



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Contrastación de una fermentación espontánea y
controlada con *Pediococcus acidilactici* y
Lactobacillus plantarum en la maduración de salami

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

ADRIANA DÍAZ RODRÍGUEZ

Asesores: Dra. Adriana Llorente Bousquets
M. en A. Jorge López Pérez



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Contrastación de una fermentación espontánea y controlada con *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum* en la maduración de salami

Que presenta la pasante: Adriana Díaz Rodríguez
Con número de cuenta: 303023098 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 05 de Febrero de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

| | NOMBRE | FIRMA |
|----------------------|-------------------------------------|-------|
| PRESIDENTE | M. en P. Jorge Rico Pérez | |
| VOCAL | Dra. Adriana Llorente Bousquets | |
| SECRETARIO | M. en C. María Guadalupe Amaya León | |
| 1er. SUPLENTE | I.A. Eva Teresa González Barragán | |
| 2do. SUPLENTE | M. en C. Jonathan Coria Hernández | |

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HMI/iac

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios, la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO** por abrirme sus puertas desde Bachillerato, apoyarme y brindarme todas las facilidades durante mi estancia, forjarme como profesionista con los mejores recursos y hacerme sentir parte de ella, con sangre azul y piel dorada.

A usted **Dra. Adriana Llorente Bousquets** por todo su apoyo durante mi estancia en esta institución, ayudarme y motivarme a concluir este proyecto y por creer en mí, "Muchas gracias Doctora". A mi asesor M en A. Jorge López Pérez por su contribución a este proyecto

Esta tesis forma parte de los proyectos del Taller Multidisciplinario de Ingeniería en Alimentos: Procesos Tecnológicos de Productos Cárnicos, Plan de estudio 2004 de la carrera de Ingeniería en Alimentos.

Al laboratorio 7 de Bioconservación en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Agradezco al proyecto DGAPA-PAPIME PE202010-2 "Taller de Procesos Tecnológicos y Control de Calidad de Productos Cárnicos" por el apoyo para la realización de este trabajo de tesis.

Agradezco al proyecto DGAPA-PAPIIT IT201312-3, "Aplicación de alternativas de bioconservación y conservación para mejorar la calidad de la carne y los productos cárnicos", por el apoyo para la realización de este trabajo de tesis.

Recibió apoyo del Proyecto 7.5.4: "Elaboración de alimentos a través de procesos microbianos" Macroproyecto 7 de la UNAM: "Productividad sostenible de los hatos de cría en pastoreo"

Al jurado de esta tesis, **M. en P. Jorge Luis Rico Pérez, Dra. Adriana Llorente Bousquets, M en C. María Guadalupe Amaya León, I.A. Eva Teresa Gonzáles Barragán, M en C. Jonathan Coria Hernández**, por su aportación, consejos y recomendaciones para perfeccionar este trabajo.

Por mi raza hablara el espíritu

DEDICATORIAS

“Si quieres ir rápido camina solo, si quieres llegar lejos ve acompañado”

A **Dios** porque ha sido mi mayor apoyo en todos los momentos de mi vida, por guiarme en cada etapa, dejarme crecer y ser quien soy.

A mi *mom* **María** por apoyarme desde que decidí que estudiar, aunque hubieras querido que estudiara otra cosa, por todos los sustos que pasabas cuando llegaba noche del CCH, por aceptarme tal y cual soy y por ayudarme a lograr este objetivo en mi vida.

A **Díaz** mi papá porque has sido mi inspiración desde pequeña, porque aunque no fue fácil me apoyaste junto con mi mom, por creer en mí y en lo que quiero.

A mis hermanos **Viri** y **Jr** (Moy) porque son parte de este esfuerzo, aunque los tres hemos pasado por las mismas complicaciones, nunca hemos dejado de creer en nosotros, de apoyarnos y querernos.

A **Mónica Piñón** por ser mi gran amiga, casi mi hermana porque ni la distancia, ni el tiempo se han hecho presentes, por tu apoyo y por siempre creer en mí; y junto con **Denisse Arlem** hacerme tener los mejores recuerdos que pudiese tener, los quiero.

A **Alma D. Gutiérrez Mendoza** porque sin ti el CCH no hubiera sido lo mismo, por compartir tantas experiencias y sueños, porque nuestra amistad dure muchos más años y siempre creíste en mí. Gracias por compartir este objetivo.

A **Angie Martínez** porque desde el primer momento me brindaste tu amistad, siempre me apoyabas con las tareas, gracias por compartir este camino conmigo y

junto con **Oli** (cosita) vivimos muchos buenos y malos momentos, gracias por su apoyo incondicional. Las admiró y quiero muchísimo. A **Clau**, gracias porque no ha habido momento en que no me apoyes.

A **Tania Edith, Elo** y **Aniwas** por hacerme parte de un excelente equipo de trabajo, por tantas aventuras, risas y desvelos, por enseñarme a sobrevivir con café. ¡¡GRACIAS!! Por compartir tantas materias, que sin su apoyo, me habría sido mucho más complicado concluir este objetivo. Sobre todo por su amistad, ustedes han sido unas personitas que se han robado mi corazón

A mi amigo, profesor y jurado **Jonathan Coria**, gracias por tu apoyo para concluir este proyecto, te admiró; eres un excelente ser humano, muchas gracias por tu amistad y porque has creído en mí. ¡Te quiero!

