

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

FACTORES MICROAMBIENTALES QUE FAVORECEN LA
PRESENCIA DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN
LA CARNE DE CERDO FRESCA REFRIGERADA, DE UN
CENTRO DE DISTRIBUCIÓN PARA TIENDAS DE
AUTOSERVICIO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
ALEJANDRO DE LOERA GARCÍA

ASESORA: M. C. PATRICIA MORA MEDINA

COASESORA: M. C. ESPERANZA GARCÍA LÓPEZ



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.

A Dios:

Por darme la oportunidad de la vida...

A mi esposa:

Leticia García Salinas

A quién amo con todo mi corazón
y por enseñarme aún en los momentos más difíciles
que lo mejor de la vida sólo se obtiene con
trabajo, amor y dedicación□
además la adoro por haberme dado unos hijos maravillosos...

A mis hijos: **Jenni, Trini, Ulises y Alex**

Por que son la fuerza que me inspira
a luchar y ser mejor cada día,
y por que son la luz y alegría de mi vida.

A mis padres:

Alejandro de Loera Valle

Isabel García Ruiz

Por todas sus enseñanzas y amor incondicional,
y porque los respeto y los quiero mucho.

A Ricardo y Lupita

Por creer y confiar
que este trabajo pudiera ser posible...
Gracias.

A mis abuelitos y tía Nata q. e. p. d.

Quienes ya tienen la dicha de gozar
la presencia del Señor.

A mis asesores: **Patricia Mora y Esperanza García**
Por su valioso tiempo y compartir sus conocimientos,
en la elaboración de este trabajo.

Al Profesor **Francisco Ramón Gay Jiménez:**

Por sus atinados y oportunos consejos□
y por iniciarme en el campo de la salud pública.

Al **MVZ Salvador del Castillo:**

Por la confianza y facilidades otorgadas
en la realización de los muestreos.

Al sínodo:

MVZ. SUSANA GARCÍA VÁZQUEZ

MVZ. MARIO ALBERTO VELASCO JIMÉNEZ

M. C. PATRICIA MORA MEDINA

MVZ. MARTHA ELIZABETH PÉREZ ARIAS

M. C. HUGO RAMÍREZ ÁLVAREZ

Por su cooperación y valiosas aportaciones.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

y en especial a la **FES-CUAUTITLÁN:**

Por brindarme sus profesores e instalaciones,

para internarme en el maravilloso mundo de la **MEDICINA VETERINARIA.**

**Y a todos aquellos que de algún modo
me motivaron y apoyaron,
para lograr concluir
esta fase tan importante en mi vida.
A todos ellos ;GRACIAS!**

ÍNDICE

PÁG.

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. LA CARNE DE CERDO	2
1.1.1. PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE CARNE DE CERDO EN MÉXICO.....	2
1.1.2. DEFINICIÓN DE CARNE DE CERDO.....	3
1.1.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CARNE DE CERDO.....	3
1.2. CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES NUTRITIVAS DE LA CARNE DE CERDO QUE LA CONVIERTEN EN UN SUSTRATO IDÓNEO PARA LA PROLIFERACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES	6
1.2.1. AGUA	7
1.2.2. PROTEÍNAS	7
1.2.3. GRASAS	9
1.2.4. CARBOHIDRATOS	11
1.2.5. VITAMINAS	13
1.2.6. MINERALES	14
1.3 FACTORES MICROAMBIENTALES DETERMINANTES EN EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES Y ALTERANTES DE LA CARNE DE CERDO FRESCA REFRIGERADA	15
1.3.1. pH (CONCENTRACIÓN DE HIDROGENIONES)	16
1.3.1.1. DEFINICIÓN DE pH.....	16
1.3.1.2. pH POST-MORTEM DE LA CARNE DE CERDO.....	19
1.3.1.3. INFLUENCIA DEL pH SOBRE LOS MICROORGANISMOS QUE ALTERAN Y CONTAMINAN LA CARNE DE CERDO.....	20

1.3.2. Aw (ACTIVIDAD DE AGUA LIBRE)	27
1.3.2.1. DEFINICIÓN DE Aw.....	27
1.3.2.2. Aw PRESENTE EN LA CARNE DE CERDO.....	28
1.3.2.3. EFECTOS E INFLUENCIA DEL Aw SOBRE EL METABOLISMO Y CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS ALTERANTES Y CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO.....	29
1.3.3. REDOX (POTENCIAL ÓXIDO-REDUCCIÓN)	32
1.3.3.1. DEFINICIÓN DE REDOX.....	32
1.3.3.2. VALOR REDOX EN LA CARNE DE CERDO.....	33
1.3.3.3. INFLUENCIA DEL POTENCIAL REDOX SOBRE EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS ALTERANTES Y CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO, SU CLASIFICACIÓN EN BASE A SUS NECESIDADES Y TOXICIDAD DE OXÍGENO.....	35
1.3.4. TEMPERATURA	38
1.3.4.1. DEFINICIÓN E IMPORTANCIA DE LA TEMPERATURA.....	38
1.3.4.2. CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE CERDO A TEMPERATURAS DE REFRIGERACIÓN.....	38
1.3.4.3. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS ALTERANTES Y CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO; Y CLASIFICACIÓN EN BASE A SUS NECESIDADES DE TEMPERATURA.....	42
1.4. ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA (ETA) MÁS COMUNES, OCASIONADAS POR CONSUMIR CARNE DE CERDO CONTAMINADA POR MICROORGANISMOS PATÓGENOS	46

2. OBJETIVOS	50
3. MATERIAL Y MÉTODOS	52
3.1. TIPO DE ESTUDIO	53
3.2. UBICACIÓN DEL ESTUDIO	53
3.3. DURACIÓN DEL ESTUDIO	53
3.4. SUJETOS DE ESTUDIO	53
3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	54
3.6. VARIABLES ESTUDIADAS	54
3.7. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA	54
3.8. TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS	54
3.9. PRUEBAS DE LABORATORIO	54
3.9.1. DETERMINACIÓN DE pH.....	54
3.9.2. DETERMINACIÓN DE A_w	55
3.9.3. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL REDOX.....	55
3.9.4. DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA.....	55
3.9.5. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS.....	55
3.10. ANÁLISIS DE RESULTADOS	55
4. RESULTADOS	56
4.1. RESULTADOS PRELIMINARES	57
4.2. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS FACTORES MICROAMBIENTALES ESTUDIADOS, SOBRE LAS UFC\bar{g} DE MESÓFILOS AEROBIOS	59

4.2.1. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE pH SOBRE LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	59
4.2.2. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE Aw SOBRE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	60
4.2.3. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DEL REDOX SOBRE LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	61
4.2.4. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE TEMPERATURA SOBRE LAS CUENTAS DE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	63
4.3. CORRELACIÓN DE LAS DIFERENTES ASOCIACIONES DE LOS FACTORES MICROAMBIENTALES, SOBRE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	64
4.3.1. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LA TEMPERATURA Y pH, CON RESPECTO A LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	64
4.3.2. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE Aw Y pH, SOBRE EL NÚMERO DE CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	64
4.3.3. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE pH Y REDOX SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	65
4.3.4. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL Aw Y TEMPERATURA, CON RESPECTO AL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	65
4.3.5. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE REDOX Y TEMPERATURA CON RESPECTO AL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	66
4.3.6. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE Aw Y REDOX, CON RESPECTO AL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	66

4.3.7. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , TEMPERATURA Y pH, SOBRE EL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS...	67
4.3.8 CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL REDOX, TEMPERATURA Y pH, SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	67
4.3.9. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , REDOX Y pH, SOBRE EL NÚMERO DE CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	68
4.3.10. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , TEMPERATURA Y REDOX SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	68
4.3.11. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL pH, TEMPERATURA, REDOX Y A_w , SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.....	69
5. DISCUSIÓN.....	71
6. CONCLUSIONES.....	78
7. BIBLIOGRAFÍA.....	81
7.1. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	82
7.2. NORMAS OFICIALES CITADAS.....	88
7.3. CITAS TOMADAS DE INTERNET.....	89

RESUMEN

El presente trabajo, tuvo como objetivo establecer como los factores microambientales: potencial de hidrogeniones (pH), actividad de agua (Aw), potencial redox (Eh) y temperatura, influyen en el crecimiento y multiplicación de microorganismos que alteran y contaminan la carne de cerdo fresca refrigerada, por lo cual, se establecen los valores a los cuales dichos microorganismos se desarrollan, pudiendo ser causa de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), siendo esto factor de riesgo para la salud de los consumidores.

Además, se mencionan las características fisicoquímicas de la carne de cerdo, que la convierten en un sustrato idóneo para la proliferación de dichos microorganismos alterantes y contaminantes.

Se tomaron una serie de muestras de carne de cerdo fresca de un centro de distribución de productos frescos (refrigerados y congelados), en base a lo establecido en la NOM-109-SSA1-1994 (Procedimientos para la toma, manejo y transporte de alimentos para su análisis microbiológico) y posteriormente en el laboratorio de medicina preventiva de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES Cuautitlan) UNAM, se les realizaron conteos de microorganismos en placa como lo estipula la NOM-092-SSA1-1994 (Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa) y la NOM-110-SSA1-1994 (Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico). Al mismo tiempo, a las muestras recolectadas, se les determinaron niveles de pH, Aw, potencial redox y temperatura.

Utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0; se observó que el potencial redox y el pH, fueron los factores microambientales que por sí solos tuvieron una mejor correlación con respecto a las cuentas de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de mesófilos aerobios; por otro lado, al realizar asociaciones de los factores microambientales y correlacionarlos con las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo que las asociaciones pH-redox y pH-redox-temperatura, son las que obtuvieron una mejor correlación, con una buena significancia con respecto a las UFC/g de mesófilos aerobios. Sin embargo, aunque los valores de factores microambientales resultaron favorables para el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos, la media de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios resultó de 6,400 (UFC/g),

presentándose los resultados en un rango de 10^3 a 10^4 , lo cual nos indica que las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es influenciado no solo por factores microambientales, sino también por factores externos o extrínsecos; y por otro lado nos indica que la carne de cerdo fresca refrigerada que se distribuye en el centro de distribución de frescos, es apta para el consumo humano, por estar en los parámetros permitidos por las Normas Mexicanas vigentes.

I.- INTRODUCCIÓN

1.1. LA CARNE DE CERDO.

1.1.1. PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE CARNE DE CERDO EN MÉXICO.

La producción mundial de carne de cerdo en el año 2002, según datos de la Organización de los Alimentos y la Agricultura (FAO), fue de 94.19 millones de toneladas. Lo cual la coloca en primer lugar a nivel mundial en el mercado de la carne, representando actualmente el 38.44% de la producción mundial de carne, con tendencia a ascender (Tinoco, 2004).

En México, la producción porcina es una actividad pecuaria que ha logrado un incremento en la eficiencia productiva, incluso en la industrialización y comercialización, con una producción de 1,057,843 toneladas en el año 2001, según datos del Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEGI, 2002).

México se encuentra en el 14° lugar mundial con respecto a la producción de carne de cerdo. Con un inventario de 16,500,000 cabezas, y aproximadamente 12,820,00 animales fueron sacrificados en el año 2001 (Tinoco, 2004).

La carne de cerdo aporta el 24% del total de la producción de carnes en México. Las cifras estimadas de consumo aparente de productos y subproductos de carne de cerdo para el año 2001 fue de 1,508,385 toneladas (INEGI, 2002); con un consumo per cápita de 15.1 Kg/habitante/año (SAGARPA, 2003).

En México se mantiene una considerable preferencia por consumir carne de cerdo fresca, llegando a ser aproximadamente de 377,096 toneladas, equivalente al 25% del consumo total. Por lo que el 75% restante es canalizado a la industria y a los productos elaborados (carnes frías, embutidos y manteca), según datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2003).

El desempeño de la actividad porcícola en México, ha permitido cubrir las necesidades del mercado interno, logrando formar una parte importante en la dieta de los mexicanos; por lo tanto las deficiencias higiénicas y de manejo durante la producción, obtención, distribución y almacenamiento de la carne de cerdo, podrán propiciar condiciones adecuadas para la proliferación de microorganismos contaminantes y alterantes de la carne, lo cual indica un riesgo para la salud de los consumidores (Castro, 1997).

1.1.2. DEFINICIÓN DE CARNE DE CERDO.

Por **carne de cerdo**, se entiende a la estructura compuesta por fibra muscular estriada, que representa alrededor del 40-50% del peso corporal total, acompañada o no de tejido conectivo como grasa, hueso, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de la especie suis, considerada apta para el consumo humano (Prandl et al., 1994; SAGARPA NOM-009-ZOO-1994). Dándole la característica de carne fresca refrigerada aun cuando no se le ha dado todavía ningún tratamiento distinto al de refrigeración para retardar la presencia del *rigor mortis* durante un periodo entre 12 y 24 horas y a una temperatura entre 2°C y 4°C. Se le considerará fresca sólo durante las 72 horas siguientes al sacrificio del animal (SAGARPA y SE, PC-002-2001).

La carne, es el resultado de la transformación del tejido muscular tras el sacrificio del animal de abasto gracias a ciertos procesos físico-químicos y bioquímicos. Estos cambios dan lugar a un producto con una serie de características organolépticas propias (Ros et al., 1999).

1.1.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CARNE DE CERDO.

La carne de cerdo fresca debe tener una superficie de corte consistente, de color rosáceo y no debe exudar jugo (Hereida y Garnica, 1994; Price y Schweigert, 1976).

El sabor y el aroma van a depender del sexo, edad, alimentación, condiciones de almacenamiento de la carne después de la muerte, entre otros, y se acentúan de acuerdo a la presencia de ácidos grasos volátiles y a la composición lipídica (Ros et al., 1999), dándole un sabor ligeramente salino y un olor fresco *sui-géneris*, que se transforma en repugnante cuando entra en descomposición (Flores, 1988; Prandl et al., 1994).

Las masas musculares en la carne de cerdo deben estar bien desarrolladas y de contornos predominantemente convexos, sobre todo en las piernas, dando la apariencia compacta, que puede ir de moderada a completa (SE, NMX-FF-081-SCFI-2003; Warris, 2003).

En la Tabla No. 1, se muestra la clasificación de la calidad de la carne de cerdo hecha por el Congreso Nacional de Productores de Cerdo (NPPC), en los EEUU; y se basa en el color, textura y la capacidad de retención de agua, de donde se desprenden 4 categorías, siendo la

categoría RFN como la de mejor calidad y la más apropiada para el consumo humano (Kauffman et al., 1992).

Tabla No. 1. Clasificación de la calidad de la carne de cerdo, basada en el color, textura y capacidad de retención de agua.

Categoría	Color, Textura y CRA⁽¹⁾	Rangos	Características	pH 2 hrs post-sacrificio	pH 24 hrs post-sacrificio	Brillo L⁽²⁾	Perdida de Agua, %
PSE Pale Soft Exudative	Pálida, grisácea Rosada, muy Suave y Exudada	De: pálida grisácea rosada, muy firme y acuosa a: Rosada grisácea y suave y acuosa	Apariencia indeseable y merma excesiva	<5,8		>50	>6
RSE Red Soft Exudative	Rosada rojiza, Suave y Exudada.	De: Rosada grisácea y suave y acuosa a: Rosada rojiza y suave y acuosa	Color deseado, pero sujeta a mermas excesivas	<5,8		44 a 50	>6
RFN Red firm Non-Exudative	Rosada rojiza, Firme y No exudada.	De: Grisáceo rosado, y de ligeramente firme y húmedo A: rojo violeta, firme y seca	Es el ideal, color deseable, firmeza y capacidad de retención de agua adecuadas	>5,8	<6,0	44 a 50	<6
DFD Dark Firm Dry	Oscura y rojo violácea, muy Firme y Seca.	De: Roja violácea y firme y moderadamente seca a: Roja violácea oscura y muy firme y seca	Superficie seca y pegajosa, elevada capacidad para retener el agua.		>6,0	<44	<3

Fuente: Kauffman (1992).

Nota: ⁽¹⁾ CRA = Capacidad de Retención de agua.

⁽²⁾ L = Luminosidad, determinada con un aparato minolta.

El color de la grasa superficial e interna en la carne de cerdo varía del blanco puro al blanco cremoso. Y su consistencia debe ser sólida, sin mostrar apariencia aceitosa o de

licuefacción (Price y Schweigert, 1976; SAGARPA y SE, PC-002-2001; SE, NMX-FF-081-SCFI-2003).

La grasa intramuscular o de marmorización puede observarse a simple vista en las superficies de corte (Price y Schweigert, 1976). El veteado reduce la fuerza al realizar el corte o masticación e incrementa la jugosidad, por lo que se asocia positivamente con buena calidad sensorial y puede ser un factor importante que inflencie la elección de consumidor (Varman y Sutherland, 1995).

En la Tabla No. 2, se muestra como la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y la Secretaría de Economía (SE), para clasificar la grasa intramuscular toman como modelo la clasificación y grado de aceptabilidad de la carne de cerdo, elaborada por el NPPC, en los EEUU. En la cual se distinguen 5 categorías, de las cuales se destaca que el consumidor acepta entre un 2 y un 5% de grasa intramuscular.

Tabla No. 2. Clasificación y grado de aceptabilidad de la carne de cerdo, basado en el porcentaje y contenido de grasa intramuscular.

Contenido de grasa intramuscular	%	Grado de aceptabilidad
Carente	<2%	Rechazable
Trazas a ligero	2%	Aceptable
Ligero a moderado	4-5%	Aceptable
Moderado a ligeramente abundante	6,8%	Rechazable
Abundante a muy abundante	>8%	Rechazable

Tomado de SAGARPA-SE (PC-002-2001) y SE (NMX-FF-081-SCFI-2003).

Por último la carne de cerdo debe conferir una seguridad microbiológica, que tiene por objeto preservar la salud del consumidor y mantener la inocuidad del producto (SE, NMX-FF-081-SCFI-2003).

En México, la SAGARPA y la SE, en su Pliego de Condiciones para el Uso de la Marca Oficial México Calidad Selecta en Carne de Cerdo (PC-002-2001), señala que las cargas microbianas no deben exceder en la carne fresca refrigerada de 1.000.000 UFC/g; tal como se aprecia en la tabla No. 3.

Tabla No. 3 Cuentas máximas de UFC/g permitidas en la carne para consumo.

PRODUCTO	MESÓFILOS AEROBIOS Límite máximo UFC/g	<i>Salmonella</i> en 25 g Límite máximo
Carne congelada	500 000	Ausente
Carne envasada al vacío o en atmósfera controlada	500 000	Ausente
Carne fresca refrigerada	1 000 000	Ausente

Tomado de SAGARPA y SE. (PC-002-2001).

1.2. CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES NUTRITIVAS DE LA CARNE DE CERDO QUE LA CONVIERTEN EN UN SUSTRATO IDÓNEO PARA LA PROLIFERACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES.

La carne de cerdo fresca posee una serie de propiedades que la convierten en un alimento excelente para la nutrición del ser humano. Pero del mismo modo, también constituye un medio nutritivo idóneo para la mayoría de microorganismos contaminantes y alterantes de la carne, de tal forma que utilizan este medio para su crecimiento y multiplicación (ICMSF, 2000).

La composición química de la carne suele ser un factor decisivo para su idoneidad como medio o sustrato del crecimiento microbiano, por lo cual, cada una de las especies bacterianas (o de cualquier otro microorganismo) tiene una escala definida de necesidades nutritivas. Cada microorganismo posee una capacidad específica de utilizar determinadas estructuras químicas para el desarrollo normal de su fisiología o para multiplicarse (Lawrie, 1998)

En general, los microorganismos que alteran la carne según Bello (2000), necesitan de cinco grupos de compuestos químicos para poder crecer y poder fabricar nuevas células:

- a) Agua.
- b) Una fuente de energía (proporcionada generalmente por azúcares, aminoácidos, alcoholes y lípidos).

- c) Una fuente de nitrógeno (determinada por los aminoácidos).
- d) Vitaminas.
- e) Sales minerales.

Por lo tanto, los microorganismos utilizan estos nutrientes para generar fuerza conductora o metabolitos precursores (Brock, 1978).

1.2.1. AGUA.

Desde el punto de vista microbiológico la propiedad más importante en la carne fresca es su gran contenido de agua. El músculo contiene aproximadamente un 75 % de agua, que en su mayor parte, está en forma de "agua libre". En este contenido acuoso se hallan disueltos diversos complejos solubles y son difundidas distintas sustancias (Prandl et al., 1994).

El crecimiento de algunos microorganismos en la carne tiene lugar fundamentalmente a expensas de sus componentes solubles: carbohidratos, ácido láctico y aminoácidos; por lo tanto, el músculo es un medio muy apto para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos (ICMSF, 1985a).

