



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

“Empleo de factores combinados en la  
conservación de una butifarra fresca”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUÍMICA EN ALIMENTOS**

P R E S E N T A :

**ALEJANDRA CAMPOS ZAPETT**



MEXICO, D.F.



2005

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

m350895



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Prof. Marcos Francisco Baez Fernández

Vocal: Prof. Miguel Angel Hidalgo Torres


Secretario: Lic. Tatiana Beldarraín Iznaga

1er Sup.: Gabriela Alatorre Garcia

2do. Sup.: Jose Mendoza Balanzario

Esta tesis se realizó en las instalaciones del **Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria** (IIIA) en la planta de carné en la ciudad de La Habana Cuba, bajo la supervisión de la Lic. Tatiana Beldarraín Iznaga. El trabajo fue apoyado por la **Asociación de Tecnólogos en Alimentos de Cuba** (ACTAC).

Asesora del tema:



Lic. Tatiana Beldarraín Iznaga

Sustentante:



Alejandra Campos Zapett

*Pasos cortos, mirada larga y malas intenciones.....*

**A mis papis, por dar cada día el alma misma por nosotras,  
A mis hermanitas Sully, Eve y Mari, por que son lo mejor que tengo  
Y a Dios por darme la oportunidad de estar con ellos.**

Para ustedes:

A ti Mimi por todo tu cariño e innumerables atenciones, pero sobre todo por el gran apoyo que eres para mi.

A toda la gente del IIIA por su amistad y por todo el cariño con el que me trataron en mi breve pero inolvidable estancia. Los extraño.

A Josué por todos los bellos momentos y por todo lo que aprendimos juntos, en esta y las siguientes vidas, lo volvería hacer.....

A Jocz por su sincera amistad y todo su apoyo.

A Toño por que siempre ha estado ahí en estos últimos 10 años, por todo su cariño.

A mis comadres Diana y Magali por esas largas horas de café en que podemos resolver el mundo, por que hemos crecido y vivido juntas.

A Victor por saber escucharme durante todos estos años, por todo su cariño y por todos sus consejos para que cada día sea mejor.

A el Churre, por todas las molestias que le he causado y por ser tan grande.

A Ibra, por que la distancia no es el olvido.....

A mis tías Adriana y Mary por consentirme y apoyarme toda mi vida.

A todos mis nuevos compañeros de Mac'Ma por soportarme todos los días y comprender mis crisis.

A Ricardo Jasso, por su minuciosa revisión y por que siempre estará presente.

Gracias por ser la causa de la sonrisa en mis labios....

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme a los mejores profesores y conocimientos.

A el Dr .Jesús Yánez Querejeta por su hospitalidad, apoyo y confianza. Sin su ayuda no habría sido posible este trabajo.

A la Lic. Tatiana Beldarraín por todo su empeño, tiempo y dedicación. Gracias por su amistad y cariño.

A la Lic. Yamira Bentancourt por su incondicional ayuda, por su amistad sincera y por ser alguien tan especial.

A todos los investigadores de la planta de carne del IIIA por todos sus trabajos, compañerismo y por enseñarme que siempre se logra lo que se quiere.

A la Profra. Gabriela Alatorre por todo el tiempo y dedicación que me ha dedicado, gracias por todas sus atenciones.

A el Profesor Miguel Hidalgo por su valiosa amistad y ser mucho más que un maestro para todos nosotros.

A el Profesor Marcos Baez por sus correcciones y sus buenas lecciones.

A el Profesor José Balanzario por su disposición y atenciones.

A todos los profesores de la facultad de Química que tuvieron que lidiar conmigo y que me dieron lo mejor de sus conocimientos.

## TABLA DE CONTENIDO

Índice de Figuras

Índice de Tablas

RESUMEN

JUSTIFICACIÓN

1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. ANTECEDENTES .....	6
2.1.-Alteraciones de las carnes .....	6
2.2.- Alteraciones sufridas por los diferentes tipos de productos cárnicos.....	6
2.3.- Deterioro microbiológico .....	7
2.4.- Métodos de conservación de la carne. Tecnología de obstáculos .....	8
2.4.1.- Aplicaciones de la tecnología de los obstáculos. ....	9
2.4.2.-Barreras Físico-Químicas .....	10
2.4.2.1.- Temperatura.....	10
2.4.2.2.- Actividad de agua (aw).....	11
2.4.2.3.- pH .....	13
2.4.2.4.- Potencial Redox (Eh) .....	14
2.4.2.5.- Empleo de preservantes.....	14
2.4.2.5.1.- Sal Común ( NaCl).....	15
2.4.2.5.1.1.-Papel bacteriostático.....	15
2.4.2.5.1.2.- Acción sobre las proteínas.....	15
2.4.2.5.2.- Condimentos.....	16
2.4.2.5.3.- Pigmentos de las carnes curadas.....	16
2.4.2.5.3.1.- Nitritos y nitratos.....	17
2.4.2.5.3.2.- Nitritos y compuestos N- nitrosos.....	17
2.4.2.5.3.- Ácido sórbico y Sorbatos (E-200 AL E-203).....	19
2.4.2.5.3.1.- Aspectos sanitarios .....	21
2.4.2.5.3.2.- Normas legales .....	22
2.4.2.5.3.3.- Acción contra los microorganismos .....	22
2.5.- Envasado al vacío.....	23
2.5.1.- Deterioro microbiano de los productos cárnicos envasados al vacío.....	24



2.5.2.- Microflora de productos cárnicos envasados al vacío.....	24
2.5.3.- Microorganismos deteriorantes .....	24
2.5.4.- Presencia de patógenos.....	26
2.5.5.- Factores que influyen en el desarrollo de la microflora de los productos cárnicos envasados al vacío. ....	28
2.5.5.1.- Temperatura de almacenamiento.....	28
2.5.6.- Higiene del proceso y carga microbiana inicial. ....	29
2.5.7.- Proceso de envasado.....	29
2.5.8.- Características del producto que afectan a las necesidades de envasado. ....	31
2.5.8.1.- Color.....	31
2.5.8.2.- Humedad. ....	32
2.5.8.3.- Características organolépticas. ....	33
2.5.9.- Materiales de envasado y características.....	33
2.5.9.1.- Películas compuestas.....	33
2.6.- Durabilidad.....	36
2.6.1.- Determinación de la durabilidad .....	36
2.6.1.1.- Establecer la finalidad del estudio de durabilidad.....	37
2.6.1.2.- Conocer las propiedades físicas y químicas del producto. ....	38
2.6.1.3.- Establecer las variables que pueden intervenir en el estudio.....	38
2.6.1.4.- Conocer las condiciones de distribución y almacenamiento.....	38
2.6.1.5.- Escoger el parámetro o parámetros a emplear como criterio de rechazo.....	38
2.6.1.6.- Elegir el método de ensayo para medir los cambios en el mismo.....	39
2.6.1.7.- Establecer un diseño experimental .....	39
2.6.2.- Diseños experimentales para determinar la durabilidad.....	41
2.6.2.1.- Diseño parcialmente escalonado .....	41
2.6.2.2.- Diseño escalonado.....	41
2.6.2.3.- Diseño completamente escalonado .....	42
2.6.3.- Criterios de rechazo.....	42
2.6.4.- Procesamiento de los resultados.....	43
3.-HIPOTESIS:.....	45
4.-OBJETIVOS.....	46
5.- PARTE EXPERIMENTAL.....	47

5.1.- MATERIALES Y MÉTODOS .....	47
5.1.1.- Selección de las materias primas .....	47
5.1.2.- Preparación de las variantes .....	47
5.1.3.- Caracterización del producto .....	48
5.1.4.- Evaluación de los rendimientos.....	50
5.1.5.- Caracterización del material de empaque.....	50
5.1.6.- Estudio de conservación .....	51
5.1.7.- Procesamiento de los resultados .....	52
6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
6.1.- Resultados de la caracterización de las materias primas cármicas y los productos	53
6.2.- Resultados de la evaluación de los rendimientos del producto .....	55
6.3.- Resultados de la caracterización del material de envase .....	56
6.4.- Resultados del estudio de conservación .....	57
7.-CONCLUSIONES .....	65
8.-PERSPECTIVAS .....	66
9.-ANEXOS.....	67
10.-REFERENCIAS .....	71

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>pagina</b>
Figura 1 Fundamento de la tecnología de obstáculos.....	9
Figura 2 Reacciones del pigmento hemo de las carnes frescas y curadas.....	18
Figura 3 Estructura del ácido sórbico.....	19
Figura 4 Modelo del reporte empleado durante el estudio de conservación para la evaluación sensorial de las variantes.....	51
Figura 5 Grafico obtenido del programa de computo con los resultados procesados de las evaluaciones sensoriales para la Variante 2.....	Anexo
Figura 6 Comportamiento del pH de las 4 variantes de butifarras frescas, durante el estudio de durabilidad.....	60
Figura 7 Valores medios de los conteos totales de microorganismos aerobios mesófilos.....	61
Figura 8 Valores medios de los conteos de microorganismos psicrófilos.....	62
Figura 9 Valores medios de los conteos de levaduras.....	64

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>pagina</b>
Tabla 1 Valores mínimos de actividad acuosa para los microorganismos que provocan la descomposición de los alimentos.....	12
Tabla 2 Valores promedio de pH y aw de carne y productos cárnicos.....	13.
Tabla 3 Criterios de rechazo en la evaluación sensorial (Cantillo y col., 1994).....	43
Tabla 4 Formulación típica de butifarra fresca.....	47
Tabla 5 Caracterización fisicoquímica de las materias primas cárnicas. Valores medios de las tres corridas.....	53
Tabla 6 Valores medios de la caracterización fisicoquímica del producto terminado al inicio del experimento.....	54
Tabla 7 Valores medios de los resultados microbiológicos de las materias primas cárnicas ( $\log_{10}$ UFC/g).....	54
Tabla 8 Valores medios de los resultados microbiológicos del producto terminado al inicio del experimento ( $\log_{10}$ UFC/g).....	55
Tabla 9 Peso base de espesor de las capas que componen la película compleja .....	56
Tabla 10 Permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, resistencia al sellado térmico de las bolsas.....	57
Tabla 11 Resultados obtenidos en el análisis sensorial de las butifarras Variante 2.....	58
Tabla 12 Tabla obtenida del programa de computación “ploteo de riesgos” con los datos obtenidos en el análisis sensorial de las butifarras Variante 2.....	Anexo
Tabla 13 Tiempo de durabilidad (días). Valores del percentil 5% para las cuatro variantes de butifarras frescas.....	59

**RESUMEN**

Con el desarrollo de la humanidad, el hombre ha utilizado de manera empírica métodos artesanales de conservación de los productos cárnicos. Estos métodos están basados en la combinación de varios factores que interaccionan aditiva o sinérgicamente controlando la proliferación microbiana. Leistner, en 1978 introdujo el concepto de tecnología de obstáculos para definir una serie de barreras que garantizan la estabilidad microbiológica y la seguridad de los alimentos nuevos y tradicionales, es decir, con la combinación de 2 o más métodos de conservación se pueden obtener productos estables, inocuos y posiblemente más baratos. En la Industria Cárnica, el método más comúnmente empleado en la preservación de los productos es la refrigeración, pero esta operación sólo permite mantener el producto en buenas condiciones un tiempo relativamente corto. Un ejemplo es la butifarra fresca, un producto perecedero producido por el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia y que posee una corta vida de anaquel (menos de una semana a  $T = 2-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y Humedad Relativa (HR)= 95 %). En este producto como en todos los productos cárnicos, si no se toman las medidas higiénicas necesarias, pueden proliferar microorganismos patógenos y otros, causantes de cambios deteriorativos. La combinación de varios factores como la variación del potencial Redox y el empleo de un preservante químico (sorbato de potasio) unido a las buenas prácticas de elaboración, pueden elevar la vida de anaquel de estos productos más de 2 semanas. El objetivo del presente trabajo fué extender la vida de anaquel de una butifarra fresca empleando factores combinados. Para dar cumplimiento a este objetivo se elaboraron 4 variantes de la butifarra fresca utilizando la fórmula tradicional (carne de cerdo y condimentos). Se nombró Variante 1 a la fórmula tradicional y 2 a la que contenía 1000 ppm de sorbato de potasio, estas dos variantes se almacenaron colgadas en estantes sin recubrimiento. Las variantes 3 y 4 fueron envasadas en bolsas al vacío, conteniendo la 4, 1000ppm de sorbato de potasio. Todas las variantes se almacenaron en la misma nevera a una temperatura de 2 a 5°C y HR= 95%. Se realizaron estas 4 variantes con el fin de elegir la mejor de ellas para la conservación de este producto. Al inicio del experimento las variantes se caracterizaron físico-química (pH, Proteína, Grasa, Humedad, Cloruros y Nitritos), microbiológica (Conteo Total de Mesofilos Aerobios, Coliformes Totales, Levaduras y Psicofilos) y sensorialmente (Escala de calidad de 7 puntos). Esta última evaluación se realizó empleando un panel de jueces adiestrados que evaluaron los atributos: aspecto, sabor, color y textura. Los resultados de la evaluación

sensorial se trataron por medio del programa de computo "ploteo de riesgos". Durante el estudio de vida de anaquel las variantes se analizaron basándonos en un diseño parcialmente escalonado, mediante una prueba de aceptación-rechazo realizada por el mismo panel de jueces, hasta que el producto se consideró rechazable. También se midió el valor del pH y se realizaron evaluaciones microbiológicas a lo largo de todo el estudio. Se consideró como criterio de rechazo la evaluación sensorial. Para la elección de la mejor variante se tomó en consideración la de mayor vida de anaquel, siendo ésta la variante que contenía 1000ppm de sorbato de potasio, envasada en bolsas al vacío. La vida de anaquel estimada para esta variante fue de 32 días en las condiciones de almacenamiento antes mencionadas.

## JUSTIFICACIÓN

El IIIA es un Instituto fundado en 1978 en la ciudad de la Habana Cuba, con el principal objetivo de llevar acabo trabajos de investigación en sus 8 plantas pilotos: carné, vegetales, lácteos, cereales, agua, aromas, chocolate y bebidas.

Actualmente cada planta lleva acabo la producción de diferentes productos que se ofertan al comercio en divisa, esto para el sustento de las mismas, además de seguir haciendo trabajos de investigación.

La temperatura de este país oscila entre los 20 y 40°C, debido a estas elevadas temperaturas, en la planta de carné donde se llevo acabo este trabajo, se busca la manera de conservar los productos cárnicos más perecederos como es el caso de la butifarra fresca; un producto de vida de anaquel menor a una semana y cuya principal vía de deterioro es por bacterias ácido lácticas, los principales defectos que presenta este producto son untuosidad y acidificación.

Se busca conservar este producto sin tener que recurrir a la congelación, ya que durante su distribución es imposible continuar la cadena de frío.

Por medio de este trabajo, queremos proponer a las autoridades correspondientes que tomen en cuenta los convenios-intercambios entre países y/o instituciones; ya que además de cumplir con los objetivos de un trabajo de tesis, se ha logrado concretar y aplicar los conocimientos adquiridos durante mi formación profesional en problemas reales, con la oportunidad de intercambiar conocimientos y técnicas de trabajo con investigadores expertos en el tema de los alimentos y otras áreas. Lo que en conjunto me ha ofrecido un enriquecimiento como persona y profesionista.

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los atributos que más valoran los consumidores en los alimentos es que sean frescos o en otros términos, que no estén perceptiblemente envejecidos, es por eso la importancia de definir la durabilidad de los productos. Existen varias vías artesanales desarrolladas empíricamente, e incluso, tecnologías tradicionales de conservación empleadas actualmente en la industria de alimentos cuya base está constituida por una combinación de factores que interaccionan aditiva o sinérgicamente controlando la población microbiana en los alimentos. Estas tecnologías conocidas también como “tecnologías de factores combinados”, están atrayendo considerablemente interés en los últimos años ya que evitan la aplicación de un solo factor de preservación en forma severa con la consiguiente mejora en la calidad nutricional y organoléptica del alimento (Leistner, 2000).

La carne es uno de los alimentos más perecederos, debido a que constituye un medio ideal para el desarrollo de todos los microorganismos. Este hecho ha estimulado el uso de aditivos especialmente aquellos que actúan como conservantes y exaltadores de la calidad de los alimentos. Esto, unido al aumento de la población mundial implica la necesidad de desarrollar productos con buenas características organolépticas, de larga vida de anaquel y, por ende, más económicos (Beldarraín, 2003).

Dependiendo de lo que se entienda por calidad satisfactoria, se puede considerar que el **límite de durabilidad** se alcanza cuando puede detectarse una diferencia con relación al producto fresco, cuando el producto resulta rechazable organolépticamente, o cuando su composición química o carga microbiana se desvían de ciertos límites establecidos (Herrera, 1998).

La butifarra fresca cubana es un producto elaborado con carne de cerdo, popular en los años 60 y del cual se pretende extender su vida de anaquel empleando factores combinados, para su posible producción en el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria (IIIA).



Por lo tanto, los objetivos específicos del presente trabajo estarán encaminados a:

1. Evaluar las características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales del producto recién elaborado.
2. Evaluar los rendimientos.
3. Caracterizar el material de empaque.
4. Determinar la influencia del empleo de sorbato de potasio y el envasado al vacío o la combinación de estos factores sobre la vida de anaquel de la butifarra fresca.
5. Definir la combinación de factores de conservación más adecuada para aumentar la vida de anaquel del producto.

Se seleccionó el sorbato de potasio y su dosis de empleo, porque está aceptado en el CODEX Alimentario, además se ha empleado en diferentes alimentos, incluyendo los productos cárnicos envasados en bolsas al vacío, con buenos resultados (Hernández, 1987; Jane y col., 1995; Herrera y col., 1996; Herrera, 1998).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1.-Alteraciones de las carnes

La carne fresca está expuesta a modificaciones debidas a sus propias enzimas y a la actividad de los microorganismos, además su grasa también puede ser oxidada químicamente. Las modificaciones autolíticas incluyen cierta acción proteolítica sobre los tejidos muscular y conjuntivo y una ligera hidrólisis de las grasas. Al defecto ocasionado por la excesiva autólisis se le ha denominado “agriado”, término inexacto que se ha aplicado a diversos tipos de alteraciones de los alimentos y, de hecho, a casi todos los tipos de alteraciones que desprendan un olor ácido (Herrera, 1998).