A **Ivon** (Bombón) por brindarme tu amistad, tu buena vibra y por todo tu apoyo para lograr este proyecto "Gracias", a **Eve** por tus consejos, "eres sabia", a **David Yos** por tantas asesorías tecnológicas, sin ti no hubiera podido concluir muchos proyectos, gracias por escucharme y por tu amistad, a **Fabiru** por hacerme crecer como persona por ayudarme a superar mis miedos, por esas clases de Orgánica, a **Churu** gracias por tu amistad. "Los quiero Chic@s"

A **Mario Felipe**, por ser un buen compañero y excelente amigo, a **Abraham Ojeda** por tus palabras de aliento y por creer en mí. ¡¡Gracias!! **Tonatiuh Del Valle** por ser mi mejor amigo y confidente, por estar aunque me "aislé". ¡TE QUIERO!

A mi súper equipo de LEM IV, gracias a los chicos de maestría del L-7 de la UIM-FESC por su apoyo a la realización de este proyecto. A **Ricardo** (Werito) por tu apoyo al proyecto, gracias por tantos buenos momentos, risas, calorías, pelis, por esos regaños, gracias por quererme y por tu amistad; y a **Idalia** (Werita) por compartir conmigo tanta tolerancia a la frustración, por ser mi equipo y por tu amistad con buenos y malos momentos, gracias por apoyarme. ¡¡LOS ADORO!!

ÍNDICE

| | |
|--|--------|
| ÍNDICE DE CUADROS..... | VIII |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | IX |
| ABREVIATURAS..... | XI |
| Resumen | - 1 - |
| Introducción..... | - 2 - |
| I. Marco Teórico..... | - 3 - |
| 1.1. Carne | - 4 - |
| 1.2. Técnicas de conservación en derivados cárnicos..... | - 5 - |
| 1.2.1. Bioconservación | - 5 - |
| 1.2.2. Fermentación cárnica espontánea | - 7 - |
| 1.2.3. Salami | - 8 - |
| 1.2.4. Fermentación cárnica controlada..... | - 10 - |
| 1.3. Cultivos iniciadores | - 10 - |
| 1.4. Efecto de la bioconservación en la calidad del producto | - 12 - |
| 1.4.1. <i>Pediococcus acidilactici</i> | - 12 - |
| 1.4.2. <i>Lactobacillus plantarum</i> | - 13 - |
| 1.5. Evaluación de la calidad de derivados cárnicos..... | - 14 - |
| 1.5.1. Potencial de hidrogenoides (pH) | - 14 - |
| 1.5.2. Acidez titulable..... | - 15 - |
| 1.5.3. Actividad de agua (a_w)..... | - 17 - |
| 1.5.4. Resistencia a la deformación | - 18 - |
| 1.5.5. Parámetros de perfil de color | - 19 - |
| 1.5.6. Cuenta de mesófilos aerobios (BAT) en placa | - 22 - |
| 1.6. Antecedentes de la investigación..... | - 24 - |
| Justificación | - 26 - |
| Objetivos | - 27 - |