1.2.2. PROTEÍNAS.

La carne se considera como un alimento proteico. La carne de cerdo magra contiene aproximadamente 19% de proteína (Lawrie, 1998; Schenker et al., 1999). Del contenido total de nitrógeno del músculo, aproximadamente el 95% es proteína y el 5% pequeños péptidos, aminoácidos y otros compuestos nitrogenados (Varman y Sutherland, 1995)..

La proteína de la canal se encuentra principalmente en dos tejidos: conjuntivo y muscular. En la carne, el músculo contiene la mayor proporción de proteína y la de mayor valor nutritivo. Las proteínas musculares pueden dividirse en proteínas estructurales (estroma), que son contráctiles y proteínas sarcoplásmicas o hidrosolubles. En estas dos clases se encuentran incluidas numerosas enzimas que comprenden muchos fermentos glucolíticos y

oxidativos (fracción sarcoplásmica) y la miosina (proteína contráctil) (Schenker et al, 1999).

La miosina, que constituye alrededor del 38 % de la proteína muscular total, es la proteína más abundante en el organismo; tiene un importante papel en la contracción muscular (Cole, 1973). El músculo contiene todas las enzimas que participan en la oxidación de los nutrientes, en la glucogenolisis y en la contracción muscular, así como en los procesos de restitución necesarios. Junto a las oxidasas (enzimas respiratorias) y a las deshidrogenasas, el músculo contiene enzimas específicas que permiten la degradación y la síntesis del ATP y del creatin-fosfato (Prandl et al., 1994).

La carne de cerdo aporta las cantidades adecuadas de todos los aminoácidos esenciales, entre los que destacan Lisina, Leucina y Arginina, tal como se refiere en la Tabla No. 4.

Tabla No. 4. Composición de aminoácidos de las proteínas en la carne de cerdo (g/100g de carne).

AMINOÁCIDO	g / 100g de carne
Arginina	12.2
Cisteína	2.6
Histidina	8.9
Isoleucina	9.2
Leucina	14.5
Lisina	19.7
Metionina	5.6
Fenilalanina	7.9
Treonina	8.9
Triptofano	2.3
Tirosina	7.6
Valina	9.9

Tomado de Varman y Sutherland (1995).

Por otro lado, los microorganismos se diferencian por su distinta capacidad para utilizar los diferentes compuestos nitrogenados como fuente de nitrógeno para satisfacer sus necesidades de crecimiento (Frazier y Westhoff, 1993). Son los aminoácidos sus principales fuentes de nitrógeno aunque algunos microorganismos son incapaces de hidrolizar las proteínas, y de aquí que no sean capaces de obtener nitrógeno de las mismas

sin la participación de un microorganismo proteolítico (Jay, 1992). En general, las proteínas complejas no son frecuentemente atacadas por los microorganismos, por lo que no constituyen una fuente universal de nitrógeno. Generalmente los microorganismos utilizan el nitrógeno de los compuestos de degradación originados por el ataque a las proteínas. Los hidratos de carbono presentes en los alimentos ejercen una función de “ahorro de proteínas” durante la alteración, ya que en los alimentos que contienen del 5 al 10% de sustancias hidrocarbonadas, los fenómenos alterativos son de tipo fermentativo y no putrefactivo; al menos mientras no se agota la fuente de carbono. Cuando en un sustrato existen hidratos de carbono que fermentan, suele tener lugar una fermentación ácida que impide el crecimiento de las bacterias proteolíticas. Asimismo, se impide o se inhibe la producción de compuestos nitrogenados perjudiciales (Ros et al, 1999).

En la carne podemos encontrar tanto proteínas miofibrilares como la actina y miosina; proteínas sarcoplasmáticas como la mioglobina y proteínas del estroma como el colágeno. Aunque también se encuentran péptidos y extractivos nitrogenados que pueden utilizar los microorganismos en su beneficio con mayor facilidad (ICMSF, 1985a).

1.2.3. GRASAS .

El contenido de grasa en la carne es muy variable, ésta puede oscilar entre un 0,5% y un 25%, o incluso un contenido mayor (Prandl et al., 1994). La cantidad de grasa en la carne magra de cerdo es muy variada e incluso entre diferentes autores existen opiniones encontradas; como se señala en la tabla No. 5, donde los porcentajes de grasa varían de 1.5 a 13%, dependiendo de factores tales como la raza y la alimentación, entre otros.

Tabla No. 5. Porcentaje de grasa total en la carne de cerdo, dada por diferentes autores.

<i>Contenido de grasa del magro</i>	<i>Referencia</i>
1.5-13%	ROS et al, 1999
5%	PRANDL et al, 1994
7%	SCHENKER et al, 1999
9-11%	VARMAN y SUTHERLAND , 1995
2.5%	LAWRIE , 1998

La grasa en la carne está esencialmente constituida por triglicéridos, que son ésteres de glicerol con ácidos grasos polinsaturados de longitud de cadena media y larga. Determinados ácidos grasos son esenciales para la nutrición humana y microbiana, como son: el linoleico C18:2, el linolénico C18:3 y el araquidónico C20:4, que también son denominados vitamina F (Prandl et al., 1994).

La Tabla cuadro No. 6 muestra la composición porcentual en ácidos grasos de los triglicéridos de la pierna de cerdo, en relación al contenido total de grasa, en donde se aprecia que los más abundantes son el ácido oleico y le siguen el linoleico y el palmítico.

Tabla No. 6. Porcentaje de ácidos grasos del total de grasa en la pierna de cerdo.

	Mirístico	Palmítico	Palmitoléico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico	Araquidónico
Pierna de Cerdo	1,9%	23,7%	3,2%	12,5%	38%	12,8%	1,2%	2,5%

Tomado de Ros et al., (1999).

Un reducido número de especies de microorganismos son capaces de obtener su energía a partir de las grasas, aunque únicamente las utilizan con esta finalidad en el caso de que no dispongan de un alimento energético más fácilmente utilizable, como por ejemplo un azúcar. Primeramente, con la participación de una lipasa, la grasa tiene que ser hidrolizada para dar glicerol y ácidos grasos, los cuales pueden posteriormente ser utilizados como fuente de energía, tanto por los microorganismos lipolíticos como por otros microorganismos. En general, en la descomposición de las grasas los microorganismos aerobios intervienen con mayor frecuencia que los anaerobios (Frazier y Westhoff, 1993).

Las grasas de los tejidos musculares contienen además fosfolípidos, colesterol y lecitinas como integrantes de las membranas de los microorganismos. Además, poseen otras importantes funciones, entre las que se incluye el servir como reserva de carbono y energía. Por otro lado, los lípidos constituyen hasta el 10% del peso seco de los microorganismos (Ingraham e Ingraham, 1998).

1.2.4. CARBOHIDRATOS.

El glucógeno es el carbohidrato más abundante del músculo, el cual corresponde al depósito de energía; de tal forma que los microorganismos que contaminan la carne lo utilizan para almacenar el exceso de nutrientes (Ingraham e Ingraham, 1998; Prandl et al., 1994). En estado de reposo, la cantidad de glucógeno presente en el músculo se eleva a un 0.5 – 1%. Los azúcares, como la glucosa se encuentran en cantidades más bajas (0.1 – 0.15%), correspondiendo el 0.1% a la glucosa-6-fosfato junto con otros azúcares fosforilados. El contenido en glucosa libre alcanza la cantidad de 10 – 30 mg /100g (Prandl et al., 1994).

El ácido láctico se encuentra en el músculo como producto de la metabolización del glucógeno, en cantidades que dependen del estado funcional del mismo: de 0.01 – 0.02% en el músculo en reposo; alrededor de 0.4% en el músculo fatigado y hasta un 1% tras la aparición de la rigidez cadavérica (Prandl et al., 1994). La presencia del ácido láctico en la carne, toma un papel importante en la misma, ya que de él va a depender su grado de acidez. La composición de los principales carbohidratos presentes en la carne se mencionan en la Tabla No. 7; donde se hace hincapié sobre el ácido láctico como el de mayor porcentaje.

Tabla No. 7. Composición química de la carne después del *rigor mortis*, pero antes de ocurrir cambios degenerativos.

Carbohidratos componentes	%	Peso húmedo
Ácido láctico	0.90	1.2%
Glucosa 6 fosfato	0.15	
Glucógeno	0.10	
Glucosa, trazas de otros intermediarios glucolíticos	0.05	

Tomado de ICMSF (1985a) y Lawrie (1998).

Los nutrientes empleados con mayor frecuencia como fuente de energía por los microorganismos son los azúcares, aunque algunos también pueden usar alcoholes y aminoácidos (Bello, 2000; Jay, 1992).

Los mecanismos principales para que los microorganismos generen energía metabólica son fermentación, respiración y fotosíntesis. Siendo la fermentación de la glucosa, la vía

inicial que más comúnmente utilizan los microorganismos alterantes de la carne para obtener su energía (Willett et al., 1988).

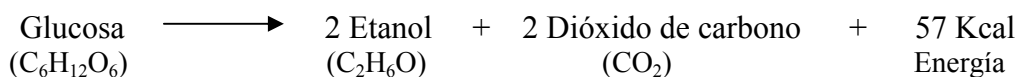
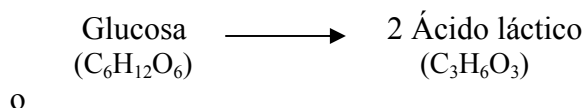
En la Tabla No. 8, se observan diferentes tipos de fermentaciones que llevan a cabo algunos microorganismos contaminantes de la carne, donde destacan la fermentación acética, láctica y la butírica, por estar relacionadas con la alteración de los alimentos (Brock, 1978).

Tabla No. 8. Tipos de fermentaciones de varios microorganismos.

Tipo de fermentación	Productos	Microorganismos
Alcohólica	Etanol + CO ₂	Levaduras (<i>Saccharomyces</i>)
Ácido láctico	Ácido láctico	Bacterias del ácido láctico (<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>)
Ácido mixto	Ácido láctico, ácido acético, etanol, CO ₂ , H ₂	Bacterias entéricas (<i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i>)
Butanediol	Butanediol, etanol, ácido láctico, ácido acético, CO ₂ , H ₂	Bacterias entéricas (<i>Aerobacter</i> , <i>Serratia</i>)
Ácido propiónico	Ácido propiónico	<i>Propionibacterium</i>
Ácido butírico	Ácido butírico, ácido acético, CO ₂ , H ₂	Algunos clostridios (<i>Clostridium butyricum</i>)
Acetona-butanol	Acetona, butanol, etanol	Algunos clostridios (<i>Clostridium acetobutylicum</i>)

Tomado de Brock, (1978).

La degradación escalonada de la glucosa puede ser dividida en dos partes principales. La primera es una serie de reacciones preparatorias que conducen a la producción del intermediario clave, el gliceraldehído-3-fosfato. En la segunda parte se produce energía originada en el enlace fosfato rico en energía en forma de ATP y son liberados los productos de fermentación, el etanol y el CO₂ (Brock, 1978). En principio, la fosforilación del ADP a ATP se puede acoplar a cualquiera de las dos transformaciones químicamente balanceadas siguientes:



Por último, es importante señalar que los polisacáridos son los principales componentes estructurales de las células bacterianas. Entre otros ejemplos, constituyen la cápsula, cubierta que poseen muchas bacterias y que es su estructura más externa, con función principalmente protectora (Ingraham e Ingraham, 1998).

1.2.5. VITAMINAS.

Las vitaminas son esenciales para el crecimiento de muchos microorganismos. En la carne se encuentran todas las vitaminas hidrosolubles del complejo B, siendo las más abundantes la tiamina (B1), la riboflavina (B2), la niacina (B3), la piridoxina (B6) y la cobalamina (B12), mientras que es muy pobre en vitamina C (Ros et al., 1999). En la carne de cerdo la cantidad de tiamina (B1), es hasta 10 veces mayor que la encontrada en la carne de vacuno y cordero; esto se puede correlacionar con la microflora contaminante presente (ICMSF, 1985a). Por ejemplo, la mejor proliferación del *Staphylococcus aureus* se da en productos con carne de cerdo, por contener mayor concentración de tiamina en dicha carne. Por otra parte, el *S. aureus* no puede ponerse en competencia con la flora habitual de la descomposición de la carne, porque ésta le sustrae la tiamina imprescindible para su crecimiento (Sinell, 1981).

De las vitaminas liposolubles, la vitamina A es la más importante en la carne, aunque se halla en pequeña cuantía en la carne magra. Los contenidos de vitamina D, E y K son generalmente bastante bajos en la carne (Ros et al., 1999; Varman y Sutherland, 1995).

Algunos microorganismos son incapaces de sintetizar algunas o todas las vitaminas que necesitan para su crecimiento, por lo que los microorganismos tienen que tomar estas vitaminas de los alimentos en que habitan (Frazier y Westhoff, 1993).

En general, las bacterias gram positivas son las que menos vitaminas del grupo B sintetizan y por ello en los alimentos pobres en estas vitaminas hidrosolubles sólo se suelen encontrar mohos y bacterias gram negativas (Bello, 2000; Jay, 1992).

En la carne, por su elevado contenido de vitaminas se desarrollan todo tipo de bacterias exigentes en cuanto a sus necesidades de crecimiento (Ros et al., 1999). Entre las vitaminas más requeridas por los microorganismos para su crecimiento sobresalen la tiamina, el ácido

ascórbico, el ácido pantoténico y el ácido fólico (Frazier y Westhoff, 1993); mismas que le son proporcionadas en la carne de cerdo, tal como se muestra en la Tabla No. 9.

Tabla No. 9. Contenido vitamínico promedio por cada 100g de carne de cerdo.

VITAMINA	CONTENIDO POR CADA 100g
Vitamina A	70-500ug
Vitamina B1	0.74mg
Vitamina B2	0.18mg
Vitamina B3	3.50mg
Vitamina B6	0.42mg
Vitamina B12	2-50ug
Vitamina C	1.52mg
Vitamina E	0.63mg

Tomado de Prandl et al., (1994) y Ros et al., (1999).

1.2.6. MINERALES.

La porción magra de la carne es generalmente rica en minerales. En general los minerales y sus sales se encuentran en forma soluble, lo que representa una biodisponibilidad para los microorganismos (Ros et al., 1999); tal como se aprecia en la Tabla No. 10.

Tabla No. 10. Contenido en minerales de la carne de cerdo magra (en 100g de tejido fresco).

Mineral	mg/100g de carne de cerdo
Potasio	300 – 400 mg
Sodio	40 – 80 mg
Calcio	5 – 8 mg
Magnesio	10 – 30 mg
Hierro	2 – 20 mg
Cloro	40 – 80 mg
Azufre	100 – 150 mg
Fósforo	100 – 150 mg
Zinc	3 – 5 mg

Tomado de Prandl et al. (1994) y Schenker et al., (1999).

En los músculos frescos el contenido en minerales va del 1 al 1,4%, aproximadamente, que corresponden a fosfatos y sulfatos de potasio, además de sodio, magnesio, calcio, cloro, hierro y zinc (Prandl et al., 1994; Varman y Sutherland, 1995).

Los iones participan en diversas funciones metabólicas (Prandl et al., 1994). El nitrógeno, el azufre y el fósforo, contenidos en la carne se encuentran asociados a compuestos orgánicos. También se ha demostrado para la mayor parte de los microorganismos la necesidad de contar con hierro, manganeso, zinc, cobre, cobalto y molibdeno (Willett et al., 1998), muchos de ellos aportados por la carne de cerdo.

Las sales inorgánicas permiten el mantenimiento de la presión osmótica de las células. En las bacterias, la tolerancia osmótica se logra por ajuste de la osmolaridad interna, de manera que ésta siempre exceda a la del medio. La acumulación intracelular de iones potasio (K^+) parece desempeñar un importante cometido en este ajuste (Stainer et al., 1996). Por otro lado, el magnesio actúa como estabilizador de ribosomas, membranas celulares y ácidos nucleicos y es necesario para la actividad de muchas enzimas. El potasio también es indispensable para la actividad de un cierto número de enzimas y en el caso de microorganismos gram positivos el contenido de ácido teicoico de la pared celular influye en su concentración en la célula (Ingraham e Ingraham, 1998).

1.3.FACTORES MICROAMBIENTALES DETERMINANTES EN EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES Y ALTERANTES DE LA CARNE DE CERDO FRESCA REFRIGERADA.

Los microorganismos contaminantes de la carne, además de utilizar los nutrientes de la carne para su desarrollo y multiplicación, también son favorecidos por una serie de factores denominados microambientales propios de esta materia prima (Sinell, 1981).

Las actividades microbianas se ven muy afectadas por las condiciones físico-químicas del microambiente; por lo tanto, el entendimiento de la influencia microambiental sobre los microorganismos ayuda a explicar su distribución en la naturaleza, sobre todo en los

productos cárnicos, y al mismo tiempo ayudará a diseñar métodos para su control, así como su destrucción si fuese necesario (Madigan et al., 2000).

Los factores microambientales más importantes que afectan y determinan el crecimiento de microorganismos contaminantes en la carne son: *pH (concentración de hidrogeniones)*, *Aw (agua libre disponible)*, *redox (potencial óxido-reducción)* y *temperatura* (Bibeck, 2001; ICMSF, 1985a).

No todos los microorganismos responden igualmente a un factor microambiental determinado. De hecho una condición microambiental puede ser dañina para un microorganismo y beneficiosa para otro (Sinell, 1981).

Los microorganismos pueden tolerar algunas condiciones adversas, que rebasadas no les permiten crecer y por lo tanto debemos distinguir entre las condiciones microambientales y sus efectos sobre la viabilidad y su reproducción (ICMSF, 1985a).

Se debe insistir en que en general, cuanto más apropiado es el medio para un determinado microorganismo, tanto más amplios son los intervalos de temperatura, pH, Aw y redox dentro de los cuales es capaz de crecer (Frazier y Westhoff, 1993).

1.3.1. pH (CONCENTRACIÓN DE HIDROGENIONES).

1.3.1.1. DEFINICIÓN DE pH.

La concentración de iones de hidrógeno está representada por el pH (ICMSF, 1985a), el químico danés S. P. L. Sørensen definió al pH de la siguiente forma:

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$$

Por lo que el pH se define como el logaritmo negativo en base 10 de la actividad o concentración de hidrogeniones (Warris, 2003). Por otro lado, Kuchel (1994) define las soluciones neutras como aquellas en las que $[\text{H}^+] = [\text{HO}^-]$ y para el agua pura a una temperatura de 25°C:

$$\text{pH} = -\log_{10} (10^{-7}) = 7.0$$

El agua pura se disocia para dar un número igual de iones hidrógeno $[H^+]$ e hidroxilo $[OH^-]$:



A 25°C la concentración de iones hidrógeno e hidroxilo en solución es de $10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$:

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$$

La acidez o alcalinidad se expresa en una escala que va del 1 al 14, en la que la neutralidad es pH 7. Los valores de pH por debajo de 7 son ácidos y los mayores de 7 son alcalinos (o básicos). Es importante recordar que el pH es una función logarítmica; un cambio en una unidad de pH representa 10 veces el cambio en la concentración de hidrogeniones (Bibeck, 2001; Madigan et al., 2000).

Los ácidos se consideran como sustancias donadoras de iones hidrógeno (o protones). En contraste, las bases son aceptores de iones hidrógeno (Ott, 1992; Warris, 2003). El producto de la concentración de iones hidrógeno e hidroxilo es constante:

$$[H^+] [OH^-] = 10^{-7} \times 10^{-7} = 10^{-14}$$

La mayoría de los microorganismos se desarrollan óptimamente cuando los iones H^+ y OH^- están aproximadamente en igual concentración (pH 7.0). Los microorganismos que crecen a pH bajos se llaman acidófilos. Algunos microorganismos poseen pH óptimos de 10-11 y se conocen como alcalófilos. Lo anterior, queda demostrado en la Tabla No. 11, en la cual se manifiesta como la carne de cerdo está ligeramente por debajo de la neutralidad a un pH entre 5.4 – 6.2, lo que representa un factor de riesgo para la proliferación de microorganismos que alteran la carne (ICMSF, 1985a; Jay, 1992).

Independientemente de las condiciones extremas en que vivan los microorganismos (pH del ambiente extracelular), el pH intracelular debe permanecer cercano a la neutralidad, con objeto de impedir la destrucción de las macromoléculas hábiles en condiciones ácidas o alcalinas (Ott, 1992). En los acidófilos o alcalófilos extremos, el pH intracelular puede variar entre 1 y 1.5 unidades respecto de la neutralidad, pero para la mayoría de los microorganismos cuyo pH extremo está entre 6 y 8 (conocidos como neutrófilos) el pH del citoplasma es neutro, o casi neutro (Bibeck, 2001; Brock, 1978).