La carne sufre dos tipos de deterioro: **endógeno** (causado por las enzimas de la carne (generalmente no presentes en los productos debido al tratamiento térmico u otras sustancias empleadas durante el proceso de elaboración)) y **exógeno** (causado principalmente por la actividad microbiana). Ambas vías están relacionadas entre sí de alguna medida. El deterioro causado por algunas enzimas facilita el desarrollo de microorganismos que no pueden degradar las proteínas por sí mismas al carecer de las enzimas necesarias (Beldarraín, 2003).

En general y debido a las condiciones ambientales particulares sólo una pequeña parte de la flora presente se desarrolla y provoca alteraciones, a veces dos o tres que pueden incluso ser aquellas que no predominan en el alimento al inicio. Debido al crecimiento microbiano se efectúan cambios en la carne, dependiendo fundamentalmente del tipo de ataque que sufra el principal componente de esta: las proteínas.

### 2.2.- Alteraciones sufridas por los diferentes tipos de productos cárnicos

El tratamiento a que se someten las carnes: curado, ahumado, deshidratación, enlatado etc., altera sus proporciones características y las de su flora microbiana lo suficiente como para estimular la aparición de alteraciones que no sufre la carne fresca. Las carnes molidas y refrigeradas poseen recuentos microbianos superiores a la canal y en ella se pueden encontrar *Micrococcus spp*, *Pseudomonas spp*, psicrófilos entre otros grupos.

### 2.3.- Deterioro microbiológico

No todos los microorganismos presentes en un alimento son causantes de deterioro mientras que éste se ve afectado por diferentes factores que tienen que ver directamente con aspectos de la ecología bacteriana.

Factores como temperatura, pH, actividad de agua ( $A_w$ ), potencial redox (Eh) y la presencia de inhibidores gaseosos, son capaces de determinar la microflora de un alimento y el control de los mismos condiciona la cantidad y variedad de microorganismos presentes.

La carne posee los requerimientos nutricionales necesarios para permitir el desarrollo de bacterias, levaduras y mohos por poseer un pH óptimo y una elevada  $A_w$ . Entre las alteraciones más comunes que se producen en las carnes encontramos la untuosidad producida por microorganismos del género *Pseudomonas*. Algunas especies del género son capaces de provocar pigmentaciones. Estos microorganismos producen compuestos que alteran el sabor tornándolo desagradable y crecen rápidamente en las canales y en los cortes de carne almacenadas en refrigeración, siendo los máximos responsables del deterioro de la carne a bajas temperatura: *Pseudomona fluorescens* y *Pseudomona putida*. También son productores de untuosidad alguna especie de los géneros *Acinobacter spp* y *Alcaligenes spp* (Ingram y Simonsen, 1980).

La decoloración superficial es otra de las manifestaciones más representativas del deterioro de la carne, siendo producida especialmente por el género *Flavobacterium sp*. Es importante mencionar además a la putrefacción, que es producida entre otras por microorganismos del género *Proteus spp*.

La contaminación microbiana inicial es muy variable y difícil de controlar, influyendo las condiciones de almacenamiento; ya que éstas pueden presentar amplias variaciones: el tipo y material de envase, temperatura, humedad relativa ambiental, etc, lo que puede condicionar un tiempo de durabilidad diferente.

Por todas estas razones la durabilidad de los productos es muy variable y difícil de controlar a pesar de que se apliquen los métodos de preservación adecuados en cada caso; no pudiéndose determinar con exactitud cuando es que se extingue exactamente la vida útil del producto.

#### **2.4.- Métodos de conservación de la carne. Tecnología de obstáculos**

La estabilidad microbiológica y la seguridad de los alimentos nuevos y tradicionales está basada en una combinación de factores conservantes (llamados obstáculos) donde los microorganismos presentes en los alimentos son incapaces de superarlos. Al combinar 2 o más métodos de conservación se pueden obtener productos más estables, inocuos y posiblemente más baratos. Esta tecnología fue desarrollada por Leistner y colaboradores en 1978 y se ha convertido en la base de muchos métodos de conservación (Leistner, 1999; Leistner, 2000).

El término “obstáculo” es de gran importancia para la preservación de los alimentos y en sí se puede definir como la combinación de una serie de parámetros con el fin de controlar el crecimiento de los microorganismos para mantener e incrementar su vida útil sin que se afecten las cualidades organolépticas y nutricionales.

Para el productor de alimentos, los obstáculos se deben aplicar desde el inicio de los procesos, controlando la calidad en la materia prima, higiene de las instalaciones, personal, proceso y equipo.

En la preservación de alimentos, con la combinación de los parámetros tales como: temperatura, pH, potencial Redox, actividad de agua, uso de preservantes y competitividad de los microorganismos, entre otros, se da el hecho de que el uso de cada uno de ellos se minimiza y, a la vez, se hace más efectivo.

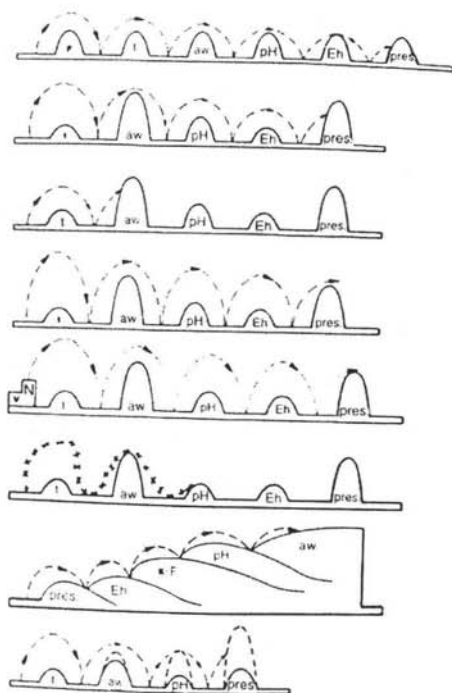


Fig 1.- Fundamento de la tecnología de obstáculos

#### 2.4.1.- Aplicaciones de la tecnología de los obstáculos.

En general los alimentos contienen niveles elevados de humedad y valores de actividad de agua entre 0,95 y 1,00. En este rango, la concentración de solutos en el agua no es suficiente para impedir la actividad bioquímica y microbiológica y el alimento se deteriorará a temperatura ambiente.

Con el desarrollo de la tecnología de los obstáculos se puede diferenciar entre alimentos de humedad intermedia y alimentos de alta humedad debido a que difieren en los tipos de obstáculos empleados o el modo de aplicarlos.

El fundamento de la combinación de factores o barreras (Figura 1) es interferir con la homeostasis celular de manera cooperativa. En el caso de las células vegetativas, donde la homeostasis es activa (es decir, mantenida energicamente), la idea es reducir la disponibilidad de energía (limitando nutrientes, reduciendo la temperatura, disminuyendo el oxígeno) o incrementar la demanda de energía (reduciendo la Aw y/o el pH). En el caso de las esporas donde la homeostasis es pasiva, la idea es dañar las estructuras reguladoras o tratar de provocar el paso de spora a célula vegetativa.

## 2.4.2.-Barreras Físico-Químicas

### 2.4.2.1.- Temperatura

La temperatura es probablemente el más importante factor ambiental, cuya variación es capaz de afectar el crecimiento microbiano. El intervalo de crecimiento de las diferentes especies microbianas es limitado; sin embargo la temperatura que toleran los diferentes tipos microorganismos es tal que el crecimiento puede producirse desde  $-7.5^{\circ}$  hasta  $75^{\circ}$  C por lo cual el intervalo de temperatura afecta el tipo de microorganismo a crecer.

La flora microbiana se divide generalmente es tres grupos en base a la temperatura de crecimiento (Castro, 1979; Alarcón, 1986):

**Termófilos:** Son microorganismos capaces de crecer por encima de los  $45^{\circ}$  C, con un óptimo entre los  $60$  y  $65^{\circ}$  C. La mayor parte de las bacterias de importancia en alimentos que se desarrollan a esta temperatura están incluidas en los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Son de gran importancia en la industria de conservas.

**Mesófilos:** Se desarrollan bien a temperaturas entre  $10$  y  $45^{\circ}$  C, con un óptimo entre los  $25 - 37^{\circ}$  C. En este grupo están incluidos casi la totalidad de los gérmenes patógenos. Estos son más sensibles a las bajas temperaturas que los psicófilos deteriorantes. Algunos autores informan que *Clostridium welchii* y algunos estafilococos detienen su crecimiento a temperaturas por debajo de  $10^{\circ}$  C en cultivos puros, pero su crecimiento en la carne no alcanza a esta temperatura niveles apreciables hasta por lo menos pasados 6 días (Eddy e Ingram, 1962; Barnes y col, 1963). Es evidente que por debajo de la temperatura óptima de crecimiento la multiplicación de los estafilococos se ve inhibida frente al crecimiento de microorganismos que toleran las temperaturas de refrigeración (Mottingham, 1971) y parece ser que esto sucede también con la *Salmonella*.

**Psicrófilos:** Se definen como microorganismos capaces de crecer por debajo de 30 °C, con un óptimo entre 15 y 30 °C. Los psicrófilos más comúnmente encontrados en alimentos, pertenecen a los géneros *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y *Streptococcus*, aunque se presentan algunos otros. Existen muy pocas especies que son patógenas dentro de este grupo.

La presencia de estos microorganismos reviste gran importancia en los alimentos preservados en refrigeración, pues el deterioro de los alimentos refrigerados es causado en general por la acción de estos.

La velocidad de crecimiento de los microorganismos se ve afectada por los cambios de temperatura; por debajo del óptimo el crecimiento se hace más lento y finalmente se detiene (ICMSF, 1985).

Las bajas temperaturas tienen una importante acción selectiva sobre las floras mixtas constituidas por mesófilos, psicrófilos y pueden afectar a la composición de la carga inicial de un alimento.

En general, durante los procesos de elaboración de los productos cárnicos, se observa una microflora compuesta de psicrófilos y mesófilos con una pequeña cantidad de termófilos. La congelación y el almacenamiento congelado no produce grandes cambios en la composición de la microflora; pero el almacenamiento a temperatura entre -1 – 10°C es capaz de incrementar el número de organismos psicrófilos principalmente pseudomonas.

#### **2.4.2.2.- Actividad de agua (Aw)**

Es la relación entre la presión de vapor del agua del alimento y la del agua pura a la misma temperatura. Es una medida de la cantidad de agua libremente disponible en un producto, depende a su vez del tipo y concentración de solutos disueltos en el agua (Roca y col, 1983). La aw tiene influencia sobre el crecimiento, la resistencia, la supervivencia de microorganismos y la tasa de reacción de la mayoría de los procesos de degradación de la calidad. La significación de la aw para el crecimiento microbiano estriba precisamente en que da una medida del grado de disponibilidad del agua en la solución; tanto más fuerte será la

competencia del microorganismo con el soluto por las moléculas de agua y tanto más limitadas sus posibilidades de acceso a estas.

En general, las bacterias son menos tolerantes a una  $a_w$  reducida que las levaduras y especialmente los mohos. La  $a_w$  puede ser reducida por deshidratación o por adición de solutos y ningún patógeno crece a  $a_w$  menor que 0,7. Se suele combinar la  $a_w$  con otras barreras, en alimentos secos puede ser la única barrera. Normalmente es necesario un envase que actúe como barrera contra el vapor de agua. La inmensa mayoría de las bacterias de mayor relevancia en los fenómenos de deterioro no crecen a valores de  $a_w$  por debajo de 0.94 – 0.95, siendo esta una frontera crítica desde el punto de vista de la durabilidad (Andujar, 1983).

**Tabla 1.-** Valores mínimos de  $a_w$  para los microorganismos que provocan la descomposición de los alimentos (Frey 1983).

Microorganismo	Valor de $a_w$ mínimo
Psicrófilos	0.97
Enterobacterias	0.95
Salmonellas	0.94
Bacillus spec.	0.94
Clostridium botullinum	0.95
Staphylococcus aureus	0.86

La tabla 2 muestra la influencia de la  $a_w$  sobre la conservabilidad: por ejemplo la carne fresca posee un elevado valor de  $a_w$ , es decir, que posee una gran cantidad de agua libre, esto explica por que, una carne bien madurada a pesar de su bajo pH, se deteriora con relativa facilidad, mientras que un embutido seco madurado, con igual pH pero después de la pérdida de agua (secado, y por lo tanto un relativamente bajo valor de  $a_w$ ), se conserva durante un tiempo prolongado. En los embutidos escaldados y jamones cocidos a los que se les agrega agua, el pH y la  $a_w$  se encuentran elevados, lo cual explica la reducción de su conservabilidad y la necesidad de la refrigeración (Wirth 1992).



**Tabla 2.-** Valores promedio de pH y aw de carne y productos cárnicos (Wirth 1992).

Producto	Ph	aw
Carne fresca, caliente	7.2	0.99
Carne vacuna madurada	5.4 - 5.8	0.98
Carne porcina madurada	5.6 - 6.0	0.98
Embutido escaldado, fresco	6.0 - 6.4	0.97 - 0.98
Embutido escaldado de Conservación prolongada	6.0 - 6.4	0.91 - 0.95
Jamón cocido	6.0 - 6.4	0.98
Embutido crudo, seco	4.9 - 5.2	0.85 - 0.93
Embutido crudo, untable	5.0 - 5.8	0.93 - 0.95
Jamón crudo	5.3 - 5.8	0.90 - 0.93
Morcilla	6.2 - 7.0	0.96 - 0.98
Morcilla de hígado	6.0 - 6.5	0.95 - 0.97
Embutido con gelatina	4.5 - 5.7	0.97 - 0.98

#### 2.4.2.3.- pH

La mayor parte de los microorganismos se multiplican mejor a pH alrededor de 7.0 (6.6 – 7.5), y muy pocos lo hacen por debajo de 4.0. Las bacterias en general son más sensibles al pH que los mohos y levaduras y en especial las especies patógenas (Luck, 1981).

El efecto del pH y sus exigencias por parte de los microorganismos dependerá del resto de los factores, si éstos se encuentran en valores óptimos o no. El pH tiene efecto no sólo sobre el crecimiento, si no también sobre la actividad de las enzimas proteolíticas de las bacterias, éstas son más activas a pH cercanos a 7 o ligeramente alcalinos (Luck, 1981).

Determinados alimentos como la carne, son más resistentes que otros a los cambios de pH. Esta resistencia es denominada amortiguadora, la cual dificulta las variaciones de pH debido al crecimiento de los microorganismos, además de no permitir grandes variaciones en la microflora deteriorante (Luck, 1981). Los organismos causantes de intoxicaciones alimentarias crecen y producen toxinas en intervalos de pH entre 6.1 – 6.7; tal es el caso del *Clostridium botulinum* que cesa de producir toxina sólo por debajo de 4.6.

#### 2.4.2.4.- Potencial Redox:

El potencial redox (Eh) indica el potencial de oxidación o reducción de un sistema alimenticio y se expresa en mV. En general, los alimentos tienen un valor de Eh (a pH 7) entre +300 y -200mV. El Eh de un alimento está influenciado por la eliminación de aire ( $O_2$ ), la exclusión de luz, la adición de sustancias reductoras (ac. ascórbico, sacarosa, etc), el crecimiento de bacterias, la presencia de nitrito, la temperatura y especialmente el pH. El Eh determina el crecimiento de microorganismos aerobios (Por ejemplo: *Pseudomonas spp*) o anaerobios (Por ejemplo *Clostridium spp*) e influye en el color, sabor y aroma del alimento. Se usa en combinación con el curado, refrigeración envasado, etc.

Las bacterias se dividen en cuatro grupos de acuerdo al potencial redox crítico requerido para la multiplicación o el desarrollo del proceso metabólico (Luck, 1981).

**Aerobias:** Requieren oxígeno; por lo tanto precisan de un valor positivo de Eh.

**Anaerobias:** Aquellos que crecen solamente en ausencia de oxígeno. Precisan condiciones reducidas de Eh (aproximadamente -200mV) para iniciar su desarrollo (por ejemplo *Clostridium*)

**Organismos facultativos:** Se desarrollan en presencia o ausencia de oxígeno.

**Microaerófilos:** Sólo necesitan ínfimas cantidades de oxígeno para su desarrollo.

En músculos vivos generalmente existe un suministro pleno de oxígeno, éstos tienen un alto potencial redox positivo (+0.25) después de la muerte el potencial redox del músculo desciende hasta cerca de (-0.13mV) o baja si se produce desarrollo microbiano (Mottingham, 1971).

#### 2.4.2.5.- Empleo de preservantes

Los agentes químicos empleados en la preservación pueden tener otro efecto aparte del conservante como por ejemplo el desarrollo del color, del aroma, pueden tener acción sobre la actividad de agua, etc. (Santos y col., 2004). Los conservantes no deben ser tóxicos en las dosis

a que son añadidos, no deben descomponerse en productos tóxicos luego de ser consumidos, no se deben utilizar para enmascarar ingredientes o alimentos en mal estado, ni procesos de fabricación fraudulentos, por lo que deben acompañarse su uso a las buenas prácticas de elaboración o fabricación y deben ser de fácil identificación analítica (García-Roche, 1991). Históricamente, los agentes conservadores que se han empleado en la industria cárnica incluyen las sales (como la sal común, sales de nitro), los ácidos orgánicos, los gases y los antimicrobianos naturales (Santos y col, 2004).

#### **2.4.2.5.1.- Sal Común ( NaCl)**

##### **2.4.2.5.1.1.- Papel bacteriostático**

La sal no es propiamente hablando, un agente antiséptico ya que no destruye a las bacterias o lo hace mínimamente; aunque sí frena y detiene el crecimiento de la mayoría de ellas, cuando se utiliza en concentraciones suficientes. A la concentración de 10%, inhibe el crecimiento de numerosos microbios; en cambio a la concentración del 5%, su acción no se hace sentir más que sobre los anaerobios. Antiguamente, se conservaba la carne durante plazos largos con concentraciones de sal del 7 al 8%. En nuestros días, la evolución del gusto de los consumidores ha hecho bajar las dosis utilizables por debajo del 3% lo que ha hecho obligatorio el tener que recurrir a algún otro procedimiento, frío por ejemplo, para complementar la acción bacteriostática de la sal.

De hecho, la acción de la sal está en relación con su concentración en la fase acuosa, lo que explica, por ejemplo, que en los productos sometidos a la desecación (jamones secos, salchichones secos), sea necesario utilizar el frío al comienzo de la fabricación, cuando el contenido de agua es todavía importante, mientras que la final del proceso, resulta prácticamente inútil (Goutefongea 1991).

##### **2.4.2.5.1.2.- Acción sobre las proteínas**

Mediante el aumento de la fuerza iónica, la sal aumenta la solubilidad de las proteínas musculares favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante, etc.) (Goutefongea 1991).

