



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL**

**EVALUACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO Y OZONO COMO
ESTRATEGIA ANTIMICROBIANA SOBRE CANALES DE
BOVINO PROCESADAS EN UN RASTRO TIPO INSPECCION
FEDERAL**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

MARIANA GARCÍA DURÁN

TUTOR: DRA. MARÍA DE LA SALUD RUBIO LOZANO
COMITE TUTORAL: DRA. MARÍA DEL CARMEN WACHER RODARTE
DR. DANILO MÉNDEZ MEDINA



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.

DEDICATORIA

A mis adorados padres, porque la Universidad me dio la formación profesional, pero ellos me dieron la formación moral y espiritual de lo que ahora soy.....GRACIAS.

A mi hermano Enrique, que lo quiero mucho y siempre está al pendiente de mí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la posibilidad de dar otro paso en mi vida.

A la Dra. María de la Salud por sus consejos y por fomentarme un mayor carácter de decisión, mil gracias.

A mí querida “Lauris” por brindarme su apoyo incondicional y ser una buena anfitriona, pero especialmente, una extraordinaria amiga.

A la familia Muñoz Durán, por darme alojamiento durante mi estancia en Querétaro, pero principalmente por siempre hacerme sentir como en casa.

A mis amigos de siempre Anita, Diana, Miriam, Claudia, Gaby, Yunuen, Eunice y César Quintanilla, y a mis recientes amigos Diego, Adrian y Esmeralda porque siempre estuvieron alentándome.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por abrirme nuevamente las puertas y seguir con mi formación profesional, ya que es un privilegio que pocos tienen...y yo lo tuve.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, especialmente a la Dra. Concepción Méndez por prestarme las instalaciones para la realización del experimento pero principalmente por brindarme su confianza y su amistad.

Al departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, en especial al Dr. José Juan Martínez Maya, por abrirme las puertas del departamento; al Dr. Fernando Núñez porque siempre estuvo en la mejor disposición de ayudarme, a la Química Carolina Castro y a la Dra. Claudia Alcázar por asesorarme en el laboratorio, y al laboratorista Nicolás Briones por el apoyo técnico.

Al rastro municipal de Querétaro, Establecimiento TIF 412, especialmente al Ingeniero Joel Ortega por permitirme entrar al establecimiento para la realización de este trabajo y al MVZ Héctor Ortiz por el apoyo recibido.

Al comité tutorial integrado por la Dra. Carmen Wachter Rodarte y el Dr. Danilo Méndez Medina, por enriquecer este trabajo.

Al resto de los integrantes del jurado, Dra. Patricia Mora Medina y Dr. Jorge Francisco Monroy López por el tiempo dedicado para la revisión de la tesis.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. Antecedentes	3
2. Ácido láctico	6
2.1. Acción del ácido láctico	7
2.2. Factores que influyen sobre una adecuada acción del ácido láctico	8
3. Ozono	9
3.1. Acción del ozono	10
3.2. Propiedades del ozono sobre la carne	11
3.3. Recomendaciones para la utilización del ozono en las cámaras frigoríficas	12
4. Tipos de establecimientos de matanza	12
4.1. Rastros municipales	13
4.2. Establecimientos tipo inspección federal (TIF)	13
5. Normatividad de higiene de la carne	14
6. Microorganismos indicadores sanitarios	15
6.1. Mesófilos	16
6.2. Coliformes totales	16
6.3. Coliformes fecales (<i>E.coli</i>)	17
6.3.1. Fuente de aislamiento	17
6.3.2. Desarrollo	18
6.3.3. Supervivencia	18
7. Crecimiento bacteriano	18
7.1. Factores intrínsecos	19
7.2. Factores extrínsecos	20
7.3. Factores implícitos	21
OBJETIVO	24

MATERIAL Y MÉTODOS	25
Estrategia general	25
Análisis bacteriológico	27
Análisis estadísticos	28
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIÓN	43
REFERENCIAS	44
CUADROS DE RESULTADOS	50
GRÁFICAS DE RESULTADOS	58
ANEXOS	67

CUADROS

Cuadro

1. Influencia de la solución de ácido láctico sobre los microorganismos indicadores.
2. Influencia del ozono sobre los microorganismos indicadores.
3. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de mesófilos (UFC/cm²) en cada tratamiento.
4. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de coliformes totales (NMP/cm²) en cada tratamiento.
5. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de *E. coli* (NMP/cm²) en cada tratamiento.
6. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de mesófilos (UFC/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con su control.
7. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de coliformes totales (NMP/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con sus controles.
8. Influencia de la ubicación de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de *E. coli* (NMP/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con sus controles.

GRÁFICAS

Gráfica

1. Crecimiento de las bacterias mesófilas en presencia de la solución de ácido láctico al 2%.
2. Crecimiento de las bacterias mesófilas en presencia de ozono.
3. Crecimiento de los coliformes totales en presencia de la solución de ácido láctico al 2%.
4. Crecimiento de los coliformes totales en presencia de ozono.
5. Crecimiento de *E. coli* en presencia de la solución de ácido láctico al 2%.
6. Crecimiento de *E. coli* en presencia de ozono.
7. Cuantificación de las bacterias mesófilas para cada tratamiento posterior a la refrigeración.
8. Cuantificación de coliformes totales para cada tratamiento posterior a la refrigeración.
9. Cuantificación de *E. coli* para cada tratamiento posterior a la refrigeración.

ANEXOS

Anexo 1. Correspondencia de la contaminación de la canal con operaciones concretas de la matanza.

Anexo 2. Regiones de la canal que se contaminan frecuentemente.

Anexo 3. Limites críticos para la aplicación de un ácido orgánico.

Anexo 4. Vida media del Ozono (O_3) en relación con la temperatura.

Anexo 5. Solubilidad del ozono dependiendo de la concentración en relación con la temperatura.

Anexo 6. Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio.

Anexo 7. Comisión Europea. Reglamento no 2073/2005. Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

RESUMEN

La carne es uno de los principales alimentos transmisores de bacterias patógenas. Por esta razón existe el interés en ofrecer carne higiénicamente aceptable y por ello la posibilidad de utilizar sustancias que favorezcan esta condición. Entre las sustancias utilizadas frecuentemente están los ácidos orgánicos y el ozono. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del ácido láctico y del ozono como tratamientos antimicrobianos al final del proceso de matanza de bovinos, en comparación con el lavado con agua. La evaluación se realizó mediante la cuantificación de mesófilos, coliformes totales y *E. coli*. El experimento consistió en seleccionar 30 medias canales para el tratamiento del ácido láctico y 30 para el tratamiento con ozono, todas con sus respectivos controles; seleccionando medias canales al inicio, intermedio y final del proceso de matanza, con respecto al tiempo. La solución de ácido láctico al 2% se aplicó con una bomba de aspersión a las canales en el refrigerador, mientras que el ozono se mantuvo encendido durante la refrigeración de las canales a una concentración de 0.5 ppm. Transcurrido dieciocho horas de refrigeración, se tomó la muestra de la región del flanco izquierdo. Los resultados mostraron que hubo una reducción significativa en los coliformes totales de 3.8 NMP/cm² y 0.7NMP/cm² por la utilización del ácido láctico y el ozono respectivamente; mientras que los mesófilos y *E. coli* no mostraron disminución significativa ($P>0.05$) con ninguno de los dos tratamientos. Al evaluar el efecto de ambos tratamientos durante el proceso, se observó que conforme se incrementaba la actividad del proceso de matanza ningún tratamiento fue efectivo; ya que al aumentar el número de animales durante la matanza, la carga bacteriana también aumentó. Se concluyó que el ácido láctico tuvo un mayor efecto antimicrobiano sobre los coliformes totales en comparación con el ozono, pero que además ningún tratamiento es lo suficientemente efectivo si los establecimientos que producen carne higiénicamente aceptable no llevan a cabo las buenas prácticas de higiene (BPH).

Palabras clave: ácido láctico, ozono, lavado de canales, establecimientos de matanza.

ABSTRACT

Meat is one of the main transmitting foods of pathogenic bacteria. Therefore, there has been increase awareness in offering hygienically acceptable meat and for that reason the possibility of using substances that favor this condition. Organic acids are among the frequently used substances and in the last decade ozone has been used too for the same purpose. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of lactic acid and ozone as antimicrobial treatments at the end of the bovine slaughter process, in comparison with washing carcasses with water. The evaluation was carried out quantifying aerobic-mesophylic bacteria (BAM), total coliforms and *E. coli*. The experiment consisted of selecting 30 half carcasses for the treatment of lactic acid and 30 for the treatment with ozone, all of them with its respective controls; carcasses were selected at the beginning, at the middle and at the end of the slaughter process. A two percent lactic acid solution was applied with an aspersion pump to the carcasses on the refrigeration chamber, whereas ozone at 0.5 ppm concentration was kept running during the refrigeration of the carcasses, animals from both treatments were maintained eighteen hours under refrigeration temperatures. After that, a sample was taken on the left flank of the carcass. The results showed that total coliformes had a significant reduction of 3.8 and 0.7 NMP/cm² due to the use of lactic acid and ozone respectively; whereas BAM and *E. coli* did not show significant decrease ($P > 0.05$) with neither treatment. When evaluating the effect of both treatments during the process, it was observed that none of them was effective, when the number of animal increased, the bacterial load also increased. In conclusion lactic acid treatment had a greater antimicrobial effect on the total coliforms in comparison with the ozone one; however no treatment is sufficiently effective to provide hygienically acceptable meat if the plant does not carry out the good hygiene practices (GHP).

Key words: lactic acid, ozone, washing of carcasses, slaughterhouse.

INTRODUCCIÓN

Los animales y el ambiente son fuente de microorganismos patógenos, los cuales contaminan las canales durante el proceso de matanza (**Sofos et al., 1999**). Esto lo confirma la información epidemiológica sobre las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) colocando a la carne como uno de los principales alimentos transmisores de bacterias patógenas causantes de brotes de enfermedad (**Olsen et al., 2000**). En Estados Unidos se estiman 76 millones de casos, asociados principalmente por el consumo de carne (**CDC, 2005**). En México no hay información que estime las causas de ETA, únicamente como dato relevante se registraron en el año 2007, 4859 casos de intoxicaciones alimentarias de origen bacteriano por cada 100 mil habitantes (**DGE, 2007**). Además del impacto que causa en la salud pública, ésta el costo generado por la enfermedad, que en EEUU oscila entre 2,900 y 6,700 millones de dólares (**Buzby et al., 1996**).

Durante el crecimiento y desarrollo de los animales utilizados para obtener la carne, el músculo es estéril; sin embargo, durante el proceso de matanza es común que se contamine, ya que los componentes de la carne como proteínas y carbohidratos son un sustrato ideal para la proliferación de microorganismos deteriorantes y patógenos (**Guerrero, 1994**). La contaminación ocurre principalmente por la piel, que puede llevar $9.0 \log_{10}$ bacterias por cm^2 (**Jericho et al., 1996**), salida del contenido gastrointestinal durante la evisceración y la introducción de bacterias a través de la manipulación durante el proceso de matanza y almacenamiento (**Dickson et al., 1992**). Todos estos factores hacen que haya una transferencia continua de microorganismos de las canales a los trabajadores, superficie de los equipos y viceversa. (**Jonhson et al., 1990**).

En México predominan dos tipos de establecimientos dedicados a la matanza; los rastros municipales, que constituyen un servicio público prestado por los municipios. En la mayoría de estos rastros tienen ciertas deficiencias y están

ubicados en lugares poco adecuados, considerando además que no cumplen con las normas de higiene necesarias para su funcionamiento (**Signorini, 2005**); y los establecimientos Tipo Inspección Federal (TIF) que al contar con esta denominación es símbolo de calidad higiénico-sanitaria, tal situación los hace aptos para exportar. Para cualquier establecimiento de matanza como una medida para reducir la contaminación visible en las canales, por norma se debe realizar el lavado de la canal con agua a presión y en caso de que haya salida de contenido gastrointestinal la canal deberá retenerse para eliminar la contaminación con un cuchillo haciendo cortes de las áreas afectadas y lavarse inmediatamente con agua (**NOM-194-SSA1-2004**). Sin embargo se ha demostrado que la utilización de agua tiene una efectividad limitada sobre la reducción de la carga bacteriana (**Bolton et al., 2001**). Para reducir la contaminación bacteriana de la carne durante el proceso de matanza, algunos países han empleado sustancias químicas, tal es el caso de las soluciones a base de ácidos orgánicos (**Huffman et al., 2002**), las cuales cuentan con la aprobación de las legislaciones de EEUU, Bélgica y Alemania al no presentar riesgo para la salud humana. Otra medida de reciente introducción en la industria de la carne para reducir la carga bacteriana, es el ozono, que fue reconocido en 1997 como generally recognized as safe (GRASS) (**USDA, 1998**). Ambas medidas han demostrado su amplia efectividad reductiva en laboratorio, donde se controlan diversos factores que se engloban en factores extrínsecos, intrínsecos e implícitos; sin embargo pocos estudios han demostrado su efectividad contemplando estos factores. La realización del experimento en un establecimiento de matanza tipo inspección federal (TIF) dio el ambiente real en el que se procesa la carne sin ser un lugar con una elevada carga bacteriana como se presentaría en un rastro municipal.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Antecedentes

Durante el proceso de matanza, el ambiente que incluye el personal operativo, las instalaciones, el equipo y los desechos que se generan, es por mucho el mayor contribuyente en la contaminación de las canales. Las bacterias están en contacto con las canales durante las etapas del proceso, donde la superficie externa de la canal llega a estar expuesta a fuentes potenciales de contaminación. La carne puede contaminarse de materia fecal, contenido estomacal y por la piel durante el desollado (**Lahr, 1996**). Adicionalmente existen fuentes de contaminación cruzada a través de la carne, el equipo y los trabajadores (**IFT, 2002**). Las áreas anatómicas que resultan frecuentemente contaminadas por las diferentes operaciones en el proceso, son la falda, grupa, corvejón y flanco (Anexo 1y 2).

El Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria de los Estados Unidos (FSIS) realizó un estudio microbiológico en ese país a nivel nacional durante el periodo del mes de junio de 1997 a mayo de 1998, para estimar la prevalencia y niveles de bacterias que afectan la salud pública nacional. Se muestrearon 1,881 medias canales para realizar un análisis cuantitativo de *E.coli* que es un indicador de higiene general, así como *Salmonella* por ser un patógeno. La prevalencia nacional estimada fue de 1.2% y 16.6% para *Salmonella* y *E.coli*, respectivamente. Para *E.coli* se encontraron 10 ó menos unidades formadoras de colonia (UFC/cm²) en 98.9% de las canales muestreadas y se consideraron cepas no patógenas (**FSIS, 1998**). Estudios microbiológicos realizados en México mostraron que la carga bacteriana de enterobacterias (principalmente *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*) presentes en la carne de bovinos es de 4.74 log UFC/g (**Signorini et al., 2006**). Por lo anterior, está el interés creciente de utilizar medidas adicionales para reducir o eliminar microorganismos indicadores de sanidad y patógenos.

La utilización de tratamientos de naturaleza física, química y microbiológica sobre la carne han sido una medida para disminuir o eliminar bacterias patógenas. En los físicos se encuentran el lavado o inmersión en agua, pasteurización, radiaciones ionizantes, ultrasonido, altas presiones y rayos infrarrojos. Dentro de los tratamientos químicos están, el agua clorada, ácidos orgánicos, ozono, fosfato trisódico así como la combinación de yodo y agua oxigenada. Por último los tratamientos microbiológicos, que incluyen bacterias lácticas y bacteriocinas como la nisina (**Moreno, 2006**). Este trabajo está enfocado a los tratamientos químicos, específicamente al ácido láctico y al ozono, el primero utilizado con años de antelación en la industria de la carne y el segundo de reciente introducción.

Las técnicas de descontaminación para las canales están enfocadas en reducir o eliminar bacterias que pueden ser patógenas para el ser humano, así también aquellas que causen cambios deteriorantes en la carne (**Huffman, 2002**). Según **Bolton et al. (2001)**, el lavado con agua fría (10-15°C) o tibia (15-40°C) no debe calificarse como una operación descontaminante, ya que aunque puede eliminar por arrastre algunos microorganismos, redistribuye la contaminación puntual; y únicamente mejora el aspecto de las canales y no la seguridad de la carne.

Los ácidos orgánicos son clasificados como una medida descontaminante ya que reducen o eliminan las bacterias y numerosos estudios han reportado su efectividad sobre poblaciones bacterianas saprofitas y ciertos patógenos (**Castillo et al., 2001; Dickson et al., 1992; Hardin et al., 1995**), por lo que el lavado con algún ácido orgánico, es considerado un punto crítico de control dentro del sistema HACCP en la industria de la carne, indicándose los límites para su aplicación (Anexo 3).

Según **Snijders (1985)** aplicar el lavado inmediatamente *post mortem* sobre la superficie de la canal caliente reduce la cuenta en placa 1.5 log. **Hardin et al.**

(1995) estudiaron que un lavado de canales seguido por un enjuagado con ácido láctico al 2% fue mas efectivo en la reducción de *E. coli* O157:H7 y de *Salmonella* Typhimurium que el recorte de las áreas visiblemente contaminadas o el lavado únicamente. Estos estudios fueron realizados dentro de los 45 minutos posteriores al desollado mientras la canal todavía estaba caliente.

Prasai et al. (1991) utilizaron una concentración del 1% de ácido láctico a 55°C por aspersión logrando una reducción de los aerobios totales de más del 90% y eliminación total de *Salmonella*. Posteriormente **Prasai et al. (1997)** utilizaron una concentración de 1.5% donde *Salmonella* no fue detectable y los aerobios totales tuvieron una reducción del 97%. A una concentración del 2% a 35°C como lo realizó **Cutter & Rivera-Betancourt (2000)**, *Salmonella* Typhimurium DT104, y *E. coli* no-O157:H7 tuvieron una reducción de 2 log UFC/cm².

Por su parte el ozono es un potente antimicrobiano que actúa mediante la oxidación, siendo el segundo agente oxidante más poderoso después del flúor. Este ha tenido diferentes aplicaciones en la industria alimentaria, como la higiene de superficies, limpieza de equipos en plantas de alimentos (**Guzel-Seydim et al., 2004**) y recientemente se utiliza para la limpieza del aire donde se almacena la carne, de superficies inertes de cámaras frigoríficas y de vehículos de transporte de carne aplicado en forma gaseosa o líquida (**Moreno, 2006**).

Dentro de algunos estudios donde se ha demostrado la acción del ozono están el realizado por **Gorman et al. (1995)** usando una combinación de agua a 35°C y 0.5% de ozono para reducir *Escherichia coli* en falda de res en 1.84 log UFC/cm²; así como una reducción de 1.49 UFC/cm² en los mesófilos. Además, **Reagan et al. (1996)** mostraron que usando 2.3 ppm de ozono sobre canales de res se redujeron los aerobios en 1.3 log UFC/cm². **Prósperi (1999)** realizó un estudio comparativo entre el lavado de las canales con agua clorada y agua ozonificada encontrando que había un 250% más de UFC de aerobios en las

canales que se lavaron con agua clorada que las canales lavadas con agua ozonificada, y en ninguno de los dos tratamientos se encontraron reducciones significativas en los coliformes totales.

1. Ácido láctico

El ácido láctico es un metabolito producto del metabolismo anaeróbico en el músculo (Figura 1). Comienza cuando hay una falta de irrigación sanguínea y por ende una hipoxia a las células musculares iniciándose la glucólisis anaeróbica causando un aumento del ácido láctico y un descenso del pH que llega a ser de 5.5. El glucógeno se llega a agotar y algunas de las enzimas responsables de la glucólisis llegan a ser inactivadas por el bajo pH del músculo (**Wendell et al., 2001**); encontrándose el ácido láctico en el músculo a una concentración de 10g/kg (**Dickson et al., 1992**).

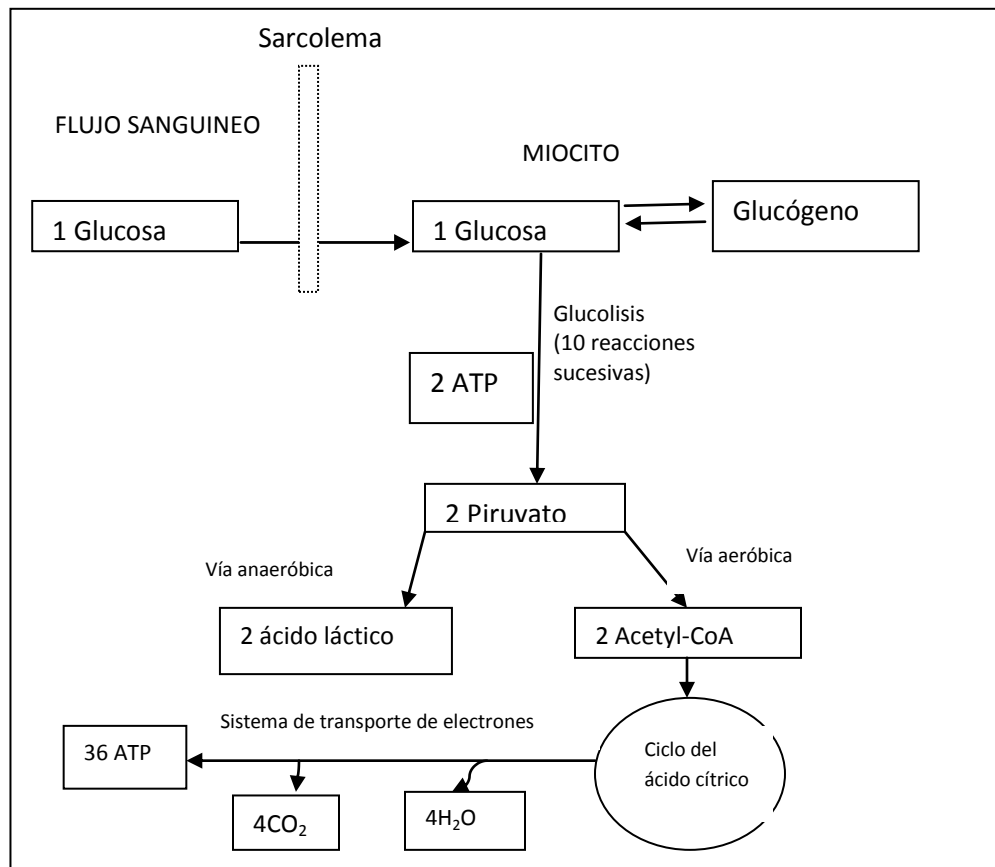


Figura 1. Versión simplificada de la ruta catabólica del glucógeno muscular (Wendell, 2001).

2.1. Acción del ácido láctico

La acción antimicrobiana del ácido láctico es producida por las acciones combinadas de las moléculas no disociadas y los iones disociados. El pH interno (pHi) está estrechamente regulado y la caída es 0.1 unidades por una unidad que cambia el pH ambiental (pHo) (**Bibek, 2004**).

Cuando un ácido orgánico como lo es el ácido láctico es adicionado al alimento dependiendo del pH del alimento, el pK del ácido y la temperatura, algunas de las moléculas se disocian mientras que otras permanecen no disociadas. En el pH de la mayoría de los alimentos (pH 5 a 8) las moléculas de los ácidos orgánicos permanecen generalmente disociadas; como un resultado del incremento de H^+ en el ambiente, el cual interfiere con el gradiente de protones transmembranales de la célula. Para superar esto, la célula transporta protones a través de una bomba de protones lo cual causa agotamiento en la energía y una disminución en el pHi. Las estructuras de la superficie celular, membrana externa e interna y espacio periplásmico son también expuestas a H^+ . Esto puede afectar de forma desfavorable los enlaces iónicos de las macromoléculas y así interferir con sus estructuras tridimensionales y algunas funciones relacionadas. En $pH < 5$, las moléculas no disociadas pueden ser considerablemente altas. El ácido láctico al ser un ácido lipófilo entra libremente a través de la membrana como una función del gradiente de concentración, porque el pHi es mucho más alto que el pK del ácido, las moléculas disociadas liberan protones y aniones. Algunos aniones (por ejemplo lactato) son metabolizados por diferentes microorganismos como una fuente C; pero si no son metabolizados, son removidos desde el interior de la célula hacia el exterior. Sin embargo el H^+ reducirá el pH interno y se verá afectado el gradiente de protones. Para superar este problema la célula bombea el exceso de protones para gastar energía. En pHo más bajos (pH 4.5 o más bajo) representan un gasto de energía que la célula no puede generar. Como resultado el pHi cae, afectando desfavorablemente el gradiente de pH. El pH bajo puede

también actuar sobre los componentes celulares (interfiriendo con los enlaces iónicos) y afectar su estructura e integridad funcional **(Doyle, 2007)**.

Es importante enfatizar que los antimicrobianos tienen que ser al menos parcialmente hidrofóbicos para unirse y pasar a través de la membrana celular pero también tiene que ser al menos parcialmente soluble en la fase acuosa en la cual el microorganismo existe. La efectividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos es relacionada al pH, y la forma no disociada del ácido es primeramente responsable para inhibir los microorganismos **(Doyle, 2007)**.

Los factores propios de la bacteria que afectan la actividad antimicrobiana de las sustancias descontaminantes, incluyen resistencia inherente (células vegetativas contra esporas; diferencias de cepas), número inicial e índice de crecimiento, interacción con otros microorganismos (ejemplo antagonismo), composición celular (bacterias Gram + o -), estatus celular (daño) y habilidad para formar biopelículas. Los factores intrínsecos que afectan la actividad son aquellos asociados con un producto del alimento e incluye nutrientes, pH, capacidad amortiguadora, potencial oxido reducción y actividad de agua. Los factores extrínsecos afectan la actividad antimicrobiana y pueden incluir la temperatura de almacenamiento, atmósfera y humedad relativa **(Doyley, 2007)**.

2.2. Factores que influyen sobre una adecuada acción del ácido

- Naturaleza del ácido. Un ácido con un pK más alto tiene proporcionalmente cantidades más altas de moléculas no disociadas en el pH del alimento y tiene un mayor efecto antimicrobiano. En pH más bajos y concentraciones más altas un ácido es más antimicrobiano, por ejemplo el ácido láctico tiene un pK de 3.8 con un pH de 4.0, 5.0 y 6.0, el porcentaje de disociación sería de 60.8, 93.9 y 99.3 respectivamente.
- Naturaleza del alimento. Un ácido es más inhibitorio en un alimento con un pH bajo que en uno con pH alto. La acción amortiguadora de los

componentes del alimento también reduce la efectividad del pH bajo. Los nutrientes pueden también facilitar la reparación del daño subletal que le ocasiona el ácido.

- Naturaleza del microorganismo. En general las bacterias Gram negativas son más sensibles a pH bajos que las bacterias Gram positivas. Por otra parte la propiedad antimicrobiana de un ácido orgánico es aumentada por el calor, la baja actividad de agua (A_w), la presencia de otros conservadores y las bajas temperaturas de almacenamiento (**Bibek, 2004**).

3. Ozono

Es un gas que resulta de la combinación de tres átomos de oxígeno, existiendo de forma natural en la atmósfera en donde la mayor concentración se encuentra a 30 km de altura (Figura 2). De forma artificial se puede obtener mediante descargas eléctricas de alta tensión (entre 10,000 y 20,000 voltios), necesiándose 3 moléculas de oxígeno para obtener 2 moléculas de ozono (**Prósperi, 1999**).

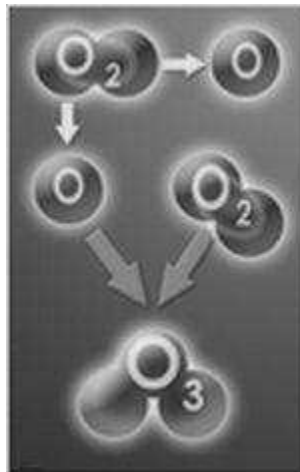


Figura 2. Formación de la molécula de ozono

El uso del ozono en el procesamiento de los alimentos ha sido permitido en Japón, Australia, Francia y algunos otros países. La utilidad potencial del ozono en esta industria es por su potente efecto bactericida que es en comparación con el

cloro 3,000 veces más potente, siendo además el segundo agente oxidante más potente después del flúor (**Prósperi, 1999**), y debido a que se descompone rápidamente en oxígeno y no deja residuos es considerado un sanitizante extremadamente noble con el ambiente (**Sebranek, 2008**).