Tabla No. 11. Escala y valores del pH de algunos alimentos.

	Concentración de iones hidrógeno, g/litro	pH	Ejemplo de alimentos
↑ Incremento de acidez	10^{-0}	0 ---	
	10^{-1}	1 ---	
	10^{-2}	2 ---	Jugo de limón Vinagre
	10^{-3}	3 ---	Cítricos Zumo de frutas
Neutralidad	10^{-4}	4 ---	Pepinillos en vinagre Conservas ácidas de carne
	10^{-5}	5 ---	Carne empaquetada al vacío
	10^{-6}	5.5 ---	Carne de cerdo⁽¹⁾ y vacuno
	10^{-7}	6 ---	Carne de pollo Pescado
	10^{-8}	7 ---	Agua pura Clara de huevo
	10^{-9}	8 ---	
	10^{-10}	9 ---	
	10^{-11}	10 ---	
	10^{-12}	11 ---	
	10^{-13}	12 ---	
↓ Incremento de alcalinidad	10^{-14}	13 ---	
		14 ---	

Tomado de Jay, (1992) y Prescott et al., (2002).

⁽¹⁾ El valor promedio de pH de la carne de cerdo varía entre 5.4 – 6.2.

1.3.1.2. pH POST-MORTEM DE LA CARNE DE CERDO.

Tras la muerte del cerdo sometido a un mínimo estrés, el porcentaje normal del 1% de glucógeno se convierte en ácido láctico por medio de la glucólisis anaeróbica, lo cual origina directamente un descenso en el valor de pH desde 7.4 aproximadamente, hasta unos valores mínimo y máximo de 5.3 y 6.9 respectivamente (Bartels, 1980; Jay, 1992).

Cuando el cerdo es fatigado, tiene problemas de inanición o sufre cualquier tipo de estrés momentos antes de ser sacrificado, el proceso de descenso del pH de la carne será interrumpido por la falta o agotamiento del glucógeno (Guerrero, 1990; Lawrie, 1998).

El pH tiene gran importancia en el crecimiento microbiano, es evidente que el pH final de la carne influye de manera significativa en su resistencia a la alteración. Como ya se ha mencionado la mayor parte de las bacterias crecen óptimamente a pH próximo a 7 y difícilmente por debajo de pH 4 o por encima de pH 9. El pH de máximo crecimiento está determinado por la simultánea operación de otras variables distintas del propio grado de acidez o alcalinidad. Algunas de las enzimas bacterianas determinantes de la alteración pueden tener pH óptimos diferentes de los propios microorganismos. Así, mientras que las enzimas proteolíticas bacterianas actúan mejor cerca de la neutralidad, las enzimas que atacan a los carbohidratos suelen tener pH óptimos inferiores a 6 y microorganismos tales como las bacterias ácido lácticas, cuya principal actividad es la degradación de los carbohidratos, tienen valores de pH óptimos comprendidos entre 5.5 y 6 (Sinell et al., 1994).

En la carne cuyos valores de pH son bajos (5.2 ó menos), el crecimiento microbiano es muy escaso en relación con el que tiene lugar a rangos de pH normales. Por otra parte, la carne con un pH final alto (como el encontrado en el corte oscuro) generalmente es muy susceptible al crecimiento microbiano, incluso bajo las mejores condiciones y prácticas de manipulación (Bartels, 1980; Forrest et al., 1979).

Cuando en las partes profundas de la carne de cerdo fresca post-rigor, se combinan un pH cercano a la neutralidad, junto con una deficiente refrigeración, por encima de los 7°C, se favorece la llamada putrefacción profunda del hueso (Lawrie, 1998). El músculo que tiene un pH final alto debido a una deficiencia de glucógeno al morir, también carece de la glucosa resultante de la amilolisis post-mortem, aunque en cantidad mucho menor que el

ácido láctico debido a la glucólisis. En ausencia de un sustrato carbohidratado fácilmente disponible, los microorganismos atacan inmediatamente a los aminoácidos, causando la alteración precoz, que se manifiesta con olores desagradables y cambios de coloración (Frazier y Westhoff, 1993).

Es importante el manejo de la temperatura para que se alcance el pH deseado, ya que un descenso brusco en la temperatura, o una temperatura por encima de la de refrigeración, pueden ocasionar que el valor final del pH resulte fuera del rango deseado; dando como resultado una mala calidad en el producto (Sinell et al., 1994).

Los valores de pH finales normales de la carne van de 5.4 a 6.2, como se observa en la Tabla No. 12, favorecen el desarrollo de mohos, levaduras y bacterias acidófilas (Guerrero, 1990; Jay, 1992).

Tabla No. 12. Valores de pH en la carne fresca y subproductos de la carne de cerdo, una vez concluido el proceso de maduración.

Producto	Rango de pH	Factores adicionales	Referencia
Pierna	5.9 – 6.2	Carne fresca	Jay, 1992 Sinell et al., 1994
Carne fresca empaquetada al vacío	5.4	Almacenaje a 4°C	ICMSF, 1985a
Carne fresca empaquetada con aire	5.4	Almacenaje a 4°C	ICMSF, 1985a
Conservas ácidas de carne	4.0 – 4.5	Ac. acético, ac. cítrico, ac. propiónico, etc.	ICMSF, 1985a Reichert, 1988
Jamón cocido	6.5	Ac. láctico, cloruro de sodio, nitrito	ICMSF, 1985a

1.3.1.3. INFLUENCIA DEL pH SOBRE LOS MICROORGANISMOS QUE CONTAMINAN Y ALTERAN LA CARNE DE CERDO.

En condiciones adversas, los microorganismos pueden verse privados de la energía de mantenimiento necesaria para regular su medio iónico interno y para renovar sus componentes celulares; estas condiciones conducen a la pérdida de la viabilidad. Cuando los microorganismos pueden transportar nutrientes suficientes para el mantenimiento, aunque no para el crecimiento, su viabilidad se puede prolongar durante mucho tiempo (ICMSF, 1985a).

La acción del pH sobre el crecimiento de los microorganismos tiene lugar a tres niveles: a) el medio, puesto que la disponibilidad de ciertos nutrientes en el medio de cultivo sufre modificaciones en función del equilibrio iónico, b) la permeabilidad de la membrana, que se ve afectada por las variaciones en la concentración de iones H^+ OH^- y c) la actividad metabólica, las reacciones enzimáticas presentan un óptimo de actividad por encima o por debajo del cual su cinética sufre cambios; por lo tanto toda variación del pH citoplasmático implica una disminución en la actividad enzimática y en consecuencia, del crecimiento del microorganismo (Casp y Abril, 1999).

La membrana citoplasmática de los microorganismos es relativamente impermeable a los iones H^+ y OH^- . Por consiguiente, es probable que su concentración en el citoplasma permanezca razonablemente constante a pesar de las amplias variaciones que pueden tener lugar en el pH del medio circundante (Prescott et al., 2002)..

En relación con el transporte de nutrientes, la célula bacteriana tiende a tener una carga negativa. Por tanto, los compuestos no ionizados pueden pasar al interior de las células, mientras que los ionizados no pueden hacerlo (Ingraham e Ingraham, 1998). A pH neutro o alcalino, los ácidos orgánicos no penetran en la célula, mientras que a valores ácidos, estos compuestos no están ionizados y pueden penetrar en las células cargadas negativamente. Asimismo, el carácter iónico de los grupos ionizables de las cadenas laterales es afectado en ambos lados de la neutralidad, originando una desnaturalización creciente de la membrana y de las enzimas de transporte (Jay, 1992).

Los microorganismos se ven afectados por el nivel de iones H^+ libres (como el pH) y además, por la concentración de ácido débil no dissociado, la cual a su vez depende del pH. Los aniones de algunos ácidos débiles (del ácido acético o láctico, por ejemplo) son metabolizados dentro de la célula bacteriana, liberando H^+ que acidifica el interior de la célula hasta alcanzar niveles inhibitorios. Otros aniones no son metabolizados y por tanto no acidifican el interior de la célula (ICMSF, 1985a). Las lesiones que aparecen a valores desfavorables de pH no se deben a los iones H^+ y OH^- ; los últimos elevan únicamente el porcentaje de ácidos o bases débiles no dissociados, que en estado no cargado penetran mucho más fácilmente en las células que sus productos de disociación. Los fisiológicamente activos son siempre los ácidos no dissociados. El succinato bibásico o el

ácido cítrico tribásico, penetran tanto más rápidamente en la célula cuanto más bajo sea el valor de pH del medio (Schlegel, 1988).

El pH afecta a la disociación de los grupos funcionales carboxilo y amino en la cadena de moléculas proteínicas. Para llevar a cabo su actividad catalítica, las enzimas deben encontrarse en un estado particular de disociación (Atlas y Bartha, 1992). Los valores extremos de pH desnaturalizan la mayoría de las proteínas de forma irreversible.

En un ambiente ácido, el organismo puede mantener un pH próximo al neutral o bien no permitiendo la entrada de iones H^+ o bien expulsándolos de modo activo tan rápidamente como entran. Probablemente la pared celular desempeña también algún papel para mantener fuera los hidrogeniones. La neutralidad es necesaria porque en la célula existen muchos componentes sensibles a los ácidos y a los álcalis. Por ejemplo, el ADN y el ATP son destruidos por un pH ácido y el ARN, y los fosfolípidos son sensibles a un pH alcalino. El pH óptimo para las enzimas intracelulares suele estar cerca del pH neutral, aunque las enzimas del periplasma y las enzimas extracelulares pueden tener pH óptimos para su actividad cerca del pH ambiental (Brock, 1978).

Generalmente, los microorganismos no pueden tolerar valores extremos de pH. En condiciones muy alcalinas o ácidas se hidrolizan algunos componentes microbianos o se desnaturalizan algunas enzimas. Sin embargo, hay algunas bacterias acidófilas y alcalíficas (también llamadas alcalófilas) que toleran o incluso necesitan, condiciones extremas de pH para su crecimiento (Atlas y Bartha, 1992).

La mayoría de las bacterias sobreviven en un ambiente con un intervalo de pH relativamente amplio, ajustando su pH intracelular. Mediante diferentes mecanismos bombean iones de hidrógeno fuera o dentro de la célula (Ingraham e Ingraham, 1998).

Independientemente de las condiciones extremas en que vivan los microorganismos (del pH del ambiente extracelular), el pH intracelular debe permanecer cercano a la neutralidad, con objeto de impedir la destrucción de macromoléculas hábiles en condiciones ácidas o alcalinas. En los acidófilos o alcalófilos extremos, el pH intracelular puede variar entre 1 y 1.5 unidades respecto a la neutralidad, pero para la mayoría de los microorganismos cuyo pH extremo está entre 6 y 8 (conocidos como neutrófilos), el pH del citoplasma es neutro, o casi neutro (Madigan et al., 2000).

Las bacterias, levaduras y los mohos, son los microorganismos presentes de mayor importancia en la alteración y contaminación de la carne de cerdo. En la Tabla No. 13, se presentan a grandes rasgos los límites máximos, óptimos y mínimos de pH a los que crecen dichos microorganismos antes mencionados. En general, las bacterias responsables de la alteración y contaminación de la carne crecen a un pH ligeramente ácido, cercano al pH neutro, aunque existen bacterias denominadas lácticas y acéticas que crecen a pH bajos, hasta de 5.4 (ICMSF, 1985a). Por otro lado, las levaduras y mohos toleran mejor la acidez que las bacterias (Bello, 2000; Jay, 1992).

Tabla No. 13. Valores de pH distintos tipos de microorganismos presentes en los alimentos.

Microorganismos	Máximo	Óptimo	Mínimo
Bacterias (en general)	11.0	6.5 – 7.5	4.5
Bacterias lácticas	10.5	5.5 – 6.5	3.2
Bacterias acéticas	9.2	5.4 – 6.3	4.0
Levaduras	8.0 – 8.5	5.0 – 6.5	1.5 – 3.5
Mohos	8.0 – 11.0	4.5 – 6.8	1.5 – 3.5

Tomado de Bello (2000).

Las carnes con pH relativamente alto (6.2) experimentan putrefacción debida a gérmenes gram negativos de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, durante el almacenamiento a temperaturas iguales o inferiores a 10°C; no crecen sin embargo estos microorganismos a pH iguales o inferiores a 5.3 (Jay, 1992).

A pesar de las considerables diferencias en la composición de la pared celular de los organismos gram positivos y gram negativos, sus límites de tolerancia de pH son apenas ligeramente diferentes. Sin embargo, las bacterias responsables del deterioro de los alimentos ácidos (pH<4.5) son todas gram positivas; siendo los lactobacilos los microorganismos más frecuentemente implicados (ICMSF, 2000).

Entre los organismos gram positivos, hay algunos particularmente resistentes a la presencia en el medio de concentraciones altas de ácidos no disociados; así por ejemplo, los lactobacilos son resistentes al ácido láctico y al acético. Además algunos lactobacilos pueden producir ácidos débiles lipofílicos en cantidades suficientes como para inhibir a las enterobacterias. El crecimiento de *L. acidophilus* en medios de laboratorio a pH de 3.8

inhibe o destruye a *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* y *Shigella sonnei* presentes en el medio de cultivo (ICMSF, 2002)..

Escherichia coli puede crecer en ambientes con un intervalo de pH entre 5.0 y 8.0. Pero, independientemente del pH externo, el pH interno se mantiene en un valor muy cercano a 7.6 (el valor óptimo para su metabolismo). *E coli*, al igual que la mayoría de las demás bacterias, pueden realizar reacciones metabólicas vitales sólo dentro de un intervalo de pH limitado, porque muchas de sus enzimas funcionan adecuadamente sólo en un intervalo estrecho de pH (Ingraham e Ingraham, 1998).

Otro microorganismo patógeno estudiado es el *Vibrio parahaemolyticus* es más sensible que *Escherichia coli* a la acidez y su crecimiento se inhibe completamente a pH 4.5-5.0 (ICMSF, 1985a).

La mayoría de los productos cárnicos no tienen pH suficientemente bajos, ni concentraciones salinas suficientemente altas como para inhibir completamente al *Clostridium botulinum* (Mortimore y Wallace, 2001). El *C. botulinum* crece en alimentos a pH inferiores a 4.8, pero no hay evidencia clara de que a esos pH tenga lugar realmente producción de toxina. Si bien, se encontrara toxina botulínica en carnes ácidas, es de entenderse que ésta fue formada en los primeros momentos de un proceso de fermentación ó acidificación. La toxina botulínica, una vez formada es estable a temperaturas de refrigeración y a pH ácido (Mortimore y Wallace, 2001).

La producción de toxina por parte de *Staphylococcus aureus* puede ser inhibida mediante el uso de distintas combinaciones de sal y de pH, y que en determinadas condiciones no se produce toxina durante el crecimiento (Sinell, 1981).

El *Bacillus cereus* puede crecer dentro del rango de pH entre 4.9 y 9.3. Sin embargo, los productos a base de carne resultan ser menos inhibidores que los medios de cultivo de laboratorio, de forma que permitirán el crecimiento a pH 4.35 (ICMSF, 1985a).

En la Tabla No.14, se mencionan los valores de pH máximos, óptimos y mínimos, para el crecimiento de algunas de las bacterias más representativas, causantes de alteraciones en la carne, así como de enfermedades transmisibles por alimentos contaminados, pudiendo ser de tipo infeccioso y/o toxigénico.

Tabla No. 14. Límites de pH para el crecimiento de algunas bacterias relacionadas con la contaminación y alteración de la carne.

Microorganismo	pH Mínimo	pH Óptimo	pH Máximo
<i>Acinetobacter acidophilum</i> (3)	2.8	(a)	4.3
<i>Alcaligenes faecalis</i> (3)	6.4	(a)	9.7
<i>Bacillus cereus</i> (2)	4.9	6.8 - 7.5	9.3
<i>Bacillus stearothermophilus</i> (2)	5.2	(a)	9.2
<i>Bacillus subtilis</i> (2)	4.5	(a)	8.5
<i>Campylobacter spp.</i> (1)	5.8	(a)	9.0
<i>Clostridium botulinum</i> (2)	4.7	6.0 - 7.6	8.5
<i>Clostridium perfringens</i> (2)	5.5	6.0 - 7.6	8.5
<i>Clostridium sporogenes</i> (2)	5.0	6.0 - 7.6	9.0
<i>Enterococcus spp.</i> (1)	4.8	6.5 - 7.5	10.6
<i>Erwinia carotovora</i> (3)	5.6	7.1	9.3
<i>Escherichia coli</i> (2)	4.4	6.0 - 7.0	9.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	4.4	(a)	9.0
<i>Lactobacillus spp.</i> (3)	3.8 - 4.4	4.6 - 5.8	7.2
<i>Micrococcus sp.</i> (3)	5.6	(a)	8.1
<i>Proteus vulgaris</i> (1)	4.4	6.0 - 7.0	9.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (3)	5.6	6.6 - 7.0	8.0
<i>Salmonella spp.</i> (1)	4.0 - 4.5	(a)	8.0 - 9.6
<i>Serratia marcescens</i> (3)	4.0	(a)	9.0
<i>Staphylococcus aureus</i> (2)	4.0	6.8 - 7.5	9.8
<i>Streptococcus suis</i> (1)	4.4 - 4.7	(a)	9.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> (1)	6.3	(a)	9.2
<i>Thiobacillus thiooxidans</i> (3)	1.0	2.0 - 2.8	9.8
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (2)	4.8	(a)	11.0
<i>Yersinia enterocolitica</i> (2)	4.5	(a)	9.0

Tomado de Atlas y Bartha (1992), Casp y Abril (1999), ICMSF (1985a) y Jay (1992).

(a) No reportado.

(1) Microorganismos patógenos.

(2) Microorganismos toxigénicos.

(3) Microorganismos alterantes.

Cada microorganismo tiene un margen de pH dentro del cual es posible su crecimiento y generalmente tiene también un pH óptimo bien definido. El margen de pH en el que pueden crecer los diferentes organismos es variable. La mayoría de las bacterias tienen márgenes

de pH relativamente estrechos, oscilando entre 3 y 4 unidades, si bien unos pocos crecen en un margen algo más amplio. Las bacterias que crecen bien a un pH bajo son por lo general acidófilos obligados, incapaces de crecer a un pH neutral y que incluso mueren en estas condiciones (Brock, 1978).

Un pequeño número de bacterias puede crecer en un rango de pH entre 4 y 8, pero aquellas que pueden crecer a $\text{pH} < 4$ no son las que se asocian normalmente con las toxiinfecciones alimentarias. Sin embargo, el crecimiento de microorganismos ácido tolerantes puede tener implicaciones en la seguridad del alimento en caso de que su crecimiento en el producto conlleve una elevación del pH a niveles a los que otros microorganismos, incluidos los patógenos puedan crecer (Mortimore y Wallace, 2001).

También se debe tener en cuenta que los microorganismos pueden sobrevivir en un pH que esté fuera de su rango de crecimiento. Esto tiene su implicación en la seguridad de los alimentos, en el caso de que existan otros factores que puedan hacer variar el valor del pH, por ejemplo, en una materia prima con un bajo pH pueden existir esporas de *Bacillus cereus* incapaces de crecer. Si añadimos entonces otras materias primas con objeto de incrementar el pH del producto, las esporas pueden germinar y crecer hasta alcanzar un nivel peligroso. La temperatura afecta de manera particular el efecto del pH sobre el crecimiento, por ejemplo un microorganismo capaz de crecer a 30°C a pH 4.5, posiblemente no sea capaz de lo mismo a 5°C y viceversa. La tolerancia de los microorganismos al pH se ve afectada también en gran medida por el tipo de ácido utilizado (ICMSF, 1985a).

Dentro de las bacterias patógenas, los microorganismos de los géneros *Vibrio sp.* y *Clostridium sp.* son más sensibles a variaciones de pH que la mayor parte de las demás bacterias, mientras que *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus* son las más resistentes, este último aunque resiste un pH de 4.2 sufre una fuerte reducción en su crecimiento. El pH más bajo al que es capaz de crecer *Clostridium botulinum* es 4.8 para los tipos A y B y de 5.7 para el E, el más bajo para que pueda producirse toxina es también de 4.8 (Casp y Abril, 1999).