#### **2.4.2.5.2.- Condimentos**

En el curso de la maduración se genera el típico aroma (ácido suave) del embutido crudo como resultado de la actividad microbiana. La agregación de condimentos y/o de sus extractos es el único procedimiento para lograr el sabor deseado y el aroma perseguido.

Se utilizan condimentos con fines determinados y también para mejorar en general los embutidos. Sobre todo en los embutidos crudos, hay que dosificar adecuadamente y meditar muy bien su uso.

La industria de los condimentos ofrece un amplio repertorio de tales productos que permite su uso en los embutidos con seguridad, uniformidad y sin riesgo; ofreciendo productos pobres en microorganismos, lo que excluye prácticamente la producción de maduraciones anómalas o la proliferación de una flora microbiana indeseable como consecuencia de la agregación de condimentos.

La acción inhibitoria de los gérmenes desarrollada por muchos condimentos y sus extractos puede despreciarse en la práctica de la fabricación de embutidos crudos. Las cantidades empleadas de un condimento apenas son lo suficiente elevadas como para ejercer una mínima acción de este tipo. No obstante, a pesar de ser muy limitado el efecto inhibitor en cuestión, puede traducirse en un ligero retraso de la maduración.

Los defectos que pueden presentarse como consecuencia del empleo inadecuado de los condimentos son:

Desviación del sabor y anulación del aroma de madurado por incorporar a la masa cantidades excesivas de condimentos. Maduración anormal por la alta carga microbiana presente en ellos. Los condimentos carecen por si mismos de todo tipo de influencias sobre enrojecimiento, consistencia, resistencia al corte, etc.

#### **2.4.2.5.3.- Pigmentos de las carnes curadas:**

la formación del pigmento o cromóforo de la carne curada, se considera que ocurre en dos fases: a) reacciones bioquímicas, que reducen el nitrito a óxido nítrico y reducen el hierro del hemo al estado ferroso, y b) desnaturalización térmica de la globina. Esta última ocurre solamente cuando la carne curada se calienta a 66°C o más y se acompaña de la coprecipitación del pigmento hemo con otras proteínas de la carne. Se ha establecido que el

producto final es la nitrosilmioglobina si la carne no se calienta y nitrosilhemocromógeno globina desnaturalizada si la carne se calienta (Fenema 1993).

#### 2.4.2.5.3.1.-Nitritos y nitratos:

Los nitritos forman en la carne el óxido nítrico que reacciona con los compuestos hemo para dar nitrosomioglobina, que es el pigmento responsable del color rosa de las carnes curadas. Las evaluaciones organolépticas también indican que el nitrito contribuye al sabor de la carne curada al actuar como antioxidante, si bien los detalles del proceso no están totalmente aclarados. Además los nitritos (150 – 200ppm) inhiben el crecimiento de *Clostridium botulinum* en las carnes curadas y en las picadas enlatadas. Como inhibidor de este tipo de microorganismos, el nitrito es más eficaz a pH 5,0 – 5,5 que a valores de pH más elevados, se ha sugerido que reacciona con los grupos sulfhidrilo para formar compuestos que no son metabolizados por los microorganismos en condiciones anaerobias. Los nitritos se han involucrado en la formación de bajos niveles de nitrosaminas en ciertas carnes curadas.

#### 2.4.2.5.3.2.- Nitritos y compuestos N-nitrosos:

Las nitrosaminas se forman al reaccionar las aminas secundarias y terciarias con el  $N_2O_3$ - el reaccionante activo nitrosante de la mayoría de los productos siguiendo las siguientes reacciones:



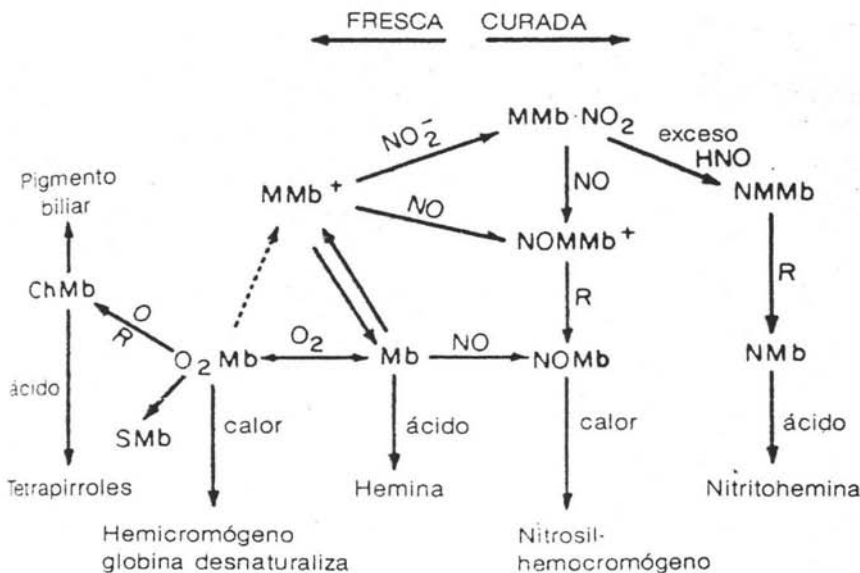
La nitrosación de las aminas puede tener lugar en los alimentos durante su almacenamiento y procesado. Se ha demostrado que la nitrosación ocurre en condiciones fuertemente ácidas del estómago humano, en cuyo caso la ingestión de los precursores lleva a la formación de nitrosaminas o nitrosamidas in vivo.

Los compuestos N-nitroso preocupan toxicológicamente porque muchos de sus representantes son carcinógenos potentes en animales. Aproximadamente el 80% de los más de 100 compuestos N-nitroso hasta ahora ensayados se ha visto que son cancerígenos para uno o más tejidos de los animales de experimentación. Además se ha conseguido la formación de concentraciones cancerígenas de nitrosaminas in vivo suministrando a la vez a los animales

niveles altos de nitrato y de aminos. Estudios han demostrado que los agentes reductores, como el ascorbato y el eritorbato sódicos inhiben la formación de dimetil nitrosamina en salchichas Frankfurt. Otros estudios indican que la extensión con que estos compuestos inhiben la reacción depende del agente reductor empleado y de las condiciones experimentales.

En general, las concentraciones de nitrosaminas detectadas hasta ahora en los animales han estado muy por debajo de las dosis críticas para los animales. No obstante, estas observaciones han hecho considerar el empleo del nitrito como aditivo alimentario y también han promovido otras investigaciones para determinar las condiciones bajo las que pueden tener lugar la nitrosación in vivo, y en los alimentos. También se está investigando, en regiones geográficas muy distintas, el posible papel de las nitrosaminas en la etiología del cáncer del hombre.

La Figura 2. Indica las reacciones del pigmento hemo de las carnes frescas y curadas.

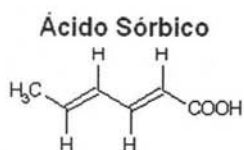


CMB, colemioglobina (anillo de porfirina oxidado); O<sub>2</sub>Mb, oximioglobina (Fe<sub>2+</sub>); Mb<sup>+</sup>, metamioglobina (Fe<sub>3+</sub>); Mb, mioglobina (Fe<sub>2+</sub>); Mb•NO<sub>2</sub>, nitrosilmetamioglobina; NOMMb, nitrosilmetamioglobina; NOMb, nitrosilmioglobina; NMMb, nitrito metamioglobina; NMMb, nitrito mioglobina; R, reductores; O, condiciones oxidantes fuertes.

(Fenema 1993)

#### 2.4.2.5.4.- Ácido sórbico y Sorbatos:

El ácido sórbico (Figura 3), fue preparado por primera vez en 1859 por A.W. Von HOFMANN a partir del aceite de serba o acerola y su acción antimicrobiana fue descubierta en 1939 por E. MÜLLER en Alemania y sólo pocos meses después por C.M.GOODING. Desde entonces su empleo como conservador de alimentos ha ido en aumento en todo el mundo y sus preferencias son mayores cada día debido a su inocuidad fisiológica y a su indiferencia organoléptica.



El ácido sórbico se emplea puro o como sal sódica, potásica o cálcica en diversas formas de preparación (polvo, granulado, soluciones y/o suspensiones). Sus esteres con alcoholes alifáticos de cadena corta, que también tienen acción conservadora, no se emplean debido a su fuerte olor característico (Santos y col, 2004).

Fig 3.- Estructura del ácido sórbico

Los sorbatos, en general, constituyen agentes antimicrobianos de amplio uso en una variedad de productos alimenticios humanos, para animales, productos farmacéuticos, en cosméticos, etc. Está demostrado que es un inhibidor eficaz de numerosas especies de hongos y levaduras, y es efectivo para inhibir microorganismos patógenos como el *Clostridium botulinum*, diversas especies de *Salmonella* y numerosos microorganismos de la flora deteriorante de los alimentos.

El sorbato de potasio (clasificado por la Unión Europea como: E-202) es la sal potásica del ácido sórbico más empleada como conservante y no se le conocen reacciones adversas, es un polvo cristalino blanco sin ningún cambio en el color después de calentar durante 90 minutos a 105 °C. Su peso molecular es de 150.22 g/mol. Es el más soluble de todas las sales, lo que determina que se utilice más que el ácido sórbico. En 100g de agua se disuelven a la temperatura ambiente 138g de sorbato de potasio (Fang y Lin, 1995; Madrid y Madrid, 2000; Santos y col, 2004).

Su acción antimicrobiana se debe a la inhibición de diversas enzimas en las células microbianas especialmente enzimas de la glucólisis como la enolasa y la lactato deshidrogenasa. Además, interviene de forma relativamente activa aunque no muy específica inhibiendo a la malto deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, acetoglutarato deshidrogenasa, suscinato deshidrogenasa, fumarasa y aspartasa (York y Uaugh, 1964; Roche 1991).

El sorbato de potasio se emplea de diferentes formas: dentro de la masa de un embutido, por inmersión de los productos y por adición en forma de solución en los productos envasados al vacío (Young y col, 1988).

La adición de sorbato de potasio a la masa de un embutido constituye un práctica habitual en la elaboración de algunas formulaciones de estos embutidos, donde su objetivo fundamental en estos casos es reducir la cantidad de nitrito añadida en la formulación basándose en la conocida efectividad del sorbato de potasio frente a las esporas del *Clostridium botulinum*, produciendo además la extensión de la durabilidad del producto en cuestión (Valladares, 1997). Estas características determinan que se le considere uno de los sustitutos parciales o totales más probables del nitrito en los productos curados (Roche, 1988).

Usado en concentraciones de 0.26 % que es la recomendada para estos fines, y en combinación con nitrito de sodio, no produce efecto adverso en el sabor y color de los productos y puede ser una alternativa a evaluar para preservar productos cárnicos frescos y procesados (Valladares, 1995). El límite máximo de residuos aceptados para el ácido sórbico es de 1 000 mg/Kg (sólo o en combinación con ácido benzoico) (FAO/WHO 1983).

Otra forma de aplicación a productos cárnicos es mediante una inmersión o rociado con una solución de sorbato. Los niveles de uso varían entre el 5 y 20 % (Vojdani y Torres, 1990 y Valladares, 1995). Esta es probablemente la forma de empleo más común en productos cárnicos frescos y procesados. Se emplea para evitar o inhibir el crecimiento superficial especialmente de hongos filamentosos en la superficie de embutidos. De esta forma se emplea



fundamentalmente en embutidos que reciben tratamientos de maduración o son sometidos a procesos de secado. Leistner y colaboradores en 1978, estudiaron por primera vez la inmersión de productos cárnicos en solución ácido sórbico o sus sales y encontraron que una corta inmersión de un embutido crudo después del ahumado produce una prolongación considerable de su conservación; esta extensión dependerá de la concentración de la solución de inmersión. En este trabajo el embutido no tratado presentó formación de moho a los tres días, el tratado con una solución al 5 % de sal potásica tardó 10 días, 16 días con una solución al 10 %, 24 días con una solución de 15 % y más de 30 días después de emplearse soluciones de inmersión del 20 %. En Alemania se utiliza para el tratamiento superficial de las tripas y embutidos crudos, pero la legislación exige una obligada declaración.

En alimentos envasados se utilizan en niveles de 0.01 a 0.3%. En productos cárnicos envasados al vacío se emplea de diferentes formas: dentro de la masa del embutido en concentraciones no mayores que 2600 mg/kg, por inmersión de los productos antes del envasado, y por la adición en forma de soluciones a los envases. En Cuba se ha demostrado su efectividad en productos cárnicos, teniendo efecto sobre la flora aeróbica total (Herrera, 1998).

#### **2.4.2.5.4.1.- Aspectos sanitarios**

**Toxicidad aguda:** La  $DL_{50}$  del ácido sórbico para la rata por administración oral es de 10.5  $\pm$  1.96 g/Kg de peso (Luck 1977 y Roche 1991); otros autores dan cifras de 7.4 y 8.7 g/Kg. La ingestión simultánea de otras sustancias conservadoras no altera la toxicidad aguda del ácido sórbico. Por su carácter ácido es irritante para las mucosas, pero no tiene efecto sobre la piel, excepto en personas especialmente sensibles.

**Toxicidad subcrónica:** Las ratas soportan un 10 % de ácido sórbico en el alimento durante 42 días sin ningún daño. Se ha observado un aumento en el peso de sus hígados, el cual puede atribuirse a la utilización calórica del ácido sórbico. El sorbato potásico no tiene acción mutagénica ni teratógena.

**Toxicidad crónica:** Las ratas soportan durante toda la vida una adición de 5 % de ácido sórbico en el alimento sin dar muestras de lesión alguna.

Cuando se administra en dosis muy elevadas se degrada vía la  $\beta$ -oxidación, igual que les ocurre a los ácidos grasos habituales en la alimentación. Parte del ácido sórbico se utiliza para la síntesis de nuevos ácidos grasos, a partir del acetil-CoA originado en la degradación.

#### **2.4.2.5.4.2.- Normas legales**

El ácido sórbico y los sorbatos están permitidos en todos los países del mundo para la conservación de muchos alimentos. La dosis más alta permitida, salvo excepciones oscila entre 0.1 y 0.2 %. En E.U.A se permite su uso sin limitación para alimentos estandarizados. En México se permite la adición de sorbato de potasio como conservador en productos cárnicos en un máximo de 0.1% (p/p), esto sin que la suma total de conservadores sea mayor a 0.1%. (NOM-122-SSA1-1994). Existe la tendencia en todo el mundo de ir admitiendo legalmente el ácido sórbico, a causa de su inocuidad, para sustituir a otros conservadores de menor garantía.

#### **2.4.2.5.4.3.- Acción contra los microorganismos**

Para que el ácido sórbico desarrolle su actividad en el interior de la célula microbiana es necesario que atraviese la pared, lo que hacen principalmente las moléculas disociadas. A pH 3.5 el 40 % del ácido sórbico administrado penetra en la célula, mientras que en el punto neutro el 99 % permanece en el sustrato. Este hecho aclara la relación entre la actividad del ácido sórbico y el pH. Solamente la porción disociada tiene actividad antimicrobiana. A causa de su pequeña constante de disociación de  $1,73 \times 10^{-5}$  se le puede emplear para la conservación de alimentos débilmente ácidos.

La actividad del ácido sórbico se dirige casi totalmente contra mohos y levaduras. Algunos microorganismos pueden incluir al ácido sórbico en su metabolismo, siempre que la concentración de ácido sea pequeña y la densidad de gérmenes grande. La consecuencia práctica de este hecho es que el ácido sórbico no puede emplearse para la "conservación" de sustratos muy contaminados, sino solamente para mantener alimentos que están en buenas

condiciones higiénicas, con un número de gérmenes pequeño. Su degradación por *Aspergillus spp* ha sido muy bien estudiada (Luck, 1977).

La degradación de ácido sórbico por los microorganismos lleva siempre a los mismos productos finales que en el organismo animal, es decir, dióxido de carbono y agua. (Luck, 1981).

## 2.6.- Envasado al vacío

La función primordial del envasado de la carne y de los productos cárnicos consiste en protegerlos de daños físicos, cambios químicos, de la contaminación microbiana y presentar el producto al consumidor de forma atractiva. El envasado requiere con carácter esencial el conocimiento básico de la química y la biología de la carne y sus productos, así como de las propiedades físicas y químicas del material de envasado. (Price, 1976)

El envasado al vacío es una de las tecnologías más difundidas en la actualidad para la comercialización a pequeña y gran escala de las carnes frescas y los productos cárnicos. Su éxito ha radicado fundamentalmente en extender la durabilidad de los alimentos percederos cuando se combina con la refrigeración a bajas temperaturas.

El principio que se aplica para extender la durabilidad es la reducción del potencial redox dentro del envase, que provoca la inhibición del crecimiento de la flora aerobia deteriorante presente en el producto. Sin embargo, existen factores de carácter sanitario que pueden impedir la extensión de la durabilidad de estos productos o convertirlos en vehículos de intoxicaciones alimentarias.

A efectos de envasado, la carne y sus productos cárnicos pueden dividirse en frescos y curados. Ambos tipos de productos difieren esencialmente en la naturaleza química del pigmento que contienen y en la naturaleza de las bacterias que limitan su vida útil (Price, 1976). Debe tenerse en cuenta que los envases sólo pueden retener, nunca mejorar, la calidad

del producto envasado. Los envases, sin embargo, no deben reducir la calidad del producto envasado. Los métodos de conservación implican también métodos especiales de comercialización, pero además casi todos los tipos de producción se distribuyen y venden en múltiples formas (Price, 1976).

### **2.6.1.- Deterioro microbiano de los productos cárnicos envasados al vacío**

El deterioro que sufren estos productos es esencialmente microbiológico y la forma en que se expresa es mediante el cambio de su calidad sensorial. Los símbolos de deterioro más frecuentes son: Untuosidad, Acidificación, Enverdecimiento, Decoloración y Formación de gas. (Brown, 1982; Andersen y col, 1990, Korkeala y col, 1989; Korkeala y col, 1990; Bartholomac y col, 1997, Shumacker y Feirtag, 1997).

### **2.6.2.- Microflora de productos cárnicos envasados al vacío.**

Los productos cárnicos recién elaborados o almacenados presentan una microflora predominante aerobia y aerotolerante debido a las condiciones ambientales que rodean al alimento. Sin embargo la disminución del potencial redox al realizarse el proceso de envasado produce un cambio sustancial en el tipo de microorganismos que va a crecer en las nuevas condiciones creadas. Este cambio favorece a otras especies que no tendrían posibilidades de competir en aerobiosis.