3.1. Acción del ozono

La forma en que el ozono inactiva a la bacteria es un proceso complejo porque el ozono ataca numerosos componentes celulares incluyendo proteínas, lípidos insaturados y enzimas respiratorias en las membranas celulares, peptidoglicanos en la envoltura celular, enzimas y ácidos nucleicos en el citoplasma. Se han identificado de forma general dos mecanismos por los cuales el ozono destruye a los microorganismos. El primer mecanismo es que el ozono oxida grupos sulfhidrilo y aminoácidos de las enzimas, péptidos y proteínas. El segundo mecanismo es mediante la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados a peróxidos (**Victorin, 1992**). Los componentes celulares principales en donde actúa el ozono son:

- Membrana celular. El ozono puede oxidar varios componentes de la envoltura celular incluyendo ácidos grasos poliinsaturados, enzimas unidas a membrana, glicoproteínas y glicolípidos llevando a la salida del contenido celular y eventualmente la lisis. Cuando los dobles enlaces de lípidos insaturados y los grupos sulfhidrilo de las enzimas son oxidados por el ozono, la disrupción de la actividad celular normal incluyendo la permeabilidad celular y resulta en una muerte rápida (**Khadre et al., 2001**).
- Material nucleico. Abre el ADN del plásmido rompiendo la doble hélice produciendo hebras individuales evitando así la transcripción (**Mura y Chong, 1990**).

3.2. Propiedades del ozono sobre la carne:

- ✓ Detiene el crecimiento bacteriano.
- ✓ Reduce las manchas de metaglobina en la superficie de la carne.
- ✓ Deodoriza las cámaras de refrigeración, así como la eliminación de los agentes nitrogenados originados por la descomposición de la urea.
- ✓ Estimula la acción digestiva de las enzimas, con lo que se consigue una carne más blanda.
- ✓ A una concentración de 5 a 6 mg O₃/m³ aire, a una temperatura entre 1°C a 3°C y una humedad relativa del 90% se obtiene un considerable aumento en el tiempo de almacenaje y una disminución en las pérdidas de peso. Si las concentraciones son muy elevadas, del orden de 60 mg O₃/m³ aire se puede presentar enranciamiento. Se ha visto que la carne conservada en atmósfera sin ozono experimenta pérdidas de peso superiores a las ozonificadas, con una media de 0.7% a 3%, según el tipo de carne, nivel de humedad, carga de las cámaras y temperatura.
- ✓ El período de conservación para la carne de res congelada a 0.4 °C y 85-90% de humedad relativa puede extenderse de un 30 a un 40 % más utilizando concentraciones de ozono de 10 a 20 mg O₃/m³, teniendo en cuenta que el recuento microbiano no exceda de 10³/cm² (**alimentariaonline, 2005**).

Tan pronto como el ozono es formado, comienza a transformarse en oxígeno. La vida media es de 2.5 a 7 minutos en la mayoría de las aplicaciones dependiendo de las condiciones ambientales. En refrigeración en un ambiente limpio la vida media puede extenderse a 1 hora. Altas temperaturas reducen la vida media del ozono (Anexo 4); así como en la concentración en que se encuentre (Anexo 5) (**Ozone Applications, s.f.**).

Como desventaja, se ha encontrado que a concentraciones de 100 a 500 ppm de ozono se produce un color indeseable y un cambio de olor, de manera que

no es recomendable una exposición de la carne a altas concentraciones de ozono (**alimentariaonline, 2005**).

3.3. Recomendaciones sobre la utilización del ozono en las cámaras frigoríficas

- ✓ Las colonias bacterianas establecidas por más de ocho horas son mucho más resistentes al ozono que las colonias "frescas". Sin embargo, se recomienda utilizar un tratamiento con ozono desde el comienzo del almacenaje, de modo que las colonias bacterianas no encuentren resistencia ante el ozono. En este sentido, son recomendables dosis de ozono de 3 mg O₃/m³ de aire.
- ✓ Carne almacenada en un refrigerador bajo una concentración de 0.04 ppm a 2°C, experimenta de 0.9 a 1.0% menos merma en tres días y 17% menos en 7 días.
- ✓ La vida de almacenamiento de la carne en un estado de refrigeración puede ser incrementada de un 30 a 40% si la carne es guardada en una atmosfera de 7.7 a 15 ppm y la carga bacteriana no es mayor a 100 bacterias/cm² (**Alimentariaonline, 2005**).

4. Tipos de establecimientos de matanza

En México existen principalmente dos tipos de establecimientos de matanza; los rastros municipales y los establecimientos TIF, representando 88% y 8% respectivamente (**SIAP-SAGARPA, 2007**). Esta clasificación se da de acuerdo al tipo de actividades que realizan y a la infraestructura con que cuentan, que se especifica más adelante.

4.1. Rastros municipales

Rastro es todo establecimiento dedicado al sacrificio y faenado de animales para abasto, con capacidad diaria de sacrificio de al menos 28 cabezas de ganado mayor **(NOM-1994-SSA1-2004)**.

Un rastro municipal comprende las instalaciones físicas propiedad del municipio, que se destinan a la matanza de animales que posteriormente serán consumidos por la población como alimento. Desde un punto de vista higiénico y sanitario, el rastro municipal debe reunir las condiciones mínimas necesarias para que en el sacrificio de animales se garantice la sanidad del producto. En virtud de ello, el administrador del rastro debe apoyar a las autoridades sanitarias de la entidad en la inspección que se efectúe sobre los animales próximos a sacrificar y sobre las carnes y subproductos cárnicos a distribuir **(Signorini, 2005)**.

Dentro de los servicios que presta un rastro municipal, están proporcionar a la población carne que reúna las condiciones higiénicas y sanitarias necesarias para su consumo, controlar la introducción de animales a través de su autorización legal, realizar un sacrificio y faenado de animales en apego a lo estipulado en la normatividad aplicable, realizar una adecuada comercialización y suministro de carne para consumo humano, lograr un mejor aprovechamiento de los subproductos derivados del sacrificio de animales, generar ingresos derivados del cobro de cuotas por el sacrificio de animales, evitar la matanza clandestina en domicilios particulares, racionalizar el sacrificio de animales, protegiendo el desarrollo de las especies y cumplir las disposiciones aplicables en materia ambiental para preservar el equilibrio ecológico **(Signorini, 2005)**.

4.2. Establecimientos Tipo Inspección Federal (TIF)

Son las instalaciones en donde se sacrifican animales o procesan, envasan, empaican, refrigeran o industrializan bienes de origen animal y están sujetas a regulación de la Secretaría en coordinación con la Secretaría de Salud de acuerdo

al ámbito de competencia de cada Secretaría (**Ley Federal de Sanidad Animal, 2007**).

Las instalaciones, equipo y proceso productivo de un establecimiento TIF se deben ajustar a las disposiciones de sanidad animal y de buenas prácticas pecuarias las cuales deben estar certificadas por la Secretaria de de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación o por organismos de certificación aprobados. También debe contar con médicos veterinarios oficiales o responsables autorizados que realicen la inspección o verificación en tal número que garantice la eficiencia de la misma. Si se trata de un establecimiento de matanza, este deberá contar con un médico veterinario autorizado para fines de control de bienestar animal, de vigilancia epidemiológica y buenas prácticas pecuarias (**Ley Federal de Sanidad Animal, 2007**).

El personal que labora en un establecimiento TIF es capacitado y evaluado constantemente, para poder ofrecer un servicio de calidad a la industria cárnica y de este modo poder monitorear y verificar que los establecimientos dedicados a la industrialización de la carne estén siempre en concordancia con las regulaciones más innovadoras y actuales. Dentro de los beneficios que ofrece son permitir la movilización dentro del país de una manera más fácil, al contar con la garantía de la calidad sanitaria con la que fue elaborado el producto. Del mismo modo, abre la posibilidad del comercio internacional, ya que los establecimientos TIF son los únicos elegibles para exportar (**SENASICA, s.f.**).

5. Normatividad de higiene de la carne

Por el riesgo que representa la carne al ser un vehículo de microorganismos patógenos ocasionando un impacto negativo sobre la salud pública, existen normas como la Norma Oficial Mexicana NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne, estableciendo los procedimientos que deben cumplir cada una de las áreas de la industria de la carne; desde el proceso de matanza hasta la obtención de productos y subproductos cárnicos para consumo humano, con el propósito de

obtener productos de óptima calidad higiénico-sanitaria; la Norma Oficial Mexicana NOM- 030-ZOO.1995. Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria; así como normas que establecen los lineamientos para la construcción de establecimientos dedicados a la manipulación de la carne como la Norma Oficial Mexicana NOM-008-ZOO-1994. Especificaciones zoosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos.

En el 2004 el Diario Oficial de la Federación publicó la Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-200.Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio, con el objetivo de proteger la salud de la población; indicando los límites máximos aceptables de *E.coli* como microorganismo indicador (Anexo 6). El reglamento de la Unión Europea 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, además de las enterobacterias como microorganismo indicador incluye a las bacterias mesófilas con límites mínimos, señalando la cantidad aceptable del microorganismo que puede tener el alimento y límites máximos, advirtiendo un nivel de contaminación de riesgo (Anexo 7).

6. Microorganismos indicadores sanitarios

Se denomina como microorganismos indicadores a aquellos que sugieren o se asocian con un antecedente que compromete su calidad sanitaria. Por ejemplo, en el alimento: a) pone en evidencia una exposición a la contaminación fecal o animal, b) sugiere que se han dado facilidades para que ocurra o esté ocurriendo algún grado de actividad microbiana (bacterias mesófilas en alimentos perecederos). En general, los microorganismos indicadores consisten en aquellos que ponen de manifiesto violaciones prácticas sanitarias de operación. Los grupos

microbianos indicadores de mayor aplicación en los alimentos son las bacterias mesófilas aerobias, los microorganismos coliformes totales y coliformes fecales específicamente *E. coli* (**Fernández, 2004**).

6.1. Mesófilos

Los microorganismos que forman parte de este grupo son muy heterogéneos. Se incluyen en él a todos aquellos que muestran capacidad para formar colonias visibles en las condiciones de ejecución de la prueba (medio de cultivo, tiempo y temperatura de incubación). La temperatura para su crecimiento es de 20 a 45°C con un óptimo de 37°C y con 12 horas de incubación para visualizar las colonias (**Fernández, 2004**). La mayor parte de los mesófilos son patógenos y bacterias causantes de alteración. Entre ellos se pueden citar las enterobacterias, bacilos y cocos Gram negativos (**Levear y Bouix, 2002**).

6.2. Coliformes totales

Se definen como bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas dentro de 48 horas de incubación a 35°C (**ICMSF, 2000**).

Son un grupo heterogéneo que comprende *E coli* y diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. Dicho grupo comprende los géneros *Escherichia*, *Edwarsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus* y *Yersinia*; predominantemente de origen fecal; aunque *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia* y *Proteus* proliferan también en otros ambientes naturales. Los géneros detectados generalmente en las pruebas de coliformes son *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter* (**ICMSF, 2000**).

6.3. Coliformes fecales

Los coliformes fecales se utilizan en primer lugar para indicar una contaminación en principio potencialmente peligrosa, basándose en el hecho de que el hábitat natural a que pertenecen las enterobacterias son las heces humanas y de otros mamíferos. *E. coli* se acepta de modo general como el indicador más representativo de contaminación fecal (**Álvarez et al., 2005**). Estos comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación del inóculo procedente de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales (44-45.5°C) (**ICMSF, 2000**).

E. coli. Es un microorganismo cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. La presencia de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente. En otras palabras, la presencia de *E. coli* en los alimentos no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de salmonellas o de otros microorganismos patógenos (**ICMSF, 2000**).

6.3.1. Fuente de aislamiento

Su hábitat natural es el contenido intestinal del hombre y los animales. En la materia fecal alcanzan cifras de 10^6 a 10^9 UFC/g. Debido a su capacidad de sobrevivencia y gran potencial para desarrollarse en la materia orgánica, pueden recuperarse en la diversidad de sustratos extraintestinales: piel, vegetales, insectos, aguas superficiales y tierra. Los alimentos no son la excepción y el hallazgo de coliformes puede estar determinado por una contaminación seguida o no de un activo desarrollo (**Fernández, 2004**).

6.3.2. Desarrollo

Su desarrollo se suprime fuera de los siguientes límites: pH entre 4.0 y 8.5, temperatura entre 4 y 46°C, o actividad de agua menor de 0.935 (**Fernández, 2004**).

6.3.3. Sobrevivencia

Almacenados en congelación, el número de coliformes disminuye hasta cifras que pueden mantenerse relativamente estables por largos periodos. El nivel de esa cifra depende del número inicial de bacterias, composición del sustrato y temperatura de congelación. Además de que la letalidad de los coliformes ante valores bajos de pH también varía con el tipo de alimento (**Fernández, 2004**).

7. Crecimiento bacteriano

El crecimiento bacteriano incluye cuatro fases, representadas por:

- a) Fase de latencia. Es un periodo de adaptación durante el cual las células sintetizan enzimas que son necesarias para metabolizar los substratos presentes. A lo largo de esta fase no existe reproducción celular y la velocidad de crecimiento es nula. Esta fase puede ser relativamente larga siendo necesario un tiempo para que puedan reparar los daños sufridos por las células (**Leveav y Bouix, 2002**).

- b) Fase logarítmica o exponencial de crecimiento. En esta fase se presenta una tasa de crecimiento elevado y una multiplicación de síntesis de enzimas y toxinas; así como de degradación y alteración. Esta fase se caracteriza por un ritmo de reproducción rápida. A lo largo de esta fase el tiempo de generación de la población bacteriana es constante (**Leveav y Bouix, 2002**).