1.3.2. Aw (ACTIVIDAD DE AGUA).

1.3.2.1. DEFINICIÓN DE Aw.

El agua es el disolvente de la vida. Todos los microorganismos requieren agua y la disponibilidad de ella es un factor importante para el crecimiento microbiano en la naturaleza (Madigan et al., 2000). La disponibilidad de agua depende no sólo del contenido de agua del ambiente, esto es, cuán húmedo o seco sea un hábitat determinado, sino también de la concentración de solutos en ella. Esto es porque las sustancias disueltas tienen gran afinidad por el agua, lo que hace que el agua asociada con los solutos sea inutilizable por los microorganismos. El agua líquida es esencial para todos los procesos bioquímicos. Para los microorganismos el factor crítico es la disponibilidad de agua líquida más que la cantidad total de agua presente en el ambiente (Atlas y Bartha, 1992).

Los microorganismos requieren la presencia de agua, en una forma disponible para que puedan crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. La mejor forma de medir la disponibilidad de agua es mediante la actividad de agua (Aw) (ICMSF, 1985a; Frazier y Westhoff, 1993).

En la actualidad, se admite de forma universal que las necesidades de agua de los microorganismos se deben expresar en términos de actividad de agua (Aw) en el medio (Jay, 1992).

La Aw de un alimento o solución se define como la relación entre la presión de vapor del agua del alimento (P) y la del agua pura (P_o) a la misma temperatura (ICMSF, 1985a), y se expresa con la siguiente fórmula:

$$Aw = \frac{P}{P_o} = \frac{\text{Presión de vapor de agua del alimento}}{\text{Presión de vapor de agua pura}}$$

P_o vale siempre 1.0 mientras que P es menor de 1.0, lo cual hace que el valor Aw de los alimentos sea inferior a 1.0.

El A_w de una solución es la relación de su presión de vapor con la del agua pura a la misma temperatura, siendo inversamente proporcional al número de moléculas de soluto presentes (Lawrie, 1998; Monteville y Matthews, 2001).

A medida que una solución se concentra, la presión de vapor disminuye y el A_w va descendiendo a partir de un valor máximo de 1 para el agua pura (en ausencia de capilares o fuerzas de adsorción). Por lo tanto, se puede decir que la actividad de agua (A_w) representa la cantidad de agua disponible para el aprovechamiento por parte de los microorganismos. Aunque es importante señalar que ningún organismo es capaz de vivir en un $A_w = 1$, siendo éste el valor del agua pura (Bibeck, 2001; Folgar, 2000).

1.3.2.2. A_w PRESENTE EN LA CARNE DE CERDO.

La carne de cerdo exhibe valores comprendidos entre 0.985 y 0.995 lo que la hace susceptible a la alteración por ser favorable a un amplio rango de microorganismos (Lawrie, 1998). Por lo que, un gran número de microorganismos alterantes como son las *Pseudomonas spp*, pueden ocasionar grandes mermas en la carne refrigerada al formar aminas volátiles, sulfuro de hidrógeno y ésteres de ácidos orgánicos. Pero bajo condiciones de anaerobiosis, predominan las bacterias lácticas produciendo una acidificación (ICMSF, 1985a).

La mayoría de las bacterias deteriorantes de la carne no crecen a un A_w menor de 0.91, pero los mohos y levaduras alterantes crecen a un A_w de 0.80 ó menor. Por lo cual, los mohos y las levaduras son los más aptos para crecer en la superficie de los productos cárnicos que han sido parcialmente deshidratados (Forrest et al., 1979).

La actividad de agua está influida por la humedad ambiental, por lo que es importante comprender porque la carne tiene tendencia a desecarse superficialmente en las condiciones ordinarias de depósito, ya que por lo general existe una diferencia con la humedad de la atmósfera circundante de almacenamiento (Sinell et al., 1994). Por lo tanto, en lugares donde las posibilidades de refrigeración sean escasas ó inexistentes, es importante una buena ventilación, ya que el descenso del valor A_w superficial inhibe el crecimiento especialmente de la flora psicrótrófa (Lawrie, 1998).

Cuando el agua se condensa en la superficie de la carne, las consecuencias pueden ser desastrosas, esto se observa cuando se introduce carne refrigerada con bajas temperaturas (2 a 4°C) en lugares con temperaturas superiores, ya sea en el envasado, despiezado, transformación o almacenamiento de dicha carne; teniendo como resultado que la humedad se condense en la superficie de la carne, lo cual va a elevar el Aw del producto para favorecer con ello el crecimiento de las bacterias (Sinell et al., 1994).

El Aw de un alimento puede reducirse aumentando la concentración de solutos en la porción acuosa de los alimentos mediante la extracción del agua o mediante la adición de solutos. La deshidratación es un método de conservación de los alimentos basado en la reducción del Aw, lo que se consigue eliminando el agua del alimento. Durante el curado y salazonado, así como en el almíbar y otros alimentos azucarados son los solutos los que al ser añadidos descienden el Aw (ICMSF, 1985a).

1.3.2.3. EFECTOS E INFLUENCIA DEL Aw SOBRE EL METABOLISMO Y CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS ALTERANTES Y CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO.

En general, el efecto del descenso del Aw por debajo del valor óptimo es un aumento de la duración de la fase lag de crecimiento y una disminución de la tasa de crecimiento y del número de microorganismos de la población final (Jay, 1992). Lo anterior es consecuencia de la influencia desfavorable de la disminución de agua sobre todas las actividades metabólicas, ya que todas las reacciones químicas requieren un medio acuoso. Aunque se debe tener en cuenta que el Aw está influenciado por otros parámetros del medio, como son el pH, la temperatura de crecimiento y el potencial redox (Eh) (Frazier y Westhoff, 1993).

El agua se difunde desde una región de elevada concentración (baja concentración de soluto) a otra en que la concentración de agua es menor (concentración de soluto más alta), en un proceso denominado ósmosis. La mayoría de las veces, el citoplasma celular posee una mayor concentración de solutos que el medio exterior, de modo que el agua se difunde hacia el interior celular, para producir un balance de agua positivo. Sin embargo, cuando una célula está en un ambiente con baja actividad de agua, existe una tendencia de salida

del agua intracelular. Por lo cual, cuando una célula se introduce en una solución con baja actividad de agua, tal como una disolución de sal o de azúcar, pierde agua y se produce plasmolisis (Madigan et al., 2000).

Cuando un microorganismo crece en un medio con una actividad baja del agua debido a la adición de un soluto, debe realizar más trabajo para extraer el agua de la solución. Esto da como consecuencia un menor rendimiento de crecimiento o una velocidad de crecimiento más baja. Existe siempre la posibilidad de que el soluto añadido pueda tener un efecto tóxico específico sobre las células (Adams, 2000; Brock, 1978).

Un A_w reducido en el sustrato, provoca que las necesidades nutricionales de los microorganismos que son satisfechas a través de un medio acuoso, sean mermadas progresivamente. Además, un A_w reducido tiene efectos desfavorables en el funcionamiento de la membrana celular, la cual debe mantenerse en estado de fluidez (Jay, 1992).

Por otro lado, Casp y Abril (1999), señalan algunos factores que influyen sobre las necesidades de A_w de los microorganismos que alteran la carne:

- Valor nutritivo del medio de cultivo. En general, cuanto más apropiado es el medio de cultivo para el crecimiento de los microorganismos, tanto menor es el A_w mínimo del crecimiento.

- Temperatura. A temperaturas próximas a su temperatura óptima de crecimiento, la mayoría de los microorganismos tienen una tolerancia máxima a los valores bajos de A_w .

- Aporte de oxígeno. Cuando en el medio existe aire, la multiplicación de los microorganismos aerobios tiene lugar a valores de A_w más bajos que cuando en el mismo no existe aire, ocurriendo lo contrario cuando se trata de microorganismos anaerobios.

- pH. A valores de pH próximos a la neutralidad, la mayoría de los microorganismos son más tolerantes a la escasa A_w que cuando se encuentran en medios ácidos ó básicos.

La mayoría de los microorganismos, incluyendo las bacterias patógenas, crecen más rápidamente a niveles de A_w de 0.995-0.980. A valores de A_w inferiores a éstos, la velocidad de crecimiento y la población estacionaria o la masa celular final disminuye y la fase de latencia aumenta. A un A_w mucho más bajo, la fase de latencia se hace infinita, es decir, el crecimiento cesa (ICMSF, 1985a).

En general las bacterias son las más exigentes en actividad de agua, siendo los menos exigentes los mohos, mientras que las levaduras ocupan una posición intermedia (Adams, 2000; Forrest et al., 1979).

El crecimiento de la mayoría de las bacterias y hongos ocurre a A_w superiores a 0.90. Sin embargo, entre los microorganismos que tienen una importancia en la conservación de los alimentos existen muchos que pueden multiplicarse a valores de A_w mucho más bajos (ICMSF, 1985a); dichos microorganismos se denominan: halófilos, xerófilos y osmófilos. Los microorganismos halófilos requieren de altas concentraciones de sal para su crecimiento. Los xerófilos son aquellos microorganismos que crecen mejor en condiciones de sequedad, capaces de multiplicarse a valores de A_w de 0.85. Los osmófilos son microorganismos que crecen en hábitats con altas presiones osmóticas (ICMSF, 1985a).

La mayoría de los microorganismos alterantes de la carne crecen óptimamente a un A_w superior a 0.98. La alteración de los alimentos proteicos, como la carne conservada a temperaturas de refrigeración se debe principalmente a *Pseudomonas spp*, las cuales en el curso de la alteración forman aminas volátiles, sulfuro de hidrógeno y ésteres de ácidos orgánicos. Por otro lado, en condiciones de anaerobiosis predominan las bacterias lácticas, que se caracterizan por producir una acidificación en el alimento (ICMSF, 1985a).

Una gran cantidad de bacterias patógenas, causantes de enfermedades alimenticias, crecen favorablemente a valores A_w de 0.98, aunque en muchos casos no necesariamente ocasionan daños organolépticos en la carne, siendo esto de alto riesgo para el consumidor (Folgar, 2000). Tal es el caso del *Clostridium botulinum*, que se ve favorecido a este valor de A_w , para crecer y producir una intoxicación alimenticia, más sin embargo, existen estudios que demuestran que a valores de A_w por debajo de 0.94 cesan su crecimiento (Jay, 1992).

El crecimiento de *Salmonella spp* en la carne, se ve favorecido por valores A_w superiores a los 0.97, produciendo en la carne a parte del crecimiento bacteriano, una serie de olores putrefactos y rancios, haciéndola no apta para el consumo (ICMSF, 1985a).

Staphylococcus aureus, es un microorganismo que llega a producir intoxicaciones alimentarias y crece en carnes con un valor A_w inferior a 0.93, y su crecimiento queda interrumpido cuando el A_w es menor que 0.85 (ICMSF, 1991).

Por debajo de un A_w de 0.85, la flora primaria de alteración consiste principalmente de hongos, algunos de los cuales producen micotoxinas. La alteración va siendo cada vez más lenta cuando el A_w se aproxima a 0.60; ya que por debajo de un A_w de 0.60 no tiene lugar la multiplicación bacteriana (Casp y Abril, 1999; ICMSF, 1991).

Los valores de A_w de diversos microorganismos alterantes y contaminantes de la carne, se pueden observar en la Tabla No. 15, en el cual se pone de manifiesto la gran variedad de microorganismos que la pueden contaminar, por presentar un A_w favorable para su crecimiento.

Tabla No. 15. Valores mínimos de A_w , para el crecimiento de algunas bacterias alterantes y contaminantes de la carne.

Microorganismo	A_w
<i>Acinetobacter spp</i>	0.99
<i>Bacillus cereus</i>	0.95
<i>Bacillus subtilis</i>	0.90
<i>Clostridium botulinum tipo A</i>	0.95
<i>Clostridium botulinum tipo B</i>	0.94
<i>Clostridium botulinum tipo E</i>	0.97
<i>Clostridium perfringens</i>	0.95
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.94
<i>Escherichia coli</i>	0.95
<i>Klebsiella spp</i>	0.96
<i>Lactobacillus spp</i>	0.95
<i>Microbacterium spp</i>	0.94
<i>Micrococcus luteus</i>	0.93
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.97
<i>Salmonella spp</i>	0.95
<i>Shigella spp</i>	0.96
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94

Tomado de Casp y Abril (1999), ICMSF (1985a) y Sinell (1981).

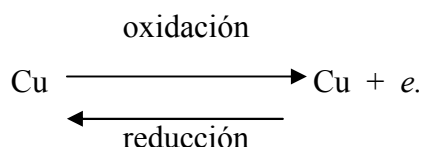
1.3.3. REDOX (POTENCIAL ÓXIDO-REDUCCIÓN).

1.3.3.1. DEFINICIÓN DE REDOX.

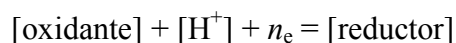
El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular (ICMSF, 1985a).

El potencial óxido-reducción o poder oxidante y reductor del propio alimento, influye en el tipo de microorganismo que se desarrollará en él y por lo tanto, en las modificaciones que se producirán (Casp y Abril, 1999).

El potencial redox de un sustrato es definido en forma general como la facilidad con la que el sustrato pierde o gana electrones. De tal manera que cuando un elemento o un compuesto pierde electrones, se dice que el sustrato es oxidado, mientras que un sustrato que gana electrones es reducido (Adams, 2000; Jay, 1992), de la siguiente forma:



Los procesos de oxidación y de reducción serán definidos en términos de migraciones de electrones entre compuestos químicos. Por lo que, cuando se oxida una sustancia, liberando electrones, siempre se reduce simultáneamente otra, o sea, que capta los electrones liberados (Adams, 2000). Por lo tanto, una sustancia que cede electrones con facilidad es un buen agente reductor, mientras que una sustancia que capta electrones es un buen agente oxidante (Jay, 1992). Tal proceso puede expresarse de la siguiente forma:



En dicha expresión, n_e es el número de electrones transferidos en el proceso (ICMSF, 1985a).

El potencial redox es un valor relativo medido a partir del punto 0 arbitrario del valor del electrodo normal del hidrógeno. El potencial redox también se expresa como E_h , y se mide en milivoltios (mV); teniendo que un valor E_h alto y positivo indica un ambiente que favorece las reacciones de oxidación, mientras que un valor de E_h bajo y negativo indica un ambiente fuertemente reducido (Atlas y Bartha, 2000; Bibeck, 2001).

1.3.3.2. VALOR REDOX EN LA CARNE DE CERDO.

Inmediatamente después del sacrificio del cerdo, cuando la temperatura y el pH aún son altos, lo lógico sería esperar un gran peligro por la proliferación de anaerobios y que la alteración de la carne fuese grande. Pero, el que esto no ocurra se debe en gran parte al nivel de óxido-reducción, que normalmente no desciende durante cierto tiempo. Por

ejemplo, el *Clostridium* en los músculos no crece sino hasta que el potencial óxido-reducción ha descendido desde +150 mV hasta alrededor de -50mV (Lawrie, 1998). Generalmente, inmediatamente después de la muerte (*pre rigor*), el potencial redox del músculo es de +250 mV, descendiendo hasta el margen de +10 mV a -130 mV *post rigor*, pudiendo llegar hasta -250mV (ICMSF, 1985a; Jay, 1992).

Durante el almacenamiento el potencial redox de la carne baja a -200mV aproximadamente; una vez completado el *rigor mortis* el potencial redox suele ser de aproximadamente 0mV (ICMSF, 1985a).

El potencial redox de las piezas interiores de la carne se encuentra suficientemente reducido como para prevenir el crecimiento de los aerobios, como la *Pseudomonas*, *Bacillus* u hongos; pero el bajo potencial redox (*post-rigor*) estimula el crecimiento de enterobacterias y clostridios (ICMSF, 1985a; Lawrie, 1998).

Cuando la carne de cerdo fresca refrigerada es expuesta al aire, puede sufrir el crecimiento de microorganismos aerobios productores de alteraciones y cambios de olor, sabor, color y textura, conduciendo a un deterioro general de la calidad del producto, como lo indica López y Casp (2004). Por lo que es recomendado el envasado a vacío del producto, el cual consiste en mantener la carne en un ambiente donde la disponibilidad de oxígeno sea distinta de la que existe en el aire. Lo anterior lo podemos hacer envasando el producto en film de baja permeabilidad al oxígeno, después se le extrae el oxígeno e inmediatamente se cierra; de tal forma que el poco contenido de oxígeno que le queda, que es del 1 % sea consumido rápidamente. Por lo que se retrasan los cambios indeseables, para prolongar significativamente la vida útil de la carne conservada a temperaturas de refrigeración.

El potencial óxido-reducción de la carne, según Frazier y Westhoff (1993), está dada por:

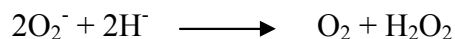
- a) Por el potencial redox típico del alimento originario.
- b) Por la capacidad de compensación del alimento, es decir, por su resistencia a modificar su potencial.
- c) Por la presión de oxígeno de la atmósfera existente en torno al alimento, y
- d) Por la comunicación que la atmósfera tiene con el alimento.

1.3.3.3. INFLUENCIA DEL POTENCIAL REDOX SOBRE EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO, Y SU CLASIFICACIÓN EN BASE A SUS NECESIDADES Y TOXICIDAD AL OXÍGENO.

Todos los microorganismos requieren oxígeno elemental para fabricar sus componentes bioquímicos, pero no todos los microorganismos requieren oxígeno atmosférico (Ingraham e Ingraham, 1998). Además de utilizar el oxígeno como nutriente, los microorganismos que son capaces de una respiración aeróbica usan el oxígeno para generar energía (Schlegel, 1988). Sin embargo, para algunos microorganismos el oxígeno atmosférico es tóxico.

Además del oxígeno los microorganismos deben hacer frente a los compuestos tóxicos que contienen oxígeno y que se producen durante el metabolismo aeróbico. Entre estos agentes tóxicos se encuentran el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los radicales libres, que son incluso más tóxicos: superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$), que se forma a partir del superóxido. Un radical libre es un compuesto con un electrón sin aparear que lo hace extraordinariamente reactivo. Si se acumula superóxido, los compuestos bioquímicos se oxidan rápidamente y las células mueren. Tres tipos de moléculas son particularmente sensibles a estas oxidaciones: los lípidos de la membrana, las proteínas y los ácidos nucleicos (Madigan et al., 2000).

Los microorganismos que sobreviven en presencia del aire han desarrollado sistemas para eliminar los radicales libres. Todos los microorganismos aerobios producen la enzima superóxido dismutasa, que destruye el superóxido convirtiéndolo en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Ingraham e Ingraham, 1998), de la siguiente forma:



El peróxido de hidrógeno, que es el producto de ésta y de otras reacciones catalizadas por enzimas, es en sí mismo un oxidante tóxico. Se convierte en agua y oxígeno mediante la enzima catalasa, o por la enzima peroxidasa de la siguiente manera:



Por otro lado, el efecto del potencial redox sobre el crecimiento microbiano consiste en prolongar la fase de latencia inicial, en la cual, la velocidad de crecimiento eventual no

resulta afectada, puesto que una vez que los microorganismos se han adaptado a un alto potencial redox, la velocidad es la misma que a potencial redox bajo (Lawrie, 1998).

Durante su crecimiento, los microorganismos influyen en el potencial redox del medio en que se encuentran. Esto se aprecia en microorganismos aerobios, los cuales son capaces de disminuir el potencial redox de su medio, mientras que los anaerobios son incapaces de ello (Jay, 1992). Conforme crecen los aerobios, el O₂ del medio se agota dando como resultado la disminución del Eh. Sin embargo, el crecimiento de los microorganismos no se hace más lento como cabría esperar debido a la capacidad de las células microbianas para utilizar las sustancias donadoras de O₂ o las aceptoras de hidrógeno existentes en el medio. La consecuencia de esto es que el medio se empobrece en sustancias oxidantes y se enriquece en sustancias reductoras (ICMSF, 1985a). El Eh de un medio puede ser disminuido por los microorganismos gracias a determinados subproductos metabólicos que ellos producen, como por ejemplo: el H₂S, que tienen la propiedad de descender el Eh hasta -300mV. Como quiera que el H₂S reacciona con facilidad con el O₂, sólo se acumulará en los medios anaerobios (Jay, 1992).