### **2.6.3.- Microorganismos deteriorantes.**

La microflora presente en los productos cárnicos envasados al vacío es predominante microaerofílica y ha sido profundamente investigada. El principal grupo de microorganismos que altera a estos productos corresponde al género *Lactobacillus* (Reuter, 1969, Kempton y Bobier, 1970, Brown, 1982, Brody, 1989., Holy y col., 1995). Otro microorganismo de importancia en estos productos es el *Brochothrix thermosphacta* (Mol y col., 1971) que puede estar presente tanto en carnes crudas en piezas, en embutidos ó en productos lasqueados. *Brochothrix thermosphacta* es capaz de alterar el producto mucho más rápidamente y con

mucha menor población que *Lactobacillus*, es por ello que suele utilizarse como indicador de deterioro de estos productos (APHA, 1992).

Otros géneros que aparecen en estos productos son *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *pediococcus*, *Streptobacterium*, *Streptococcus*, *Vibrio*, *Leuconostoc*. También suelen aislarse con cierta frecuencia organismos coliformes, Enterobacterias y levaduras (Brown, 1982; Hayes, 1985; Benecke y Hilderbrandt, 1989; Korela y col., 1990; APHA, 1992; Jane, 1995; Herrera y col., 1996).

La formación de untuosidad en la superficie de los productos no es más que la acumulación de polisacáridos procedentes del metabolismo de los microorganismos presentes durante el almacenamiento. Según Bortholomac y col., (1997) este defecto puede producirse por lo general antes que otras formas de deterioro de estos productos. Este autor aisló especies de *Leuconostoc*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* y *lactobacillus viridiscens* como responsables de este deterioro en muestras de productos cárnicos curados cocidos y en embutidos tipo frankfurter.

Shumaker y col., (1997) caracterizaron el deterioro de los productos por la formación de un exudado lechoso en la superficie de los embutidos que se presenta en forma de un líquido en el interior del envase al cabo de 3 a 4 semanas después del envasado. Estos autores plantean que los lactobacilos son eliminados durante el tratamiento térmico que se administra al producto, sin embargo se produce una recontaminación posterior a la cocción. Estos autores aislaron e identificaron 38 especies de lactobacilos procedentes del producto crudo, del medio ambiente de la planta y del agua de enfriamiento de los productos, concluyendo que las principales fuentes de contaminación del producto son el ambiente del área de envasado y el agua de enfriamiento.

Holy y col., (1991), cuantificaron y caracterizaron la población microbiana presente en 52 muestras descompuestas de embutidos tipo Viena envasados al vacío y encontraron que la

descomposición estaba asociada con conteos microbianos del orden de  $10^7$  a  $10^8$  u.f.c./g de microorganismos en los productos deteriorados y aproximadamente  $10^9$  u.f.c/g en el exudado. De estos microorganismos se encontró que la cantidad de estafilococos, enterococos, enterobacterias y levaduras no excedía  $10^3$  u.f.c/g tanto en muestras deterioradas como en las no deterioradas. Los microorganismos deteriorantes fueron predominantemente lactobacilos homofermentativos presentes en un 58 % de la flora total y *Leuconostoc* en un 36.3 %. Los productos no deteriorados contenían sólo un 64.6 % en total en ambos grupos.

Otra evidencia de la importancia de los lactobacilos en productos envasados al vacío es el trabajo realizado por Dykes y col., (1994), quienes utilizaron 61 cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de embutidos de Viena envasados al vacío deteriorados en un estudio taxonómico. En el análisis de los resultados se encontró que todas las cepas con comportamiento atípico correspondieron con *Lactobacillus sakei*.

La decoloración es un fenómeno que se ha estado presentando en los últimos años en jamones curados envasados al vacío en España. En un estudio realizado por Brenezet y col., (1995), se concluyó que este defecto es causado por la acción de enzimas en la superficie de los jamones y que el origen de dichas enzimas es probablemente microbiano. Este fenómeno se atribuye a la acción de proteinasas encontradas en los jamones y se relacionó con la presencia de un considerable conteo de *Micrococcus spp* presentes que son capaces de crecer en condiciones de vacío y semivacío.

#### **2.6.4.- Presencia de patógenos.**

Además de los microorganismos deteriorantes que se aíslan comúnmente en los productos cárnicos envasados al vacío, estos pueden aparecer también contaminados con algunos microorganismos patógenos, debido fundamentalmente a problemas de manipulación antes o durante el proceso de envasado. El hecho de que en productos de este tipo puedan estar presentes como flora común los organismos coniformes es una clara indicación de que no se han tomado suficientes precauciones durante el proceso de envasado o en la manipulación del

producto después de la cocción y por lo tanto exista la posibilidad de la presencia de patógenos en estos productos.

En general se plantea que los riesgos más importantes que sufren los consumidores de estos productos están relacionados con la prevalencia o crecimiento en ellos, de microorganismos patógenos microaerofílicos o anaerobios, pues las condiciones del envase propician tal ambiente. Entre éstos se encuentran *Clostridium perfringens* (Mc Clane, 1997; Fach y Popoff, 1997; Heredia y Santos, 1999) *Clostridium botulinum* (Brown, 1982., Andreas, 1989) y *Listeria monocytogenes* (Castillo, 1993., Meng y Doyle, 1997., Martinez, 1999) estos dos últimos de gran importancia por la gravedad de las afecciones que ocasionan.

Juneja y col., (1994) comprobaron que las esporas de *Clostridium perfringens* tienen habilidad para germinar y crecer en envases al vacío. Brackett (1990a), considera que el riesgo de botulismo en productos cárnicos envasados al vacío aumenta cuando la temperatura de almacenamiento se eleva por encima de 5 °C.

*Listeria monocytogenes* es en los últimos tiempos el patógeno de mayor relevancia en las investigaciones relacionadas con la Microbiología de los Alimentos. Ellos se debe a la severidad de las enfermedades que provoca y al desconocimiento existente aún sobre su comportamiento en algunos alimentos. Se conoce que es capaz de resistir y desarrollarse a temperaturas tan bajas como 0 °C, que resiste condiciones de NaCl y Nitrito iguales y hasta superiores a las que contienen los productos cárnicos convencionales, de ahí su importancia en los productos cárnicos envasados al vacío.

## 2.6.5.- Factores que influyen en el desarrollo de la microflora de los productos cárnicos envasados al vacío.

Existen varios factores que influyen en el desarrollo de determinados tipos de microorganismos en los productos cárnicos envasados al vacío. Entre ellos se encuentran:

- Temperatura de almacenamiento
- La higiene del proceso de envasado y la carga microbiana inicial
- Proceso de envasado

### 2.6.5.1.- Temperatura de almacenamiento.

Este es un factor extrínseco que tiene una influencia sobre la cantidad y el tipo de microorganismos que se pueden desarrollar en un alimento. La mayoría de los microorganismos deteriorantes de los alimentos son psicrótrofos, crecen bien pero lentamente a las temperaturas de refrigeración que suelen tener los centros de elaboración y expendio. Un aumento en la temperatura determinará el aumento de la velocidad de deterioro y cambios en el tipo de microorganismos, comenzarán a desarrollarse mejor los mesófilos dentro de los cuales se encuentran los patógenos si están presentes. Brody (1989) considera que el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de la flora deteriorante se hace más importante en los productos envasados al vacío o en atmósferas modificadas y cita como ejemplo que a 30 °C la inhibición de los microorganismos es de un 10 a un 20 % de la que se produce en condiciones aerobias a la misma temperatura, sin embargo a 5 °C es de un 80 %.

En ocasiones cuando se produce un aumento en la temperatura se añade al deterioro la putrefacción con la formación de H<sub>2</sub>S y metano tiol lo que cambia el olor de los productos deteriorados, del olor ácido típico pasa a olor pútrido. Gardner (1979), utilizó el detector de H<sub>2</sub>S de Olgaard en bacón envasado al vacío y aisló bacterias de los géneros *Vibrio spp*, *Proteus spp* y *Enterobacter-Hafnia*, del producto, todas productoras de cantidades detectables de SH<sub>2</sub>.



En una investigación realizada por Korkeala y col., (1990), se determinó la influencia de la temperatura sobre el crecimiento de las bacterias ácido lácticas responsables de la untuosidad de los productos cárnicos envasados al vacío. Encontraron que la temperatura mínima de crecimiento de *Lactobacillus spp* está por debajo de  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  y la de *Leuconostoc mesenteroides* es  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La temperatura máxima oscila entre  $36,6$  y  $39,9\text{ }^{\circ}\text{C}$  y la óptima entre  $26$  y  $34\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.6.6.- Higiene del proceso y carga microbiana inicial.**

Una pequeña carga microbiana inicial presente es más fácil de inhibir que una gran población, por ello la higiene del proceso o la reducción del número inicial de microorganismos presentes resultan críticos para lograr una buena calidad microbiológica en los productos envasados al vacío (Brody, 1989). En este caso hay que tomar en consideración no sólo el número sino el tipo de microorganismos presentes al inicio del proceso de envasado.

Estudios de durabilidad de productos cárnicos envasados al vacío realizados en el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria (IIIA) (Janes, 1995., Herrera y col., 1996; Herrera y col., 1999), demuestran la necesidad de mantener estrictas condiciones higiénicas durante el proceso de envasado para garantizar la extensión de la durabilidad junto con la inocuidad de los productos. La manipulación de los productos y la realización de estas operaciones en áreas sin una fuerte climatización ( $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y superiores) puede traer como consecuencia que no se logre alargar su durabilidad y los productos se tornen peligrosos, pues se incrementa rápidamente la flora presente y la incorporada durante las operaciones. De manera que se pierde el dinero invertido en la tecnología de envasado y se corre además el peligro de convertir un producto que antes de envasarse resultara inocuo, en un producto de alto riesgo para la salud.

#### **2.6.7.- Proceso de envasado.**

Una inadecuada permeabilidad al oxígeno del material de envase puede aumentar las posibilidades de crecimiento de parte de la flora deteriorante presente en el alimento y determinar con rapidez el fin de la vida útil de los productos envasados al vacío. Herrera y col.,

(1999) encontraron crecimiento de organismos coniformes en productos cárnicos envasados al vacío y cambios sensoriales no típicos de estos, los que se expresaron a través de la formación de olores pútridos que se detectaban fuera del envase.

Cambios de este tipo se producen también cuando no se extrae de forma óptima el aire dentro de los envases, se provoca así el incremento de la flora aerobia facultativa presente que es eminentemente putrefactiva (Brody, 1989). Este autor plantea que si el nivel de vacío dentro del envase es de 5 pulgadas de Hg o superior y se usa una película con una permeabilidad de 50 cc/m<sup>2</sup> día no se logra la estabilidad microbiológica, ni de color de los productos envasados y por tanto pierden su interés comercial. También plantea la importancia de lograr un alto nivel de vacío dentro del envase pues permite la adhesión de la película con el producto provocando la formación de una especie de segunda envoltura del producto en sí, lo que aumenta su protección.

Aasgaard y Larsen (1992), estudiaron el efecto de 15 películas sobre la calidad microbiológica y el color de embutidos envasados al vacío y encontraron que el tipo de película tiene un efecto pequeño sobre la calidad microbiológica de los productos, en este caso no pudo conocerse el efecto del grosor de las películas pues todas se encontraban dentro de las especificaciones establecidas para este índice. Brackett (1999b), sin embargo, considera que sí es importante el tipo de película pues no todas brindan las mismas ventajas y si no se realiza una buena elección del material de envase puede suceder que el producto en vez de mejorar su calidad con el envase, la empeore.

Por último es preciso resaltar la importancia del cierre de los envases. Es imprescindible realizar el control del cierre térmico del envase, durante el proceso pues es obvio que si no hay un cierre eficiente se pierden las ventajas que ofrece esta tecnología.

## **2.6.8.- Características del producto que afectan a las necesidades de envasado.**

Las exigencias del envasado dependen del tipo de producto a proteger, de la naturaleza del proceso a que va a ser sometido y del método de comercialización preestablecido.

### **2.6.8.1.- Color.**

El color probablemente es el factor individual que más afecta al aspecto de la carne envasada y él que más influye en la preferencia del consumidor. El color de la carne magra se debe fundamentalmente a la presencia de la proteína mioglobina.

En presencia de aire el color natural de la carne fresca es rojo brillante por que en la superficie predomina la oximioglobina. El mejor modo de mantener el color rojo brillante de la carne fresca consistirá, por tanto, en colocarla en una atmósfera en que la presión parcial del oxígeno sea alta. Existen pruebas, no obstante, de que no se obtienen beneficios adicionales cuando la tensión del oxígeno es mayor que la existente en el aire. Para envolver carne fresca debe elegirse por consiguiente un material que permita el paso del oxígeno.

En la aparición del color rojo brillante deseado en la carne fresca la temperatura tiene mucha importancia. El oxígeno penetra en la carne disolviéndose primero en el líquido de la superficie del producto, desde donde difunde después al interior. Puesto que la solubilidad del oxígeno en el agua aumenta al disminuir la temperatura, es muy conveniente que la carne se mantenga a baja temperatura.

La alteración del color de la carne fresca es causada predominantemente por oxidación del pigmento a metamioglobina (pigmento de color marrón). La temperatura elevada, el crecimiento microbiano, la acción enzimática y la auto oxidación aceleran la oxidación del pigmento.

En la formación y retención del color deseable en la carne fresca la higiene tiene importancia capital. El principal defecto de la higiene deficiente consiste en la desoxigenación de la

oximioglobina y en la subsiguiente oxidación a metamioglobina, como resultado de la utilización microbiana del oxígeno. Las enzimas oxidativas, que también utilizan oxígeno, agravan estos cambios de color.

La retención del color de los productos cárnicos curados constituyen un problema muy diferente al de la carne fresca. La formación del color de la carne curada (óxido nítrico mioglobina) no depende del oxígeno, puesto que el color se forma por la acción del óxido nítrico. La retención prolongada del color de la carne curada depende de la ausencia de oxígeno y por tanto los productos curados deben envasarse excluyendo el oxígeno.

Las carnes curadas son más sensibles que las frescas a los cambios de coloración cuando se exponen a la luz. Cuando las carnes curadas se exhiben bajo intensa iluminación adquieren rápidamente una tonalidad grisácea o marrón. La luz actúa como catalizador de la reacción responsable de este color, siendo éste proporcional a la intensidad de aquella.

#### **2.6.8.2.- Humedad.**

Un factor importante en el envasado de la carne es el control del agua y del vapor de agua. En casi todos los casos, la función de las barreras antivapor es evitar que el producto se deseeque, aunque la función del envase también puede ser la de impedir que el producto capte humedad. Las carnes envasadas en materiales permeables al vapor de agua, se almacenan en ambientes de baja humedad relativa, adquiriendo color oscuro debido a la concentración de pigmentos que se producen en los tejidos superficiales deshidratados. Por la misma razón, los envases que no son a prueba de humedad no protegen a las carnes congeladas de la quemadura de la congelación. Seleccionando el material adecuado de envasado a prueba de humedad y técnicas de empaquetado que no dejen espacios vacíos en el interior del envase, se logra la protección completa frente a las pérdidas de humedad y el óptimo aspecto del producto. Durante la operación de envasado, sobre la superficie de los productos cárnicos refrigerados puede condensarse humedad. Esta condensación se evita manteniendo la temperatura del ambiente por debajo de la temperatura de la carne.

### **2.6.8.3.- Características organolépticas.**

Las características del material de envasado influyen en las pérdidas de sabor y olor del producto o en la adquisición por éste de olores o sabores extraños. El producto envasado puede adquirir olores y sabores desagradables durante su vida útil normal o a consecuencia de contaminaciones previas a su envasado debido a su inadecuada refrigeración. Si el material envasado no tiene las debidas características de impermeabilidad, el producto puede absorber olores y sabores extraños de procedencia exterior. Igualmente si se desea el sabor y olor naturales de las carnes procesadas, éstas tienen que envasarse sin aire en materiales impermeables.

### **2.6.9.- Materiales de envasado y características.**

La industria del envasado cada vez dispone de una mayor variedad de materiales envolventes a base de películas, hojas, papeles, cartones y plásticos rígidos. En la industria de la carne muchos de estos materiales encuentran aplicaciones directas. En otros casos sólo encuentran aplicaciones en el envasado de la carne asociados a otros materiales para formar estructuras complejas. Estos materiales envolventes de estructura compleja reúnen muchas características funcionales necesarias en los programas de comercialización.

#### **2.6.9.1.- Películas compuestas.**

Las películas compuestas pueden definirse como combinaciones de dos o más laminas simples de papeles, películas y hojas unidas entre sí. Las múltiples propiedades precisas para la protección y comercialización satisfactorias de muchos productos cárnicos sólo pueden conseguirse combinando diferentes materiales.

Muchas razones justifican la combinación de los materiales de envasado como son:

- Mejorar la resistencia del envase
- Mejorar la resistencia a la pérdida de componentes volátiles de los productos envasados
- Reducir la transmisión del vapor de agua, oxígeno y otros gases
- Mejorar la resistencia a la grasa
- Proporcionar un medio termosoldable a un material no soldable o difícilmente soldable
- Eliminar fracturas a baja temperatura y asegurar la integridad del envase a temperaturas elevadas
- Mejorar la resistencia a los dobleces
- Mejorar el rendimiento de las máquinas envasadoras
- Permitir la impresión de ambos lados y otras mejores gráficas
- Mejorar el aspecto del paquete
- Proporcionar características que favorezcan su comercialización y conveniencia.
- Resistencia a la luz natural

Las propiedades protectoras de muchos materiales de envasado sólo se ponen de manifiesto cuando se combinan a otros materiales (ejemplo: la hoja de aluminio). Las características funcionales de las películas compuestas dependen de las propiedades individuales de los diversos materiales envolventes y de los agentes de unión. Las diferentes características de los materiales de unión usados, así como su rendimiento y coste, han permitido desarrollar diferentes agentes de unión que pueden clasificarse de la manera siguiente:

- Soluciones acuosas como dextrina, cola animal, etc.
- Emulsiones como caucho (latex), mezclas resinosas, etc.
- Ceras, mezclas de resinas y ceras y resinas extruidas licuadas por el calor como polietileno, nailon, etc.

- Agentes curados por el calor como epóxidos, poliésteres y uretanos.
- Soluciones en solventes de resinas o gomas y de caucho natural o sintético

Los agentes de unión, así como los materiales envolventes básicos tienen que estar autorizados por la FDA.