| | |
|--|--------|
| Hipótesis | - 28 - |
| II. Metodología Experimental | - 29 - |
| 2.1 Manejo y preparación de los inóculos de cultivos iniciadores | - 32 - |
| 2.2 Proceso de elaboración de los lotes experimentales | - 34 - |
| 2.2.1 Acondicionamiento de las materias primas | - 35 - |
| 2.2.2 Formulación de lotes experimentales | - 35 - |
| 2.3 Elaboración de lotes experimentales | - 35 - |
| 2.3.1 Descripción del proceso | - 36 - |
| 2.4 Medición de parámetros de calidad | - 39 - |
| 2.4.1 Medición de pH | - 39 - |
| 2.4.2 Determinación de Acidez titulable | - 39 - |
| 2.4.3 Medición de a_w | - 40 - |
| 2.4.4 Medición de los parámetros del perfil de color | - 41 - |
| 2.4.5 Medición de resistencia a la deformación | - 42 - |
| 2.5 Análisis estadístico | - 45 - |
| III. Análisis y Discusión de Resultados | - 46 - |
| 3.1 pH | - 47 - |
| 3.2 Acidez titulable | - 50 - |
| 3.3 a_w | - 53 - |
| 3.4 Resistencia a la deformación | - 55 - |
| 3.5 Parámetros de perfil de color | - 57 - |
| 3.5.1 Cambios totales en color (ΔE^*) | - 58 - |
| 3.5.2 Croma (C^*) | - 59 - |
| 3.5.3 Ángulo hue ($^\circ\text{hue}$) | - 60 - |
| 3.6 Cuenta de Mesófilos Aerobios Totales | - 62 - |
| Conclusiones | - 64 - |
| Bibliografía | - 67 - |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|--------|
| Cuadro 1 Formulación de salami..... | - 35 - |
| Cuadro 2 pH de salamis de los diferentes lotes..... | - 47 - |
| Cuadro 3 ANOVA dos vías para pH..... | - 48 - |
| Cuadro 4 Acidez (%) de salamis de los lotes | - 50 - |
| Cuadro 5 ANOVA 2 vías para acidez | - 51 - |
| Cuadro 6 a_w de salamis de los lotes | - 53 - |
| Cuadro 7 ANOVA 2 vías para a_w | - 53 - |
| Cuadro 8 Resistencia a la deformación (kgf) de los salamis de los lotes | - 55 - |
| Cuadro 9 ANOVA 2 vías para resistencia a la deformación..... | - 55 - |
| Cuadro 10 Valores promedio de L^* | - 57 - |
| Cuadro 11 Valores promedio de a^* | - 57 - |
| Cuadro 12 ΔE^* de los salamis en función a la adición de M.O. al día 11 | - 58 - |
| Cuadro 13 ΔE^* de los salamis en función al tiempo de maduración al día 11 | - 58 - |
| Cuadro 14 Valores de croma al día 11 de salamis de los lotes..... | - 59 - |
| Cuadro 15 ANOVA simple para croma | - 59 - |
| Cuadro 16 Prueba de Tukey de croma en salami..... | - 60 - |
| Cuadro 17 Valores del ángulo hue de salamis de los lotes al día 11 | - 60 - |
| Cuadro 18 ANOVA simple para ángulo hue | - 61 - |
| Cuadro 19 Cuenta de mesófilos aerobios en placa..... | - 62 - |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|--------|
| Figura 1 Modelo CIEL*a*b* | - 19 - |
| Figura 2 Reacciones de nitrato y nitrito en la carne fermentada que conducen al pigmento rojo de la curación..... | - 21 - |
| Figura 3 Variación del contenido de M.O. durante la maduración del embutido crudo .- | 22 - |
| Figura 4 Cuadro Metodológico | - 30 - |
| Figura 5 Diagrama de Bloques | - 31 - |
| Figura 6 Reconstitución de pellets de cepas ATCC en caldo MRS..... | - 32 - |
| Figura 7 Verificación de la identidad y pureza de las cepas empleadas | - 33 - |
| Figura 8 Preparación del inóculo para los lotes de salami | - 33 - |
| Figura 9 Centrifugación de los cultivos iniciadores para los salamis | - 34 - |
| Figura 10 Carne de res y cerdo para la elaboración de los lotes | - 34 - |
| Figura 11 Panceta de cerdo | - 34 - |
| Figura 12 Acondicionamiento de las materias primas | - 35 - |
| Figura 13 Cutter modelo HOBART | - 36 - |
| Figura 14 Incorporación de los aditivos | - 36 - |
| Figura 15 Lote fermentación espontánea | - 37 - |
| Figura 16 Adición del cultivo iniciador y lote con <i>Lactobacillus plantarum</i> | - 37 - |
| Figura 17 Tripa de cerdo para embutir en solución de ácido láctico (5%) | - 37 - |
| Figura 18 Molino TOR REY adicionado con un embudo | - 38 - |
| Figura 19 Embutido de lotes experimentales | - 38 - |
| Figura 20 Lotes de salamis en cámara climática BINDER | - 38 - |
| Figura 21 Potenciómetro Oakton con electrodo de bulbo de inmersión | - 39 - |
| Figura 22 Materiales y montaje del material para determinar acidez titulable | - 40 - |
| Figura 23 Titulación de lotes experimentales | - 40 - |
| Figura 24 Calibración del higrómetro de punto de rocío Pa _w kit..... | - 40 - |
| Figura 25 Medición de a _w de los lotes experimentales | - 41 - |
| Figura 26 Espectrofotómetro KONICA MINOLTA CM-600d..... | - 41 - |
| Figura 27 Arreglo matricial de los parámetros de perfil de color de los lotes experimentales | - 42 - |
| Figura 28 Muestras para la resistencia a la deformación de los lotes experimentales | - 43 - |
| Figura 29 Preparación de serie de diluciones decimales..... | - 44 - |
| Figura 30 Diluciones decimales de la muestra de cada lote experimental..... | - 44 - |

| | |
|--|--------|
| Figura 31 Cuenta de mesófilos aerobios totales en placa de salami | - 45 - |
| Figura 32 Producción de ácido láctico..... | - 49 - |
| Figura 33 Efecto del tipo de fermentación sobre el pH durante la maduración | - 49 - |
| Figura 34 Efecto del tipo de fermentación sobre la acidez | - 52 - |
| Figura 35 Efecto del tipo de fermentación sobre a_w | - 54 - |
| Figura 36 Efecto del tipo de fermentación sobre la resistencia a la deformación..... | - 56 - |
| Figura 37 Cuenta de Mesófilos Aerobios en placa..... | - 63 - |

ABREVIATURAS

| | |
|--------------------------------|--|
| ΔE^* | Cambios totales en color |
| a_w | Actividad de agua |
| BAL | Bacterias Acido Lácticas |
| BAT | Bacterias Aerobias Totales |
| CIE | <i>Comission Internationale de l'Eclairage</i> |
| HP | Caballos de fuerza |
| kgf | Kilogramos fuerza |
| M | Molar |
| MOD. | Modelo |
| MRS | Man, Ragosa y Sharpe |
| NaOH | Hidróxido de sodio |
| No | Número |
| NOM | Norma Oficial Mexicana |
| pH | Potencial de hidrogeniones |
| TIF | Tipo Inspección Federal |
| UFC/mL | Unidades Formadoras de Colonias por mililitro |
| UFC/g | Unidades Formadoras de Colonias por gramo |
| UV | Ultravioleta |