En función de sus exigencias en oxígeno y/o en su toxicidad, los microorganismos se clasifican en:

- a) **Aerobios estrictos**. - Son aquellos que exigen O₂ como aceptor final de electrones y no tienen la posibilidad de utilizar la vía fermentativa. Disponen de catalasa y de la super-oxi-dismutasa (SOD) para eliminar peróxido y superóxido (Leveau et al., 2002). Algunos de los microorganismos que entran en esta categoría son: *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, las bacterias acéticas y las nitrificantes, así como los hongos (ICMSF, 1985a). Aunque pueden ser proteolíticos o lipolíticos entre sus metabolitos de desecho se incluyen el agua y el dióxido de carbono. Constituyen una fracción importante de la microflora solamente cuando el O₂ se encuentra fácilmente disponible como ocurre en la superficie de las carnes. Por ejemplo, en la superficie de la carne puede producirse limo por crecimiento de las *Pseudomonas* (ICMSF, 1985a; Lawrie, 1998).
- b) **Anaerobios facultativos**. - Son aquellos microorganismos que pueden desarrollarse en presencia o en ausencia de O₂. En esta categoría se encuentran las

Enterobacteriaceae, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* y la mayoría de las levaduras. Poseen a la vez la cadena respiratoria y las enzimas necesarias para la fermentación. A menudo, se observa sin embargo un crecimiento menos rápido en anaerobiosis, o unas exigencias suplementarias en factores de crecimiento (Casp y Abril, 1999). Pueden utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones pero en su ausencia también pueden utilizar una diversidad de aceptores de electrones, por ejemplo NO_3^- , SO_2^4 . Dichos microorganismos crecen en la superficie y en el interior de los alimentos y algunos poseen actividad proteolítica o lipolítica. Con frecuencia sus productos de desecho son ácidos orgánicos. Debido a su profusa distribución, su amplio rango de actividad enzimática y su capacidad para descomponer los compuestos orgánicos, dichos microorganismos pueden competir en una amplia gama de ambientes y con frecuencia son responsables de la alteración de alimentos de bajo Eh. A esto se debe que sean importantes microorganismos alterativos de los alimentos aunque algunos, como los *Lactobacillus* puedan causar cambios beneficiosos. Algunos anaerobios facultativos como las *Enterobacteriaceae*, son microorganismos de relevancia en relación con la salud pública (ICMSF, 1985a).

- c) **Anaerobios estrictos**.- Son aquellos microorganismos que crecen mejor en ausencia de oxígeno libre, presentan obligatoriamente un metabolismo fermentativo. En esta categoría se encuentran principalmente los *Clostridium* y *Bacteroides* (Casp y Abril, 1999). Por otro lado, en esta categoría se incluye una subdivisión que son los **microaerofilicos**, como son los *Lactobacillus*, los cuales soportan presiones parciales de O_2 . Todos los anaerobios son catalasa-negativos, pero los microaerofilicos poseen sistemas parcialmente compensatorios (Leveau et al., 2002). Los valores Eh en que generalmente crecen los anaerobios oscilan desde +30 a -250mV. Los anaerobios estrictos suelen crecer como contaminantes de la parte interna de los alimentos no procesados en la que está limitado el acceso libre del oxígeno y juntamente con los anaerobios facultativos constituyen los principales microorganismos de alteración. Muchos anaerobios no pueden crecer por debajo de los 10°C por lo que se utiliza el enfriamiento rápido para inhibir su crecimiento en la carne *post-rigor* (ICMSF, 1985a; Monteville y Matthews, 2001).

1.3.4. TEMPERATURA.

1.3.4.1. DEFINICIÓN E IMPORTANCIA DE LA TEMPERATURA.

La temperatura, suele considerarse como el factor microambiental externo más importante en relación con el desarrollo de los microorganismos presentes en los alimentos, de gran interés sobre todo en el almacenado de los productos frescos y congelados. No obstante, la influencia de este parámetro resulta más acusada en alimentos húmedos, cuya A_w es superior a 0.85 (Bello, 2000; Monteville y Matthews, 2001).

La temperatura influye en el crecimiento de los microorganismos, determina el estado físico del agua en un determinado medio y, por tanto, su mayor o menor disponibilidad para el crecimiento de los microorganismos. La temperatura actúa además, sobre la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas (Casp y Abril, 1999).

La medición que se realiza durante el muestreo no refleja necesariamente el margen de temperatura que se supone que tolera el microorganismo. Ni tampoco indica que el valor obtenido prevalezca durante el periodo completo de crecimiento y de actividad de los microorganismos que son objeto de estudio (Atlas y Bartha, 2000).

En términos muy generales, cuanto mayor sea la temperatura, mayor será la velocidad de crecimiento de los microorganismos (Lawrie, 1998). Por lo tanto, de los factores microambientales aislados por separado, la temperatura es el más importante que gobierna la multiplicación de los microorganismos alterantes y contaminantes de la carne de cerdo.

En la práctica, la temperatura de un cuerpo es un concepto muy difícil de definir, porque constituye un concepto básico que no se puede expresar en términos de las tres dimensiones fundamentales: espacio, masa y tiempo. Y al igual que estas tres dimensiones, la temperatura se mide en términos de sí misma, con unidades arbitrarias recogidas en la escala graduada de un termómetro (Bello, 2000; Monteville y Matthews, 2001).

1.3.4.2. CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE CERDO A TEMPERATURAS DE REFRIGERACIÓN.

La carne faenada no es un organismo vivo, pero está sometida a una actividad enzimática endógena, una actividad proteolítica que causa la maduración del músculo, haciéndolo más

tierno y produciendo un cambio de sabores. Estos procesos son retrasados por el frío (Noskuwa, 1975).

Igual que la actividad enzimática el crecimiento microbiano es un proceso que depende directamente de la temperatura. Para reducir el crecimiento microbiano es absolutamente indispensable reducir la temperatura de la carne, especialmente en la superficie, inmediatamente después del acondicionado de la canal. Por lo tanto, el enfriamiento se lleva a cabo en el mismo matadero (Bravo, 2001; Cano, 1991).

Por otro lado, los procesos empleados para conservar la carne, pretendiendo prioritariamente prevenir o retrasar la alteración microbiana, también intentan simultáneamente reducir al mínimo la depreciación del producto (Jackson et al., 2001). El grado en que se alcanza este objetivo secundario depende en gran parte del tiempo del almacenamiento previsto (Lawrie, 1998).

Según Bello, (2000), en la práctica de la conservación de alimentos se manejan diversos conceptos aplicados a las temperaturas de almacenamiento de los productos alimenticios:

- Temperaturas frescas.- Comprende la zona térmica entre los 15 y los 10°C, adecuada para el almacenamiento de ciertas frutas y hortalizas.

- Temperaturas de refrigeración.- Abarca la zona térmica que va desde los 6°C hasta los -1°C, apropiada para almacenar una gran cantidad de alimentos, incluyendo la carne fresca.

- Temperaturas de congelación.- Estas temperaturas se encuentran situadas por debajo del punto de congelación del agua de los alimentos. Para almacenar los productos congelados, las cámaras deben estar por lo menos a -18°C y a veces más frías.

- La refrigeración.- Tecnología de conservación a corto plazo, basada en el poder estabilizador del frío frente a las reacciones enzimáticas y al desarrollo microbiano. El alimento debe ser mantenido a temperaturas positivas, pero próximas a 0°C; la duración de su vida útil dependerá tanto de la naturaleza del alimento, como del envase que le proteja.

- La ultracongelación.- Conservación a largo plazo mediante conversión del agua del alimento en hielo con gran rapidez y almacenado a temperaturas de -18°C , o inferiores.

Hay que tener en cuenta que no existe la esterilización de los alimentos por causa del frío, pues nunca se llega a la destrucción total de la población microbiana presente, sino solamente de un pequeño porcentaje de ella. Por tanto, pueden proliferar cuando el alimento se sitúa bajo unas condiciones de temperaturas adecuadas para ello (Bravo, 2002; Noskuwa, 1975).

Las bajas temperaturas conservan los alimentos retardando o evitando el crecimiento de microorganismos alterantes, y en el caso de los alimentos frescos (recientes), inhibiendo la acción de las enzimas autolíticas naturales (Hersom y Hulland, 1995; Jackson et al., 2001).

Para que la conservación por el frío sea correcta, según Casp y Abril, (1999), se deben cumplir las siguientes tres premisas:

1. Partir de un alimento con reducida carga microbiológica contaminante, porque el frío nunca mejora la calidad de la materia prima.
2. Aplicar el frío de modo inmediato a la materia prima obtenida. No se puede dar opción a una posible proliferación de la población microbiana.
3. No interrumpir la cadena del frío. El frío debe tener una aplicación continua desde la obtención del producto hasta su llegada al frigorífico doméstico, pasando por el almacenamiento, transporte en vehículos frigoríficos y comercialización.

En la Tabla 16, se fijan los valores que se consideran más adecuados, según Wirth et al., (1981), para enfriamiento y almacenamiento en refrigeración de la carne. En las técnicas para la refrigeración de canales, se hace la diferencia entre enfriamiento rápido y enfriamiento ultrarrápido; y en el almacenamiento de canales o carne troceada bajo refrigeración se definen las características del almacenamiento sin embalar y embalado al vacío.

Tabla No. 16. Características del enfriamiento y almacenamiento de la carne.

1.- Enfriamiento de canales de cerdo			
a) Enfriamiento rápido		b) Enfriamiento ultrarrápido	
Temperatura ambiente	- 1°C a + 1°C	Temperatura ambiente	- 5°C a – 8°C
Humedad relativa del aire	85% a 90%	Humedad relativa del aire	Alrededor del 90%
Circulación del aire	1 a 4 m/s	Circulación del aire	1 a 4 m/s
Tiempo de enfriamiento	Entre 12 y 16 horas	Tiempo de enfriamiento	El enfriamiento a las temperaturas de congelación se interrumpe al cabo de unas 2 horas, pasando a la temperatura ambiente
Temperatura en el centro de la pieza	+ 4°C o inferior	Temperatura ambiente	+/- 0°C
		Humedad relativa	90%
		Circulación de aire	0,1 a 0,3 m/s
		Duración de enfriamiento	Entre 10 y 14 horas
		Temperatura en el centro de la pieza	+ 4°C o inferior
2.- Almacenamiento de la carne de cerdo bajo enfriamiento			
a) Almacenado sin empaquetar		b) Almacenamiento empaquetada al vacío	
Temperatura ambiente	-1°C a + 2°C	Temperatura ambiente	-1°C a + 2°C
Humedad relativa del aire	85 % a 95 %		
Circulación del aire	0,1 a 0,3 m/s	Circulación del aire	0,1 a 0,3 m/s
Intensidad luminosa	Desde oscuridad total a 60 lux	Intensidad luminosa	Oscuridad a 60 lux
Tiempo de almacenamiento	De 2 a 3 días	Tiempo de conservación en almacenamiento	1 a 2 semanas

Fuente: Wirth et al., (1981).

1.3.4.3. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE MICROORGANISMOS ALTERANTES Y CONTAMINANTES DE LA CARNE DE CERDO; Y SU CLASIFICACIÓN EN BASE A SUS NECESIDADES DE TEMPERATURA.

La temperatura puede afectar a los microorganismos de diferentes maneras, a medida que la temperatura sube las reacciones enzimáticas son más rápidas y el crecimiento se hace más rápido. Sin embargo, por encima de una cierta temperatura, las proteínas, ácidos nucleicos, y otros componentes celulares pueden dañarse irreversiblemente. Por encima de este punto, las funciones celulares paran, por lo tanto, para cada microorganismo existe una temperatura mínima por debajo de la cual no existe crecimiento, una temperatura óptima a la cual el crecimiento es el más rápido posible y una temperatura máxima, rebasada la cual no existe crecimiento (Madigan et al., 2000). Del mismo modo, a medida que la temperatura desciende por debajo del óptimo, el crecimiento se hace más lento y finalmente se detiene (ICMSF, 1985a).

La membrana citoplasmática de los microorganismos debe poseer una fluidez óptima para su funcionamiento (Willett et al., 1988). Por lo que una temperatura demasiado baja impide el transporte adecuado de los nutrientes, así como la formación del gradiente protónico.

En relación a sus rangos de temperatura de crecimiento, los microorganismos pueden clasificarse en cuatro grupos fisiológicos fundamentales de bacterias: Termófilas, mesófilas, psicrófilas y psicrótrofas (ICMSF, 1985a). Tal como se muestra en la Tabla No 17.

Tabla No. 17. Temperaturas cardinales para los microorganismos procarióticos.

Grupo	Temperatura en °C		
	Mínima	Óptima	Máxima
Termófilos	40 – 45	55 – 75	60 – 90
Mesófilos	5 – 15	30 – 45	35 – 47
Psicrófilos	-5 – 5	12 – 15	15 – 20
Psicrótrofos	-5 – 5	25 – 30	30 – 35

Fuente: ICMSF (1985a).

Termófilos.- Los microorganismos termófilos son capaces de desarrollarse a temperaturas elevadas, entre 45 y 65°C, con un óptimo de 55°C. Presentan una tasa de crecimiento muy elevada pero con una duración corta (Casp y Abril, 1999). En este grupo se incluyen sobre todo los géneros de *Bacillus*, *Clostridium* y los mohos *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Thamnidium*.

Dentro de este mismo grupo de microorganismos, se encuentran los denominados **Termotrófos**, los cuales son esporógenos y termoestables, dichos microorganismos bajan cerca de los 15°C, aunque al llegar a esta temperatura dejan de crecer. Se encuentran entre ellos algunas bacterias como *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus estearothermophilus*. Estos microorganismos tienen una temperatura óptima de 50°C (Leveau et al., 2002).

Las adaptaciones que presentan los microorganismos termófilos. Para sobrevivir a temperaturas elevadas comprenden, entre otras, una gran proporción de lípidos saturados en las membranas, lo cual impide la fusión a esas temperaturas (Atlas y Bartha, 2000).

Existen bacterias que crecen por encima de los 80 y 100°C, que son denominados **Hipertófilos**, aunque estos tienen prácticamente nula intervención en la contaminación de carne de cerdo fresca refrigerada (Schlegel, 1988).

Mesófilos.- Los microorganismos mesófilos se multiplican a temperaturas comprendidas entre 20°C y 45°C con un óptimo medio en 37°C. Su tasa de crecimiento es elevada y su tipo de generación varía de 20 a 30 minutos aproximadamente entorno a 40°C, y algunas horas a 20°C. Se les encuentra en alimentos conservados a temperatura ambiente o en alimentos refrigerados cuando la cadena de frío ha sido interrumpida (Leveau et al., 2002).

Los principales géneros y especies bacterianos se ven representados entre los mesófilos. La mayor parte de los patógenos son mesófilos, así como muchos gérmenes que alteran la carne de cerdo. Entre ellos se encuentran las *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Bacillus* y los cocos Gram +. Muchas bacterias lácticas están en este grupo (ICMSF, 1985a).

Entre las bacterias esporógenas termorresistentes se encuentran mesófilos patógenos, como *Clostridium perfringens*, *C. botulinum*, o *Bacillus cereus*, de putrefacción, como *C. sporogenes*, y acidificantes como los *C. acetobutylicum* (Leveau et al., 2002).

Psicrófilos.- Los microorganismos psicrófilos tienen una temperatura óptima de crecimiento alrededor o inferior a 15°C. En la tecnología de alimentos, los microorganismos psicrófilos son menos importantes que los psicrótrofos, en virtud de su mayor sensibilidad a las temperaturas elevadas. Su temperatura máxima de crecimiento no excede de los 20°C. Los más conocidos son *Micrococcus cryophilus*, *Arthrobacter glacialis* y *Vibrio psychroerythreus* (Leveau et al., 2002).

Psicrótrofos.- Estos microorganismos son más conocidos, y son capaces de adaptarse y desarrollarse a temperaturas próximas a 0°C; pero más lentamente que los psicrófilos. Su temperatura óptima está entorno de 25 a 30°C, y su máximo en 35°C. Se caracterizan por un metabolismo más lento y un tiempo de generación más largo que los mesófilos con los cuales son poco competitivos cuando la temperatura aumenta. Su velocidad de crecimiento lento les permite invadir los medios alimenticios en una a tres semanas, con un tiempo de generación del orden de 24 horas a 0°C. Siendo más comunes los alimentos que han sido seleccionados a temperaturas bajas (Leveau et al., 2002).

Como los microorganismos Psicrótrofos crecen mejor a temperaturas moderadas, pueden considerarse como un subgrupo de los mesófilos capaz de desarrollarse a temperaturas inferiores a la mínima tolerada por la mayoría de los mesófilos (ICMSF, 1985a).

Entre los Psicrótrofos se incluyen bacterias Gram positivas y Gram negativas; aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas; carentes y provistas de motilidad; esporuladas y no esporuladas (ICMSF, 1985a). En la Tabla No.18, se aprecian 27 géneros de bacterias psicrótrofas que alteran y contaminan los alimentos.

Tabla No.18 Géneros de bacterias psicotrofas más comunes que alteran y contaminan los alimentos.

<i>Acinetobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Serratia</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Proteus</i>	<i>Listeria</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	

Tomado de ICMSF, (1985a).

La mayoría de microorganismos que provocan la alteración de la carne de cerdo fresca refrigerada son psicrótrofos mesófilos, es decir, no solo se multiplican a temperaturas medias; sino también de refrigeración. Entre ellos se cuentan muchas especies de los géneros *Pseudomonas*, *Moraxella* y *Acinetobacter*; que constituyen una importante fracción de la flora de la descomposición de alimentos ricos en proteína, como la carne de cerdo (Sinell, 1981). En el género *Pseudomonas* prevalece en especial la *Pseudomonas fragi*, considerado típico “germen de la carne” (Sinell et al., 1994; Todd, 2001).

La mayor parte de los patógenos son mesófilos y con pocas excepciones, su crecimiento no constituye un problema en la carne refrigerada (ICMSF, 1985a). Las Salmonelas no crecen a temperaturas inferiores a 6°C y en un medio rico la fase de latencia a 10°C de la *Salmonella typhimurium* es de aproximadamente 12 horas y su tiempo de generación de unas 8 horas (Sinell et al., 1994).

Clostridium perfringens puede crecer a temperaturas entre 12 y 50°C, pero su desarrollo es muy lento por debajo de 15°C. Las células vegetativas de *Clostridium perfringens* son sensibles a las bajas temperaturas y el almacenamiento prolongado de la carne a temperaturas de refrigeración es probable que resulte en su destrucción lenta si las contienen. Aunque las esporas no se ven afectadas en el mismo grado por las acciones de las bajas temperaturas (ICMSF, 2000).

Staphylococcus aureus es capaz de soportar las bajas temperaturas y de crecer hasta a unos 7°C. Pero el límite inferior para la producción de toxinas es algo más elevado. El *Staphylococcus aureus* por lo general sólo actúa como un germen superficial, no puede

competir con la flora de acompañamiento, por lo que no constituye tampoco a temperaturas altas una importante amenaza higiénica en la carne fresca (Sinell et al., 1994).

Se han aislado microorganismos de *Yersinia enterocolitica* en carne envasada a vacío y mantenida de 1 a 3°C. Por otro lado, tanto el *Clostridium botulinum* tipo E como las cepas no proteolíticas de los tipos B y F pueden producir toxinas a bajas temperaturas del orden de 3.5 a 5°C. No obstante, la temperatura óptima de crecimiento del *Clostridium botulinum* tipo E es de 35°C (ICMSF, 2000).

Una vez revisado el pH, Aw, redox y la temperatura, queda de manifiesto como éstos factores microambientales influyen, ya sea en forma individual o en combinación, en el crecimiento de microorganismos alterantes, patógenos ó toxigénicos en la carne de cerdo, que pueden llegar a ocasionar mermas en su calidad nutricional y organoléptica, disminuyendo su vida útil de anaquel; así como, microorganismos capaces de producir enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), siendo esto un riesgo para la salud del consumidor.

De tal forma, los consumidores desconocen en gran medida que no solo la presencia de microorganismos, sino el manejo deficiente de la carne de cerdo fresca refrigerada, puede llegar a propiciar las condiciones microambientales favorables para que los microorganismos patógenos y toxigénicos se desarrollen en ella poniendo en riesgo su salud al consumirlo.

1.4. ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA (ETA) MÁS COMUNES, OCASIONADAS POR CONSUMIR CARNE DE CERDO CONTAMINADA POR MICROORGANISMOS MESÓFILOS PATÓGENOS.

La salud es un atributo necesario e imprescindible para el bienestar humano. Por lo que, los problemas que plantean a la salud pública la obtención, transformación, conservación, comercialización y consumo de la carne, son objeto de estudio de suma importancia para

identificar aquellos factores que favorecen la alteración y contaminación de la carne (Castro y col., 1997; SSA, 2000).

La carne de cerdo, por ser un alimento rico en nutrientes se le considera un alimento perecedero de fácil alteración. Por lo que es común que en primer término se instaure la alteración de tipo biológica, representada primordialmente por los microorganismos. (Mortimore y Wallace, 2001) Siendo los microorganismos patógenos los más importantes por causar daños en la salud del consumidor (Todd, 2001).

La carne fresca tiene una microflora muy heterogénea. Las formas cocoides están representadas por *Micrococcus* y *Staphylococcus*; los gérmenes en forma de bastón, Gram negativos, no esporulados, son *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus* y *Salmonella*, los Gram positivos son *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Arthrobacter*, y Gram positivas con esporos como los *Bacillus* y los *Clostridium* (Noskuwa, 1975; Roland, 1997).