### 2.6.9.2.- Polietileno.

El polietileno, que se comenzó a utilizar como material de envasado después de la segunda guerra mundial, ha sido el *best-seller* durante los últimos 20 años de los materiales de empaquetado transparentes. Las películas de polietileno generalmente se clasifican según la densidad de las resinas utilizadas en la extrusión o moldeado de las películas. Existen tres márgenes de densidad:

Baja densidad:  $0.910 - 0.925 \text{ g/cm}^3$

Densidad media:  $0.926 - 0.940 \text{ g/cm}^3$

Alta densidad:  $0.941 - 0.965 \text{ g/cm}^3$

Al aumentar la densidad de las películas de polietileno aumenta su rigidez y su resistencia a la humedad, al oxígeno y a la grasa. Por otra parte, al disminuir la densidad aumenta la flexibilidad, la resistencia al impacto y a la rotura y la película puede termosoldarse a menor temperatura y dentro de un margen térmico más amplio.

Las películas de polietileno de baja densidad encuentran muchas más aplicaciones en el empaquetado de la carne que las más densas. En el envasado de carnes frescas y congeladas se emplean grandes cantidades de películas de polietileno de baja densidad en forma de bolsas, envolturas y películas de revestimiento. Las películas de polietileno constituyen formidables barreras antivapor y conservan la flexibilidad a temperaturas tan bajas como  $-15 \text{ }^\circ\text{C}$ . Su elevada permeabilidad al oxígeno las hace muy apropiadas para el envasado de carnes frescas. También se usan grandes cantidades de polietileno de baja densidad como sustancias de

revestimiento y para obtener películas compuestas destinadas al envasado de carnes a vacío o en atmósferas gaseosas.

## **2.7.- Durabilidad**

Los productores de alimentos toman medidas para prolongar el tiempo de "durabilidad" o "vida útil" de sus productos para lo cual utilizan diversos métodos de preservación, que evitan su alteración microbiológica, sin afectar la calidad organoléptica e incrementan la inocuidad de los mismos (Cantillo y col, 1994).

La importancia de definir la durabilidad de los productos, es que uno de los atributos que más valoran los consumidores en los alimentos es que sean frescos o en otros términos, que no estén perceptiblemente envejecidos. La durabilidad se define como "el período entre la producción y la venta del alimento durante el cual el producto muestra una calidad satisfactoria" (Anon, 1974). De acuerdo a esta definición, pueden adoptarse diferentes convenios, en dependencia de lo que se entienda por calidad satisfactoria y considerar entonces que el límite de durabilidad se alcanza cuando:

- Puede detectarse una diferencia con relación al producto fresco.
- El producto resulta rechazable organolépticamente.
- Su composición química o carga microbiana se desvían de ciertos límites establecidos

(Gacula, 1975).

### **2.7.1.- Determinación de la durabilidad**

Debido a la gran variación existente en la durabilidad de los alimentos, los estudios de almacenamiento son fundamentales en: el desarrollo de nuevos productos, así como se lleva a cabo cualquier variación en el proceso de producción de un producto ya existente o bien cuando se sustituye algún ingrediente (Dethmers, 1979).



Los estudios de durabilidad suelen ser costosos tanto en términos financieros como de tiempo por lo que es importante planificarlos adecuadamente. Para ello se han propuesto los siguientes pasos (Herrera y Andújar, 1993):

1. Establecer la finalidad del estudio de durabilidad.
2. Conocer las propiedades físicas y químicas del producto, como base para prever los mecanismos de alteración.
3. Establecer las variables de formulación, proceso, envasado que pueden intervenir en el estudio.
4. Conocer las condiciones en que el producto va a ser distribuido y almacenado, para simularlas en el estudio.
5. Escoger el parámetro o parámetros a emplear como criterio de rechazo y determinar el nivel de cambio en el parámetro que va a usarse para considerar que una muestra no es ya satisfactoria.
6. Elegir el método de ensayo para medir los cambios en el mismo.
7. Establecer un diseño experimental que incluya el número de variables a considerar, procedimientos de muestreo, número de muestras y períodos de almacenamiento de cada muestra.

#### **2.7.1.1.- Establecer la finalidad del estudio de durabilidad.**

Este aspecto tiene una gran importancia para establecer el diseño experimental, ya que cuando se trata de investigar la velocidad de alteración y los factores que influyen sobre ella, los resultados de las muestras de cualquier tiempo de almacenamiento pueden ser igualmente importantes. En cambio, cuando se trata de averiguar la durabilidad de un nuevo producto, o comprobar la de uno ya existente en el mercado puede ser más eficiente concentrar el número de unidades a inspeccionar al final del período de almacenamiento, donde la proporción de unidades que se rechacen sea ya significativa.

### **2.7.1.2.- Conocer las propiedades físicas y químicas del producto.**

Antes de comenzar el estudio de durabilidad es necesario caracterizar el producto de acuerdo a los atributos fundamentales que definen su calidad y especialmente aquellos relacionados o que pueden influir sobre su vida útil.

### **2.7.1.3.- Establecer las variables que pueden intervenir en el estudio.**

En este aspecto debe tenerse en cuenta que el producto que se someta a la prueba de almacenamiento debe haberse elaborado cumpliendo con todas las normas de proceso que rigen la elaboración del producto que se va a comercializar. Cualquier diferencia en calidad y tipo de materias primas, proceso o empaque puede dar lugar a que en la determinación de la durabilidad se obtengan resultados que no representen realmente al producto en estudio.

### **2.7.1.4.- Conocer las condiciones de distribución y almacenamiento.**

Al igual que en el punto anterior la simulación de estas condiciones son las que asegurarán la obtención de resultados confiables.

### **2.7.1.5.- Escoger el parámetro o parámetros a emplear como criterio de rechazo.**

La selección del criterio que calificará al producto como deteriorado deberá estar en función del tipo de deterioro que se produzca en cada alimento, específicamente aquel que pueda hacer más peligroso el consumo de un producto envejecido. Las modalidades de muerte del producto son muchas, por ejemplo:

- . Pérdida de las propiedades estéticas o sensoriales.
- . Deterioro de sus propiedades funcionales.
- . Reducción de su valor nutritivo.
- . Aparición de un riesgo a la salud, etc.

Las causas del deterioro pueden ser, también, de diverso origen:

- . Biológico: crecimiento de microorganismos, acción de enzimas, ataque por insectos.
- . Químico o químico-físico: como la oxidación de las grasas y los pigmentos, las reacciones de pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard) o la corrosión del envase, etc.

#### **2.7.1.6.- Elegir el método de ensayo para medir los cambios en el mismo.**

Aunque los cambios de calidad pueden seguirse en algunos casos a través de cambios en la composición química, características físicas o por crecimiento de microorganismos, muy a menudo el criterio definitivo para establecer la durabilidad es la valoración sensorial. Incluso cuando podrían usarse criterios aparentemente más precisos, muchas veces la experiencia acaba haciendo aconsejable el empleo del ensayo organoléptico y es el criterio más extendido en la literatura para realizar pruebas de almacenamiento ya que se plantea que mucho antes que se detecten alteraciones microbiológicas pueden originarse variaciones químicas que modifican esta cualidad del producto (Brutzler, 1976; Herrera, 1998).

Si el proceso de evaluación va a ser el análisis organoléptico, se debe prever el tipo de alteración probable (cambio de textura, enranciamiento, mal olor, etc). El método de evaluación sensorial que se utilice estará en dependencia de lo que se haya definido como durabilidad, pudiendo utilizarse métodos descriptivos, que requieren jueces altamente adiestrados o métodos afectivos que evalúan la preferencia o aceptación de los consumidores sobre los productos (Sidel y Stone, 1987).

#### **2.7.1.7.- Establecer un diseño experimental**

Es frecuente que los estudios de durabilidad se hagan con un planteamiento determinista, obteniéndose resultados en que la durabilidad se decide por el momento en que la muestra analizada rebase el criterio de aceptación escogido. Sin embargo, no se puede esperar que todas las unidades alcancen el nivel de deterioro en el mismo tiempo.

Una forma más realista de plantear el tema de la durabilidad es en términos de riesgo (Herrera, 1998), estableciendo cual es la proporción máxima de unidades con el grado de deterioro escogido que se admite que lleguen hasta los clientes. Esta proporción de unidades con calidad igual o inferior al límite establecido, que se admite que lleguen hasta los clientes (F), depende, sin embargo, de:

- a) La evolución de la proporción de unidades deterioradas en función del tiempo =  $D(t)$ .
- b) La distribución de los tiempos de permanencia de los productos en el mercado =  $P(t)$ .

Como ambas distribuciones son función del tiempo, la distribución de F también lo será y la designaremos por  $F(t)$ . Actuando sobre  $D(t)$  y/o sobre  $P(t)$  pueden lograrse diferentes valores de  $F(t)$ . Con una determinada durabilidad, una rotación más rápida de los productos evitará problemas de caducidad y para una rotación dada los problemas podrán disminuirse aumentando la durabilidad.

Los métodos probabilísticos han resultado en la práctica muy adecuados y potentes para abordar los problemas relacionados con la durabilidad y la fiabilidad. La técnica de riesgo para la ley de distribución de Weibull es la más aplicable a los fenómenos de deterioro de los alimentos (Andújar y Herrera, 1987; Cantillo y col., 1994).

Gacula (1975) propuso 3 diseños experimentales que, aunque resuelven parcialmente el problema que representa la aplicación de diseños convencionales y con grandes tamaños de muestra, son recomendados cuando la naturaleza del experimento lo permita. Se basan en concentrar el muestreo en el período del experimento donde las muestras son más susceptibles de estar deterioradas.

Estos diseños son:

- Parcialmente escalonado
- Escalonado
- Completamente escalonado

## **2.7.2.- Diseños experimentales para determinar la durabilidad**

### **2.7.2.1.- Diseño parcialmente escalonado**

En este diseño cada período de tiempo tiene, en principio, igual importancia desde el punto de vista del valor de la información que aporta, por lo que el número de unidades experimentales es igual en cada período (Gacula, 1975).

### **2.7.2.2.- Diseño escalonado**

Al igual que el completamente escalonado, tiene como principio concentrar la mayoría de las muestras a evaluar en el momento en que el producto está rebasando el límite de aceptabilidad práctica. Otro principio de estos diseños es la posibilidad de suspender evaluaciones en las etapas tempranas del experimento.

El tamaño de la muestra continúa aumentando hasta la fase de aceleración, en la cual, el incremento es igual a 0 y se aumenta la frecuencia de las evaluaciones, disminuyendo el intervalo de tiempo entre los períodos. La fase de aceleración comienza cuando se produce el fallo en la mitad de las unidades experimentales evaluadas en cualquier período del experimento.

Para productos de mediana o larga duración pueden suspenderse evaluaciones en los primeros períodos del experimento. Los valores del número inicial de unidades experimentales ( $N_0$ ) y del incremento ( $C$ ) se fija en dependencia del tiempo de durabilidad esperado del producto, del error intrínseco del método de evaluación y en última instancia por la disponibilidad del mismo.

### 2.7.2.3.- Diseño completamente escalonado

$$N^i = N^{i-1} + r$$

Donde:  $N^i$ : Número de unidades experimentales en la etapa  $i$   
 $N^{i-1}$ : Número de unidades experimentales en la etapa anterior  
 $r$ : número de unidades que faltan en la etapa anterior

En este caso,

el crecimiento de la muestra corresponde a la siguiente expresión:

Este diseño difiere del escalonado en que el tamaño de la muestra sigue en ascenso durante la fase de aceleración, por lo que requiere mayor disponibilidad de muestras.

### 2.7.3.- Criterios de rechazo

De acuerdo al margen de seguridad fijado al inicio del estudio, es decir, al número de muestras que se pueden admitir como rechazables por los consumidores se busca, entonces, el número de jueces que tendrán que calificar la muestra como rechazable dentro del número de jueces que participaron en el análisis sensorial de las muestras. Asegurando de esta manera que el consumidor obtenga un producto con la calidad organoléptica exigida, manteniendo, así, su confianza en la compañía.

Por ejemplo, utilizando una tabla de distribución binomial (Tabla 3) con  $p = 0,5$ , si 10 jueces evalúan el producto serían necesario que la menos 7 consideraran la muestra rechazable para que el rechazo resultara significativo, mientras que con  $p = 0,1$ , sólo son necesarios 3 juicios de rechazo.

A este margen de seguridad se suma, además, el grado de adiestramiento de los jueces, especialistas en productos cárnicos, y por tanto sesgados en el sentido de un mayor grado de exigencia (Herrera, 1998).

**Tabla 3. Criterios de rechazo en la evaluación sensorial (Cantillo y col, 1994)**

Número de Jueces	Número mínimo significativo		
	5%	1%	0.1%
7	2	3	4
8	2	3	4
9	3	3	4
10	3	3	4
11	3	4	5
12	3	4	5
13	3	4	5
14	3	4	5
15	4	5	6
16	4	5	6
17	4	5	6
18	4	5	7
19	4	5	7
20	4	6	7

#### 2.7.4.- Procesamiento de los resultados

Los resultados obtenidos se procesan como “datos incompletos de fracaso” por el método de ploteo de riesgos, admitiendo un 5% de unidades deterioradas. Este tipo de experimento presenta ventajas indudables en cuanto a la flexibilidad del cronograma de inspección de las muestras almacenadas, y se adapta perfectamente al carácter destructivo del ensayo a que se someten las muestras, brindando datos útiles independientes del resultado obtenido (Herrera, 1998).

Este método considera un conjunto de datos que contienen los tiempos de vida de las unidades que fallan y los tiempos de corrida de las unidades que no fallan, o sea que aún no se han deteriorado en el tiempo considerado.

Para la aplicación automatizada de este método se creó el programa Ploteo de riesgos (Cantillo y col, 1994) que ofrece una salida impresa con los valores de los parámetros de la distribución,

sus intervalos de confianza, el valor esperado y la desviación típica, sus percentiles y la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov- Smirnov que permite comprobar si los tiempos de vida de las unidades pueden describirse probabilísticamente mediante la ley de distribución asumida.

Si la ley asumida no describe la distribución de los datos de fallo los resultados obtenidos no son consistentes y deben probarse otras distribuciones. En todos los casos, para aumentar el margen de seguridad se debe seleccionar el límite inferior.



### **3.-HIPOTESIS:**

Si utilizamos la combinación de dos factores combinados como la adición de sorbato de potasio y envasado al vacío en la elaboración de una butifarra fresca para inhibir el crecimiento microbiano, entonces podríamos alargar la vida de anaquel de dicho producto por más tiempo. Manteniendo las características sensoriales del producto fresco durante el tiempo de vida de anaquel.

#### 4.-OBJETIVOS

General:

Extender la vida de anaquel de una butifarra fresca de cinco (preparación tradicional) a veinte días utilizando la combinación de dos factores (empleo de preservante y disminución de potencial redox).

Particulares:

1. Evaluar las características microbiológicas, fisicoquímicas y sensoriales del producto recién elaborado.
2. Determinar la influencia del empleo de sorbato de potasio, el envasado al vacío y la combinación de estos factores sobre la vida de anaquel de la butifarra fresca.
3. Definir las condiciones de conservación más adecuadas para aumentar la vida de anaquel del producto.

## 5.- PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1.- MATERIALES Y MÉTODOS

#### 5.1.1.- Selección de las materias primas

Para la realización del trabajo se utilizó como materia prima fundamental, carne de cerdo de primera y tercera categoría, procedentes de las neveras de la Dirección de Carne del IIIA. Estas se trasladan al área de elaboración donde se reciben por el personal técnico acreditado para realizar su inspección.

#### 5.1.2.- Preparación de las variantes

Las materias primas cárnicas se molieron por un disco de 13 mm de diámetro. En una mezcladora marca Imperator 20 tipo PKB, se adicionaron las sales y por último los condimentos, mezclando durante 10 min, hasta obtener la textura característica. Se elaboraron 4 variantes, a dos de las cuales se les adicionó 1000 ppm de sorbato de potasio, éste se adicionó a la masa en el momento de añadir los condimentos. La formulación típica del producto se muestra en la Tabla 4. y el diagrama de proceso en el Anexo.

**Tabla 4. Formulación típica de la butifarra fresca**

<b>Materia prima</b>	<b>Porcentaje</b>
Carne de cerdo de 1ª	60.00
Carne de cerdo de 3ª	37.00
Sal común fina	2.47
Sal de cura	0.13
Pimienta negra molida	0.15
Nuez moscada	0.05
Ajo en polvo	0.20
Total	100.00

Las masas elaboradas se embutieron en tripa fibrosa comestible para butifarra empleando una embutidora hidráulica marca Eduard-Müller & Söhre 66 Saarbücken 2, logrando piezas de entre 75 – 100 g de peso aproximadamente.

Las variantes 1 y 2 (sin y con sorbato de potasio añadido respectivamente) se colgaron en varillas a razón de 30 piezas por varilla para conocer la influencia de la presencia de un obstáculo (adición de preservante) sobre la butifarra fresca.

Las variantes 3 y 4 (esta última con 1000ppm de sorbato de potasio) se empaclaron en bolsas al vacío. El objetivo fue utilizar un envase que protegiera al producto hasta su utilización por parte del consumidor, además de que funcionara como una barrera más contra la proliferación microbiana. El producto se colocó, de forma manual, en bolsas de polietileno a razón de 6 piezas, sellando posteriormente las mismas empleando una selladora marca Zermat. La variante 4 es la que tiene la combinación de los 2 factores que se estudiaron en este trabajo (la presencia de 1000ppm de sorbato de potasio y envasado al vacío).

Las variantes colgadas y las envasadas, se guardaron en una misma nevera de 2 a 5 °C y con humedad relativa del  $93 \pm 5$  % para la prueba de almacenamiento. Se seleccionó esta temperatura ya que es la que tienen las neveras de las tiendas donde se venden estos productos.

Se tomó como una unidad experimental 14 butifarras para las 2 variantes colgadas y dos bolsas para las 2 variantes envasadas al vacío. Esta operación se realizó a 3 lotes diferentes de cada variante.

Nótese que en la cantidad en que fue adicionada la sal sólo esta funcionando como resaltador de sabor y favoreciendo su propiedad como ligante por medio de la extracción de las proteínas miofibrilares.

### 5.1.3.- Caracterización del producto

Con el fin de conocer la calidad del producto del que se parte para realizar el estudio de durabilidad, se realizó una caracterización físico-química y microbiológica de las materias primas cárnicas (carne de cerdo de primera y tercera categoría). Las determinaciones físico-químicas realizadas fueron pH (ISO-2417, 1974), humedad (%) (AOAC, 1980a), cenizas (%) (ISO-936, 1973), proteína (%) (cálculo teórico por diferencia) y grasa (%) (ISO-1444, 1974).