- c) Fase estacionaria. La concentración celular es máxima y permanece constante. Las células conservan una actividad metabólica y su estructura bioquímica sufre modificaciones **(Leveav y Bouix, 2002)**.
- d) Fase de declive o muerte. La concentración de las células viables disminuye debido a la mortalidad cuya tasa aumenta progresivamente observándose fenómenos de autólisis bajo la acción de las enzimas celulares **(Leveav y Bouix, 2002)**.

Los parámetros cinéticos del crecimiento microbiano así como las características fisiológicas de las células dependen de las condiciones en las que el crecimiento microbiano tiene lugar: pH, temperatura, actividad de agua (Aw) y nutrientes **(Leveav y Bouix, 2002)**.

7.1. Factores intrínsecos

La composición de la carne está constituida por 75% de agua, 19% de proteínas y 2.5-3% de lípidos **(Adams, 1995)** Estos compuestos son nutrientes necesarios para un crecimiento rápido de las bacterias. Además de los componentes nutricionales, están los factores intrínsecos que influyen en el crecimiento microbiano. A continuación se detalla cada uno de ellos.

pH. Indica la concentración de iones hidrógeno en un sistema **(Bibek, 2004)**. En la carne el pH oscila entre 5.4-5.6. La mayoría de las bacterias prefieren un valor cercano a la neutralidad (6.8-7.2). Sin embargo, algunos géneros bacterianos pueden crecer bien a pH ácidos **(Banwart ,1989)**. Como es el caso de las bacterias Gram negativas que pueden crecer a pH mínimos entre 5.6- 4.4 **(Bibek, 2004)**.

Actividad de agua (A_w). Es una medida de la habilidad del agua para las funciones biológicas y se relaciona con el agua presente en un alimento en su forma libre **(Bibek, 2004)**. La actividad de agua (A_w) de la carne es de 0.95 y se puede ver disminuido por la refrigeración, congelación o la adición de solutos **(Banwart, 1989)**. El agua disponible es importante para las bacterias, ya que a diferencia de los hongos y las levaduras, las bacterias requieren de más agua disponible para su desarrollo **(Mossel, 2003)**.

Potencial óxido reducción (Eh). Es un sistema generado por una reacción de acoplamiento en el cual el substrato es oxidado y un segundo substrato es reducido simultáneamente. El potencial óxido reducción es influenciado por su composición química, tratamiento y condiciones de almacenamiento (en relación al aire). Un alimento almacenado en aire tendrá un Eh más alto (+mV) que cuando es almacenado bajo atmósferas modificadas **(Bibery, 2004)**. El Eh de la carne *post-rigor* se encuentra en un rango -60 a -150 mv y de la carne cruda picada de +225 mv **(Mossel, 2003)**.

7.2. Factores extrínsecos

Bajas Temperaturas. Las bajas temperaturas prolongan la fase lag y logarítmica de las bacterias; el valor máximo en la curva de crecimiento (la máxima concentración alcanzada de las bacterias en el cultivo) también es afectado. Los microorganismos reaccionan a bajas temperaturas incrementando la proporción de ácidos grasos no saturados que muestran fluidez a bajas temperaturas. El cambio permite mantener la funcionalidad de la membrana celular (homeostasis) y el efecto más notable en el desarrollo microbiano ante un descenso en la temperatura es la prolongación de la fase lag, pero también se perjudica la tasa de desarrollo. Conforme se aparta la temperatura de la óptima, los tiempos de generación se prolongan **(Fernández, 2004)**.

En general, una temperatura menor a 5°C se considera adecuada para la preservación de alimentos perecederos. Sin embargo, solo 50 células /g iniciales alcanzarían una concentración de casi 10 millones /g en solo 8 días cuando se conserva el alimento a 4°C y 18 días a 0°C **(Fernández, 2004)**.

La exposición de los microorganismos a temperaturas de subcero daña su integridad funcional y estructural ya que el impacto del choque frío agrede en mayor extensión que una disminución lenta de la temperatura. Lo mismo ocurre si las células se encuentran en fase logarítmica o estacionaria. El paso rápido de una elevada a una baja temperatura provoca lesión subletal o muerte de las células más sensibles dentro de las poblaciones microbianas. Por lo común, las bacterias Gram negativas son más susceptibles que las Gram positivas. La presencia de proteínas propicia la solidificación del material y a su vez la formación de cristales es altamente letal para la célula bacteriana ya que la membrana resulta mecánicamente dañada por los cristales del medio **(Fernández, 2004)**.

7.3. Factores implícitos

pH. El pH óptimo de las bacterias oscila entre 6.0-7.5, con un mínimo 4.5-5.0 y un máximo 8.0-9.6. El pH del sustrato puede influenciar en la permeabilidad celular. A un pH bajo la membrana llega a ser saturada con iones hidrógeno limitando el paso de cationes esenciales, contrariamente en un pH alto la saturación de la membrana con iones hidroxilo limitará el paso de aniones esenciales **(Banwart, 1989)**.

Actividad de agua (Aw). El Aw óptimo para el crecimiento bacteriano oscila entre 0.93-0.96, si éste se reduce, los microorganismos presentan mayor resistencia al calor pero si los niveles de Aw son extremadamente bajos la resistencia al calor se ve disminuida **(Mossel, 2003)**.

Potencial óxido reducción (Eh). El Eh exacto depende del requerimiento de oxígeno de la bacteria y de otros factores tales como el medio de crecimiento, la presión parcial de oxígeno y el pH (**Mossel, 2003**). Al inicio del crecimiento bacteriano, las bacterias anaerobias facultativas modifican el Eh del sustrato de manera similar que las bacterias aerobias, esto es que hay una ligera disminución del potencial óxido-reducción durante la fase lag del crecimiento debido al consumo de oxígeno, como la bacteria entra a la fase log, el oxígeno usado incrementa y causa una caída del Eh. Como el Eh llega a ser negativo, el índice de crecimiento de la bacteria disminuye (**Banwart, 1989**).

Adherencia y formación de biopelículas. La adhesión de las bacterias a la superficie de la carne es un proceso que se desarrolla en dos fases. La primera consiste en *la retención de las bacterias en una película líquida* sobre la superficie. La adherencia en esta fase inicial es *reversible* y está asociada con una interacción compleja entre las cargas y la hidrofobicidad de las células de la superficie de la carne. Cuando las bacterias están a ≥ 50 nm de la superficie, actúan únicamente las fuerzas de van der Waals; mientras que cuando la separación es de 10-20 nm entran en juego interacciones electrostáticas. La adhesión se asocia también con interacciones de los apéndices externos de las bacterias (flagelos, fimbrias, polisacáridos extracelulares) con receptores específicos de las superficies. La segunda fase, que es irreversible, se caracteriza porque las bacterias forman exopolímeros (glicocálix). Estos polímeros extracelulares proporcionan un ambiente favorable para el crecimiento y la subsiguiente adherencia de más bacterias favoreciendo la formación de biopelículas. Las bacterias son atrapadas también en lugares inaccesibles (orificios o criptas) principalmente por fuerzas físicas. La adherencia irreversible de las bacterias a una superficie puede tener lugar entre 30 minutos y algunas horas, dependiendo de diversos factores tales como tipo de bacteria y temperatura. En la adherencia de las bacterias a la superficie de la carne influyen varios factores, tales como: pH, tiempo de contacto, temperatura, nutrientes, especie bacteriana,

naturaleza de la superficie de contacto, densidad celular y osmolaridad **(Moreno, 2006)**.

Sinergismo. Se presenta cuando un microorganismo produce metabolitos que un segundo microorganismo necesita para su crecimiento y viceversa **(Bibek, 2004)**.

Antagonismo. Es cuando dos o más tipos de microorganismos presentes en el alimento pueden afectar el crecimiento de otros microorganismos, esto ocurre debido a la producción de uno o más componentes antimicrobianos. Algunas bacterias Gram positivas producen proteínas antibacterianas o bacteriocinas que pueden matar algunas bacterias Gram negativas **(Bibek, 2004)**.

Conocer los factores intrínsecos, extrínsecos e implícitos es útil para poder entender la acción que puede tener cualquier tratamiento antimicrobiano sobre los microorganismos y poder realizar las medidas adecuadas.

OBJETIVO

Evaluar la efectividad de la solución de ácido láctico y del ozono, como estrategias antimicrobianas aplicadas por separado al final del proceso de matanza de bovinos, comparándolas con el lavado con agua a presión, mediante, mediante la cuantificación de mesófilos, coliformes totales y *E. coli*.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Estrategia general

El establecimiento TIF donde se realizó el experimento se apega a las normas oficiales mexicanas y a la ley federal de sanidad animal, con algunas fallas en cuanto al control de personas externas al proceso, ya que se movilizan en todas las áreas.

El estudio consistió en seleccionar un tamaño de muestra de 60 canales de bovino. Los criterios de inclusión fueron medias canales de bovino que hayan cumplido con todo el proceso, es decir que no se hayan caído y vuelto a retomar nuevamente la línea de matanza y el criterio de exclusión fueron medias canales enmatadas ya que alteraba el efecto de los tratamientos.

Con un tamaño de muestra de 60 canales, 30 canales fueron utilizadas para el tratamiento con la solución del ácido láctico y la mitad de la canal se utilizó como el control. Mismo procedimiento fue realizado con el tratamiento de ozono. El tamaño de muestra se realizó con base en el teorema del límite central, requiriendo un tamaño de muestra de 30.

Semanalmente, fueron muestreadas 10 medias canales tratamiento y 10 medias canales control, siendo un total de 20 muestras, número suficiente de muestras que se podían procesar en el laboratorio. En tres semanas se realizó el tratamiento de ácido láctico para sumar un total de 30 muestras tratamiento y 30 muestras control, y otras tres semanas para el tratamiento con ozono con el mismo procedimiento al del ácido láctico.

Durante la matanza se seleccionaron canales ubicadas al inicio, intermedio y final del proceso, con respecto al tiempo. El número de canales que estaban en el lote era en promedio de 40 animales, la forma en que se seleccionaron fue

tomando las canales iniciales y finales, y las intermedias fue el resultado de dividir el lote en dos.

El ozono se aplicó con un equipo al interior de la cámara de refrigeración en forma gaseosa a una concentración de 0.5 ppm durante las dieciocho horas que permanecieron las canales en refrigeración.

La solución de ácido láctico se aplicó sobre las canales al interior de la cámara de refrigeración, de forma inmediata al haberlas introducido. El sistema de ozono se mantuvo cerrado para evitar que tuvieran un efecto sinérgico con el ácido láctico. La forma de aplicar la solución de ácido láctico al 2%, fue con una bomba de aspersión a una distancia de 30 cm por 35 segundos, aplicado sobre el flanco izquierdo. Las canales ya asperjadas con la solución de ácido láctico se mantuvieron 18 horas en refrigeración. El criterio de selección del área de muestreo en la media canal se realizó con base en la experiencia del rastro de las áreas de la canal que se contaminan frecuentemente, apoyado de referencia bibliográfica que especifica las áreas con mayores probabilidades de contaminación durante el proceso de matanza (Anexo 2).

Transcurrido el tiempo de refrigeración, las canales fueron muestreadas delimitando el área con una plantilla de 10x10 cm² frotando con un hisopo estéril 10 veces en forma vertical y 10 veces en forma horizontal de un área delimitada de la región del flanco izquierdo (**FSIS, 1998**). Posteriormente, el hisopo se introdujo en agua peptonada estéril para su transporte al laboratorio como lo establece la Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

1. Análisis bacteriológico

Los análisis bacteriológicos se realizaron en el laboratorio del departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales, de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Los métodos bacteriológicos que se llevaron a cabo fueron:

- Cuantificación de bacterias aerobias en placa (mesófilos)

La cuantificación de las bacterias aerobias mesofílicas se realizó basándose en la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, el cual indica que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente y la misma refleja si el manejo sanitario del producto ha sido el adecuado.

- Cuantificación de bacterias coliformes totales

La cuantificación de coliformes totales se realizó basándose en la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios: Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable, el cual nos indica una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculada.

- Cuantificación de *E. coli*

La cuantificación de *E. coli* se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994 y para la prueba confirmatoria conforme a lo establecido en apéndice Normativo B de la Norma Oficial Mexicana NOM-145-SSA1-1995. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

2. Análisis estadístico

Los resultados de las cuentas obtenidas, expresadas como unidades formadoras de colonia (UFC/100 cm²) para el conteo de mesófilos se transformaron al logaritmo base 10. Para los coliformes totales y *E. coli* se hizo la lectura basado en la tabla del Número Más Probable (NMP/ cm²) con límites de confianza 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando son usados varios números de tubos, basados en la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. Con los datos así transformados se llevó a cabo el análisis de varianza y posteriormente la separación de medias con la prueba de Lsmeans (Least square means). El programa estadístico SAS (Sistemas de Análisis Estadístico) fue la herramienta a utilizar para el análisis estadístico de los datos.

RESULTADOS

El efecto de la solución de ácido láctico al 2% como tratamiento antimicrobiano se muestra en el **Cuadro 1**, donde se observa que la aplicación del ácido láctico causó una reducción significativa ($P < 0.05$) de 3.8 NMP/cm² para los coliformes en comparación con el control; no así para los mesófilos y *E. coli* que fue de 0.3 UFC/cm² y 0.4 NMP/cm², respectivamente.

Cuadro 2 muestra como el ozono tuvo efecto antimicrobiano mostrando una reducción significativa ($P < 0.05$) de 0.7 NMP /cm² sobre los coliformes totales; no así en los mesófilos y *E. coli* mostrando una reducción 0.2 UFC/cm² y 0.3 NMP/cm², respectivamente.

En el **Cuadro 3** se observa que el tratamiento de ácido láctico y el ozono no mostraron diferencia estadística significativa, esto quiere decir que ninguno de los dos tratamientos tuvo con respecto al otro, un efecto importante en la reducción de los mesófilos durante el proceso, y tuvieron un comportamiento similar a los controles que recibieron solo un lavado con agua a presión.