Las enfermedades producidas por el consumo de la carne o sus productos reciben también globalmente la denominación de “Intoxicaciones alimentarias”. En realidad, se trata de infecciones genuinas, como el paratífus, la mayoría de las salmonelosis y las Shigelosis. Si el consumidor ingiere los gérmenes patógenos con el alimento, éstos ingresan en su organismo, en el que se multiplican y tras un plazo de incubación provocan una verdadera serie de enfermedades infecciosas, que casi siempre cursan con fiebre y puede transmitirse a otros alimentos o personas (Roland, 1997; Sinell et al.,1994).

Por otra parte, se conoce una extensa serie de intoxicaciones, que son a manera de envenenamientos originados por productos metabólicos microbianos (Loken, 1995). Para su presentación basta con ingerir la toxina que el germen ha generado en el alimento cuando fueron óptimas las condiciones para la multiplicación del microorganismo (Sinell et al., 1994; SSA, 2000).

Por último, según Bello (2000), las enfermedades de transmisión alimentaria aparecen en general cuando se dan de modo sucesivo los siguientes factores:

- a) Presencia de bacterias patógenas en los alimentos elaborados.
- b) Empleo de equipos contaminados y escasa higiene en los manipuladores de alimentos.

- c) Conservación de los alimentos bajo aquellas condiciones capaces de permitir la multiplicación de las bacterias patógenas.
- d) Consumo del alimento sin haber recibido un tratamiento térmico suficiente para que se reduzca la población microbiana o, en su caso, se destruya el tóxico producido.

Los valores de los factores microambientales obtenidos en este estudio, permiten el crecimiento y multiplicación de mesófilos aerobios, los cuales son representados en la tabla No. 19, del mismo modo, se da el nombre común de la enfermedad que ocasionan.

Tabla No. 19. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), más comunes ocasionadas por microorganismos mesófilos, que podrían adquirirse por consumir carne de cerdo, en base a los valores obtenidos de pH, Aw, redox y temperatura, en este estudio.

Microorganismo	Enfermedad	Referencia
<i>Salmonella spp.</i>	Salmonelosis	ICMSF (2000), Mortimore y Wallace (2001).
Cepas de <i>Escherichia coli</i> . Enteropatógenas ECEP, Enteroinvasivas ECEI, Enterotoxigénicas ECET y Enterohemorrágicas ECEH (0157:H7).	Toxiinfección por <i>Escherichia coli</i> . Colibacilosis.	Fehlhaber y Janest (1995), Folgar (2000), ICMSF (2000), Mortimore y Wallace (2001), Ros (1999).
<i>Campylobacter jejuni</i> .	Campylobacteriosis	Folgar (2000), Mortimore y Wallace (2001).
<i>Clostridium perfringens</i> .	Intoxicación por Clostridium.	Folgar (2000), ICMSF (2000), Linder (1995), Mortimore y Wallace (2001), Sinell (1994).
<i>Clostridium botulinum</i> .	Botulismo	Folgar (2000), Guthrie (1988), Linder (1995).
<i>Staphylococcus aureus</i> .	Intoxicación Estafilocócica	Folgar (2000), ICMSF (2000), Mortimore y Wallace (2001), Sinell (1994).
<i>Yersinia enterocolitica</i> .	Yersiniosis	Jacob (1990), Guthrie (1988), Ros (1999).
<i>Listeria monocytogenes</i> .	Listeriosis	Folgar (2000), Mortimore y Wallace (2001).
<i>Shigella dysenteriae</i> .	Shigelosis (disentería bacilar)	Fehlhaber y Janest (1995), Jacob (1990), Ros (1999).
<i>Bacillus cereus</i> .	Intoxicación por <i>Bacillus cereus</i> .	Fehlhaber y Janest (1995), ICMSF (2000), Mortimore y Wallace (2001), Sinell (1994).
<i>Aeromonas hydrophila</i> .	Aeromoniasis	Guthrie (1988), Mortimore y Wallace (2001).

Por todo lo anterior, este estudio pretende encontrar la asociación de los factores del microambiente con respecto al crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios, y si estas cuentas (UFC/g), se encuentran dentro de los valores permitidos por la legislación vigente.

2.- OBJETIVOS

2.1.- OBJETIVOS.

1.- Determinar los valores de pH, Aw, redox y temperatura, que favorecen la presencia y proliferación de microorganismos contaminantes de la carne de cerdo fresca refrigerada, en un Centro de Distribución de Productos Frescos.

2.- Determinar cuál es el factor microambiental que contribuye en mayor grado para el crecimiento de los microorganismos mesófilos aerobios en la carne de cerdo fresca refrigerada.

3.- Dar las recomendaciones para que se lleve a cabo el manejo correcto de la carne de cerdo fresca refrigerada, evitando con ello la variación en el pH, Aw, redox y temperatura, que favorecen la presencia y multiplicación de microorganismos contaminantes.

4.- Mencionar las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), más comunes ocasionadas por consumir carne de cerdo contaminada por bacterias mesófilas; cuyo crecimiento y multiplicación se ve favorecido por presentar en el sustrato valores de pH, Aw, redox y temperatura semejantes a los obtenidos en este estudio.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.- MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1.- TIPO DE ESTUDIO:

El diseño de investigación que se utilizó en el presente trabajo, es un diseño no experimental transeccional, de tipo descriptivo por lo que en la investigación no se manipularon deliberadamente las variables, para poder observar como se da el fenómeno en un contexto natural, para después analizarlo. Por otro lado, es transeccional de tipo descriptivo, por que indaga la incidencia y los valores en que se manifiestan las variables en un momento determinado (2003; Castilla, 2001; De Canales y col., 1986 y Hernández y col., 2003).

3.2.- UBICACIÓN DEL ESTUDIO:

A) La toma de muestras se efectuó en un Centro de Distribución de Productos Frescos, ubicado en el Municipio de Cuautitlan Izcalli, Estado de México.

B) Los procesamientos para la determinación de pH, temperatura, potencial óxido-reducción, actividad de agua y los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Medicina Preventiva de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

3.3.- DURACIÓN DEL ESTUDIO:

Fue de aproximadamente año y medio, (Marzo del 2004 a Septiembre 2005).

3.4.-SUJETOS DE ESTUDIO:

Lotes de carne de cerdo fresca refrigerada, provenientes de rastros Tipo Inspección Federal (TIF), del Estado de México; para su distribución a tiendas de autoservicio.

3.5.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Cortes de pierna con y sin hueso, de carne de cerdo fresca refrigerada, por ser piezas de elevada demanda por el consumidor de acuerdo a la Asociación Nacional de Tiendas de Autoservicio y Departamentales (ANTAD), y por considerarse como factor de riesgo a la salud (Pérez, 1991).

3.6- VARIABLES ESTUDIADAS:

A) Variables Independientes.- Están representadas por los *valores de pH, Aw, potencial redox y temperatura*, obtenidos de las muestras de la carne de cerdo fresca refrigerada.

B) Variables Dependientes.- *Cuenta total en placa de microorganismos mesófilos aerobios*, obtenida de las muestras de carne de cerdo fresca refrigerada.

3.7.- CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Se seleccionaron al azar 5 lotes diferentes, de cada lote se seleccionaron 5 piezas diferentes de pierna de cerdo para proceder a tomar las muestras, como lo recomienda la Comisión Internacional Para Las Especificaciones Microbiológicas De Los Alimentos (ICMSF, 1985b), tomando en cuenta el estado sanitario del producto.

3.8.- TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS:

Se realizó como lo estipula la NOM-109-SSA1-1994 (Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico).

3.9.- PRUEBAS DE LABORATORIO:

Las pruebas que se realizaron a las muestras de carne de cerdo fresca refrigerada, fueron:

3.9.1. DETERMINACION DE pH: Usando un potenciómetro portátil (Guerrero y

Arteaga, 1990; SSA, 1978 y Wirth et al., 1981). Marca Conductronic pH, hecho en México.

3.9.2. DETERMINACIÓN DE Aw: Usando un equipo portátil "Pawkit", DECAGON DEVICES, INC: USA (Guerrero y Arteaga, 1990; Wirth et al., 1981).

3.9.3. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL OXIDO-REDUCCIÓN: Usando un potenciómetro portátil (ICMSF, 1985a; Wirth et al., 1981). Marca Orion Aplus, (Portable pH and ISE meter), M. Termo, Electrón Corporation USA.

3.9.4. DETERMINACIÓN DE TEMPERATURA: Empleando un termómetro manual con punta de acero inoxidable para uso en línea de trabajo (Wirth et al., 1981). De marca COLE PARMER, USA.

3.9.5. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS: Las preparaciones y los conteos en placa se realizaron como lo estipula la NOM-110-SSA1-1994 (Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico) y la NOM-092-SSA1-1994 (Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa).

3.10.- ANÁLISIS DE RESULTADOS:

Se hicieron estadísticas descriptivas (promedio y desviación estandar) y se realizó la correlación de los resultados obtenidos entre factores del microambiente (pH, Aw, redox y temperatura) y las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0.

4.- RESULTADOS.

4.1. RESULTADOS PRELIMINARES:

Los valores obtenidos de nuestras variables tanto independientes, como dependientes, se muestran en la Tabla No. 20, posteriormente se dan medidas de tendencia central, varianza, desviación estándar, los cuales son llevados a una curva de distribución normal, tal como lo refiere Daniel (2002).

Tabla No. 20. Valores de pH, Aw, redox, temperatura y UFC/g. Obtenidos de 25 muestras de pierna carne de cerdo seleccionadas aleatoriamente.

No de muestra	Variables independientes				Variable dependiente
	PH	Aw	Redox (mV)	Temperatura (°C)	UFC/g
1	6.5	0.95	+25	2.9	24000
2	6.7	0.97	+19	3.2	23000
3	6.1	0.96	+36	3.4	2200
4	6.1	0.96	+30	2.3	13000
5	6.2	0.97	+29	2.4	6900
6	6.1	0.93	+51	0.5	3300
7	5.7	0.93	+50	2.0	20000
8	6.0	0.98	+22	1.8	97000
9	6.1	0.98	+23	1.0	2500
10	6.8	0.99	-64	2.3	2700
11	6.2	0.95	-26	2.5	3400
12	5.7	0.92	+2	2.0	5300
13	5.9	0.94	-11	1.8	1700
14	5.3	0.96	+4	0.8	4800
15	5.5	0.94	-12	1.0	560
16	5.7	0.88	+30	6.1	7800
17	6.0	0.95	+29	4.8	11000
18	6.0	0.90	-5	0.8	9100
19	5.8	0.95	+22	6.2	3200
20	5.6	0.98	+14	4.0	5200
21	6.0	0.94	+14	0.6	400
22	6.2	0.95	-12	0.8	1900
23	6.0	0.95	+15	1.0	1200
24	5.8	0.94	+27	0.5	260
25	6.0	0.94	+23	1.0	500
Promedio	6.0	0.947	+13.04	2.24	6413

De los valores registrados en el Cuadro No. 19, se observa con respecto a los valores de pH obtenidos, que estos oscilaron entre 5.3 (valor más bajo obtenido), hasta 6.8 (valor más alto obtenido); con una Media, Moda y Mediana de 6.0. Una varianza de 0.1166 y una desviación estándar de 0.3. Dichos valores al llevarlos a una curva de distribución normal, indican que

aproximadamente el 68% de las muestras tienen un pH entre 5.7 a 6.3, el 95% de las muestras tienen un pH entre 5.4 a 6.9 y que, el 99% de las muestras presentan un pH entre 5.1 a 7.2.

El comportamiento de los valores de A_w obtenidos fue el siguiente: el valor más bajo obtenido fue de 0.88, y el valor más elevado fue de 0.99. Teniendo una media de 0.947, con una Moda y Mediana de 0.95. La varianza fue de 0.000579 y una desviación estándar de 0.02406242. Por lo que al llevar los resultados a una curva de distribución normal nos sugiere que el 68% de las muestras presentan un A_w entre 0.923 a 0.971, el 95% de las muestras tendrán un A_w entre 0.898 a 0.995 y el 99% presentan un A_w entre 0.873 a 0.999.

Los valores de potencial óxido reducción obtenidos fueron de la siguiente manera: el valor más bajo obtenido fue de -64 mV y el más elevado fue de $+51$ mV. La Media fue de $+12.4$ mV, la Mediana de $+20.5$ mV y una moda de $+16.8$ mV. El valor de la Varianza fue de 619.189121 (mV)² y el de la desviación estándar fue de $+24.883511$ mV. Lo cual, al llevar estos datos a una curva de distribución normal, nos indica que aproximadamente el 68% de las muestras tienen un valor redox entre -12.4 mV y $+37.3$ mV, el 95% de las muestras tienen un valor redox entre -37.3 mV y $+62.2$ mV y que el 99% de las muestras tienen un valor redox entre -62.1 mV y $+87.1$ mV.

Los valores obtenidos con respecto a la temperatura fueron los siguientes: El valor de temperatura más bajo fue de 0.5°C y el valor más elevado alcanzó los 6.1°C . Teniendo un valor promedio de 2.24°C , la Moda de 1°C y la Mediana de 2°C . El valor de la Varianza fue de 2.68585 ($^{\circ}\text{C}$)² y la Desviación estándar de 1.63885631 $^{\circ}\text{C}$. Por lo que al llevar los valores obtenidos a una curva de distribución normal, se obtiene que el 68% de las muestras presentan una temperatura de 0.6 a 3.8°C , el 95% de las muestras presentan una temperatura de -1 a 5.5°C y el 99% de las muestra tienen una temperatura entre 2.6 y 7.1°C .

Por último, de los valores de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) obtenidos, tenemos que el valor más elevado fue el de la muestra número 8, con $97,000$ UFC/g, sin embargo este resultado extremo se desplazó con gran diferencia del resto de las muestras, ya que estas se presentaron dentro de un rango de 24.000 a 260 UFC/g. Por lo que se decidió no tomar en cuenta la muestra número 8, lo cual es aceptado por investigadores para fines estadísticos. Por lo tanto, el valor de la Media fue de $6,400$ UFC/g. La Varianza resultó de $47,378,789$ (UFC/g)² y una Desviación estándar de 6883.22519 UFC/g. Al llevar estos resultados a una curva de distribución

normal se tiene que aproximadamente el 68% de las muestras tienen cuentas UFC/g entre -470 y 13,300, el 95% de las muestras presentan entre -7,400 y 20,100 UFC/g, y el 99% de las muestras presentan entre -14,400 y 27,000 UFC/g.

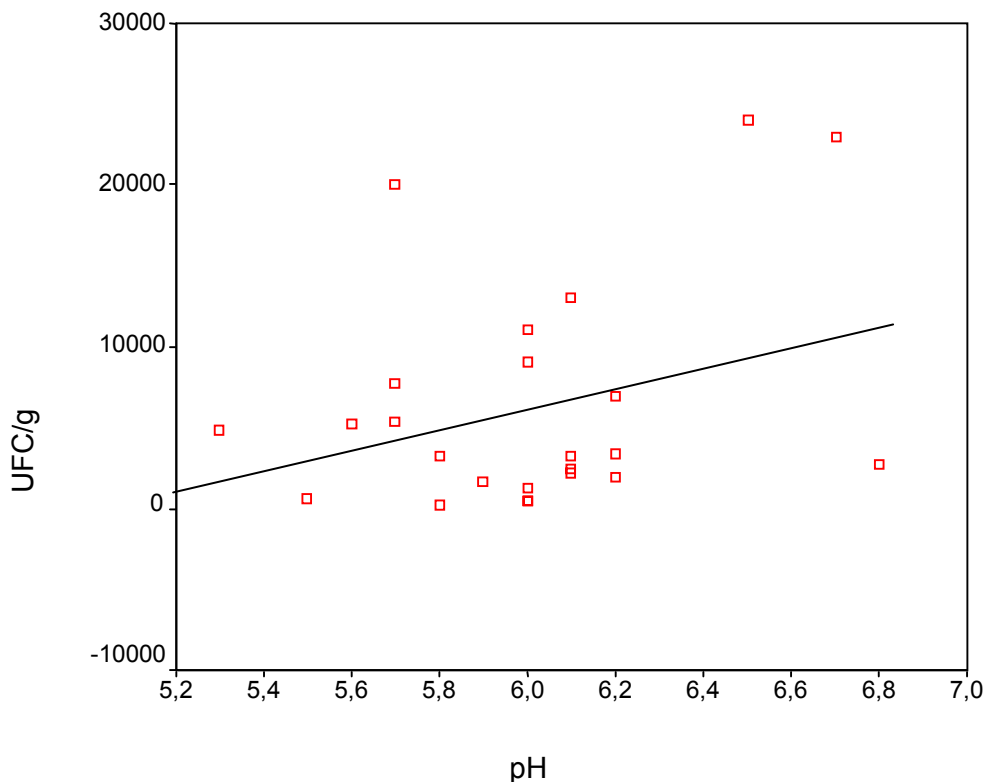
Con los datos obtenidos se procedió a realizar la prueba de Correlación, mediante el paquete estadístico SPSS, versión 10.0; poniendo como variables independientes cada uno de los factores del microambiente y como variables dependientes las cuentas de mesófilos aerobios reportados. A este respecto, los valores obtenidos se mencionan a continuación en los siguientes puntos.

4.2. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS FACTORES MICROAMBIENTALES, SOBRE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

4.2.1. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE pH SOBRE LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Con la ayuda del paquete estadístico, se obtuvo que el coeficiente de correlación (r) fue de **0.324**, el coeficiente de determinación (r^2) fue de **0.105** y la significancia fue de **0.122** (no significativo). Por lo tanto, la correlación de los valores de pH con respecto a las cuentas de UFC/g, es una correlación positiva débil, por presentarse la correlación >0.10 y <0.50 (Hernández y col., 2003). Por otro lado, el 10% de la variación de las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, responden ó son explicados por el valor de pH, siendo por lo tanto el aumento de las UFC/g directamente proporcional al aumento del valor de pH. Sin embargo, no tiene significancia la correlación por ser el nivel de significación bajo ($P>0.05$).

En la gráfica No. 1, se muestra la dispersión y regresión lineal, al asociar los valores obtenidos de pH con respecto a las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios. Utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0.



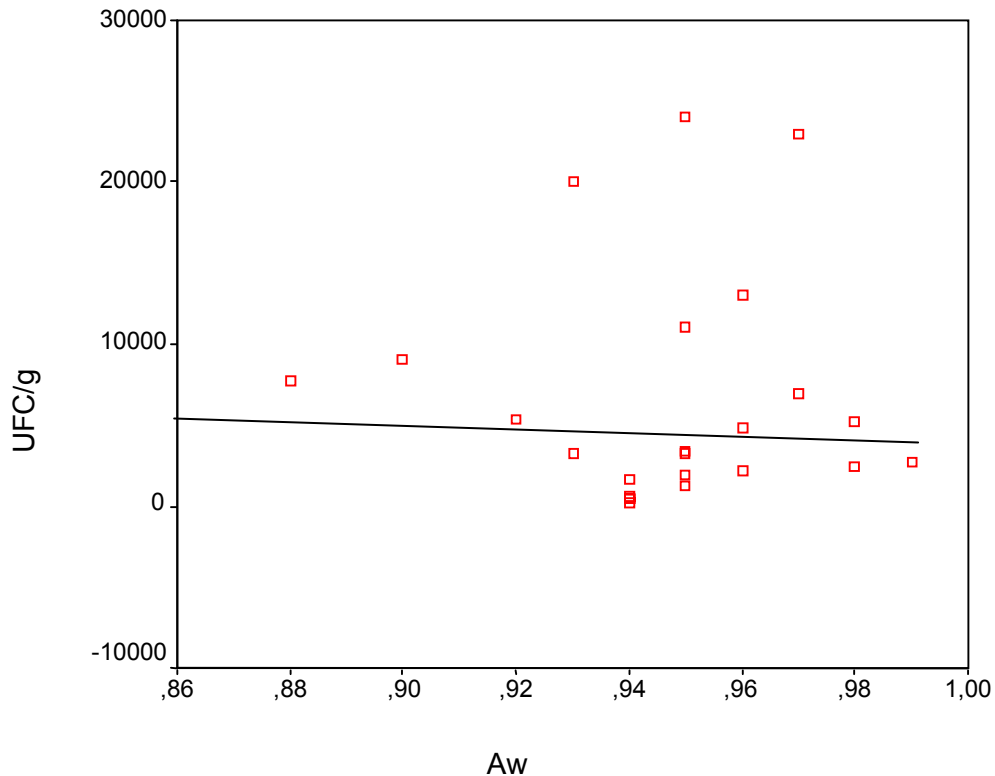
Grafica No. 1. Diagrama de dispersión y regresión lineal de los valores de pH y UFC/g obtenidos. *Nota: UFC/g, Unidades formadoras de colonias por gramo y pH, Concentración de hidrogeniones.*

4.2.2. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE A_w CON RESPECTO A LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Con la ayuda del paquete estadístico, se obtuvieron los siguientes resultados: Un Coeficiente de Correlación (r) de **0.1900**, un Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.0361** y la Significancia fue de **0.931** (no significativo).