Los análisis microbiológicos realizados fueron: conteo total de aerobios mesófilos (CTAM) (Agar para Conteo en Placas, 37 °C, 48 hrs), conteo de hongos (CH) y levaduras totales (CL) (Agar extracto de malta con 0,2 % de ácido láctico al 2%, 30 °C, 5 – 7 días) y conteo de microorganismos psicrófilos (CPS) (Agar para Conteo en Placa, 4 – 6 °C, 7 días).

Los productos recién elaborados (t=0) se analizaron desde el punto de vista fisico-químico, microbiológico y sensorial para comprobar el cumplimiento de las especificaciones de calidad, sobre todo en aquellos índices relacionados con durabilidad. Las determinaciones fisico-químicas realizadas para caracterizar el producto fueron pH (ISO-2417, 1974), humedad (%) (AOAC, 1980a), cenizas (%) (ISO-936, 1973), proteína (%) (cálculo teórico por diferencia), grasa (%) (ISO-1444, 1974), cloruro de sodio (%) (AOAC, 1980b) y nitritos (AOAC 2000). Los análisis microbiológicos realizados fueron: conteo total de aerobios mesófilos (CTAM) (Agar para Conteo en Placas, 37 °C, 48 hrs), conteo de hongos (CH) y levaduras totales (CL) (Agar extracto de malta con 0,2 % de ácido láctico, 30 °C, 5 – 7 días) y conteo de microorganismos psicrófilos (CPS) (ACP, 4 – 6 °C, 7 días).

Para la evaluación sensorial de las variantes al inicio del estudio se empleó una escala de calidad analizando los atributos de textura, aspecto y sabor mediante una escala de 7 puntos (1 pésimo- 7 excelente). Las muestras se codificaron con números aleatorios de tres cifras. Con el fin de conocer la mejor forma de presentación del producto a los panelistas, se probaron 3 formas de cocción:

- Se sumergieron en aceite caliente durante 5 min
- Se dividieron a la mitad de forma horizontal y se frieron en aceite caliente durante 2 min por cada lado.
- Se sumergieron en agua hirviendo durante 7 – 10 min, se dejaron refrescar y se frieron en aceite caliente durante 1 – 2 min.

La mejor opción encontrada fue la tercera ya que el producto se podía presentar siempre con la misma apariencia y se aseguraba, además, su cocción completa. Las muestras se sirvieron a temperatura ambiente.

#### 5.1.4.- Evaluación de los rendimientos

La butifarra fresca es un producto que se comercializa crudo. Para conocer los rendimientos del proceso productivo, la operación de embutido es la de mayor importancia. Es en ésta operación donde se presentan las mayores mermas, por lo tanto su rendimiento se considera como el de todo el proceso. En ésta es en una de las etapas, donde se garantiza la inocuidad del producto y para esto es importante evitar la formación de burbujas de aire dentro de la masa así como contaminación microbiana por los utensilios de trabajo. Esta operación puede considerarse un punto crítico de control dentro del proceso. Con el fin de conocer su rendimiento, se pesaron las materias primas ya mezcladas, es decir, la masa, el producto terminado y se calculó la merma de embutido. Para cuantificar las mismas se empleó la fórmula:

$$R=(PT * 100\%)/PM$$

donde: PT = Peso del Producto Terminado

PM = Peso de la Masa

Cuando este producto llega al consumidor y es preparado para su consumo, también se produce una merma que influye en la constancia y preferencia del consumidor por el mismo. Este rendimiento, además del de proceso general es muy importante. Para conocer los rendimientos después del tratamiento culinario, se pesaron las butifarras antes y después del tratamiento térmico y los resultados se procesaron empleando la siguiente fórmula:

$$RC=(PBF * 100\%)/PBC$$

donde: PBF = Peso de las Butifarras Fritas

PBC = Peso de las Butifarras Crudas

#### 5.1.5.- Caracterización del material de empaque

Para el envasado de los productos se emplearon bolsas de 30 x 40 cm. La película que conforma las bolsas empleadas en este trabajo se identificaron para determinar el número de

capas y el polímero plástico que las compone (Shah, B.A., 1988). Se les determinó el peso base y el espesor (NC 30 – 37,1984) a cada una de las capas, así como la permeabilidad de las bolsas al vapor de agua (ISO 9932, 1990) y al oxígeno(ISO 2556, 1990), el material compuesto y la resistencia al sellado térmico (ASTM F88, 1988) de los tres cierres que conforman la bolsa y del cierre realizado al cerrar la bolsa en el momento de envasarse al vacío.

### 5.1.6.- Estudio de conservación

Durante el estudio de conservación tanto las variantes colgadas como las variantes empacadas se almacenaron en nevera a temperatura de 2– 5 °C y con humedad relativa del  $93 \pm 5 \%$ . Para el estudio de durabilidad se tomó como criterio de rechazo la evaluación sensorial. Esta la realizó, a lo largo de todo el estudio de durabilidad, un grupo de jueces adiestrados de 10 – 15 miembros, todos ellos trabajadores relacionados con la producción y/o evaluación de productos cárnicos y por lo tanto familiarizados con los productos y su comportamiento en almacenamiento.

Para calificar la muestra como aceptable o rechazable durante todo el estudio, los jueces tuvieron en cuenta cambios en el color, olor, sabor y textura del producto almacenado, así como cualquier cambio deteriorativo ostensible. Si marcaban la muestra como rechazable debían indicar en que consistía el deterioro apreciado, para poder tener conocimiento de la vía de deterioro que se manifestaba. Se empleó una prueba de aceptación simple utilizando el siguiente modelo reporte:

Nombre: _____		Fecha: _____		
Marque si la muestra es aceptable o rechazable de acuerdo al grado de deterioro por almacenamiento que aprecie en cada una de ellas.				
	Olor		Sabor	
Muestra	Aceptable	Rechazable	Aceptable	Rechazable
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

Fig 4.- Modelo de reporte empleado durante el estudio de conservación para la evaluación sensorial de las variantes

Durante el estudio de conservación, se empleó un diseño parcialmente escalonado donde el número de unidades experimentales es igual en cada período y al obtener el primer rechazo, el tiempo entre cada evaluación disminuye. Se realizaron pruebas de observación para determinar el régimen de muestreo que permitiera llegar al deterioro de las muestras sin mucho gasto de materia prima cárnica.

Para conocer la influencia del empleo de preservantes sobre la durabilidad de la butifarra fresca, se tomaron 60 piezas de butifarra de las variantes 1 y 2. Durante el estudio de conservación se realizaron determinaciones microbiológicas, sensoriales y de pH, dos veces por semana y ajustando al final para precisar el deterioro.

En el caso de las variantes 3 y 4 , durante el estudio se hicieron determinaciones microbiológicas, sensoriales y de pH cada quince días, disminuyendo el tiempo entre evaluaciones a una semana, luego de obtener el primer rechazo.

#### **5.1.7.- Procesamiento de los resultados**

A los valores obtenidos en la caracterización tanto de los productos como del material de envase y a los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos y de pH que se hicieron a lo largo del estudio de durabilidad, se les calculó la media y desviación estándar.

Para la evaluación de durabilidad se tomó como criterio de fracaso la coincidencia en este dictamen con el número mínimo significativo de jueces dado por una distribución binomial con  $p=0.01$ .

Los resultados obtenidos de las evaluaciones sensoriales se procesaron como "datos incompletos de fracaso" por el método de ploteo de riesgos, admitiendo un 5 % de unidades deterioradas (Cantillo y col., 1994). En todos los casos, para aumentar el margen de seguridad se seleccionó el límite inferior.



## 6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1.- Resultados de la caracterización de las materias primas cárnicas y los productos

La caracterización de las materias primas cárnicas mostró resultados favorables. En la Tabla 5 se muestran las medias de las evaluaciones físico-químicas de las materias primas cárnicas. Como se puede observar el valor de pH para la carne de cerdo de primera fué de 6,35 y de 6,51 para la carne de cerdo de tercera categoría. Estos resultados están dentro del rango que caracteriza a la carne como fresca. Recordemos que el pH es una de las propiedades más importantes de la carne ya que tiene influencia sobre el crecimiento microbiano, la capacidad de retención de agua de las proteínas y las características organolépticas (Andujar y col., 2004).

**Tabla 5.- Caracterización fisicoquímica de las materias primas cárnicas. Valores medios de las tres corridas**

Parámetros Físico-químicos	Carne primera <sup>1</sup>	Carne tercera <sup>1</sup>	Carne primera <sup>2</sup>	Carne tercera <sup>2</sup>	Carne primera <sup>3</sup>	Carne tercera <sup>3</sup>
pH	6,35 (0,31)	6,51 (0,23)	--	--	--	--
Proteína	19,02 (0,89)	16,64 ( )	20,00	15,00	20,00	19,00
Humedad (%)	74,42 (1,79)	64,37 (10,78)	72,00	57,00	75,00	70,00
Grasa (%)	7,83 (5,0)	12,83 ( )	6,00	27,00	5,00	11,00
Cenizas	2,64 ( )	3,61 ( )	--	0,00	--	--

1. Según experimento

( ) desviación estándar

2. Según González y col., 2003

3. Según clasificación alemana

En el caso de los valores de proteína, para la carne de primera fué de 19,02; superiores a los de la carne de tercera 16,64. Este resultado es esperado ya que se han reportado valores de 19 y 20 para la carne de primera y tercera categoría, respectivamente. (González y col., 2003).

Los valores de grasa como se esperaba fueron mayores en la carne de tercera que en la de primera categoría, principalmente por la diferencia entre las partes del cerdo de las que provienen cada una, además de ser estos valores muy variables ya que dependen de factores extrínsecos e intrínsecos, como son: alimentación, sexo, edad, etc. Aunque no fue éste un parámetro a seguir durante el estudio, por que no se espera un cambio significativo, influye en

las características organolépticas del producto por lo que se procuró que el contenido de grasa fuera el mismo en todas las variantes.

Los valores de humedad obtenidos también concordaron con los valores informados por otros autores, por lo tanto, la materia cárnica se consideró adecuada para el estudio de durabilidad.

La Tabla 6 muestra las medias de las evaluaciones físico-químicas de las 4 variantes en estudio. Como se puede observar, los valores de pH de las 4 variantes se encuentran entre 6,16 y 6,25, valores que están en el rango permitido para este tipo de producto, pero tomando en consideración que es una de las propiedades físico-químicas que se afectan durante el estudio de conservación de un producto, es uno de los principales valores a seguir durante el estudio de durabilidad (Andujar y col, 2004).

**Tabla 6.- Valores medios de la caracterización fisicoquímica del producto terminado al inicio del experimento.**

Var	pH	Grasa	Proteína	Cenizas	Humedad	Cloruros	Nitritos
1	6,16	9,66 (5,5)	17,50 (0,53)	2,33 (0,15)	68,05 (2,45)	1,89 (0,26)	111,2
2	6,25	9,66 (4,72)	17,28 (0,76)	2,96 (0,90)	68,47 (3,50)	1,56 (0,16)	120,39
3	6,20	9,33 (5,13)	15,65 (1,23)	2,83 (1,11)	66,75 (3,34)	1,60 (0,09)	123,5
4	6,25	10,0 (5,65)	16,41 (0,77)	3,13 (1,35)	69,91 (8,71)	2,12 (0,06)	109,7

( ): desviación estándar

La Tabla 7 muestra los resultados de los conteos microbiológicos de las materias primas cárnicas y de las variantes.

**Tabla 7.- Valores medios de los resultados microbiológicos de las materias primas cárnicas ( $\log_{10}$  UFC/g).**

	CTAM	CL	CH	CPs
Carne 1ra	4,01	2,92	1,25	3,90
Carne 3ra	5,49	3,38	1,26	3,42

CTAM= Conteo Total de Aerobios Mesófilos CH= Conteo de Hongos

CL= Conteo de levaduras.

CPs= Conteo de Psicofilos

**Tabla 8.- Valores medios de los resultados microbiológicos del producto terminado al inicio del experimento ( $\log_{10}$  UFC/g).**

Variantes	CTAM	CL	CH	CPs
Var 1	3,88	2,28	1,00	4,30
Var 2	4,08	2,21	1,00	3,78
Var 3	4,22	2,39	1,00	1,93
Var 4	3,84	1,30	1,00	1,74

CTAM= Conteo Total de Aerobios Mesófilos CH= Conteo de Hongos

CL= Conteo de levaduras.

CPs= Conteo de Psicrófilos

Los conteos microbiológicos obtenidos tanto para las materias primas cárnicas como para las variantes al inicio del estudio, están dentro del rango permitido, Roca y col., 1980, reportan valores para butifarra de  $10^4$ m -  $10^5$ M para conteo total y  $10^1$ m -  $10^2$ M para Coliformes, siendo estos últimos valores superiores en el producto estudiado, sin embargo, siguen siendo aceptables si tomamos en cuenta las condiciones actuales de elaboración y las carencias de la planta.

## 6.2.- Resultados de la evaluación de los rendimientos del producto

Aunque los rendimientos calculados no son escalables para una producción industrial por ser éste un trabajo de investigación con una producción muy pequeña, los valores obtenidos de las primeras variantes se tomaron en cuenta para el diseño experimental del estudio de durabilidad del resto de las corridas; se obtuvieron rendimientos promedio del 85 % considerando el rendimiento de la operación de embutido como el rendimiento general del proceso. Este valor concuerda con el porcentaje de merma calculado en la formulación brindada por el IIIA el cual es de 20 %. En cuanto a los rendimientos calculados a partir de las mermas de cocción durante los paneles sensoriales, estos fueron del 80 %, estos rendimientos serían los esperados por el consumidor siguiendo la misma forma de cocción que se utilizó durante el estudio, en el cual la pérdida de peso por el producto se observó principalmente durante la cocción de las butifarras en agua y no durante la freidura.

### 6.3.- Resultados de la caracterización del material de envase

El envase de los productos cárnicos debe preservar el color, prevenir la pérdida de humedad así como la contaminación bacteriana y la captación de olores y sabores extraños (Perejda, 1991). En la Tabla 9 se informa el peso base y el espesor de cada una de las capas.

Estas características de las bolsas son importantes si tomamos en consideración que las películas empleadas tienen que mostrar una resistencia alta al vapor de agua y los gases, los cierres deben ser perfectos y con buena resistencia mecánica para poder obtener los productos deseados y en buenas condiciones.

**Tabla 9.- Peso base y espesor de las capas que componen la película compleja (n=10)**

Indice	Capa externa	Capa intermedia	Capa interna
Peso base (g/m <sup>2</sup> )	19,2 (1,25)	3,9 (0,53)	46,2 (2,81)
Espesor (μ)	22,4 (0,89)	11,0 (2,24)	77,3 (2,08)

( ) desviación estándar

La película compleja por la que está conformada la bolsa está compuesta por tres capas: una externa de poliamida y la interna y externa de polietileno de baja densidad. En la Tabla 8 se informan los valores de permeabilidad de la película compleja y de resistencia al sellado térmico de las bolsas.

El valor de permeabilidad al oxígeno determinado a la película compleja se considera aceptable para materiales empleados en el envasado a vacío y es debido fundamentalmente a la presencia de la capa de poliamida, cuyo polímero presenta entrecruzamiento en sus cadenas carbonílicas, lo que dificulta la transferencia a los gases y por ende su permeabilidad, esto está en función del espesor de la película (Tabla 8) (Briston, 1980). La baja permeabilidad al vapor de agua está dada por la doble capa de polietileno de baja densidad (Briston, 1980).

Esta película también presenta excelentes características al sellado térmico (Theller, 1989), que unido al espesor empleado (Tabla 10) garantizan una buena hermeticidad al sellado, esto se corrobora con los resultados de resistencia al sellado obtenidos en ambos cierres, los cuales concuerdan con la literatura (Buzio, 1989).

**Tabla 10.- Permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno y resistencia al sellado térmico de las bolsas.**

<b>Índice</b>	<b>Valor medio</b>	<b>Desviación estándar</b>
Permeabilidad al vapor de agua (g/m <sup>2</sup> día) a 23 ° C y 85 % HR	2,9	0,60
Permeabilidad a los gases (cm <sup>3</sup> / m <sup>2</sup> día) a 25 ° C	42,2	3,17
<b>Resistencia al sellado térmico (N/15 mm)</b>		
Sellado térmico de tres lados de la bolsa (selladora de fábrica)	22,1	1,08
Sellado térmico cierre de la bolsa (máquina manual de envasado al vacío)	17,9	0,98

#### **6.4.- Resultados del estudio de conservación**

La Tabla 11 muestra a modo de ejemplo la construcción de la columna de rango inverso y el cálculo de los valores de riesgo y riesgo acumulado para el caso de las butifarras almacenadas a 2-5 ° C , con 1000 ppm de sorbato de potasio (Var 2).

Como se puede observar tanto el cálculo del valor de riesgo, como riesgo acumulado, se realizan de una forma muy sencilla y sólo se toman en cuenta las muestras rechazadas.

**Tabla 11 . Resultados obtenidos en el análisis sensorial de las butifarras con 1000 ppm de sorbato de potasio, colgadas y almacenadas a 0-5 °C.**

Tiempo de inspección (días)	Rango Inverso (k)	h (Riesgo)	H (Riesgo acumulado)
1	18	-	-
1	17	-	-
1	16	-	-
4	15	-	-
4	14	-	-
4	13	-	-
7	12	-	-
7	11	-	-
7	10	-	-
10	9	-	-
11*	8	12.5	12.5
11	7	-	-
14*	6	16.7	29.2
14*	5	20.0	49.2
14*	4	25.0	74.2
15*	3	33.3	107.5
15*	2	50.0	157.5
16*	1	100.0	257.5

Nota: El \* indica las muestras rechazadas.

Este tipo de procesamiento permite de acuerdo a la cantidad de unidades defectuosas que se esté dispuesto a admitir, lo que está determinado fundamentalmente por la gravedad que esto pueda representar para el consumidor o para la imagen del productor, se determinen diferentes durabilidades. Así se busca el porcentaje de unidades defectuosas y la intersección de la recta de mejor ajuste, indicándonos el número de días en que la muestra resulta aún aceptable. La Figura 4 muestra el grafico de ploteo de riesgo.

Trabajando con el programa de computación, los datos a introducir serían también los tiempos de inspección, y sólo debe marcarse con un asterisco (como se muestra en la Tabla 11), las muestras que resultaron rechazadas.

La Tabla 12 y la Figura 5 (ambos en el Anexo) muestran la tabla de salida y el gráfico correspondiente al mismo experimento, procesados por el programa de computación. Puede observarse que los percentiles indican las durabilidades a obtener para cada % de unidades defectuosas que se admita, con la diferencia que aquí también se dan los límites de confianza, en este caso se consideran los límites inferiores para reportar la durabilidad del producto, esto con el fin de obtener un margen más de confianza.

La prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov - Smirnov indicó que en todos los casos la distribución probabilística de los tiempos de fallos puede ser descrita por la "Ley de Weibull" y tomando el límite inferior para un percentil del 5 % las variantes estudiadas de butifarra fresca tienen las durabilidades indicadas en la Tabla 13.

*Tabla 13. Tiempo de durabilidad (días). Valores del percentil 5 % para las butifarras frescas (n=3)*

	Valor Medio (días)	Límite Inferior (días)	Límite Superior (días)
Variante 1	6,36	4,73	8,56
Variante 2	10,72	8,84	13,00
Variante 3	20,60	15,71	27,02
Variante 4	35,89	31,91	40,36

En cuanto a los resultados obtenidos en las pruebas de aceptación-rechazo, cuando los jueces comenzaron a rechazar los productos hacían referencia a la aparición de un sabor ácido atípico en este producto, olor ácido y rancio en algunos casos, lo que se puede deber a la acción de bacterias ácido-lácticas

La Figura 6 muestra los cambios ocurridos de pH de las cuatro variantes estudiadas. Como se

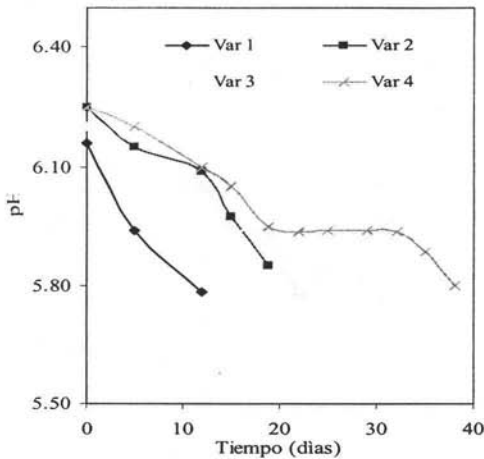


Fig 6.- Comportamiento del pH de las 4 variantes de butifarra fresca durante el estudio de durabilidad

puede observar, en las 4 variantes hay una disminución del pH, pero mucho más marcado en las variantes 1 y 2. Esto es perfectamente lógico si tomamos en consideración que estas dos variantes no están envasadas. El empacado en bolsas previene a los productos cárnicos de la contaminación microbiana, que es uno de los factores que influyen sobre la disminución del pH.

De las variantes 1 y 2, la acidificación ocurrió con mayor celeridad en la variante 1 y esto podría deberse a que no posee preservante añadido. El sorbato de potasio, es un inhibidor eficaz de muchas especies de microorganismos, sobre todo hongos y levaduras, y es capaz de frenar el crecimiento de algunas especies bacterianas relacionadas con el deterioro. Los resultados de esta variante nos dan entonces información del tiempo de vida útil del producto en condiciones normales

En el caso de las variantes 3 y 4, que estaban empacadas en bolsas al vacío, se acidificaron más lentamente, siendo la variante 4 la de mejores resultados ya que se combinan dos factores importantes: el empleo de preservante y la disminución del potencial Redox por medio del empacado al vacío.

Como ya dijimos, la disminución del pH, se observa en las cuatro variantes, sin embargo, podemos observar que la disminución de éste en cada variante es más o menos prolongado dependiendo las condiciones de almacenamiento y la presencia o no del preservante, lo que le atribuimos principalmente a los conteos microbianos y que podemos comprobar en las Figuras



7,8y 9. Además podemos observar que conforme el pH disminuye, se ven afectadas las características organolépticas del producto (olor, sabor y aroma) influyendo directamente en la aceptación del mismo y por lo tanto en la vida útil, ya que la evaluación sensorial ha sido considerada como el parámetro que la determina por ser éste el que interesa a los consumidores.

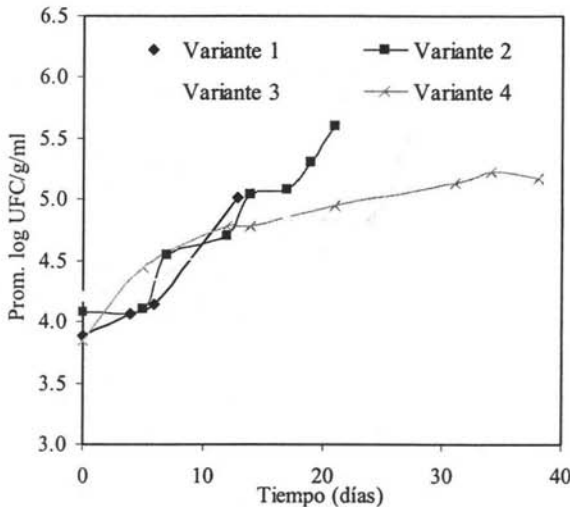


Fig 7.- Valores medios de los conteos totales de microorganismos aerobios mesófilos obtenidos durante el estudio de conservación

La figura 7 muestra los valores medios del logaritmo de los recuentos totales de microorganismos aerobios y mesófilos. Como se puede observar los conteos microbianos aumentan significativamente conforme el tiempo en el caso de las cuatro variantes, sin embargo este comportamiento es más marcado en las variantes 1 y 2 donde el crecimiento de microorganismos alcanza la fase aceleración en un intervalo menor de tiempo, lo que

podría deberse a que estas variantes no están empaquetadas al vacío y por lo tanto son más susceptibles al ataque microbiano. A diferencia de la variante 2, que contiene preservante, en la variante 1 se observa que el crecimiento microbiano es mucho más acelerado, alcanzando casi los mismos conteos que el resto de las variantes pero en un intervalo de tiempo menor lo que influye directamente en las características sensoriales del producto, disminuyendo así la vida útil del mismo.

La variante 2 llega a conteos mayores que la variante 1 pero con un crecimiento más pausado, alterando de forma menos drástica las características del producto y permitiendo así que el producto sea aceptable por un intervalo de tiempo mayor, lo que se le atribuye a la presencia del sorbato, ya que de esta manera se inhibe el crecimiento de algunos microorganismos y se

evita tanto la disminución del pH como cambios deteriorativos producidos por los mismos microorganismos y que son perceptibles a los panelistas.

Para la variante 3, se observa un crecimiento microbiano más lento que en las variantes 1 y 2: sin embargo en la variante 4, el crecimiento es mucho más pausado y se observa que aún al final del estudio, los conteos microbianos son menores al resto de las variantes.

Aunque el crecimiento nunca permanece constante, los conteos en el intervalo de tiempo medio del estudio de esta variante, no aumentan siquiera una unidad logarítmica; lo que podría explicarse con la presencia del preservante, además del empaquetado al vacío, ambos obstáculos inhiben, claramente, el crecimiento microbiano y logrando de esta manera, mantener el producto con buenas características sensoriales durante un intervalo de tiempo mucho mayor comparado con las otras condiciones. Cabe recordar que las cuatro variantes se almacenaron en la misma nevera y por lo tanto a la misma temperatura y humedad relativa.

La figura 8 muestra el grafico del promedio del logaritmo de los recuentos totales de

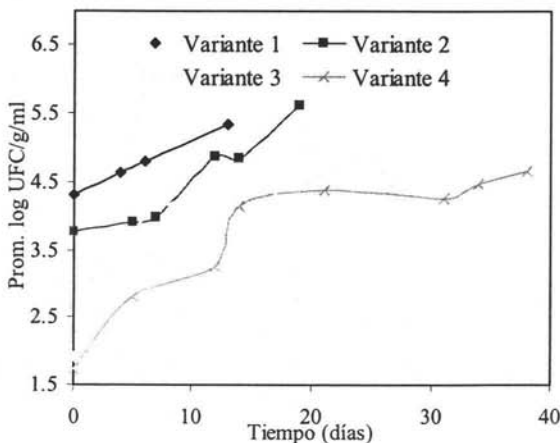


Fig 8.- Valores medios de los conteos de microorganismos psicrófilos obtenidos durante el estudio de conservación

microorganismos psicrófilos. Por tratarse de un producto fresco y almacenado en refrigeración, los microorganismos psicrófilos, juegan un papel muy importante en el deterioro del producto en cuestión, ya que, esta temperatura es la que se reporta como óptima para su crecimiento.

Durante el estudio, el crecimiento de estos microorganismos fue el esperado,

ya que en las cuatro variantes se observa un aumento en los conteos, pero mucho más marcado en las primeras dos.

En la variante 1, el crecimiento siempre va en aumento y con una pendiente cercana a 1; mientras que en el resto de las variantes se puede observar la presencia de los factores de inhibición siendo el más destacado el empleo del envasado al vacío, ya que si comparamos la tendencia de la variante 1 y 2, podemos notar que no hay una diferencia tan marcada como entre las variantes 1 y 3, entre las cuales la diferencia es el empleo del envasado al vacío; sin embargo la variante 4 refleja ser la mejor opción para el control de estos microorganismos, ya que además de mostrar un crecimiento pausado, el conteo microbiano es mucho menor desde el inicio hasta el final del estudio, lo que nos indica que la disminución del potencial redox en el ambiente del envase implica selectividad y competencia de los microorganismos presentes en el producto.

Disminuyendo la posibilidad de sobrevivencia de una gran parte de los microorganismos presentes por medio de la disminución del potencial redox, aseguramos que el deterioro en el producto se muestre de manera más lenta. Esto no evita que con el crecimiento de los microorganismos capaces de sobrevivir en estas condiciones haya cambios en el producto, pero si que los microorganismos que crecen de manera óptima en las temperaturas utilizadas, tengan un obstáculo más en su crecimiento, ya que al ser estos no sólo capaces de crecer a estas temperaturas sino tener la temperatura ideal para su crecimiento, queden entonces en ventaja sobre los otros grupos microbianos, por lo que es necesaria una barrera para limitar el crecimiento.

La figura 9 muestra el gráfico del promedio del logaritmo de los recuentos de levaduras. En ella podemos apreciar el efecto del sorbato en el producto, es decir, como influye en el crecimiento de las levaduras, que son unos de los principales grupos microbianos inhibidos por este preservante químico.

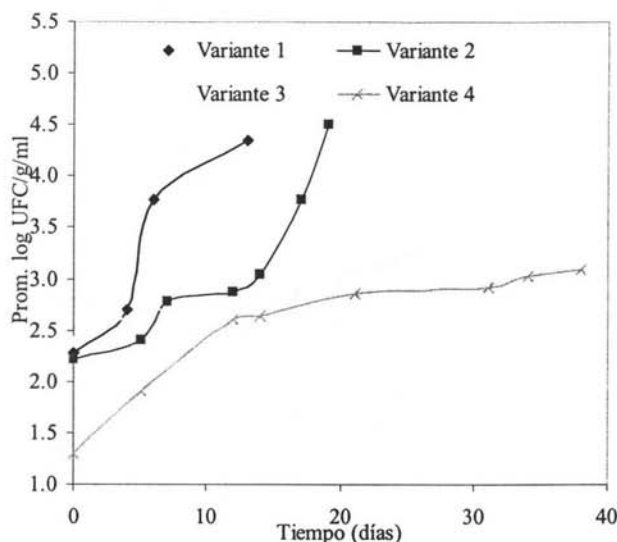


Fig 9- Valores medios de los conteos de levaduras obtenidos durante el estudio de conservación

Comparando la tendencia de las variantes 1 y 2, podemos notar una gran diferencia tanto en el comportamiento como en los valores alcanzados en el mismo tiempo, lo que nos comprueba la eficiencia del sorbato sobre estos microorganismos. Podemos notar también que la disminución del potencial redox, tiene un efecto de inhibición mayor también sobre estos microorganismos, ya que si observamos la tendencia de la curva que representa a la variable 3 donde se hace uso de

esta barrera, y la comparamos con la tendencia de la variante 1, podemos notar que hay una gran diferencia, mientras que si comparamos la tendencia de las variantes 3 y 4 la diferencia no es muy significativa, aunque no por eso sin importancia, ya que a pesar de que la variante empacada al vacío posee una vida de anaquel mucho mayor que las variantes 1 y 2, el comportamiento de las levaduras en la variante 4 se logra mantener casi constante alargando de este modo la vida útil producto. El sorbato de potasio, por su mecanismo de acción, sólo puede inhibir el crecimiento microbiano cuando se encuentra no dissociado por lo que hay que tomar en cuenta que la cantidad de preservante adicionada no es la cantidad que tiene la capacidad de actuar sobre los microorganismos. Aunque la adición del preservante, como ya observamos, no es el que determina la cantidad de microorganismos que sobrevive, la pequeña disminución de estos que se logra, influye en que los cambios deteriorativos se den lentamente, o por lo menos en un intervalo de tiempo mayor que cuando no esta presente. Aunado a esto, debemos tomar en cuenta que el sorbato de potasio contribuye a que el producto mantenga una apariencia de fresca ayudando a que el color del producto sea como el del producto fresco.

## 7.-CONCLUSIONES

Se logró extender la vida de anaquel de una butifarra fresca utilizando como factores combinados de conservación la disminución del potencial redox por medio del envasado al vacío y el empleo de 1000 ppm de sorbato de potasio como preservante adicionado en la masa del producto, logrando una durabilidad de 32 días almacenando las butifarras en una nevera a 4-8 °C con una Humedad Relativa del 93±5 %.

Se observó que la combinación de ambos factores aumenta la vida de anaquel del producto inhibiendo el crecimiento de los microorganismos a los que se considera como responsables de los cambios deteriorativos y ayudando a que el producto mantenga por más tiempo las características organolépticas típicas del producto fresco.

## 8.-PERSPECTIVAS

1. Conocer el comportamiento de *Clostridium botulinum* y *Salmonella spp*, dos especies patógenas que se pueden desarrollar bajo condiciones de vacío, ante la variante seleccionada como la más adecuada, es decir, la variante a la que se adicionó 1000 ppm de sorbato de potasio en la masa, envasada en bolsas al vacío y almacenada en una nevera a 2-5 °C con Humedad Relativa del 93±5 %.
2. Hacer el estudio de durabilidad en las mismas condiciones utilizando bacteriocinas, esto probando varias cepas de bacterias ácido lácticas y diferentes concentraciones de las mismas hasta obtener la mejor combinación para alargar la vida de anaquel del producto sin afectar o mejorando las características organolépticas.
3. Conocer la influencia de otras atmósferas modificadas sobre la vida de anaquel de butifarra fresca.
- 4.- Seguir el comportamiento de la Aw durante todo el estudio de vida de anaquel.

## 9.-ANEXOS

### DETERMINACIÓN DE CLORUROS

Venegas O. Y Andujar G. (1979)

European congress of meat. Research Workers. Budapest

#### **Fundamento del método:**

Se basa en la extracción de cloruros de una porción de muestra por maceración con agua a temperatura ambiente. Posteriormente se filtra y se neutraliza el extracto, valorando con una solución de nitrato de potasio como indicador.

#### **Reactivos químicos:**

- Nitrato de plata, solución 0.1N
- Cromato de potasio: solución al 5% (m/v)
- Hidróxido de sodio: solución al 0.1N

#### **Preparación de la muestra:**

Preparación de la porción de ensayo y extracción de cloruros:

Se pesan 10g de la muestra con un error máximo de 0.001g, en un vaso de precipitados de 250ml.

Se añaden 100ml de agua destilada y se deja en reposo durante 1 hora agitando ocasionalmente; después se neutraliza con una solución de hidróxido de sodio 0.1N.

El contenido del vaso se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de 250ml, se afora, se mezcla bien y se filtra.

**Determinación:**

Se toma con una pipeta una alícuota de 10 o 25ml y se transfiere a un Erlenmeyer de 250ml y se añaden unas gotas de solución indicadora de cromato de potasio.

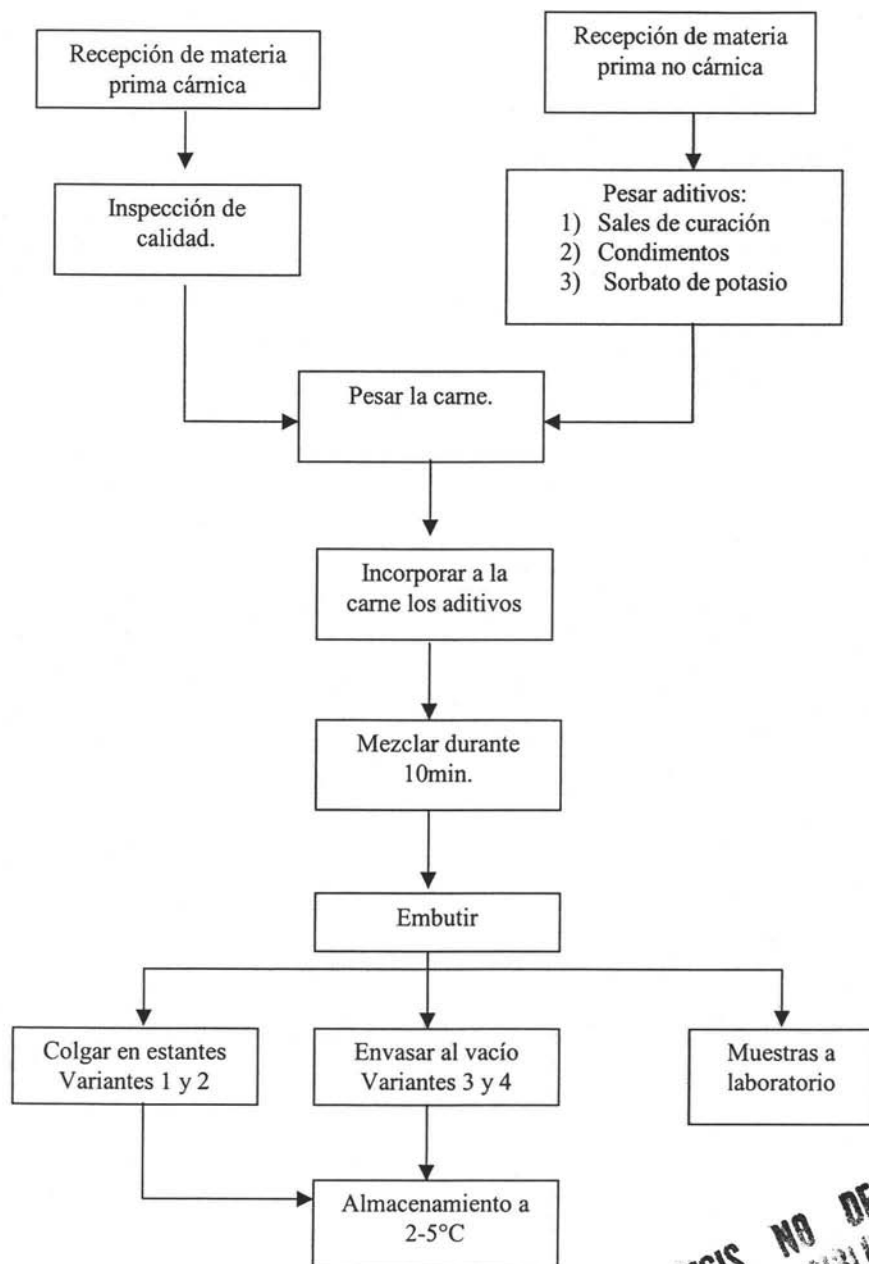
El extracto se valora con una solución de nitrato de plata 0.1N agitando circularmente el líquido hasta que el color rojo formado al agregar cada gota comience a desaparecer más lentamente, entonces se continúa añadiendo gota a gota, hasta que se produzca un débil, pero medio cambio de color amarillo al naranja, que debe persistir aún después de una agitación enérgica.