El **Cuadro 4** muestra como el ácido láctico logró una reducción significativa sobre los coliformes totales (0.54 NMP/cm²) en las canales intermedias y finales del proceso de matanza; mientras que con el tratamiento de ozono, éste mostró una reducción en las canales intermedias (0.32 NMP/cm²) pero se incrementó en las canales finales (1.43 NMP/cm²). Comparativamente con sus respectivos controles, éstos mostraron el mismo comportamiento, observándose un aumento en la carga bacteriana de los coliformes totales en las canales posicionadas al final del proceso de matanza. Por lo tanto, el tratamiento con ácido láctico mostró una mayor reducción de los coliformes totales ($P < 0.05$) que el tratamiento con ozono, haciendo hincapié que las canales de ambos tratamientos fueron sometidas por igual a los contaminantes que se agregaron durante el proceso.

En el caso de la acción del ácido láctico y del ozono sobre *E. coli*, el **Cuadro 5** muestra que no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) tanto para el ácido láctico como para el ozono sobre *E. coli*; esto quiere decir que no se observó una reducción importante en la carga bacteriana para ninguno de los tratamientos, mostrando el mismo comportamiento independientemente de la posición de la canal en la cadena de proceso. En ambos casos se observó una ligera disminución de *E. coli* a mitad del proceso la cual aumentó ligeramente al final del mismo. Los controles de cada tratamiento tuvieron un aumento de *E. coli* conforme el proceso transcurría mostrando un aumento significativo al final de la matanza ($P < 0.05$).

El **Cuadro 6** muestra el comportamiento de las bacterias mesófilas en cada tratamiento en comparación con los controles, evidenciando que a pesar de la ubicación de la canal en el proceso de matanza, no hubo reducción significativa ($P > 0.05$) sobre las bacterias mesófilas con ningún tratamiento.

El **Cuadro 7** indica que el efecto del ácido láctico sobre los coliformes totales provocó una reducción significativa ($P < 0.05$) en comparación con los controles, desde las primeras hasta las últimas canales; mientras que el ozono mostró reducción significativa ($P < 0.05$) en las canales intermedias y finales del proceso.

En el **Cuadro 8** se muestra una reducción significativa ($P < 0.05$) de *E. coli* durante el proceso de matanza, con ambos tratamientos, siendo más evidente en las canales finales del proceso.

En la **Gráfica 1** se puede observar cómo la carga bacteriana de las bacterias mesófilas disminuyó por el tratamiento con la solución de ácido láctico presentando un ligero aumento al final del proceso de matanza, posiblemente dado por la suma de los contaminantes. Al realizar la comparación con las canales

control se observó que conforme avanzaba el proceso de matanza la carga bacteriana también aumentaba.

La **Gráfica 2** muestra una reducción de las bacterias mesófilas con el tratamiento de ozono en las canales iniciales, que se acentuó en las canales intermedias y se elevó en las últimas canales del proceso de matanza. Las canales control tuvieron un comportamiento similar a las canales sometidas al tratamiento, situación que se pudo presentar por las malas prácticas de higiene; tales como un mal amarre del recto durante la evisceración, el contacto manual de los operarios sobre las canales y el paso de introductores de un área sucia a un área limpia.

En la **Gráfica 3**, la cuantificación de los coliformes totales disminuyó durante el proceso con la solución de ácido láctico, poniendo en evidencia la sensibilidad que tienen los coliformes totales a esta sustancia. Mientras que las canales control presentaron un aumento de la carga bacteriana en las canales iniciales, acentuándose en las canales intermedias, disminuyendo drásticamente en las canales finales del proceso de matanza; situación que se pudo haber dado por un adecuado lavado o poca manipulación de las canales por parte de los operarios.

En la **Gráfica 4**, el comportamiento de los coliformes totales con el tratamiento de ozono mostró una disminución en las canales iniciales del proceso, comportamiento que se mantuvo en las canales intermedias incrementándose en las últimas canales. Por otra parte las canales control mostraron que los coliformes totales tuvieron un comportamiento ascendente durante el proceso.

En la **Gráfica 5** se muestra que la solución de ácido láctico redujo la cuantificación de *E. coli* sobre las canales durante el proceso de matanza; mientras que las canales control mostraron un ascenso constante, conforme el proceso avanzaba.

En la **Gráfica 6** las canales tratadas con ozono mostraron un comportamiento constante con un ligero aumento en las últimas canales durante el proceso, sobre la cuantificación de *E. coli*. Paralelamente, las canales control tuvieron un comportamiento descendente en las canales intermedias que posteriormente subió drásticamente en las últimas canales.

Al comparar la efectividad de los tratamientos con las bacterias mesófilas, la **Gráfica 7** muestra que las canales tratadas con ozono tuvieron menor carga bacteriana, en comparación con las canales control que solamente se sometieron a un lavado con agua a presión.

La **Gráfica 8** muestra que los tratamientos de la solución de ácido láctico y ozono redujeron la cuantificación de los coliformes totales en 0.5 NMP/cm² y 0.7 NMP/cm², respectivamente; en comparación con las canales control que fue de 4.3 NMP/cm².

En el caso de *E. coli* la **Gráfica 9** muestra que las canales lavadas con la solución de ácido láctico tuvo concentraciones de 0.3 NMP/cm²; mientras que las canales tratadas con ozono se encontraron concentraciones de 0.4 NMP/cm². Al compararlas con las canales control se observó que la utilización de cualquiera de estos dos tratamientos puede ser benéfico para la reducción de *E. coli*, apoyandose principalmente de las buenas prácticas de higiene.

CUADROS DE RESULTADOS

Cuadro 1. Influencia del **ácido láctico** sobre los microorganismos indicadores

Indicadores	Control	E.E	Acido láctico	E.E.
Mesófilos UFC/cm ²	3.4 ^a	0.10	3.1 ^a	0.10
Coliformes totales NMP/cm ²	4.3 ^a	0.89	0.5 ^b	0.89
<i>E. coli</i> NMP/cm ²	0.7 ^a	0.17	0.3 ^a	0.17

^{a-b} literales diferentes en la fila indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

Cuadro 2. Influencia del **ozono** sobre los microorganismos indicadores

Indicadores	Control	E.E.	Ozono	E.E
Mesófilos UFC/cm ²	3.2 ^a	0.10	3.0 ^a	0.10
Coliformes totales NMP/cm ²	1.7 ^a	0.90	0.7 ^b	0.90
<i>E. coli</i> NMP/cm ²	0.7 ^a	0.17	0.4 ^a	0.17

^{a-b} literales diferentes en la fila indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

Cuadro 3. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de **mesófilos** (UFC/cm²) en cada tratamiento

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	3.30 ^a	0.17	3.27 ^a	0.17	3.10 ^a	0.18	3.11 ^a	0.18
Intermedia	3.00 ^a	0.18	3.43 ^a	0.18	2.92 ^a	0.15	3.20 ^a	0.15
Final	3.08 ^a	0.16	3.54 ^a	0.16	3.20 ^a	0.18	3.24 ^a	0.18

^{a-b} literales diferentes en la columna indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

Cuadro 4. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de **coliformes totales** (NMP/cm²) en cada tratamiento

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E.	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	0.32 ^b	1.54	1.40 ^c	1.54	0.45 ^b	1.63	0.81 ^b	1.63
Intermedia	0.54 ^a	1.63	7.70 ^a	1.63	0.32 ^b	1.41	1.95 ^b	1.41
Final	0.54 ^a	1.47	4.20 ^b	1.47	1.43 ^a	1.63	2.23 ^a	1.63

^{a-c} literales diferentes en la columna indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

Cuadro 5. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de ***E. coli*** (NMP/cm²) en cada tratamiento

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E.	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	0.30 ^a	0.30	0.30 ^b	0.28	0.37 ^a	0.31	0.58 ^b	0.31
Intermedia	0.31 ^a	0.31	0.45 ^b	0.30	0.30 ^a	0.31	0.40 ^b	0.31
Final	0.37 ^a	0.28	1.24 ^a	0.31	0.44 ^a	0.27	1.24 ^a	0.27

^{a-b} literales diferentes en la columna indican diferencia (P < 0.05)
 E.E. Error estándar

Cuadro 6. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de **mesófilos** (UFC/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con su control

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	3.30 ^a	0.17	3.27 ^a	0.17	3.10 ^a	0.18	3.11 ^a	0.18
Intermedia	3.00 ^a	0.18	3.43 ^a	0.18	2.92 ^a	0.15	3.20 ^a	0.15
Final	3.08 ^a	0.16	3.54 ^a	0.16	3.20 ^a	0.18	3.24 ^a	0.18

^{a-b} literales diferentes en la fila indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

Cuadro 7. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de **coliformes totales** (NMP/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con su control

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	0.32 ^b	1.54	1.40 ^a	1.54	0.45 ^a	1.63	0.81 ^a	1.63
Intermedia	0.54 ^b	1.63	7.70 ^a	1.63	0.32 ^b	1.41	1.95 ^a	1.41
Final	0.54 ^b	1.47	4.20 ^a	1.47	1.43 ^b	1.63	2.23 ^a	1.63

^{a-b} literales diferentes en la columna indican diferencia (P < 0.05)
E.E. Error estándar

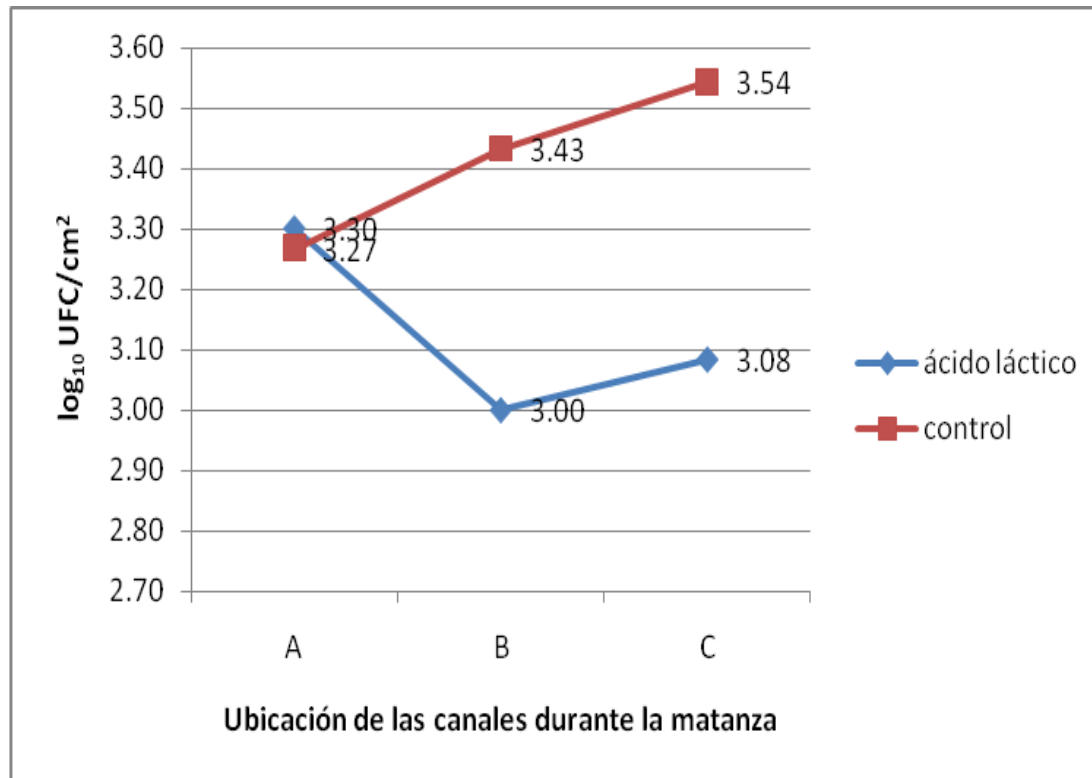
Cuadro 8. Influencia de la **ubicación** de la canal durante el proceso de matanza sobre la cuenta de ***E. coli*** (NMP/cm²) en cada tratamiento, comparativamente con su control.

Ubicación	Tratamiento				Tratamiento			
	Acido láctico	E.E.	Control	E.E.	Ozono	E.E.	Control	E.E.
Inicial	0.30 ^a	0.30	0.30 ^a	0.28	0.37 ^a	0.31	0.58 ^a	0.31
Intermedia	0.31 ^a	0.31	0.45 ^a	0.30	0.30 ^a	0.31	0.40 ^a	0.31
Final	0.37 ^b	0.28	1.24 ^a	0.31	0.44 ^b	0.27	1.24 ^a	0.27

^{a-b} literales diferentes en la columna indican diferencia (P < 0.05)
 E.E. Error estándar

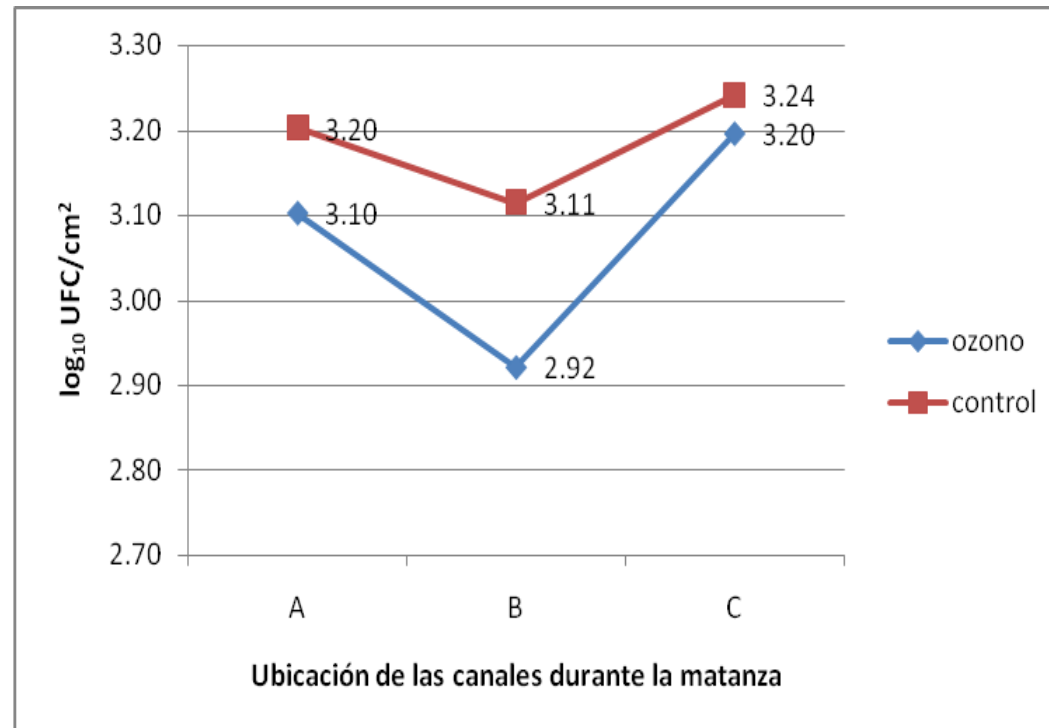
GRAFICAS DE RESULTADOS

Gráfica 1. Crecimiento de las bacterias mesófilas en presencia de la solución de ácido láctico al 2%