Lo cual, nos dice que la correlación de los valores de A_w sobre las cuentas de UFC/g, es una correlación negativa de débil a nula, por presentarse la corrreglación muy cercana a 0.00. También tenemos que el 4% de la variación de las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, responden o son explicadas por valor del A_w ; siendo por lo tanto, el aumento de las UFC/g, indirectamente proporcional al aumento del A_w . Pero el nivel de significancia es demasiado bajo, por lo que la correlación no tiene significancia ($P > 0.05$).

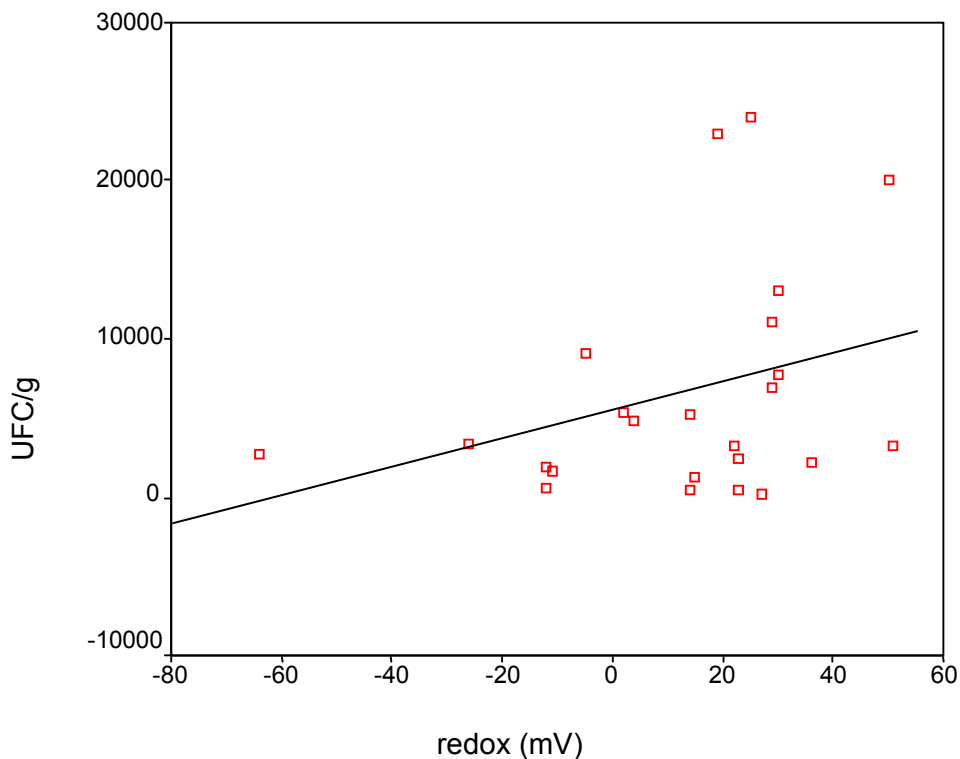
En la gráfica No 2, se muestra la dispersión y la regresión lineal al asociar los valores obtenidos de A_w sobre las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, utilizando un paquete estadístico SPSS, versión 10.0.



Grafica No. 2. Diagrama de dispersión y regresión lineal de los valores de A_w y UFC/g obtenidos. nota: UFC/g, Unidades formadoras de colonias por gramo y A_w , Agua libre.

4.2.3. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DEL REDOX SOBRE LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

En la gráfica No. 3, se muestra la dispersión y regresión lineal de los valores del redox con respecto a las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios. Utilizando un paquete estadístico SPSS, versión 10.0.



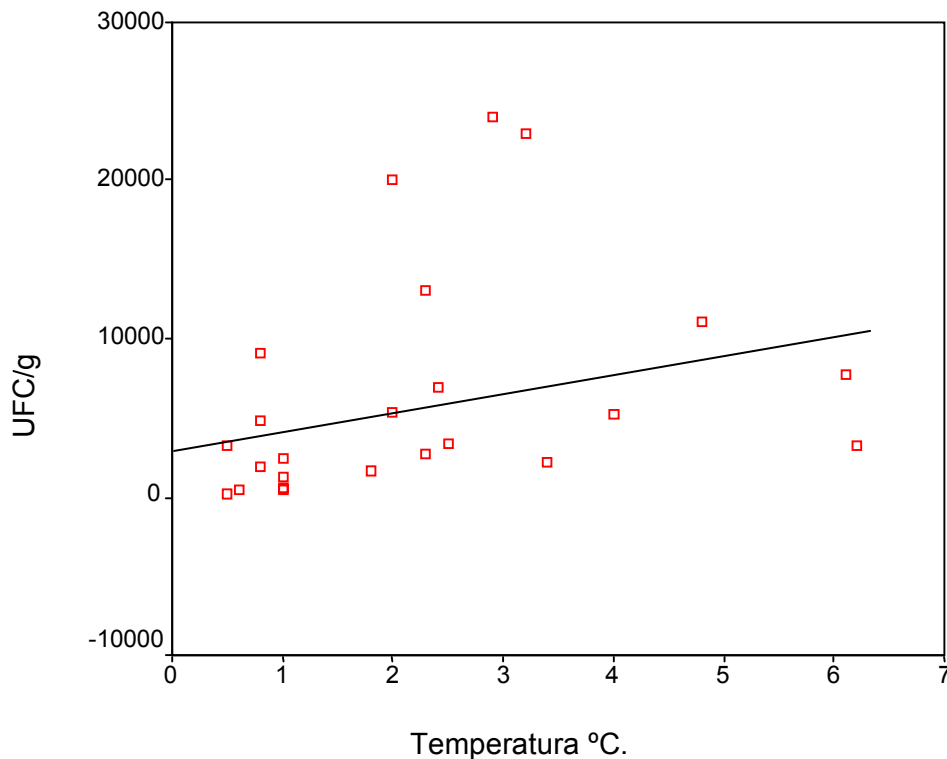
Grafica No. 3. Diagrama de dispersión y regresión lineal de los valores redox y UFC/g obtenidos. Nota: UFC/g, Unidades formadoras de colonias por gramo y redox (E_n , Potencial redox medido en mV).

Con el apoyo del paquete estadístico, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.325**, el Coeficiente de Determinación (r^2) fue de **0.106** y una significancia de **0.121** (no significativo).

Por lo tanto, se puede decir, que la correlación del redox con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva de débil a media; por presentarse la correlación >0.10 y muy cercana a 0.50 . Por otro lado, tenemos que el 11% de la variación de las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, responden ó son explicadas por el redox, lo cual nos dice que el aumento de las UFC/g es directamente proporcional al aumento del redox. Sin embargo, no hay significancia en la correlación, puesto que el Nivel de Significación es bajo ($P > 0.05$).

4.2.4. CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE TEMPERATURA SOBRE LAS CUENTAS DE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

La gráfica No. 4, muestra la dispersión y regresión lineal de los datos obtenidos de la temperatura con respecto a las UFC/g de mesófilos aerobios. Utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0.



Grafica No 4. Diagrama de dispersión y regresión lineal de los valores de temperatura y UFC/g obtenidos. Nota: UFC/g, Unidades formadoras de colonias y Temperatura, medido en grados Celsius.

Al ingresar los resultados obtenidos de temperatura y las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, en el paquete estadístico, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.296**, el Coeficiente de determinación (r^2) fue de **0.088** y una Significancia de **0.159** (no significativo).

Por lo tanto, la correlación con respecto a los resultados de la temperatura con las cuentas UFC/g, es una correlación positiva débil, por presentarse la correlación >0.10 y <0.50 ; por otro

lado, podemos determinar que el 9% de la variación de las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, responden o son explicadas por la temperatura; siendo no significativa la correlación.

4.3. CORRELACIÓN DE DOS O MÁS FACTORES MICROAMBIENTALES, SOBRE LAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

4.3.1. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LA TEMPERATURA Y pH, CON RESPECTO A LAS CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Con la ayuda del paquete estadístico SPSS, versión 10.0, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.436**, un Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.190** y una Significancia de **0.109** (no significativa).

Por lo tanto, la correlación de la asociación de la temperatura y el pH, con respecto al número de cuentas de UFC/g, resultó ser una correlación positiva media, por presentarse la correlación cerca de 0.50. Por otro lado, podemos decir que el 19% de la variación de las cuentas de UFC/g, responden ó se explican por la asociación de la temperatura y el pH. Sin embargo, no tiene significancia la correlación, por ser el Nivel de significación bajo ($P > 0.05$).

4.3.2. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE A_w Y pH, SOBRE EL NÚMERO DE CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar los resultados obtenidos de A_w , pH y las cuentas de UFC/g en el paquete estadístico SPSS, versión 10.0, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.361**, el Coeficiente de Determinación (r^2) fue de **0.131** y la Significancia fue de **0.230** (no significativa).

Entonces, tenemos que la correlación de la asociación del A_w y del pH, con respecto al número de UFC/g, es una correlación positiva de débil a media. Por otro lado, el 13% de la variación de las cuentas UFC/g responde o es explicado por la asociación del pH y del A_w . Sin embargo, la correlación no tiene significancia ($P > 0.05$).

4.3.3. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE pH Y REDOX SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar los resultados de pH y redox, en el paquete estadístico SPSS, versión 10.0, para asociarlos con respecto al número de cuentas UFC/g, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.525**, un Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.277** y una Significancia de **0.033** ($P < 0.05$).

Por lo tanto, **la correlación de la asociación del pH con el redox, con respecto a las cuentas UFC/g, fue una correlación positiva media, con tendencia a ser considerable, por presentarse la correlación por arriba de 0.50. Por otro lado, el 28% de la variación de las cuentas de UFC/g, responden o son explicadas por la asociación del pH y el redox. Además, en esta correlación si hay significancia, por ser el Nivel de Significancia alto ($P < 0.05$).**

4.3.4. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL Aw Y TEMPERATURA, CON RESPECTO AL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar en un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, los resultados obtenidos Aw y temperatura, para observar la relación de esta asociación con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.297**, el Coeficiente de Determinación (r^2) fue de **0.088** y la Significancia de **0.380** (no significativo).

Por lo que la correlación de las variables Aw y temperatura, con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva débil; además, el 9% de la variación de las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, responde o es explicado la asociación del Aw y la temperatura. Pero esta correlación no tiene significancia ($P > 0.05$).

4.3.5. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE REDOX Y TEMPERATURA CON RESPECTO AL NÚMERO DE CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar los datos obtenidos de las variables independientes redox y temperatura en un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, para obtener la correlación con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.407**, el Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.166** y una Significancia de **0.149** (no significativa).

Por lo tanto, la correlación de la asociación de la temperatura y el redox, con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva débil, con tendencias a ser media. El 17% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, son explicadas o corresponden a la temperatura y al redox; pero la correlación no es significativa ($P > 0.05$).

4.3.6. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE Aw Y REDOX, CON RESPECTO AL NÚMERO E CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar los resultados obtenidos de las variables independientes Aw y redox, en un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, para correlacionarlos con las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.330**, el Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.109** y una Significancia de **0.299** (no significativa).

Por lo que, la correlación de la asociación del Aw y del redox sobre las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación débil. El 11% de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es explicado o corresponden a la asociación del redox y del Aw. Por otro lado, la correlación no tiene significancia ($P > 0.05$).

4.3.7. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , TEMPERATURA Y pH, UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar en el paquete estadístico, SPSS, versión 10.0, los resultados obtenidos de A_w , temperatura y pH, para relacionarlo con las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.459**, el Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.211** y la Significancia de **0.184** (no significativo).

Entonces, podemos decir que la correlación de A_w , temperatura y el pH, con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva media. El 21% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, corresponden o son explicados por la asociación de la temperatura, A_w y pH; no siendo significativa la correlación ($P > 0.05$).

4.3.8. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL REDOX, TEMPERATURA Y pH, SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar los resultados obtenidos de redox, temperatura y pH, en un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, para correlacionarlos con las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.572**, el Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.327** y la Significancia fue de **0.044** (significativa).

Por lo tanto, la asociación del redox, temperatura y pH con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva media. El 33% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, corresponde o es explicado por la asociación del redox, temperatura y pH; siendo esta correlación significativa por ser el Nivel de Significativo alto ($P < 0.05$).

4.3.9. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , REDOX Y pH, SOBRE EL NÚMERO DE CUENTAS DE UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar en un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, los resultados obtenidos de las variables independientes A_w , redox y pH, para correlacionarlos con los resultados de la variable dependiente UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.536**, un Coeficiente e Determinación (r^2) de **0.287** y una Significancia de **0.074** (no significativa).

Por lo cual, la correlación de la asociación del A_w , temperatura y pH, con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva media. El 29% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, son explicados o corresponden a la asociación del A_w , redox y pH. Sin embargo, el nivel de significancia de esta correlación está ligeramente bajo, lo cual hace que la correlación no sea significativa ($P > 0.05$). Pero tiene una tendencia clara a ser significativa.

4.3.1 □ CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL A_w , TEMPERATURA Y REDOX SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar a un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, para observar la correlación de los resultados obtenidos de A_w , temperatura y redox, con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo un Coeficiente de Correlación (r) de **0.412**, un Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.169** y la Significancia fue de **0.283** (no significativa).

Por lo tanto, la correlación de la asociación del A_w , temperatura y redox, con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva débil, con tendencia a ser media. Por otro lado, el 17% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, es explicado o corresponden a la asociación del A_w , temperatura y redox. Pero esta correlación carece de significancia ($P > 0.05$).

4.3.11. CORRELACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DEL pH, TEMPERATURA, REDOX Y Aw, SOBRE LAS CUENTAS UFC/g DE MESÓFILOS AEROBIOS.

Al ingresar a un paquete estadístico SPSS, versión 10.0, los resultados obtenidos de las cuatro variables independientes estudiadas (pH, Aw, temperatura y redox), para obtener su correlación con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, se obtuvo que el Coeficiente de Correlación (r) fue de **0.579**, el Coeficiente de Determinación (r^2) de **0.335** y la Significancia fue de **0.086** (no significativo).

Lo anterior indica que, la correlación de las variables independientes (Aw, pH, temperatura y redox), sobre la variable dependiente (UFC/g de mesófilos aerobios, es una correlación positiva media. El 34% de la variación de las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, corresponden o son explicados por la asociación del Aw, pH temperatura y redox. El Nivel de Significancia resultó ligeramente bajo ($P > 0.05$), por lo cual, la correlación no es significativa, pero tiene amplia tendencia a serlo.

En la Tabla No. 21, se muestra un resumen de los resultados obtenidos de las correlaciones entre los factores microambientales (solos y en combinación), con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios; utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 10.0.

Tabla No. 21. Correlación de los factores microambientales, con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, en éste estudio.

Factor (es) microambientales	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r ²)	Significancia	% en la variación de las cuentas UFC/g
pH	0.324	0.105	0.122	10%
Aw	0.1900	0.0361	0.931	4%
redox	0.325	0.106	0.121	11%
temperatura	0.296	0.088	0.159	9%
temperatura-pH	0.436	0.190	0.109	19%
Aw-pH	0.361	0.131	0.230	13%
pH-redox^(a)	0.525	0.277	0.033	28%
Aw-temperatura	0.297	0.088	0.380	9%
redox-temperatura	0.407	0.166	0.149	17%
Aw-redox	0.330	0.109	0.299	11%
Aw-temperatura-pH	0.459	0.211	0.184	21%
redox-temperatura-pH^(a)	0.572	0.327	0.044	33%
Aw-redox-pH^(a)	0.536	0.287	0.074	29%
Aw-temperatura-redox	0.412	0.169	0.283	17%
Aw-pH-temperatura-redox^(a)	0.579	0.335	0.086	34%

Nota: ^(a) Asociaciones que tuvieron mejor correlación.

5.- DISCUSIÓN.

5.1. DISCUSIÓN Y RECOMENDACIONES.

En este estudio se encontró que la carne de cerdo fresca refrigerada, tiene valores de pH entre 5.3 – 6.8, lo cual coincide en cierta medida con los valores obtenidos por Jay (1992) y Sinell (1994) de estudios realizados en el pH de la carne de cerdo, ya que estos autores proponen un pH entre 5.9 a 6.2, para la pierna de cerdo. Por otro lado, la ICMSF (1985a), da un valor promedio de pH para la pierna de cerdo de 5.4, el cual esta un poco desplazado hacia la acidez con respecto del valor promedio de pH obtenido en este estudio, que fue de pH 6.0.

El rango tan amplio, puede ser explicado en parte porque en nuestro país, los procesos de producción, transporte, matanza, procesamiento, almacenamiento y distribución de la carne de cerdo son muy variados, por lo cual, no son uniformes. Comenzando por el stress ante-mortem, ya que se ha demostrado, como lo refiere Lawrie (1998), cuando los animales son sometidos a fatiga, inanición o miedo antes del sacrificio, se agota el glucógeno almacenado, por lo que la producción de ácido láctico *post-mortem*, no será suficiente para que descienda el pH de la carne. El transporte de los animales vivos a los centros de matanza son muy variados; ya que algunos animales recorren poca distancia por que son criados cerca o en las inmediaciones de los centros de matanza, por lo que factores como calor, sed, ruido, entre otros, no son factores que afecten considerablemente el pH terminal de la carne post-mortem. Por el contrario, los animales que han recorrido grandes distancias para llegar al centro de matanza, por lo general, llegan en un estado de stress considerable por exceso de sed, calor, o hacinamiento. Por lo tanto, como los cerdos que abastecen los centros de matanza no proceden todos de un mismo lugar, entonces, da como consecuencia que pH final de la carne, pueda variar de un lote a otro, como lo indican López y Casp (2004).

El valor promedio de pH obtenido de 6.0, también pudiera ser el resultado de los métodos de sacrificio utilizados en el rastro, por lo que éstos quizá no están siendo los más adecuados, por ejemplo una deficiente insensibilización, lo cual puede ocasionar que el

animal sufra antes de que sea sacrificado, provocando la deficiente caída de pH en la carne antes mencionada.

Los valores de pH obtenidos en el estudio, no tuvieron una influencia significativa sobre el crecimiento de UFC/g, lo cual corresponde a los estudios realizados por Forrest (1979), en los cuales afirma que los efectos del pH, así como, el A_w , redox y temperatura, sobre la actividad microbiana, no son del todo independientes unos de otros.

Los valores de A_w obtenidos en este trabajo no fueron los esperados, con base a los datos sugeridos por Lawrie (1998), entre otros, el cual da a la carne de cerdo un valor de A_w entre 0.98 a 0.99. Los resultados obtenidos de A_w en este trabajo fueron muy contrastantes, ya que fueron de 0.88 a 0.99, con un promedio de 0.94. Siendo la correlación negativa, esto es que mientras el valor de A_w se encontraba bajo, el número de UFC/g de mesófilos aerobios fue mayor que cuando el A_w alcanzó niveles elevados. Lo cual podría ser explicado en parte, por la utilización de solutos compatibles por parte de los microorganismos, ya que autores como Madigan et al., (2000) mencionan este mecanismo alternativo de los microorganismos para ajustar el A_w del citoplasma, cuando éstos se encuentran a niveles bajos de A_w , mediante la síntesis u obtención del medio de sustancias denominadas solutos compatibles como la betaína, prolina y glutamato.

Lo anterior, hace suponer que la actividad de agua es un factor microambiental más influyente en el caso de procesamiento, almacenamiento e industrialización de la carne. Sin embargo, no hay que perder de vista que al momento de asociar el A_w con otros factores microambientales, las correlaciones tendieron a ser positivas con respecto a las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios en la carne de cerdo fresca refrigerada.

Los valores del potencial redox obtenidos en el presente estudio (de -61 a +51 mV), no variaron mucho con respecto a lo referido por autores como Jay (1992), la ICMSF (1985a) y por Frazier y Westhoff (1993); quienes proponen valores para carne de cerdo de -15 a +1 mV. El aumento en los valores del redox pueden ser explicados por la contaminación de aire que sufre la muestra al momento del corte para su obtención, y al instante en que se toma la medida.