RESUMEN

La bioconservación es una de las estrategias de conservación de alimentos, mediada por la aplicación de cultivos iniciadores o por la microbiota láctica presente, en la elaboración de productos madurados. Es una práctica que permite el desarrollo de características sanitarias y sensoriales deseables por el consumidor, las condiciones de proceso durante la fermentación y maduración, requieren cuidados especiales para evitar la presencia de microorganismos alterantes. Aunque la fermentación es uno de los métodos más antiguos de conservación de alimentos es hasta el siglo XVIII que se identificaron los fenómenos que ocurren en el control de la microbiota presente. En este trabajo se buscó realizar una contrastación entre productos cárnicos crudos fermentados por dos vías, fermentación *espontánea* favorecida por la microbiota de origen presente en la carne y fermentación *controlada* mediante la adición de cultivos iniciadores, *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 o *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. Los lotes de embutidos crudos madurados tipo salami se elaboraron a base de carne de res con dos ciclos de congelación-descongelación, proveniente del cuarto delantero de bovino de cruza europea, de dos años de edad, alimentados con granos y carne y lardo de cerdo. La fermentación-maduración se llevó a cabo en condiciones de HR (90%) y temperatura ($11\pm 1^\circ\text{C}$) durante 11 días. Los resultados más relevantes indican que el lote que produjo mayor cantidad de ácido láctico fue de **0.379%** en el inoculado con *L. plantarum*, respecto de **0.321%** en el lote con *P. acidilactici* y de **0.364%** en el lote sin iniciador. El menor pH fue de 4.34 y se obtuvo en el lote con *L. plantarum*, donde el lote con *P. acidilactici* alcanzó pH de 4.54, tras 11 días y el lote sin iniciador 4.63. Los valores de a_w fueron de 0.84 en el lote con *L. plantarum*, 0.86, el adicionado con *P. acidilactici* y el lote sin iniciador 0.85. El lote que desarrolló mayor dureza al día 11 de fue el inoculado con *L. plantarum*, con 2.14kgf y 1.86kgf en el de *P. acidilactici* y 1.85 kgf el lote sin inóculo. En cuanto a los parámetros de perfil de color se encontró que el ΔE^* de los tres lotes al día 11, interpretado como el cambio total de color durante los 11 días de proceso fue de 65.44 para *L. plantarum*, de 63.62 para el de *P. acidilactici* y de 50.53 el lote de salamis sin inocular, sin embargo al comparar los ΔE^* obtenidos en los lotes inoculados por cada uno de los cultivos iniciadores y como referencia el no inoculado, los valores de ΔE^* en los salamis con *L. plantarum* fue de 5.2 y con *P. acidilactici* de 2.57, esto indica que los lotes con *L. plantarum* permiten la percepción de mayor color, seguido del lote con *P. acidilactici*. El C^* mostró una diferencia altamente significativa al comparar los lotes con y sin iniciador, con mejores resultados en los lotes con fermentación controlada; mientras que para $^{\circ}\text{hue}$ los resultados más elevados fueron en el lote con *P. acidilactici* (43.62). Cabe resaltar que la cuenta de bacterias aerobias totales disminuyó en 2 log UFC/g en los salamis con *L. plantarum*, sin embargo en ambos lotes, con *P. acidilactici* y en el lote donde se favoreció el desarrollo de la microbiota de origen, disminuyó tan sólo 1log UFC/g.

INTRODUCCIÓN

Las Buenas Prácticas de Producción Pecuaria tienen como objetivo integrar los principios de seguridad y calidad de un alimento, desde su producción primaria, establecimientos de manejo y envasado, dirigidas a mejorar la inocuidad de los alimentos, la producción y el bienestar animal. Un manejo *ante-mortem* inapropiado de los animales genera estrés en éstos, lo cual afecta la calidad final de la carne. También debe tenerse en cuenta el manejo sanitario de la carne, retardando así el crecimiento de la microbiota presente, donde el centro térmico no debe superar los 7 °C. El manejo antes del sacrificio (*ante*), durante y después del sacrificio (*post-mortem*), afecta la calidad de la carne, asimismo los procesos bioquímicos y enzimáticos que se llevan a cabo en el músculo durante su transformación en carne, tienen efecto sobre las características físicas y fisicoquímicas (Forrest, 1979). La composición química de la carne fresca y sus características, permiten el desarrollo de microorganismos alterantes y patógenos, que disminuyen el tiempo de vida útil y algunos producen toxinas. En este sentido se han desarrollado procedimientos complementarios de conservación, que junto con el uso de la refrigeración, consiguen aumentar la vida útil y garantizar la calidad sanitaria de la carne fresca tales como: La tecnología de barreras implica el uso de diferentes técnicas de conservación, como; potencial Redox, temperatura, pH, acidificación, actividad de agua, y la microbiota competitiva entre otros, esto con el fin de reducir el impacto en las características sensoriales y nutricionales del alimento. La aplicación de bacterias ácido lácticas (BAL) como cultivos iniciadores lleva al desarrollo de fermentaciones controladas, asimismo, el control de la microbiota presente, favorece fermentaciones espontáneas (Vásquez, et al., 2009) (Hernández, et. al., 2014). Las BAL producen ácido láctico entre otros ácidos orgánicos, confiere al producto cárnico crudo un sabor característico y la fermentación de productos cárnicos es muy importante ya que en esta fase ocurre la disminución del pH que lleva a cambios importantes como la estabilidad de los pigmentos propios de la carne, así como la desnaturalización de las proteínas que lleva al desarrollo de las características sensoriales del producto (Fernández, et al. 2010,).

I. MARCO TEÓRICO

1.1. Carne

Es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas para el consumo humano (NOM-009-Z00-1994).