**Expresión de los resultados:**

$$\%Cl = \frac{(\text{ml gastados de AgNO}_3) [\text{AgNO}_3] (\text{meq NaCl})(250\text{ml})(100)}{(\text{Peso de la muestra})(\text{Alícuota})} \quad (0.94 - 0.2)$$



## Diagrama del proceso de elaboración de la butifarra fresca



# DISTRIBUCION DE HEIBULL

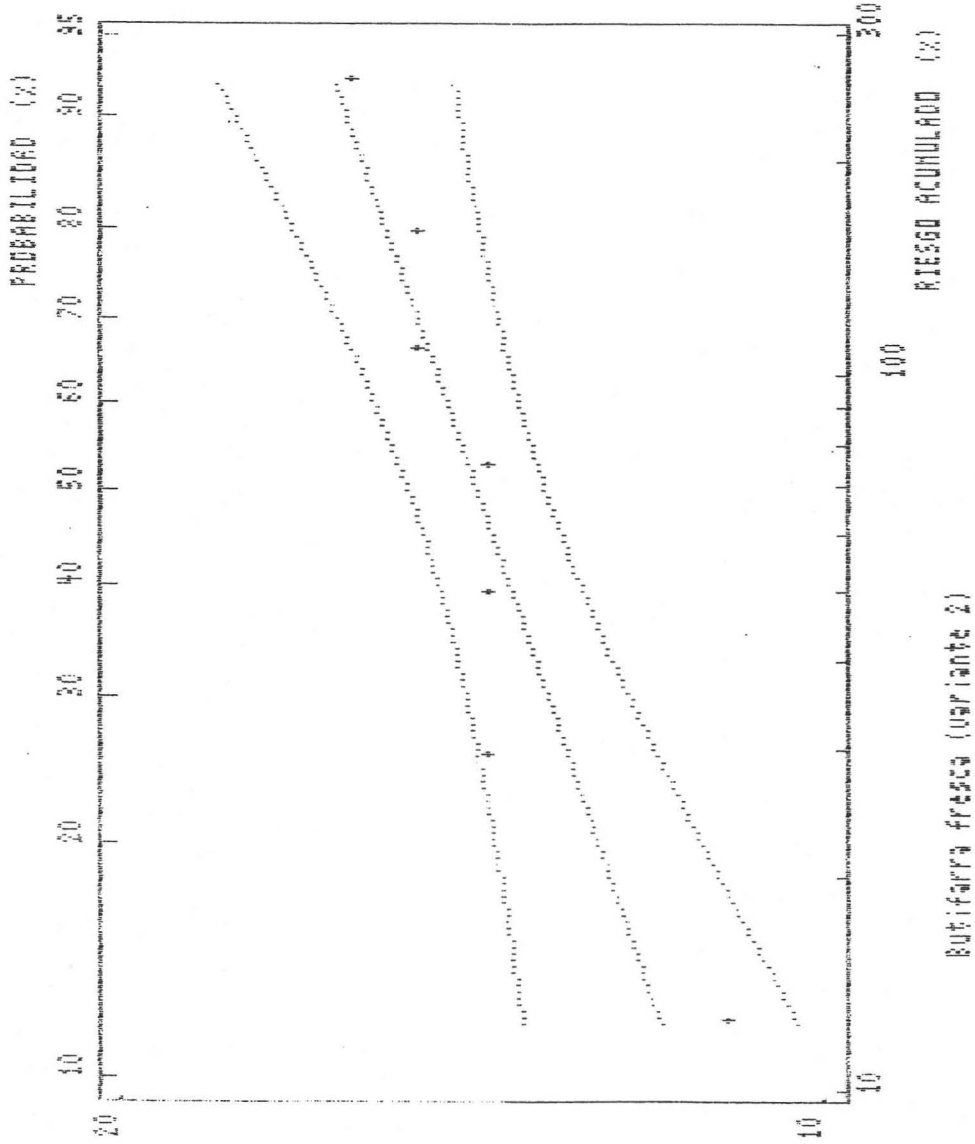


Figura 5. Grafico obtenido del programa de computo con los resultados procesados de las evaluaciones sensoriales para la Variante 2

ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN DE TIEMPOS

Mediana de la muestra: 10,72119

Diferencia de los cuantiles

PERCENTILES DE LA DISTRIBUCIÓN DE TIEMPOS

Percentil	valor	límite inferior	límite superior
De arriba (%)	14,0273	10,4931	16,7942
De abajo (%)	9,4363	6,6607	12,2165

MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL Y DE DISPERSIÓN

Valor promedio	$\bar{X} =$	10,72119 días
Desviación típica	$\sqrt{Var(X)} =$	0,4925 días

PERCENTILES

Percentil (%)	valor	límite inferior	límite superior
01	9,62073	6,6607	12,2165
05	10,72119	8,84013	13,60283
10	11,57167	9,59497	13,39576
20	12,59937	11,39973	13,87941
30	13,16731	12,14938	14,27061
50	14,10792	13,33681	15,11377
70	14,99927	13,83770	16,21592
90	16,04177	14,36711	17,91834
95	16,49034	14,59020	18,70764
99	17,26773	14,83324	20,10537

PRUEBA DE BONDAD DE AJUSTE DE HELMHOFFEN-GHIBRACU

No. observaciones	h	K-S-D(0,05)
7	3,013	0,4925

La distribución probabilística de los tiempos de fallos para un nivel de significación  $\alpha = 0,05$  puede ser descrita por la ley de Weibull.

Tabla 13. Tabla obtenida del programa de computación "ploteo de riesgos" con los datos obtenidos en el análisis sensorial de las butifarras Variante 2

**10.-REFERENCIAS**

1. Aasgaard, J., Larsen, H, (1992). Testing of films for vacuum packaging and cold meats in thermoforming equipment. *Tema Fra Matforsk* 3:27.
2. Andersen, H.J., Bertelsen, G., Ohlen, A., Sklbsted, L.H. (1990). Modified packaging as protection against photodegradation of colour pasteurized sliced ham. *Meat Science* 28: 77-83
3. Andreas, H., Hauschild, W., (1989). Clostridium botulinum on Food borne bacterial pathogens. Doyle, M.P. Marcel Dekker Inc. New Cork and Basel.
4. Andujar y col (2004) libro de química y bioquímica de la carne
5. Andújar, G.; Herrera, H. (1987) Proceedings del 33 Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de la Carne (II), 8.14, 396.
6. Andujar, G.; Herrera, H. (1987). "The distribution of failure data for meat products". Proceedings del 33 Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (II): 8.14: 396.
7. Andujar, G.; Herrera, H. (1988). "Estudio comparativo de métodos de Evaluación Sensorial de Durabilidad" Monografía no publicada. IIIA, Cuba código de la biblioteca: T1-33-1988 #348
8. Andujar, G.; Valladares, C (1989). "Estudio diagnóstico de deterioro de productos cárnicos". Monografía no publicada. IIIA, Cuba. código de la biblioteca: T1-4-1989 # 629
9. Andujar, G.; Valladares, C.; Herrera H (1991). "Tratamientos para la extensión de durabilidad de productos cárnicos percederos" Monografía no publicada. IIIA, Cuba. código de la biblioteca: T1-099-1991 #348
10. Anon (1974). "Shelf life of foods". *Journal of Food Science* 39 (4): 861- 864.
11. APHA (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D.C.
12. ASTM F 88. (1988). Heat sealing resistance determination of plastic films.

13. Barnes, E. M.; Despaul, J.E.; Ingram, M. (1963). "The behavior of a food poisoning strain of *Clostridium welchii* in beef". *Journal of Applied Bacteriology* 26: 415.
14. Bartholomac, A., Hildebrandt, G., Reuter, G. (1997). Detecting slime-forming microorganisms in meat products. *Nachweis von schleimbildenden Mikroorganismen in Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft* 77:657-659.
15. Beneke, B., Hildebrandt, G. (1989). The reliability of results of microbiological investigations, considering Bruchwurst sausage batches as an example. *Fleischwirtschaft* 69:1740-1744.
16. Benezet, A., Osa, J.M. de la., Botas, M. Olmo, N. Florez, F.P. (1995) The white veil in vacuum packaged cured ham. *Alimentaria*. 262:39-41.
17. Brackett, R. (1999a) *Microbial Food Safety: A global Issue*. Primer Congreso Internacional en Seguridad de Alimentos. 5 y 6 de Nov. Guadalajara, Jalisco.
18. Bratzler, L.J. (1976). Características organolépticas de la carne. En Price, J.F. y Schweigert, B.S. (Eds) *La ciencia de la carne y los productos cárnicos*. Editorial. Acribia, Zaragoza, España: 339- 359.
19. Briston J.H., Katan J.L. (1980). London Iliffe Book.
20. Brody, A.L: (1989). *Modified atmosphere/vacuum packaging of meat en Controlled/modified atmosphere/vacuum packaging of foods*. Food and Nutrition Press, inc.
21. Brown,1982. *meta Microbiology*. Applled Science Publishers, LTD.
22. Buzio P. 1989. *Imballagio* 371, 40 – 43.
23. Cantillo, J.; Fernández, C.; Núñez de Villavicencio, M. (1994) *Durabilidad de los Alimentos. Métodos de estimación*. Ed. IIIA, Cuba.
24. Castillo A. (1993). *Nuevas bacterias patógenas transmitidas por alimentos*. Universidad de Guadalajara . Jalisco.
25. Dethmers, AE (1979). Utilizing sensory evaluation to determine product shelf life. *Food Technology* 33 (9): 40-42.

26. Dykes, G.A., Birtz, T.I, Holy, A.V. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate, *International Journal of Food Microbiology* 23:377-390.
27. Eddy, B. P; Ingram, M. (1962). The occurrence and growth of *Staphylococci* on packed bacon with special reference to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Bacteriology* 25: 237.
28. Emard, L.O; Vaughn, R.H. (1952). Selectivity of sorbic acid media for the catalase negative lactic acid bacteria and clostridia. *Journal of Bacteriology* 63: 487-494.
29. Fach, P. Popoff, M.R. (1997). Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* en Food and fecal samples with a duplex PCR and the slide latex agglutination test. *Applied and Environmental Microbiology* 63:432-436.
30. Fang, T.J.; Lin, C.Ch. (1995). "Inhibition of *Listeria monocytogenes* on pork tissue by immobilized nisin". *Journal Food and Drug Analysis* 3 (4): 269-274.
31. FAO/WHO: Food Aditives Codex Alimentarius, 14:3335-376.1983.
32. Fenema Owen R.(1993) "Química de los Alimentos"Departament of Food Science University of Wiconsin Madison. Madison Wiconsin Ed. Acribia: 621-628,728,730,790,791,874-877
33. Frey Werner (1983). "Fabricación fiable de embutidos" Ed. Acribia Zaragoza. España:2-46
34. Gacula, M.C.; Kubala, J.J. (1975). "Statistical models for shelf life failures". *Journal of Food Science* 40: 404.
35. García Roche, M.O (1991). "Generalidades sobre aditivos alimentarios". En Ed. Rodríguez, I.L. y Martínez, C. Acción, Uso, Análisis y Toxicidad de los aditivos alimentarios. Universidad de Carabobo. Venezuela: 19.
36. Garcia Roche, M.O. Sobrado, T. y Guerra, C.: *Alimentaria*, 194:13, 1988.
37. Gardner (1979), bracket b

38. Girard J.P. (1991) "Tecnología de la carne y los productos cárnicos" en: R.Goutefongea. Editorial Acribia Zaragoza España: 125-144
39. González, A.M.; Cepero, Y.; Venegas, O. (2003). Calidad de cerne y clasificación de canales. Manual Docente. Editorial IIIA, Cuba.
40. Hayes, P.R. (1985). Food Microbiology and Hygiene. London; Elsevier Applied Science.
41. Heredia, N.L., Santos, J. (1999). Clostridium perfringens en Agentes patógenos transmitidos por alimentos Vol. I. Editado por María R. Torres Vitela, Universidad de Guadalajara.
42. Hernández, M (1987). "Empleo de preservantes químicos en productos cárnicos extendidos". Trabajo de diploma. Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Cuba
43. Herrera, H (1998). "Determinación de la durabilidad de productos cárnicos". Tesis de Maestría. Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Cuba.
44. Herrera, H., Valladares, C., castillo, A. (1999) Durabilidad de productos lasqueados empacados al vacío elaborados en la empresa Tauro. IIIA, MINAL.
45. Herrera, H.; Valladares, C.; García, M.; Castillo, A; Leyva, V; Valdés, E. (1996). "Utilización de sorbato de potasio en productos cárnicos empacados al vacío". Monografía no publicada. IIIA, Cuba.
46. Herrera, H; Andújar, G. (1993), Alimentaria, 245, 29.
47. Holy, A.V., Franz, C., Dyles, G. (1995). The microbiology of vacuum packaged processed meat spoilage. Food Industries 48:16-17,19,22.
48. ICMSF (1985). Ed Acribia. Zaragoza. España. Vol I y II.
49. ISO 2556. (1988). Determination of oxygen transmission rate of sheet. Differential method.
50. ISO 9932. (1990). Determination of water vapor transmission rate of sheet. Static methods.

51. J.F. Price y B.S Schwergert. Editorial Acribia Zaragoza España 1976
52. Jane, K.(1995). Cambios microbiológicos en productos cárnicos envasados al vacío. Trabajo de diploma. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.
53. Juneja, U.K., Zinder, O.P., Cygnaromicy provost, M. (1994). Influence of cooling rate on outgrowth of *C. perfringens* spores in cooked ground beef. *Journal of food Protection*. 57: 1063-1067.
54. Kempton. A.G., Bobier, S.R. (1970). Bacterial growth in refrigerated vacuum packed luncheon meats. *Canadian Journal of Microbiology* 16:287-297.
55. Korkeala, H., Alanko, T., Maekatae, P., Lindroth, S. (1989). Shelf life of vacuum packed cooked ring sausages at different chill temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 9:237-247
56. Korkeala, H., Alanko, T., Maekatae, P., Lindroth, S. (1990). Lactic acid and pH as indicators of spoilage for vacuum packed cooked ring sausages. *International Journal of Food Microbiology* 10:245-254.
57. Leistner, L.; Bem, Z.; Hechelmann, H. (1978). "Potassium sorbate - an alternative to nitrite in meat products". *Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers* 24 (2): 1-9
58. Luck, E. (1981). "Conservación química de los alimentos" Ed. Acribia. Zaragoza. España:
59. Madrid, VA.; Madrid, J. (2000) "Los Aditivos en los alimentos (Según la UE y la legislación Española)". 1ra Edición. Ed. Mundi Prensa Libros S.A. y AMV Ediciones, Madrid, España.
60. Martinez, N. (1999). *Listeria monocytogenes* en Agentes patogenos transmitidos por alimentos Vol. 1. Editado por Maria R. Torres Vitela, Universidad de Guadalajara.
61. Mc Clane, B.A. (1997) *Clostridium perfringens* in Food Microbiology, fundamentals and frontiers edited by Doyle, M.P., Beuchat, L.R y Montville T.J. ASM Press, Washington.



62. Meng J., Doyle M.P.(1997). Emerging issues in Microbiological food safety Annual Review of Nutrition. 17:255-275.
63. Moly. J.H., Haitbrink, J.E., Mollen, H.W., Van Tinteren, j: (1971) Observations on the microflora of vacuum packed sliced cooked meat products. Journal of Applied Bacteriology 34:377-397.
64. NC 30 – 30 (1983). Método de ensayo. Cuba
65. NC 30 – 37 (1984). Método de ensayo.
66. Price y col, 1994
67. Reuter, G. (1969). Untersuchungen zur Mikroflora von voverpackten, aufgeschnittenen Bruh-und Kochwursten.proceedings of 15<sup>th</sup> European Meeting of Meat Research Workers, Helsinki, pag 124-134.
68. Roca, M.; (1983)
69. Santos, R.; Beldarrain, T.; Ramos, M. (2004). “Preservantes en la industria cárnica. Revisión y actualización”. Alimentaria 351: 47
70. Sebut, D., Herrera, H.; Valladares, C. (1995) “Determinación de durabilidad de productos cárnicos empacados al vacío”. Trabajo de Diploma, Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos, Cuba.
71. Shah, B.A. 1988. India Institute
72. Shumaker, S.N., Felrtag, J.M. (1997). Environmental analysis methods utilized to determine the contamination sources in a sausage processing plant. Dairy, Food and Environmental sanitation 17:274-280.
73. Sidel, J. L.; Stone, H. (1987) Proceedings de la Conferencia Anual Recíproca de la Asociación Americana de Ciencia de la Carne.
74. Theller H. W. (1989). Journal of Plastic Film & Sheating. 5, 66 – 93.
75. Valladares, C (1995).

76. Valladares, C (1997). "Aspectos de la conservación de la carne y derivados". Monografía no publicada. IIIA, Cuba.
77. Vojdani, F.; Torres, J.A. (1990). "Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: effect of fatty acids". *Journal of Food Science* 55 (3): 841-846.
78. Wirth F. (1992). "Tecnología de los embutidos escaldados" Ed. Acribia Zaragoza España: 175,200.
79. York, G. K.; Vaughn, R. H. (1955). Resistance of *Clostridium parbotulinum* to sorbic acid. *Food Research* 20: 60-65
80. York, G. K.; Vaughn, R. H. (1964). Mechanisms in the inhibition of microorganisms by sorbic acid. *Journal of Bacteriology* 88: 411-417
81. Young, L; Reviere, R; Cole, A.B (1988). "Fresh red meats: a place to apply modified atmospheres. *Modified. Food Technology* 42 (9): 65-69.