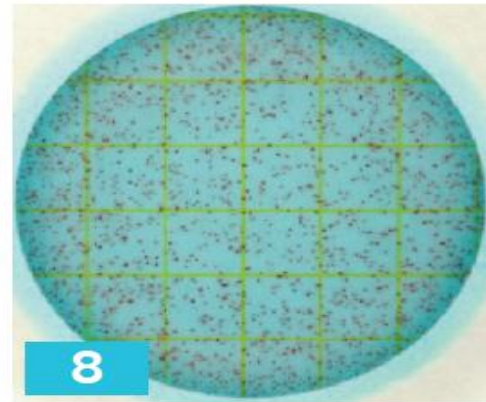
**Figura 6B**  
Recuento total de Bacterias  
Ácido Lácticas = 0

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



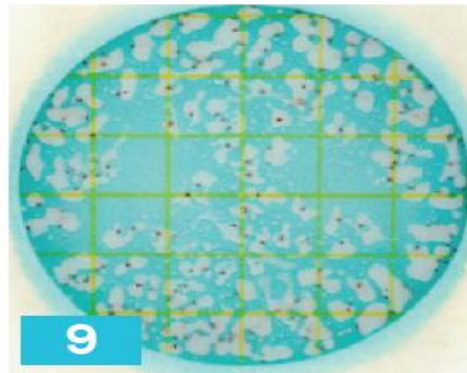
**Figura 7**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas =  
MNPC (muy numerosas para contar)

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



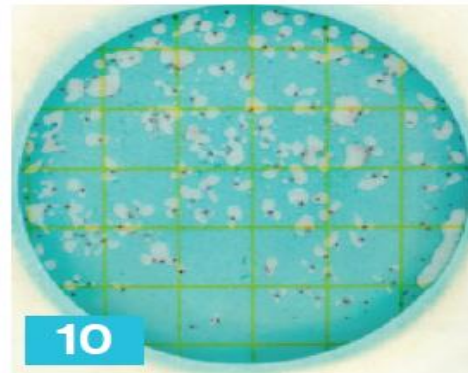
**Figura 8**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 1,500

Cuando el número de colonias sin gas es mayor a 300, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



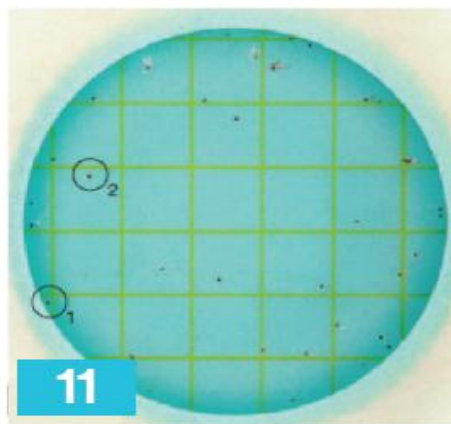
**Figura 9**  
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 250

Cuando el número de colonias con gas es mayor a 150, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



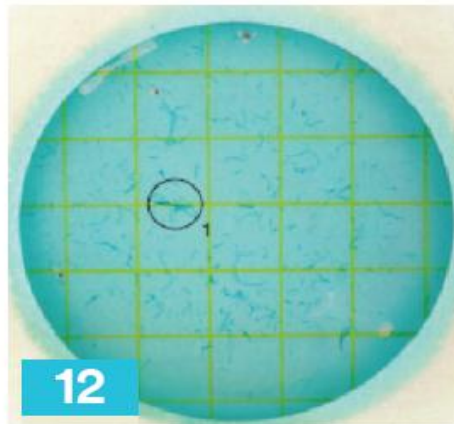
**Figura 10**  
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 165

Se debe estimar el recuento en las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> cuando el número de colonias con o sin gas sea mayor a 150. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



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

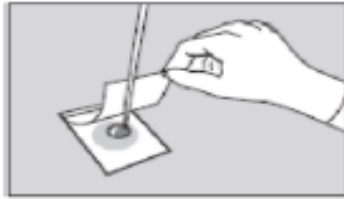
En la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> se puede diferenciar las colonias de Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas de las heterofermentativas. Las Bacterias Ácido Lácticas heterofermentativas (círculo 2) están definidas como colonias rojas e íntimamente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



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

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

## Inoculación



3

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

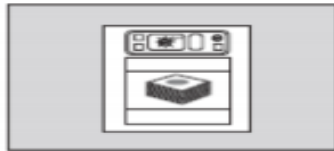


4

Bajar con cuidado la película superior sobre la muestra para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer. Colocar el Difusor 3M® Petrifilm® (#8425 del catálogo) en el centro de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® sobre el inóculo. Presionar con suavidad en el centro del Difusor 3M® Petrifilm® para distribuir la muestra uniformemente. No gire ni deslice el difusor. Retirar el Difusor 3M® Petrifilm® y espere sin mover la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® como mínimo por un minuto hasta que solidifique el gel.



## Incubación



5

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

## Interpretación



6

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



7

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



## Burbujas

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



Las imágenes a continuación deben enumerarse como dos colonias.



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