La alimentación y el manejo antes del sacrificio influyen sobre las características de la carne, los animales no deben de cansarse, acalorarse, excitarse, acosarse, encelarse ni tener hambre o sed. La conversión del músculo en carne es un proceso complejo que implica muchos cambios bioquímicos y que van a ser afectados por factores relacionados con el manejo antes, durante y posterior al sacrificio (Hui, et al., 2001).

El pH de la carne disminuye tras el sacrificio como consecuencia del desdoblamiento enzimático del glucógeno (azúcar muscular) en ácido láctico de esta manera de acidifica y madura la carne. La velocidad de desarrollo de proceso de acidificación depende también de la temperatura y de la cantidad suficiente de glucógeno. Del pH depende el color de la carne; asimismo como consecuencia del curso de pH resulta influida la formación del color en los embutidos crudos (Coretti, 1986). La contracción del músculo y el descenso de temperatura durante el rigor *mortis* ocurre el denominado "acortamiento por el frío" donde el músculo se expone a temperaturas bajas en un intervalo de 0-10 °C donde la contracción *post-mortem* aumenta (Fennema, 2000).

La carne y productos cárnicos son componentes esenciales en las dietas de los países desarrollados. Su consumo es afectado por diversos factores. Los

más importantes son las características del producto (propiedades sensoriales y nutricionales, seguridad, precio, conveniencia, etc.) (Jiménez, et al., 2001).

1.2. Técnicas de conservación en derivados cárnicos

La carne es un alimento perecedero debido a su alto contenido de agua y a la presencia de nutrientes tales como proteínas que hacen que sea un ambiente ideal para el crecimiento y la propagación de microorganismos, alterantes y patógenos. Un número de factores relacionados entre sí influye en la vida útil y mantenimiento de la calidad de la carne, especialmente la temperatura, el oxígeno, las enzimas endógenas, la humedad, la luz y lo más importante, los microorganismos. Todos estos factores solos o en combinación, pueden dar lugar a cambios químicos de deterioro de la carne relacionados con proteólisis, lipólisis, oxidación, el crecimiento bacteriano es, el factor más importante en relación con la calidad de conservación de la carne fresca.

Por tanto, es esencial que las tecnologías de conservación adecuadas se apliquen para mantener su seguridad y a calidad. La conservación de la carne se basa principalmente a la inhibición de deterioro microbiano, aunque se busca también reducir al mínimo otros cambios químicos degradativos debido a la gran actividad enzimática que posee asimismo cambios en el color y cambios oxidativos (Zhou, et al., 2010).

1.2.1. Bioconservación

La fermentación se definió por Louis Pasteur como "*La vie sans l'air*" (la vida sin aire) (Bourdichon, et al., 2012).

Hoy en día la fermentación desempeña diferentes papeles en la elaboración de alimentos tales como:

- ❖ Conservación de alimentos a través de la formación de metabolitos inhibitorios, como ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico), etanol, bacteriocinas, etc., a menudo en combinación con disminución de la actividad de agua (por secado) y la adición de sal.
- ❖ La mejora de la seguridad alimentaria a través de la inhibición de patógenos o la producción controlada de compuestos tales como aminos biogénicos.
- ❖ La calidad sensorial de los alimentos.

La bioconservación ofrece diversas condiciones para extender la vida útil y aumentar la seguridad de los alimentos, vía la microbiota natural o controlada y de la producción de metabolitos antimicrobianos. Diferentes estudios han aplicado la bioconservación mediante el uso de microbiota natural como las Bacterias ácido lácticas (BAL) aisladas de productos lácteos, cárnicos, pescados y vegetales, aprovechando las propiedades antibacterianas, atribuidas a los productos finales de su metabolismo como ácido láctico, acético, peróxido de hidrógeno, diacetaldehído, reuterina y bacteriocinas (Vásquez, et al., 2009).

Entre los metabolitos con activo antibacterial resaltan las bacteriocinas, que son un grupo heterogéneo de péptidos de bajo peso molecular que varían en el espectro de actividad, modo de acción, el peso molecular, el origen y propiedades bioquímicas (Zhou, et al., 2010).

1.2.2. Fermentación cárnica espontánea

La fermentación espontánea depende de las bacterias lácticas autóctonas (BAL) presentes en la materia prima, la caracterización y control de estos microorganismos son esenciales para la calidad sensorial y seguridad del proceso de fermentación (Beganovic, et al., 2013).

Los cultivos iniciadores autóctonos son necesarios para lograr los parámetros deseados de fermentación específicos para el tipo de producto. Se adaptan a las condiciones utilizadas por los diferentes procesos, tales como tiempo de maduración, la temperatura, la humedad relativa, pH, sales, el tipo de carne y otros ingredientes (Casquete, et al., 2011).

Desde el punto de vista microbiológico, la carga bacteriana inicial de la carne que se destina a consumo en fresco o a productos cárnicos elaborados, depende de una serie de factores:

- ❖ El animal *per sé* (especie, proporción de grasa, etc., la presencia de grasas y proteínas ejerce un efecto protector sobre los microorganismos).
- ❖ El estado del animal (ayuno, reposo, etc.).
- ❖ Hábitat del animal por ejemplo: si el animal estaba estabulado habrá gran cantidad de bacterias entéricas.

Cuando se sacrifica el animal ocurren una serie de cambios enzimáticos que influyen en la carga microbiana. La carne como tal es inicialmente estéril (si el animal está sano). Los microorganismos están en los ganglios linfáticos, y en gran concentración en el intestino y sobre la piel (Prandl, 1994). La microbiota

predominante está compuesta por *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus* y *Enterobacterias*, siendo la dos primeras las de mayor importancia (Lawrie, 1998).