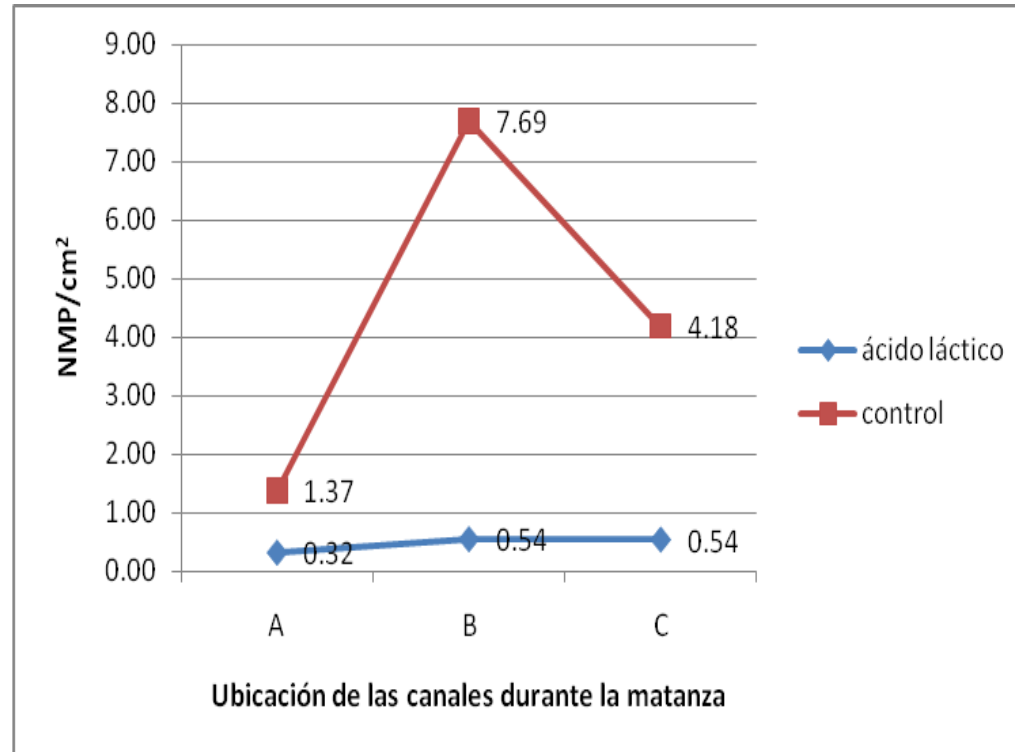
A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

Gráfica 2. Crecimiento de las bacterias mesófilas en presencia de ozono



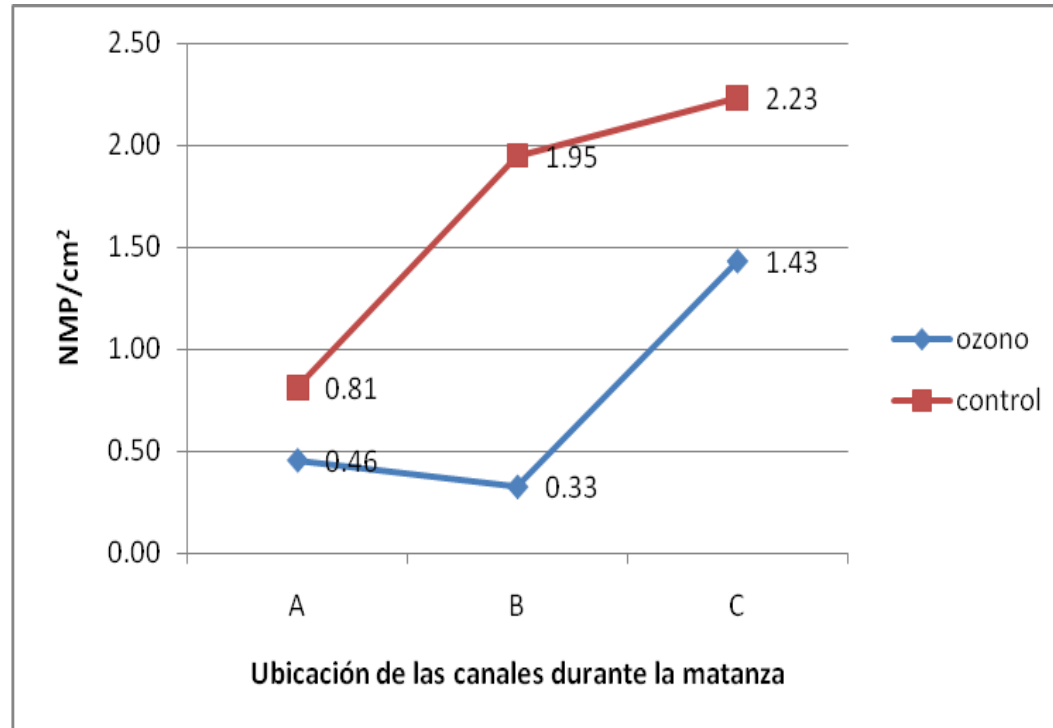
A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

Gráfica 3. Crecimiento de los coliformes totales en presencia de la solución de ácido láctico al 2%



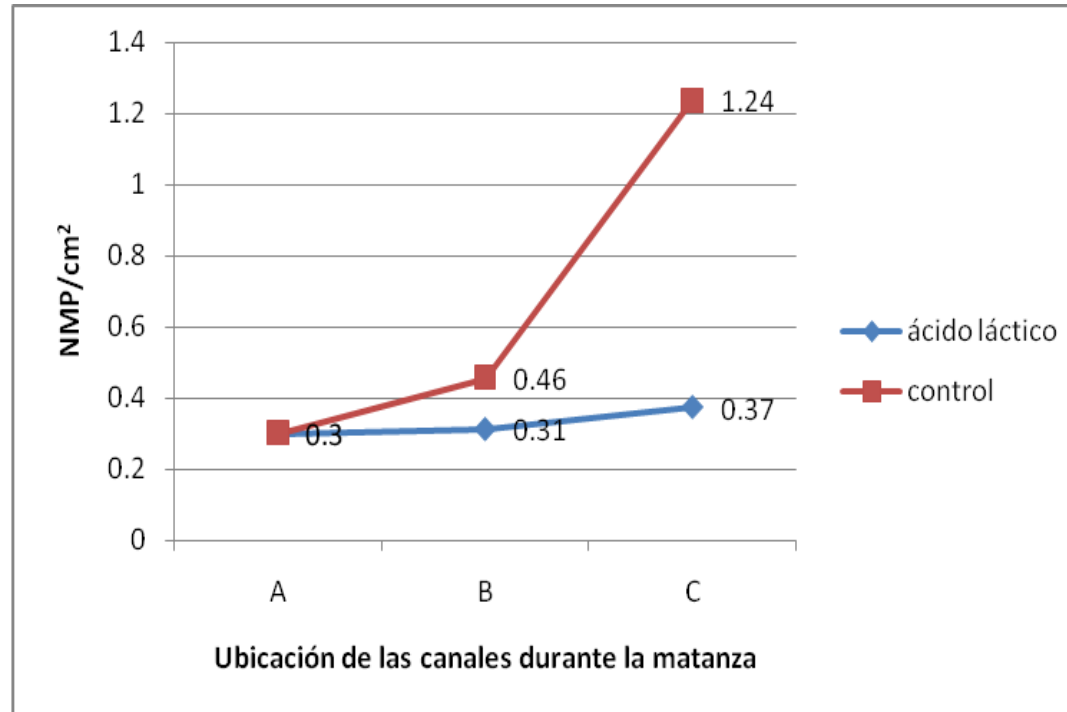
A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

Gráfica 4. Crecimiento de los coliformes totales en presencia de ozono



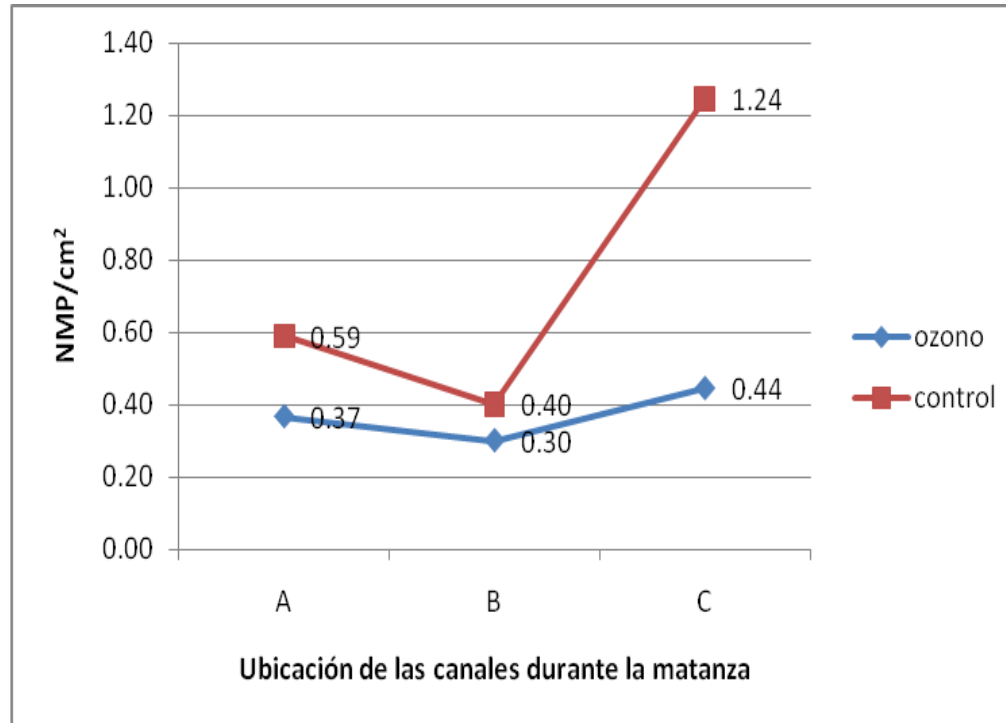
A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

Gráfica 5. Crecimiento de *E. coli* en presencia de la solución de ácido láctico al 2%



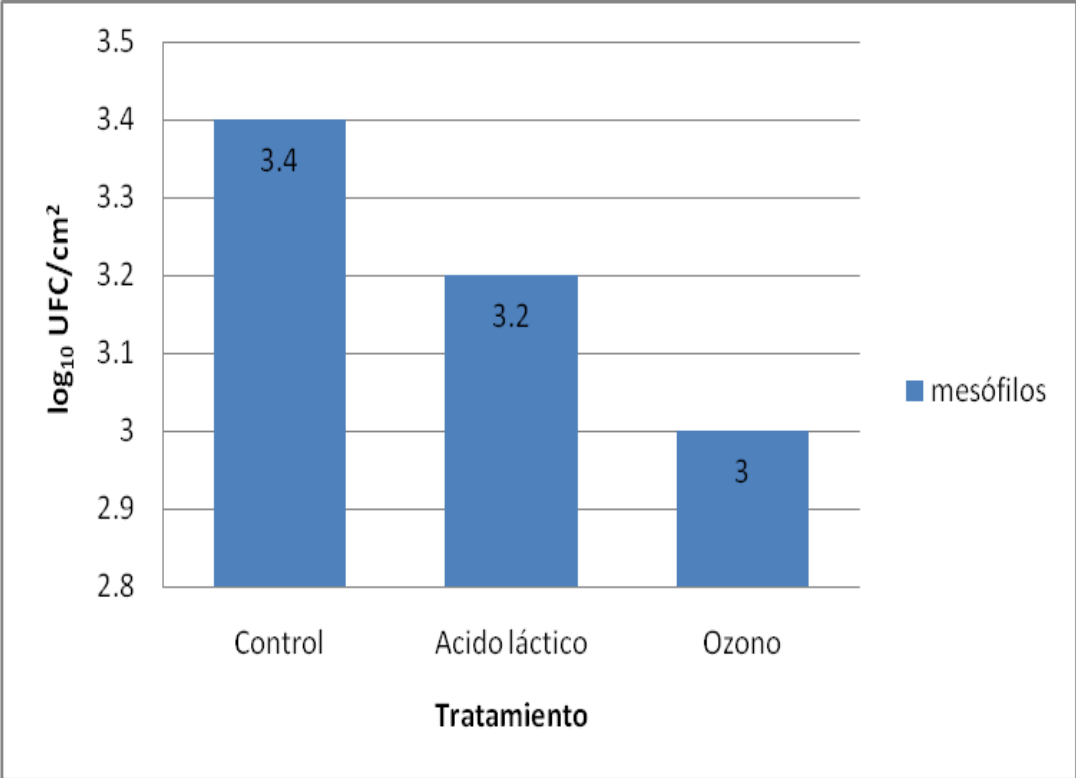
A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