Aunque los microorganismos pueden ser divididos en base a sus necesidades de oxígeno, la carne de cerdo fresca puede ser contaminada y alterada por microorganismos de los tres

grupos (anaerobios obligados, anaerobios facultativos y aerobios obligados), ya que los valores obtenidos de redox en éste estudio pueden favorecer el crecimiento y multiplicación de dichos microorganismos, tal como lo indica la ICMSF (2000). Esto es de suma importancia, puesto que ha sido demostrado, que en un mismo sustrato cuando contiene microorganismos tanto anaerobios facultativos, como Enterobacterias y microorganismos aerobios, ambos compiten por los nutrientes del sustrato, siendo que en general, los microorganismos anaerobios facultativos suelen inhibir el crecimiento de microorganismos aerobios obligados, de tal forma que microorganismos anaerobios facultativos al desarrollarse con mayor facilidad puede llegar a ser un factor de riesgo para la salud del consumidor, puesto que en este grupo de bacterias se encuentran las responsables de ocasionar enfermedades de tipo gastroentérico.

El rango de la temperatura obtenida de +0.5 a +6.2°C, con un promedio de +2.2°C, se encuentra dentro del rango propuesto por autores como Jello (2000), Nokuwa (1975) y por la SAGARPA – SE (PC-002-2001), que es de 0 a 6°C. Sin embargo, algunos autores como Wirth et al., (1981), son más estrictos con respecto al rango de temperatura de la carne fresca refrigerada, que es de -1°C a +2°C. Por lo que sería recomendado, en base a lo estudiado anteriormente, retomar esta última propuesta para una mejor conservación de la de la carne fresca.

Estudios realizados por Forrest (1979), en la carne de cerdo, demostró que al combinar la temperatura de la carne por debajo de 4.5°C (como la obtenida en este estudio), con cargas iniciales bacterianas bajas (menos de 10^5 UFC/g); la carne de cerdo se podría conservar durante más tiempo (hasta por 15 días), sin que presentara alteraciones organolépticas, prolongando así su vida útil.

Al ingresar los resultados en el paquete estadístico SPSS, versión 10.0, se pudo observar que cuando se toman en cuenta más de un factor microambiental, hay mayor correlación con respecto al número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios. Las combinaciones de “pH + redox” y la combinación “pH + redox + temperatura”, fueron las asociaciones que en éste estudio mostraron mejor correlación y con una buena significancia. Lo cual es sustentado por Lawrie (1998), quién hace hincapié en la coordinación de estos tres factores microambientales para evitar la contaminación microbiana post-mortem de la carne de

cerdo. Ya que el cerdo al morir conserva una temperatura y un pH peligrosos para la proliferación bacteriana por anaerobios, pero el potencial óxido reducción no desciende inmediatamente, sino hasta varias horas después, dando tiempo a que el pH descienda al igual que la temperatura; por lo que, cuando el redox desciende a niveles peligrosos, el pH ácido final, resultado de la formación de ácido láctico a partir de las reservas de glucógeno; y la temperatura baja, resultado del cese del metabolismo, y por la influencia de la refrigeración, evitan que se desarrollen tanto microorganismos anaerobios como aerobios.

Las asociaciones “**pH + redox + Aw**” y “**pH + Temperatura + redox + Aw**”, aunque no obtuvieron elevada significancia, con respecto a la influencia sobre el número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios; si lograron obtener una correlación positiva con respecto al número de dichas cuentas. Por lo tanto, apoyándonos en los estudios de Frazier y Westhoff (1993), con respecto a estas asociaciones, tenemos que es de suma importancia al momento de tomar decisiones para la conservación de la carne de cerdo, considerar estas asociaciones para prolongar la vida útil del producto.

Las demás asociaciones realizadas de los factores microambientales fueron: “**pH + temperatura**”, “**pH + Aw**”, “**Aw + temperatura**”, “**redox + temperatura**”, “**redox + Aw**”, “**pH + temperatura + Aw**” y “**temperatura + Aw + redox**”; los cuales, obtuvieron con respecto a la influencia sobre el número de cuentas UFC/g de mesófilos aerobios, una correlación débil sin significancia. Sin embargo, por añadidura, el uso de éstas asociaciones de factores microambientales, pueden ser la diferencia para que un producto cárnico sea o no apto para el consumo, puesto que todas éstas correlaciones aunque son débiles, son positivas y directamente proporcionales al número de UFC/g de mesófilos aerobios. Tal como lo refieren Jay (1992) y Forrest (1975), en estudios realizados en estas asociaciones sobre las cuentas UFC/g de mesófilos aerobios.

A pesar de que la carne de cerdo fresca refrigerada muestreada del Centro de Distribución posee valores en los factores microambientales favorables para el crecimiento y multiplicación de microorganismos mesófilos patógenos, el promedio en las cuentas de UFC/g de mesófilos aerobios, fue de $6,4 \times 10^3$ UFC/g, lo cual significa que la carne de cerdo fresca refrigerada, se está procesando con cargas microbianas máximas que van de 10^3 a 10^4 ($1,000$ a $10,000$ UFC/g) de mesófilos; siendo éstas cifras permitidas por la ICMSF

(1985a), y por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y la Secretaría de Economía (SE), en su Pliego de Condiciones para el uso de la Marca Oficial México Calidad Selecta en Carne de Cerdo (PC-002-2001), donde permiten como un máximo de 10^6 ($1,000,000$) de UFC/g de mesófilos, para que ésta pueda ser apta para el consumo.

Las condiciones en que se debe manejar la carne de cerdo, para que ésta sea apta para el consumo y ampliar su vida útil en anaquel, minimizando las reacciones de degradación y limitando el crecimiento microbiano, en este caso, de mesófilos aerobios; es necesario tener una supervisión estricta y rigurosa, desde la obtención de la carne, en la planta de sacrificio, pasando por la insensibilización, degüelle, escaldado, evisceración, maduración, despiezado y empaquetado, hasta su distribución y consumo.

Es de vital importancia mantener una baja tasa inicial de gérmenes en la superficie de las piezas, tal como lo recomiendan Lawrie (1998), lo cual podemos lograr si las operaciones de sacrificio son llevados a cabo bajo las mejores condiciones higiénicas. Inmediatamente después, se debe manipular el microambiente del producto, para lograr una baja contaminación inicial de la carne. Por lo que la temperatura de la canal es reducida inmediatamente después del faenado hasta una temperatura de 14°C hasta la instauración del rigor-mortis, después se procede al enfriamiento rápido de la canal, hasta llevarla a los 0°C . Para que de esta forma, la carne fresca refrigerada pueda tener una duración práctica de conservación hasta de 2 semanas para su consumo, tal como lo indica López y Casp (2004).

Para lograr un pH de alrededor de 5.8 en la carne de cerdo fresca refrigerada, es importante, como lo menciona Sinell (1994), realizar un manejo con el mínimo de estrés para que el proceso de la glicólisis se lleve sin contratiempos para que disminuya satisfactoriamente el pH de la carne. Sin embargo, es importante el manejo de la temperatura para que se alcance el pH deseado, ya que un descenso brusco en la temperatura, o una temperatura por encima de la de refrigeración, pueden ocasionar que el valor final del pH resulte fuera del rango deseado; dando como resultado una mala calidad en el producto.

El A_w , es un factor microambiental que generalmente no se manipula directamente en la conservación de la carne de cerdo fresca refrigerada, ya que al hacerlo se modificarían las características organolépticas generales de la carne fresca, por lo que este factor microambiental se utiliza más en otros procesados de conservación como son el salazonado, el ahumado, es decir, en aquellos que se adicionen sustancias que se ligan al agua pura del alimento para retrasar el crecimiento de microorganismos indeseables.

Por todo lo anterior, se refirma que el pH, el A_w , la temperatura y el potencial redox, forman una parte importante en el desarrollo y multiplicación de microorganismos en la carne de cerdo fresca refrigerada; del mismo modo, es importante recalcar la influencia de otros factores, como son la contaminación cruzada por parte del personal, condiciones ambientales del Centro de Distribución, el estado de salud y ayuno del cerdo antes del sacrificio, entre otros; tal como lo indica Jay (1992). Por lo tanto, lo anterior nos indica por qué los coeficientes de correlación y de determinación obtenidos en los resultados no fueron altos, por lo que el 100% lo determinarán tanto factores externos como internos en conjunto.

6.- CONCLUSIONES.

Con base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se llegó a las siguientes conclusiones:

1.- La sola presencia de microorganismos mesófilos aerobios en la carne de cerdo fresca refrigerada, no es suficiente para que éstos se desarrollen y multipliquen; por lo que es necesaria la influencia de factores microambientales como el pH, Aw, Eh y temperatura; los cuales a ciertos niveles pueden favorecer el crecimiento y multiplicación de dichos microorganismos.

2.- Los factores microambientales por sí solos influyen en parte en el crecimiento microbiano en la carne de cerdo fresca refrigerada, pero cuando éstos se asocian su correlación es positiva con respecto al número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) de mesófilos aerobios. Por lo tanto, en la conservación de la carne de cerdo fresca, siempre es importante manejar o manipular dos o más factores microambientales, para no permitir, ni crear el ambiente favorable para la reproducción de microorganismos alterantes y/o contaminantes (patógenos o toxigénicos).

3.- El **pH** y el **potencial redox**, fueron los factores microambientales, que tuvieron por sí solos mejor influencia sobre el crecimiento y multiplicación de microorganismos mesófilos aerobios.

4.- Las combinaciones de factores microambientales con mayor correlación positiva, con respecto al número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) de mesófilos aerobios fueron:

- **pH + redox**
- **pH + redox + temperatura**
- **pH + redox + Aw**
- **pH + redox + temperatura + Aw**

5.- La carne de cerdo fresca refrigerada, que se procesa en el Centro de Distribución donde fue realizado el muestreo para este estudio, es apta para el consumo humano. Por presentar cargas microbianas de 10^3 a 10^4 UFC/g de mesófilos. Siendo éste conteo, aceptado por la International Commission for Microbiological Specifications for Food (ICMSF, 1985a), y por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) junto con la Secretaría de Economía (SE), en su Pliego de Condiciones para el uso de la Marca Oficial México Calidad Selecta en Carne de Cerdo (PC-002-2001).

6.- Los microorganismos mesófilos aerobios que pudieran estar presentes en la carne de cerdo fresca y los posibles riesgos al consumidor, estarían relacionadas con las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA); dentro de ellas y de acuerdo a los resultados obtenidos podrían ser: Salmonelosis, Yersiniosis, Shigelosis, Campylobacteriosis, Colibacilosis, Listeriosis, e Intoxicaciones por *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*. Por lo cual, es imprescindible el manejo correcto de los métodos de conservación de la carne de cerdo fresca refrigerada, modificando los factores microambientales de tal manera que eviten el crecimiento y multiplicación de los microorganismos patógenos antes mencionados, para salvaguardar la salud del consumidor.

7.- BIBLIOGRAFÍA.

7.1. BIBLIOGRAFÍA CITADA.

- 1.- Adams MR, Moss MO. Food Microbiology. 2ª Edition. Cornwall, U.K: MP6 books Ltd budmin, 2000.
- 2.- Atlas RM, Bartha R. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 4ª Edición. Madrid, España: Adisson Wesley, 1992.
- 3.- Bartels H. Inspección Veterinaria de la Carne. 1ª Reimpresión. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. 1980.
- 4.- Bello GJ. Ciencia bromatológica. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos, S.A. 2000
- 5.- Bibeck R. Fundamental food microbiology. 2ª Edición. Washington D.C. USA: CRC Press, 2001.
- 6.- Bravo MF. El Manejo Higiénico de los Alimentos. Guía para la obtención del distintivo H. 1ª Edición. México: Editorial Limusa-Noriega, 2002.
- 7.- Brock TD. Biología de los microorganismos. 2ª Edición. Barcelona, España: Ediciones Omega, S.A. 1978.
- 8.- Cano MG. Manual para la operación y funcionamiento de almacenes frigoríficos de productos cárnicos. Producción y Sanidad Animal # 92. 1991.
- 9.- Casp A, Abril J. Procesos de conservación de los alimentos. Colección Tecnología de los Alimentos. España: Mundi-Prensa, 1999.

- 10.- Castilla SL. Metodología de la investigación en Ciencias de la Salud. México, D.F.–Santa Fé de Bogota: Manual moderno, 2001.
- 11.- Castro MG, González CC y León DJS. Estimación de la carga microbiana contenida en las carnes crudas, comercializadas en la vía pública mediante el método de impedancia. México: Colección Investigaciones, UAM-Xochimilco, 1997.
- 12.- Cole HH. Producción animal. 2ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1973.
- 13.- Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos. Ecología microbiana de los alimentos. Vol. I y II, Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos, Productos alimenticios. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. ICMSF, 1985a.
- 14.- Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos. El Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. ICMSF, 1991.
- 15.- Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos. Microbiología de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. ICMSF, 1985.
- 16.- Daniel WW. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª Edición. México: Limusa-Wiley, 2002.
- 17.- De Canales FH, De Alvarado EL, Pineda EB. Metodología de la investigación. Manual para el desarrollo de personal de salud. México: OMS. Limusa, 1986.

- 18.- Fehlhaber K, Janetschke P. Higiene Veterinaria de los Alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1995.
- 19.- Folgar OF. GMP-HACCP, Buenas Prácticas de Manufactura, Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Macchi, 2000.
- 20.- Flores MJA, Enciclopedia técnica del ganado porcino. Vol. 4. 4ª Reimpresión. México: Ediciones Ciencia y Tecnología, Limusa, 1988.
- 21.- Forrest JC, Aberle ED, Hendrick HB, Judge MD, Merkel RA. Fundamentos de ciencia de la carne. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. 1979.
- 22.- Frazier WC, Westhoff DC. Microbiología de los alimentos. 4ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1993.
- 23.- Guerrero LI, Arteaga MMR. Tecnología de carnes. Elaboración y preservación de productos cárnicos. México: Trillas, 1990.
- 24.- Guthrie RK. Food Sanitation. 3ª Edition. New York, USA: Van Nostrand Reinhold. 1988.
- 25.- Hernández SR, Fernández CC, Batista LP. Metodología de la investigación. 3ª Edición. México: Mc Graw Hill, 2003.
- 26.- Hereida LJ, Garnica AR. Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la elaboración de productos cárnicos. D. F. México: Secretaría de Salud, Subsecretaría de regulación y fomento sanitario de bienes y servicios. 1994.
- 27.- Hersom AC, Hulland ED. Conservas alimenticias. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1995.

- 28.- Ingraham JL, Ingraham CA. Introducción a la Microbiología. Barcelona, España: Editorial Reverté, S.A. 1998.
- 29.- International Commission for Microbiological Specifications for Food. Microbial Ecology of food commodities. Microorganism in food 6. Gaithersburg, Maryland. USA: An aspen publication. ICMSF, 2000.
- 30.- Jackson TC, Marshall DL, Acuff GR, Dickson JS. Meat, Poultry, and Seafood. In: Doyle MP. Food Microbiology: fundamentals and Frontiers. 2ª Edition. Washington, D.C. USA: ASM Press, 2001.
- 31.- Jacob M. Manipulación correcta de los alimentos. Guía para Gerentes de establecimientos de alimentación. Ginebra, Suiza: OMS, 1990.
- 32.- Jay JM. Microbiología moderna de los alimentos. 4ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. 1992.
- 33.- Kauffman RG, Cassens RG, Scherer A, Meeker DL. Variations in pork quality. Des Moines, Iowa. USA: NPPC Bulletin, 1992.
- 34.- Kuchel PW, Ralston GB. Bioquímica General. 1ª Edición. México: Mc Graw Hill, 1994.
- 35.- Lawrie RA. Ciencia de la carne. 3ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1998.
- 36.- Leveau JY, Bouix M, y Mescle JF. Importancia de los fenómenos microbianos en los procesos alimentarios y biológicos. In: Leveau JY y Bouix M. Manual Técnico de Higiene, Limpieza y Desinfección. 1ª Edición. Madrid, España: AMV Ediciones-Mundi prensa. 2002.

- 37.- Linder E. Toxicología de los alimentos. 2ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1995.
- 38.- Loken JK. The HACCP food safety manual. USA: Jhon Wiley and Sonc Inc, 1995.
- 39.- López VR, Casp VA. Tecnología de mataderos. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 2004.
- 40.- Madigan, Martinko y Parker. Biología de los microorganismos. Barcelona, España: Ediciones Omega, S.A. 2000.
- 41.- Montville TJ, Matthews KR. Principles which influence microbial growth, survival, and death in food. In: Doyle MP. Food microbiology: Fundamentals and frontiers. Washington, D.C. USA: ASM Press, 2001.
- 42.- Mortimore S, Wallace C. HACCP: Enfoque práctico. 2ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 2001.
- 43.- Noskuwa GL. Microbiología de las carnes conservadas por el frío. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1975.
- 44.- Ott DB. Manual de laboratorio de ciencia de los alimentos. España: Editorial Acribia, S.A. 1992.
- 45.- Pérez MRA. Metodología de la investigación científica. Aplicado a la Salud Pública. México: Trillas, 1991.
- 46.- Prandl O, Fisher A, Scmidhofer T, Sinell HJ. Tecnología e higiene de la carne. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1994.

- 47.- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiología. 5ª Edición. Madrid, España: Mc Graw Hill. 2002.
- 48.- Price JF, Schweigert AS. Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. 2ª Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1976.
- 49.- Reichert JE. Tratamiento térmico de los productos cárnicos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. 1988.
- 50.- Roland VG. Applied Food Microbiology. USA: Star publishing Company, 1997.
- 51.- Ros BG, Periago CMJ, Martínez GC, López MG, Martínez VI, Vidal GML. Bromatología e inspección veterinaria de los alimentos. 1ª Edición. Murcia, España: ICE-Universidad de Murcia, 1999.
- 52.- Schenker D, Vollmer G, Josst G, Sturm W, Vreden N. Elementos de bromatología descriptiva. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1999.
- 53.- Schlegel HG. Microbiología General. Tercera Edición. Barcelona, España: Ediciones Omega, S.A. 1988.
- 54.- Sinell HJ. Intoxicaciones alimentarias y otro peligros de consumo. In: Prändl O, Tecnología e Higiene de la Carne. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1994.
- 55.- Sinell HJ. Introducción a la Higiene de los Alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. 1981.
- 56.- Stainer RY, Ingraham JL, Wheelis ML, Painter PR. Microbiología. 2ª Edición. Barcelona, España: Editorial Reverté, S.A. 1996.

- 57.- Tinoco JLL. La porcicultura mexicana y el Tratado de Libre Comercio de América del Norte. México. Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.
- 58.- Todd ECD. Epidemiology and globalization of foodborne disease. In: Labbé RG and García Santos, Guide to foodborne pathogens. USA: John Wiley-Interscience, publication, 2001.
- 59.- Varman AH, Sutherland JP. Carne y productos cárnicos. Serie alimentos básicos 3. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1995.
- 60.- Warris PD. Ciencia de la carne. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 2003.
- 61.- Willett HP, Joklik WK, Amos DB y Wilfert CM. Microbiología de Zinsser. 20ª Edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana. 1988
- 62.- Wirth F, LeistnerL, Rödel W. Valores normativos de la tecnología cárnica. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1981.

7.2 NORMAS OFICIALES CITADAS.

- 1.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; Secretaría de Economía. PC-002-2001. Pliego de Condiciones para el Uso de la Marca Oficial México Calidad Selecta en Carne de Cerdo. México: SAGARPA-SE. 2001.
- 2.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. México: SAGARPA, 1994.
- 3.- Secretaría de Economía. NMX-FF-081-SCFI-2003. Productos pecuarios – Carne de porcino en canal – Calidad de la carne – Clasificación. México: SE, 2003.

- 4.- Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México: SSA, 1994.
- 5.- Secretaría de Salud, Subsecretaría de regulación y fomento sanitario. Guía de Análisis de Riesgos, Identificación y Control de Puntos Críticos. DF. México: SSA, 2000.
- 6.- Secretaría de Salud. NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Normas Mexicanas, Dirección General de Normas. México: SSA, 1978.
- 7.-Secretaría de Salud. NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de alimentos para su análisis microbiológico. México: SSA, 1994.
- 8.- Secretaría de Salud. NOM-110-SSA1 1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México: SSA, 1994.

7.3. CITAS TOMADAS DE INTERNET.

- 1.- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. El sector alimentario en México 2002. México: INEGI, 2002. Disponible en [Http://www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx)
- 2.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Estimación del Consumo Nacional Aparente (CNA) de carnes de porcino y productos porcícolas. México: SAGARPA, 2003. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/CNApor.htm>
- 3.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Estimaciones de la disponibilidad per cápita de carnes en México. México: SAGARPA, 2003. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/Dpcar.htm>.