La naturaleza de la contaminación de la masa depende de la microbiota propias de la materia prima. Entre los microorganismos presentes en la masa se hallan benéficas e indispensables bacterias de la maduración, microorganismos alterantes capaces de estropear los embutidos crudos o bien alterar su textura y color, pudiendo así perjudicar el olor y sabor de los productos (Coretti, 1986).

1.2.3. Salami

De acuerdo con la NOM-213-SSA1-2002, los productos cárnicos crudos madurados son aquellos sometidos a deshidratación parcial, pudiendo ser ahumados o no, sometidos durante cierto tiempo a la acción de cultivos microbianos o enzimas propios de la carne y su acción sobre azúcares añadidos o no.

El salami es la mezcla de carne cruda y tocino picados, con adición de sal común, sustancias curantes, azúcar, embutido en tripa natural o artificial. La fabricación de embutidos crudos se trabaja con carne congelada y parte refrigerada con el objeto de conseguir una mejor ligazón en la masa del embutido. El embutido crudo se prepara con carne madura y acidificada, con un pH 5.4-5.8 de estructura abierta, una carne de esta clase cede mejor su humedad durante la maduración, ahumado y desecación.

La etapa de fermentación ocupa una posición de alta relevancia ya que en esta fase ocurre la producción de ácidos orgánicos que afectan la reducción de pH y producen la desnaturalización de las proteínas cárnicas que repercuten en cambios en los parámetros de perfil de textura (aumenta la firmeza y cohesión), en paralelo la acidificación afecta también el color estabilizándolo vía las reacciones sobre la mioglobina (Cenci-Goga, et al., 2012).

El embutido crudo debe adquirir un estado de conservación, el cual se logra por medio de la maduración y desecación. La maduración depende de la temperatura, cuanto más elevada la temperatura con mayor rapidez se produce la maduración por los procesos bioquímicos y microbiológicos que resultan acelerados por el calor. Cuando se utilizan bajas temperaturas se habla de maduración lenta, el embutido crudo enrojece con mayor lentitud y tarda en ganar consistencia. Los procesos más importantes de la maduración son el enrojecimiento, ligazón y aumento de consistencia, así como la formación de olor y sabor. El enrojecimiento se extiende desde el interior hacia afuera, la técnica de maduración requiere de varios días o una semana (Coretti, 1986).

Durante la maduración de estos productos cárnicos crudos madurados ocurre la deshidratación y desarrollo de su textura final, se reduce la a_w a niveles de alrededor de 0.8 que inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos (Dalla. et al., 2006).

La maduración con cultivos iniciadores son incapaces de alterar los productos cárnicos curados, se agregan a la masa del embutido crudo con la finalidad de influir favorablemente sobre la maduración y aromatización. Los *starters* mejoran los procesos en comparación con el método convencional, acelera y

estabiliza el enrojecimiento, hacen que el pH descienda más lentamente al provocar un mayor descenso de pH, desarrolla una influencia favorable sobre la consistencia deseada, la microbiota nativa o los cultivos iniciadores empleados serán los responsables del desarrollo de características de aroma y sabor específicos (Coretti, 1986).

1.2.4. Fermentación cárnica controlada

El uso de cultivos iniciadores para la producción de salami garantizaría la obtención de productos con cualidades higiénicas y sensoriales repetibles en un tiempo de maduración más corto (Casquete, et al., 2011).

La inoculación de la mezcla del salami con un cultivo iniciador compuesto de bacterias lácticas seleccionadas (BAL), es decir, los *Lactobacillus* homofermentativo o *Pediococcus*, cocos Gram positivos, catalasa positivo (GCC), es decir, no patógenos, coagulasa negativos, mejoran la calidad y seguridad del producto final y estandariza el proceso de producción (Leroy, et al., 2006).

1.3. Cultivos iniciadores

El uso de los cultivos iniciadores (*starter*) en las fermentaciones es utilizado en la industria cárnica para garantizar la seguridad microbiológica y maduración homogénea (Bedia, et al., 2011).

Las bacterias ácido lácticas utilizadas como *starters* en la elaboración de los productos cárnicos son homofermentativas, es decir que a partir de glucosa y

otros azúcares añadidos esencialmente solo producen ácido láctico, responsable a su vez de la aceleración de la maduración. El descenso de pH favorece el enrojecimiento y la consistencia de los embutidos crudos, la acidificación también frena el crecimiento de microorganismos indeseables y contribuye al aroma (Prandl, 1994).

Los cultivos apropiados deben ser seleccionados de acuerdo a la formulación específica de la masa y la tecnología de la fermentación, ya que los factores ambientales interactúan para seleccionar un número limitado de cepas que, son suficientemente competitivos como para dominar el proceso; las especies *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus pentosus* y *Lactobacillus plantarum*, a veces se encuentran en los cultivos iniciadores comerciales para carnes, rara vez se detectan en grandes cantidades en salami fermentados espontáneamente debido a su competitividad inferior en comparación con, *Lactobacillus sakei* o *Lactobacillus curvatus* (Leroy, et al., 2006).

Las bacterias ácido lácticas reductoras de nitratos en los embutidos crudos se pueden transformar cuantitativamente en la microbiota dominante de la maduración. Los microorganismos ácido lácticos atacan los componentes azucarados presentes en la carne y añadidos a la masa de los embutidos crudos, de los que obtienen la energía necesaria para su metabolismo, convirtiéndolas principalmente en ácido láctico y en menor cantidad otros subproductos (Coretti, 1986).