Gráfica 6. Crecimiento de *E. coli* en presencia de ozono

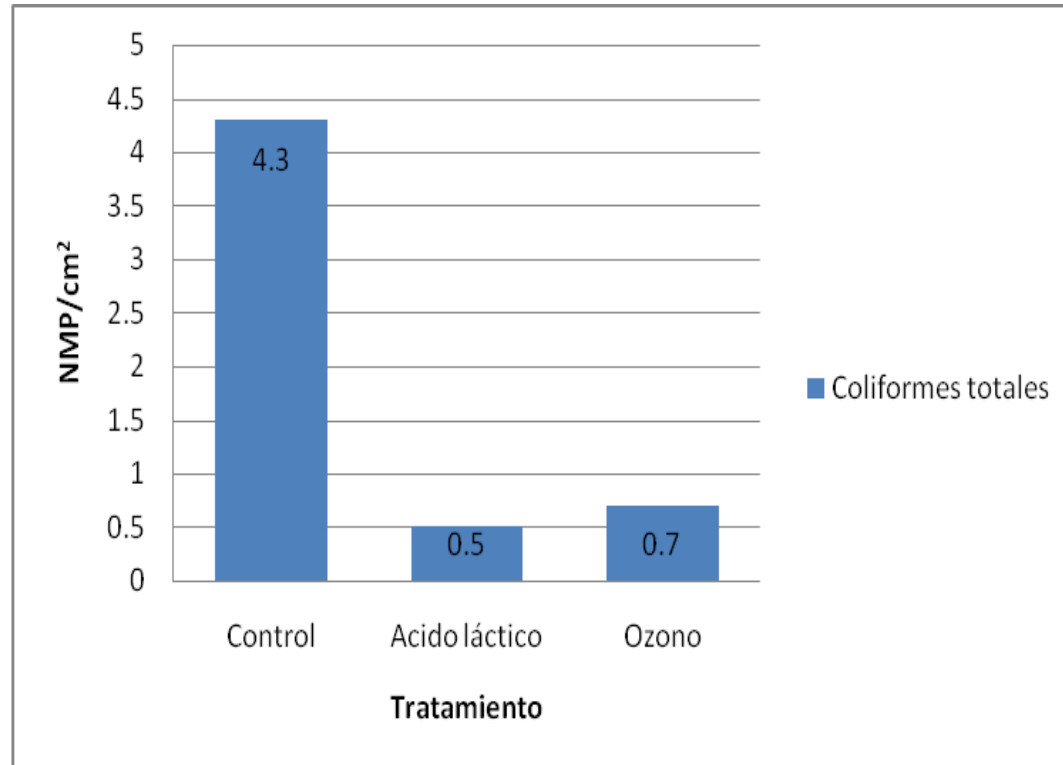


A= canales de animales que recién ingresaron al proceso, con respecto al tiempo.
B=canales de animales en el punto intermedio del proceso, con respecto al tiempo.
C=canales de animales que finalizaron el proceso, con respecto al tiempo.

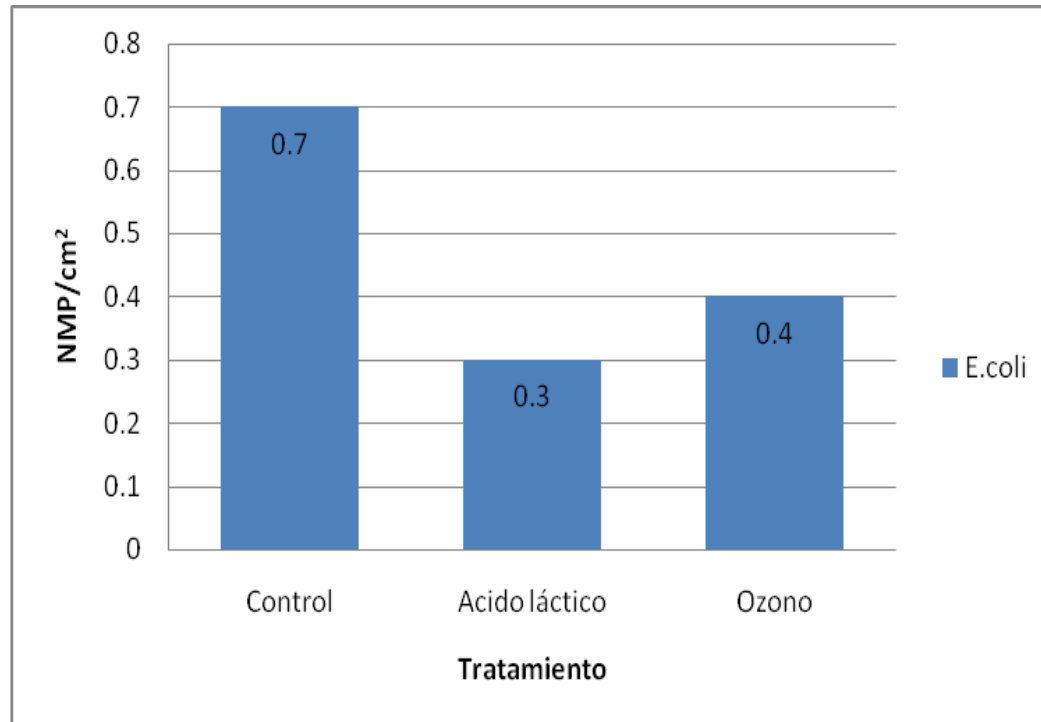
Gráfica 7. Cuantificación de las bacterias mesófilas para cada unos de los tratamientos posterior a la refrigeración



Gráfica 8. Cuantificación de los coliformes totales para cada uno de los tratamientos posterior a la refrigeración



Gráfica 9. Cuantificación de *E. coli* para cada uno de los tratamientos posterior a la refrigeración



CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la solución de ácido láctico y el ozono tuvieron mayor efectividad que el agua a presión pero no para todos los microorganismos indicadores, ya que ambos tratamientos causaron mayor reducción únicamente sobre los coliformes totales, mientras que las bacterias mesófilas y *E. coli* tuvieron más resistencia a los tratamientos.

Conforme el proceso de matanza avanzaba, la acción tanto del ácido láctico como del ozono se vio reducida por la contaminación de las diferentes actividades del proceso, ya que la carga bacteriana de las últimas canales no se vio afectada por ningún tratamiento.

La solución de ácido láctico y ozono se han venido utilizando en la industria de la carne como una medida para reducir la carga bacteriana de la carne en otros países, los cuales están incluidos durante el proceso como puntos críticos de control, tal es el caso del ácido láctico que tiene establecidos los límites críticos y equipo especializado para su aplicación, si México optara por tomar la decisión de utilizarlo sería importante adquirir o adecuar la infraestructura para cumplir con las especificaciones establecidas.

Diversos estudios en el laboratorio han demostrado la efectividad del ácido láctico y del ozono como una medida descontaminante sobre la carne; sin embargo en un rastro como en cualquier establecimiento dedicado a la manipulación de un alimento, en este caso la carne, tiene múltiples fuentes y mecanismos de contaminación, causando una efectividad limitada de cualquier medida, como lo demostró este trabajo. Concluyendo que cualquier tratamiento es poco efectivo si éste no viene acompañado de las buenas prácticas de higiene que reduzcan la contaminación microbiana.

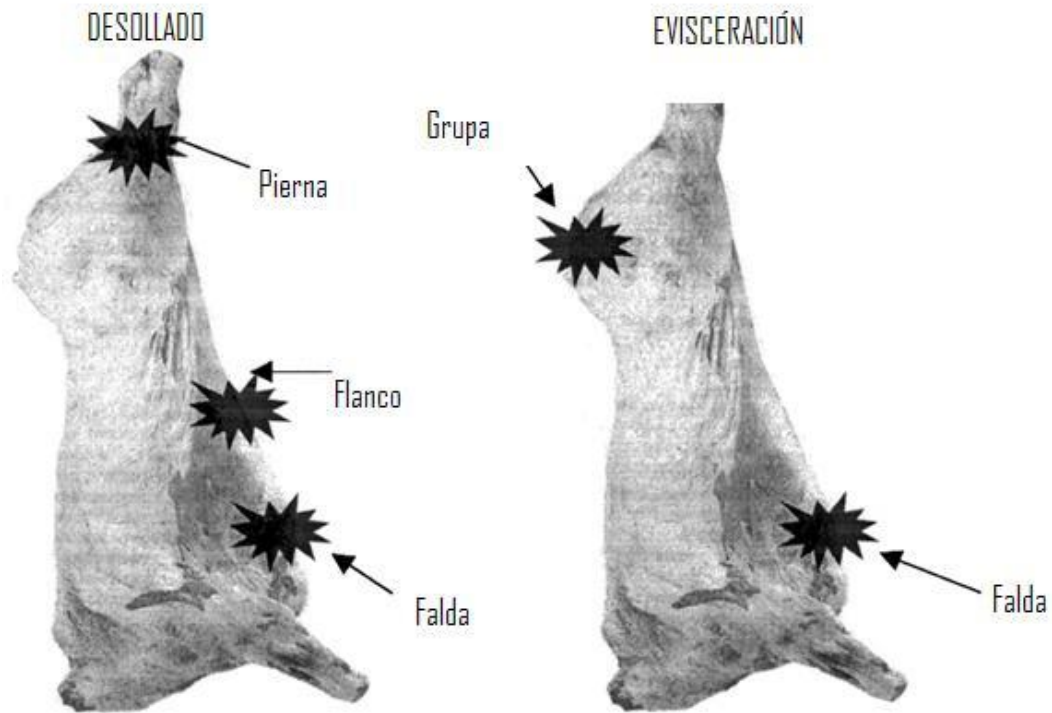
ANEXOS

Anexo 1. Correspondencia de la contaminación de la canal con operaciones concretas de la matanza

Región en la canal	A la inspección se observa:	Mala práctica de manufactura en:
Corvejón	Pequeñas y grandes manchas de estiércol, partículas de alimento y pelos	Desollado
Flanco	Pequeñas y grandes manchas de estiércol, partículas de alimento y pelos	Desollado
Pecho	Pequeñas y grandes manchas de estiércol, partículas de alimento y pelos	Desollado
Grupa	Pequeñas y grandes manchas de estiércol	Evisceración (corte y atado del recto)
Falda	Grandes cúmulos de contenido ruminal que a veces se extienden hasta el cuello	Evisceración (remoción de las vísceras)

Bolton, J.D., Doherty, M.A., Sheridan, J.J. (2001) Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *International Journal of Food Microbiology*. 66, 119–129.

Anexo 2. Regiones de la canal que se contaminan frecuentemente



Bolton, J.D., Doherty, M.A., Sheridan, J.J. (2001) Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *International Journal of Food Microbiology*. 66, 119–129.

Anexo 3. Limites críticos para la aplicación de un ácido orgánico

Concentración del ácido	2.5-10% permitido para el efecto de la dilución cuando es aplicado a la canal
pH del ácido	2.8
Temperatura	25-55°C
Presión	13.8-27.6 Pa
Volumen	500 ml
Tiempo de contacto	35 segundos

Bolton, J.D., Doherty, M.A., Sheridan, J.J. (2001) Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *International Journal of Food Microbiology*. 66, 119–129.

Anexo 4. Vida media del Ozono (O₃) en relación con la temperatura

Gaseoso

Temperatura (°C)	Vida media del O₃
-50	3 meses
-35	18 días
-25	8 días
20	3 días
120	1.5 horas
250	1.5 segundos

Estos valores son basados en la descomposición térmica únicamente. No incluye datos como humedad o carga orgánica.
http://www.ozoneapplications.com/info/ozone_properties.htm

Anexo 5. Solubilidad del ozono según su concentración y su relación con la temperatura

O₃ GAS	5° C	10° C	15° C	20° C
1.5%	11.09	9.75	8.40	6.43
2%	14.79	13.00	11.19	8.57
3%	22.18	19.50	16.79	12.86

http://www.ozoneapplications.com/info/ozone_properties.htm

Anexo 6. Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio

Producto	<i>E. coli</i> UFC/g*
Congelado	No aplica
Refrigerado	1000
Carne molida refrigerada	5000

*como microorganismo indicador

Anexo 7. Comisión Europea. Reglamento no 2073/2005. Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios

Categoría del alimento	Microorganismo	Límite		Fase en la que se aplica el criterio
		m	M	
Canales bovinas, ovinas, caprinas y equinas	Recuento de bacterias mesófilas	3.5 log ufc/cm ² media logarítmica diaria	5.0 log ufc/cm ² media logarítmica diaria	Canales después de su faenado pero antes del enfriamiento
	Familia Enterobacteriaceae	1.5 log ufc/cm ² media logarítmica diaria	2.5 log ufc/cm ² media logarítmica diaria	Canales después de su faenado pero antes del enfriamiento

m= es la cantidad aceptable y esperable que un microorganismo puede alcanzar en un alimento.

Este valor es el reflejo de las buenas prácticas de higiene (BPH).

M=es el nivel de contaminación de riesgo o inaceptable.

REFERENCIAS

- Adams, M.R. & Moss, M.O. (1995). Microbiología de los alimentos. España: Acribia.
- Alimentariaonline. Mundo Lácteo y Cárnico. (2005). El ozono en la conservación de la carne. Consultado el 5 de agosto de 2008, disponible en http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC009_OZONO.pdf pp 1-9.
- Álvarez, M.C., Mendoza, E.S. (2005). Manual básico de bacteriología. (2ª ed). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan.
- Bacon, R.T., Belk, K.E., Sofos, J.N, Clayton, Reagan, J.O., Smith, G.C. (2000). Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *Journal of Food Protection*, 63 (8), 1080-1086.
- Banwart, J.G. (1989). Basic Food Microbiology. (2ª ed). New York EUA: Avi Book.
- Bell, R.G. (1997). Distribution and sources of microbial contamination beef carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 82, 292–300.
- Belk, K.E. (2001). Beef decontamination technologies. Beef facts. Centennial, CO: National Cattlemen’s Beef Association, Research and Technical Services. Consultado el 12 de septiembre de 2006, disponible en <http://www.beefresearch.org/CMDocs/BeefResearch/ACFFC.pdf>
- Bibek, R. (2004). Fundamental food microbiology. (3a ed). Whashington DC: CRC Press.
- Bolton, J.D., Doherty, M.A., Sheridan, J.J. (2001) Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *International Journal of Food Microbiology*. 66, 119–129.
- Bosilevac, J.M., Xiangwu, N., Genevieve A.B., Terrance M.A., Koohmaraie M. (2006). Treatments using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and *enterobacteriaceae* and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on preevisceration beef carcasses. *J. of Food Prot.*, 69 (8), 1808–1813.
- Brackett, R., Hao, Y., Doyle, M. (1994). Ineffectiveness of hot acid sprays to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on beef. *J. Food Prot.*, 57, 198–203.
- Buzby, J.C., T. Roberts, Lin, C-T. J., McDondald, J. (1996). Bacterial Foodborne Disease: Medical Costs and Productivity Losses. Food and Consumer Economics Division, Economic Research Service, U.S. Department of Agriculture. Agricultural Economic Report No. 741.
- Cabedo, L., Sofos, J.N., Smith, G.C. (1996). Removal of bacteria from beef tissue by spray washing after different times of exposure to fecal material. *J. of Food Prot.*, 59 (12), 1284-1287.
- Castillo, A., Lucia, L.M., Goodson, K.J., Savell, J. W., Acuff, G.R. (1998). Comparison of water wash, trimming and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J. Food. Prot.*, 61, 823–828.