1.4. Efecto de la bioconservación en la calidad del producto

Los compuestos naturales se han investigado para sustituir a los conservantes químicos y para obtener productos de "etiqueta verde". La vida de almacenamiento se prolonga y la seguridad se incrementa mediante el uso de la microbiota natural o controlada, de los cuales las bacterias del ácido láctico (BAL) y sus productos antimicrobianos tales como el ácido láctico y bacteriocinas se han estudiado ampliamente. Las bacteriocinas son un grupo heterogéneo de proteínas antibacterianas que varían en el espectro de actividad, modo de acción, el peso molecular, el origen genético y propiedades bioquímicas (Zhou, et al., 2010).

Los aspectos tecnológicos positivos de esta acidificación son varios: la inhibición de la microbiota (patógena y alterante), deshidratación más rápida y una textura mejorada a través de la desnaturalización y coagulación de las proteínas, la activación de proteasas musculares y enrojecimiento a través de la formación de óxido nítrico y nitrosilmioglobina (Bedia, et al., 2011).

1.4.1. *Pediococcus acidilactici*

Una de las BAL más importantes en alimentos, es el *Pediococcus*, se ha descrito como un grupo de bacterias Gram (+), inmóviles, no encapsuladas, homofermentativa utiliza la ruta Embder-Meyerhoff-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en 2 moles de ácido láctico además produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa, anaerobias facultativas, cuyas células esféricas forman principalmente tétradas, aunque también se les encuentra formando pares. Son catalasa negativo y no son patógenas a plantas y animales (Huertas, 2010).

Las colonias varían de 1 a 2.5 mm de diámetro, son lisas redondeadas, de color blanco grisáceo. Todas las especies crecen a los 30 °C, pero las temperaturas óptimas se encuentran entre 25 y 40 °C (Rivera, 2004). *Pediococcus acidilactici* crece de forma óptima a 30 °C, con un máximo de tolerancia hasta 52 °C, se destruye por calentamiento a los 70 °C por 10 min. Produce ácido láctico a partir de glucosa, galactosa, arabinosa, maltosa, manitol, dextrinas; algunas lo producen también a partir de sacarosa y lactosa (Llorente, 1998).

1.4.2. *Lactobacillus plantarum*

El género *Lactobacillus* está comprendido por bacterias en forma bacilar de 1 a 10 µm, comúnmente se asocian en cadenas cortas, son bacterias microaerófilas, heterofermentativa; que a partir de 1 mol de glucosa forma 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂ (Huertas, 2010), catalasa y citocromo negativos; Gram (+), inmóviles, no encapsuladas. La temperatura óptima de crecimiento ésta entre 30 y 40 °C.

Considerando la importancia de las BAL en la fermentación de productos cárnicos y de las especies de *Lactobacillus plantarum*, comúnmente presentes en la microbiota natural de embutidos fermentados, se han empleado cepas de esta especie en la elaboración de embutidos tipo salami, para mejorar la calidad y garantizar la seguridad y las propiedades del producto, incluyendo el sabor, color y para acortar el tiempo de maduración (Texpa, 2009).

1.5. Evaluación de la calidad de derivados cárnicos

Las bacterias ácido lácticas cumplen numerosas tareas en la fermentación de la carne, de importancia superior es el descenso del pH que resulta en sabor ácido, preservación, seguridad higiénica, la textura y el apoyo de enrojecimiento. También producen aroma y pueden ejercer adicionalmente efectos tales como la reducción de nitrato y nitrito, así como la destrucción de peróxidos (Hammes, 2012).

La carne es reconocida como uno de los alimentos más perecederos. Esto es debido a su composición química que favorece el crecimiento microbiano a niveles inaceptables que contribuyen significativamente al deterioro de la carne por ello la evaluación del uso de BAL en el salami donde la fermentación y la deshidratación de la carne se han utilizado durante siglos para evitar que el deterioro a temperatura ambiente (Doulgeraki, et al., 2012).

1.5.1. Potencial de hidrogenoides (pH)

El pH se define como el logaritmo de la concentración de iones hidrogeno, H^+ :

$$pH = -\log [H^+] \dots\dots\dots ec (1)$$

Donde $[H^+]$ es la concentración de iones hidrogeno en moles por litro. Debido a que los iones H^+ se asocian con las moléculas de agua para formar iones hidronio, H_3O^+ . El pH se puede determinar midiendo el potencial eléctrico que se origina en ciertos electrodos sumergidos en la disolución (Fennema, 2000).

Condiciones para la fermentación, tales como la temperatura y tiempo de residencia en cámaras de producción, son cruciales para la maduración de embutidos. Los cambios de pH que ocurren durante el proceso son extremadamente importantes, la degradación de aminoácidos conduce a la generación de moléculas volátiles durante el procesamiento, lo que contribuye al sabor típico de los embutidos curados (Mendonça, et al., 2013).

Los embutidos fermentados listos para el consumo tienen un descenso de pH final entre 4.5 a 5.0 en el producto, este proceso favorece el crecimiento de los microorganismos (BAL) que influyen en las cualidades sensoriales y otras características clave del producto final, así mismo, ésta contribuye a la inhibición de microorganismos indeseables, acelera la reducción de nitrito a óxido nítrico, afecta el sabor del producto y facilita la capacidad de unión de la carne, mejora la firmeza y por lo tanto contribuye a la seguridad sanitaria y la calidad de los salamis (Rubio, et al., 2013).