Castillo, A., Lucia, L.M., Godson, K.J., Savell, K.J., Acuff, G.R. (1999). Decontamination of beef carcass surface tissue by steam vacuuming alone and combined with hot water and lactic acid sprays. *J. Food Prot.*, (62), 146–151.

Castillo, A., Lucia, L.M., Mercado, I., Acuff, G.R. (2001). In plant evaluation of a lactic acid treatment for reduction of bacteria on chilled beef carcasses. *J. of Food Prot.*, 64, 738-740.

Castillo, A., Lucia L.M., Robertson, D.B., Stevenson, T.H., Mercado, I., Acuff G.R. (2001). Lactic acid sprays reduce bacterial pathogens on cold beef carcass surfaces and in subsequently produced ground beef. *J. Food Prot.*, 64, 58–62.

Castillo, A., Mckenzie, K.S., Lucia, L.M., Acuff, G.R. (2003). Ozone treatment for reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* serotype Typhimurium on beef carcass surfaces. *Journal of Food Protection*, 66 (5), 775-779.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). (2005). Frequently Asked Questions-Foodborne illness, 1-13. Consultado el 5 de febrero de 2009, disponible en

http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/files/foodborne_illness_FAQ.pdf

Comisión Europea. Reglamento no 2073/2005. Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Consultado el 17 de abril de 2008, disponible en <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:ES:PDF>

Cutter, C.N., Rivera-Betancourt, M. (2001). Interventions for the reductions of *Salmonella* Typhimurium DT 104 and non-O157-H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* on beef surfaces. *J Food Protection*, 63, 1326-1332.

Delmore, R.J.Jr., Sofos, J.N., Schmidt, G.R., Belk, K.E., Lloyd, W.R., Smith, G.C. (2000). Interventions to reduce microbiological contamination of beef variety meats. *J. Food Prot.*, 63(1), 44-50.

Dickson, J.C. y Anderson, M.E. (1992). Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. *J. Food Prot.*, 55:133-140.

Dirección General de Epidemiología (DGE). (2007). Consultado el 15 de diciembre de 2008, disponible en <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm>

Dormedy, E.S., Brashears M. M., Cutter, N.C., Burson, E.D. (2000). Validation of acid washes as critical control points in hazard analysis and critical control point systems. *J. Food Prot.*, 12, 1676–1680.

Doyley, M.P., and Beuchat, L.R. (2007). *Food Microbiology: fundamentals and frontiers*. (3a ed.), Washington D.C.: ASM Press.

Ellebracht, E.A., Castillo, A., Lucia, L.M., Miller, R.K., Acuff, G.R. (1999). Reduction of pathogens using hot water and lactic acid on beef trimming. *Journal of Food Science*, 64 (6), 1094-1098.

Escutia, S.I. (1991). Análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control en el procesamiento de canales de bovino para el abasto en un rastro municipal tipo del Estado de México. (Tesis) Universidad Nacional Autónoma de México.

Fernández, E.E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. México: Universidad Autónoma de Querétaro.

Food Safety and Inspection Service (FSIS). (1998). Nationwide Sponge Microbiological Baseline Data Collection Program: Cattle, 1-12.

Fratamico, P., Schultz, F., Benedict, R., Buchanan, R., Cooke, P. (1996). Factors influencing attachment of *Escherichia coli* 0157:H7 to beef tissues and removal using selected sanitizing rinses. *J. Food Prot.* 59, 453–459.

Gill, C.O., McGinnis, J.C., Badoni, M (1996). Assessment of the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *J. of Food Prot.*, 59, 136–140.

Gill, C.O. & Badoni, M. (2004). Effects of peroxyacetic acid, acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses. *Int. J. Food Microbiol.*, 91, 43–50.

Greer, G. G. and Dilts, D.B. (1992). Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogens and spoilage bacteria to organic acids. *Food Res. Int.*, 25, 355–364.

Gorman, B.M., Sofos, J.N., Morgan, J.B., Schmidt, G.R., Smith, G.C. (1995). Evaluation of hand-trimming, various sanitizing agents, and hot water spray-washing as decontamination interventions for beef brisket adipose tissue. *J. of Food Prot.*, 58(8), 899–907.

Guerrero, I. & Taylor, J.A. (1994). Meat surface decontamination using lactic acid from chemical and microbial sources. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 27, 201-209.

Guzel-Seydim, B.Z., Greene, K.A., Seydim, C.A. (2004). Use of ozone in the food industry. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 37, 453-460.

Hardin, M.D., Acuff, G.R., Lucia, L.M., Oman, J.S., Savell J.W. (1995). Comparison of methods for contamination removal from beef carcasses surfaces. *J. Food Prot.*, 58, 368-374.

Huffman, R.D. (2002). Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat science*, 62, 285-294.

Institute of Food Technologists (IFT). (2002). Expert report on emerging microbiological food safety issues, implications for control in the 21st century. Chicago, IL. Obtenido el 23 de julio de 2007, de <http://www.ift.org/cms/?pid=1000470&printable=1>

Jericho, K.W.F., Bradley, J.A., Kozub, G.C. (1995). Microbiological evaluation of carcasses before and after washing in a beef slaughter plant. *Journal of American Veterinary Medicine*, 206, 452–455.

Jericho, K.W.F., Kozub G.C., Loewen, K.G., Ho, J. (1996). Comparison of methods to determine the microbiology contamination of surfaces of beef carcasses by hydrophobic grid membrane filters, standard pour plates or flow cytometry. *Food Microbiology*, 13, 303-309.

Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. (1990). *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. A review. *J Food Prot.*, 53, 81-91.

Khadre, M.A., Yousef, A.E., Kim, J.G. (2001). Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food : a review. *Journal of food science*, 66 (9), 1242-1252.

Kalchayanand, N., Terrance, M. A., Bosilevac, M.J., Brichta-Harhay M.D., Guerini, N.M., Wheeler, L.T., *et al.* (2008). Research Note Evaluation of Various Antimicrobial Interventions for the Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 on Bovine Heads during Processing. *J. of Food Prot.*, 71 (3), 621-624.

Lahr, J.A. (1996). Beef carcass microbial contamination—post slaughter numbers of bacteria, sources of contamination and variability. In Proceedings of 49th Annual Reciprocal Meats Conference. Provo, Utah. Pp 132–137.

Ley Federal de Sanidad Animal (2007). Consultado el 15 de febrero de 2009, disponible en www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/doc/LFSA.doc

Levear, J.Y., & Bouix, M. (2002). Manual técnico de higiene, limpieza y desinfección. España: AMV Ediciones Mundi Prensa.

Moore, G., Griffith, C., Peters, A. (2000) Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. *J. of Food Prot.*, 63 (8), 1100-1106.

Moreno, G.B. (2006). Higiene e Inspección de Carnes. Vol 1. (2ª ed.). España: Acribia.

Mossel, D.A.A., Moreno, B., Struijk, C.B. (2003). Microbiología de los alimentos. (2a ed.). España, Zaragoza: Acribia S.A.

Mura, C., Chung, Y.S. (1990). In vitro transcription assay of ozonated T7 phage DNA. *Environ. Mol. Mutagen*, 16, 44-47.

Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004. Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de los animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias del producto.

Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Norma Oficial Mexicana NOM-145-SSA1-1995. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

Norma Oficial Mexicana NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne.

Norma Oficial Mexicana NOM-030-ZOO.1995. Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria.

Norma Oficial Mexicana NOM-008-ZOO-1994. Especificaciones zoosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos.

Olsen, S.E., MacKinnon, L.C., Goulding J.S., Bean, N.H., Slutsker, L. (2000). Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks — United States, 1993–1997. In: CDC Surveillance Summaries, March 17, 2000. MMWR 2000, 49(1), 1-62. Consultado el 22 de mayo de 2006, disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10789699?dopt=Abstract>

Ozone Application. (s.f.). Consultado el 3 de julio de 2008, disponible en http://www.ozoneapplications.com/info/ozone_properties.htm

Pérez, R.R., Núñez, S.A., Baluja, C., Otero, M.L. (1995). Ozonation kinetics of glucosamine and N-acetyl glucosamine in aqueous medium. *Ozone Sci Eng.*, 17(4), 463-467.

Podolak, R., Zayas, J., Kastner, C., Fung, D. (1995). Reduction of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* during storage on beef sanitized with fumaric, acetic and lactic acids. *J. Food Safety*, 15, 283–290.

Prasai, R.K., Acuff, G.R., Lucia, L.M., Hale, D.S., Savell, J.M., Morgan, J.B. (1991). Microbiological effects of acid decontamination of beef carcasses at various locations in processing. *J. Food Prot.*, 54,868-872.

Prasai, R.K., Kastner, C.L., Kenney, P.B., Kropf, D.H., Fung, D.Y.C., Mease, L.E., *et al.* (1997). Microbiological quality of beef subprimals as affected by lactic acid sprays applied at various points during vacuum storage. *J. Food Prot.*, 60, 795-798.

Prósperi, J.C. (1999). Utilización del ozono en descontaminación de canales. EUROCARNE, (79). Consultado el 5 de abril de 2008, disponible en <http://www.eurocarne.com/index.php?/home/index.php>

Reagan, J.O., Acuff, G.R., Buege, D.R., Buyck, M.R., Dickson, J.S., Kastner, C.L. (1996). Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. *J. of Food Prot.*, 59(7), 751–756.

Rodriguez, J.G. (2006). Development of a carcass sanitizing spray system for small and very small slaughterhouses. (Tesis). Texas A&M University. U.S.A.

Sebranek, J. (2008). Calidad e inocuidad. El uso del ozono como un antimicrobiano. Consultado el 23 de junio de 2008, disponible en <http://www.meatingplace.com/MembersOnly/technology/details.aspx?item=1452>

SENASICA. Establecimiento Tipo Inspección Federal. (s.f.) Consultado el 21 de julio de 2008, disponible en [//148.243.71.63/default.asp?id=743](http://148.243.71.63/default.asp?id=743)

SIAP-SAGARPA (2007). Directorio Nacional de centros de sacrificio de especies pecuarias de los Estados Unidos Mexicanos. Consultado el 22 de junio de 2008, disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ventana.php?idLiga=1253&tipo=1>

Signorini, P.M., Civit, G.S., Bonilla, P.M., Cervantes, R.M.E., Calderón, V.M., Pérez, M.A., *et al.* (2006). Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipales. Consultado el 23 de noviembre de 2008, disponible en http://www.cofepris.gob.mx/pyp/alim/LIBRO_RASTROS_MEXI.pdf

Signorini, P.M., Civit, G.S., Bonilla, P.M., Cervantes, M.E. (2005). Guía para la administración de rastros y mataderos municipales. Consultado el 23 de noviembre de 2008, disponible en http://www.cofepris.gob.mx/pyp/alim/quia_administracion_rastros.pdf

Smith, D.C., Belk, E.K., Sofos N.J., Scanga, A.J., Kain, L.M., Smith, C.G. (2001). Effects of Activated Ozone, As a Decontamination Intervention, When Applied to Hides, Carcasses, and to Ground Beef During Blending. 1-4. Consultado el 23 de noviembre de 2008, disponible en <http://ansci.colostate.edu/content/view/10/>

Smulders, F.J.M., Barendsen P., van Logtestijn J. G., Mossel D.A.A., and van der Marel G.M. (1986). Lactic acid: considerations in favors of its acceptance as a meat decontaminant. *J. Food Technol.*, 21, 419–436.

Smulders, F.J.M., Greerb G.G. (1998). Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmers for muscle foods: prospects and controversies. *Inter. J. of Food Microbiol.*, 44, 149–169.

Snijders, J.M., van Logtestijn, J.G., Mossel, D.A., Smulder, F.J. (1985). Lactic acid as a decontaminant in slaughter and processing procedures. *Vet Q.*, 7(4), 277-282.

Sofos, J.N., Belk, K.E, Smith, G.C. (1999). Processes to reduce contamination with pathogenic microorganisms in meat. Proceedings 45th International Congress of Meat Science and Technology. Yokohama, Japan. 45 (2), 596-605.

Terrance, M.A., Joseph, M., Bosilevac, Xiangwu, N., Shackelford, D.S., Wheeler, L.T., *et al.* (2004). *Escherichia coli* O157 Prevalence and Enumeration of Aerobic Bacteria, *Enterobacteriaceae*, and *Escherichia coli* O157 at Various Steps in Commercial Beef Processing Plants. *J. of Food Prot.*, 67 (4), 658–665.

The International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). (2000). Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración (2^a ed.). España: Acribia.

United State Department of Agriculture. Food Safety Technology: A Potential Role for Ozone? (1998). Agricultural Outlook, Economic Research Service/USDA, 13-15. Consultada el 16 de noviembre de 2008, disponible en <http://www.ers.usda.gov/publications/agoutlook/jun1998/ao252c.pdf>

Victorin, K. (1992). Review of the genotoxicity of ozone. *Mutation Research*, (277), 221-238.

Wendell, C.C., Marion, G.L. (2001). The meat we eat. (14a ed.). Danville, Illinois: Interstate Publishers.