Durante la maduración el pH disminuye desde un valor original de 5.8-6, hasta el de 5-5.2; en el embutido crudo. Cuando se agrega abundante cantidad de azúcar el pH desciende a valores inferiores de 4.7, en los que se busca un sabor intensamente ácido (Coretti, 1986).

1.5.2. Acidez titulable

El contenido de ácidos volátiles es de importancia en productos fermentados. Los ácidos orgánicos presentes en los alimentos influyen en el sabor y color. La acidez se considera al ácido orgánico más abundante del alimento, el cual varía dependiendo del producto, por lo que se expresa en términos de la cantidad del ácido dominante (Fennema, 2000).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son capaces de producir ácido láctico, producto de la fermentación de carbohidratos en el producto cárnico madurado, tanto como las BAL como el ácido láctico son clasificado como GRAS (Registro federal en 1988) para su empleo como aditivo alimentario por la FDA (Huertas, 2010).

Las bacterias ácido lácticas responsables del descenso de pH por la transformación de los azúcares en ácido láctico y la acidificación de los embutidos, produce una desnaturalización de las proteínas en la fase inicial del proceso de fermentación, provoca un descenso en el pH (López y Caballo, 1991).

La producción del ácido láctico de las BAL inhibe el crecimiento de otros microorganismos causantes de deterioro o incluso patógenos, extendiendo la vida útil de los productos y aumenta la seguridad de la carne, con influencia deseable sobre la calidad del producto (Pérez-Chabela, et al., 2008).

Los ácidos orgánicos contribuyen al desarrollo de sabor, aroma y textura de los alimentos, pero también a su estabilidad mediante la inhibición de microorganismos alterantes producidos (Vásquez, et al., 2009).

Una acidificación correcta y suficiente protege a la proteína cárnica en el embutido crudo ante la acción de los microorganismos proteolíticos, sensibles a un pH bajo y cuyo conteo disminuye durante la maduración al aumentar la acidez y elevarse el contenido de sal (Coretti, 1986).

1.5.3. Actividad de agua (a_w)

De acuerdo con la forma en que se encuentra el agua en los alimentos, el agua se divide en libre, ligada y estructural: la primera se encuentra disponible para el crecimiento de microorganismos e interviene en las reacciones hidrolíticas, químicas, enzimáticas, etc (Badui, 1999).

La reducción de la a_w incrementa la fase de latencia y reduce la velocidad de crecimiento de los microorganismos (Fennema, 2000). Con la a_w se expresa hasta qué punto los microorganismos disponen del agua necesaria para su actividad. En la adición de la sal la carne cede agua y con ella proteínas solubles, que entre otras cosas desempeñan importante papel en la trabazón y consistencia de la masa embutida. Al adicionar sal se reduce la a_w de la masa embutida con lo cual los microorganismos patógenos se ven perjudicados en su proliferación (Coretti, 1986).

La a_w en los productos cárnicos madurados muestra una disminución constante durante la maduración; las proteínas, grasas, materia inorgánica y el contenido de NaCl se concentran durante la maduración debido al efecto de la deshidratación (Comi, et al., 2005).

La disminución de la actividad de agua (a_w) por debajo del límite de crecimiento de la mayoría de los patógenos (<0.90) en los productos cárnicos madurados, permite un control bacteriano más eficiente dentro del concepto "tecnología de barreras" (Rubio, et al., 2013).

1.5.4. Resistencia a la deformación

La acidificación resulta de mayor interés para la ligazón y aumento de la consistencia en los embutidos crudos, los cuales deben tener textura sólida para poder cortarse en rebanadas; la ligazón es un proceso fisicoquímico en el cual las proteínas liberadas durante el picado se disuelven con la sal hallándose en un estado soluble, al descender el pH (5.3-5.4) se modifica el estado de la proteína a gel donde se permite la agregación de las diferentes partículas del embutido con lo que se consolida la masa del embutido, se produce un fenómeno de exudación que hace que el embutido adquiera mayor consistencia. Al progresar la exudación aumenta la consistencia y el embutido se va haciendo cada vez más firme hasta que alcanza un estado de desecación (Coretti, 1986).

La actividad proteolítica de las BAL propias de la carne demostraron la capacidad para hidrolizar proteínas de carne participando así también para el proceso de formación del sabor y características sensoriales deseables en la fermentación espontánea del salami (Comi, et al., 2005).

Los ácidos orgánicos contribuyen al desarrollo de sabor, aroma y textura de los alimentos (Vásquez, et al., 2009). El ablandamiento se ha atribuido a la degradación proteolítica de la estructura muscular por la relación entre la actividad proteolítica, cambios en las proteínas miofibrilares, la estructura del colágeno y las propiedades mecánicas de la carne (Coretti, 1986).

1.5.5. Parámetros de perfil de color

En 1976 la *Comisión Internationale de l' Eclairage* (CIE) desarrolló el modelo de color $L^*a^*b^*$ (Figura 1); podemos identificar cada color de forma precisa mediante sus valores a^* y b^* y su brillo L^* , donde:

- ❖ L^* : es el eje de la luminosidad, $L^* = 0$ negro y $L^* = 100$ blanco
- ❖ a^* : valores positivos indican rojo y negativos verde
- ❖ b^* : valores positivos indican amarillo y negativos azul

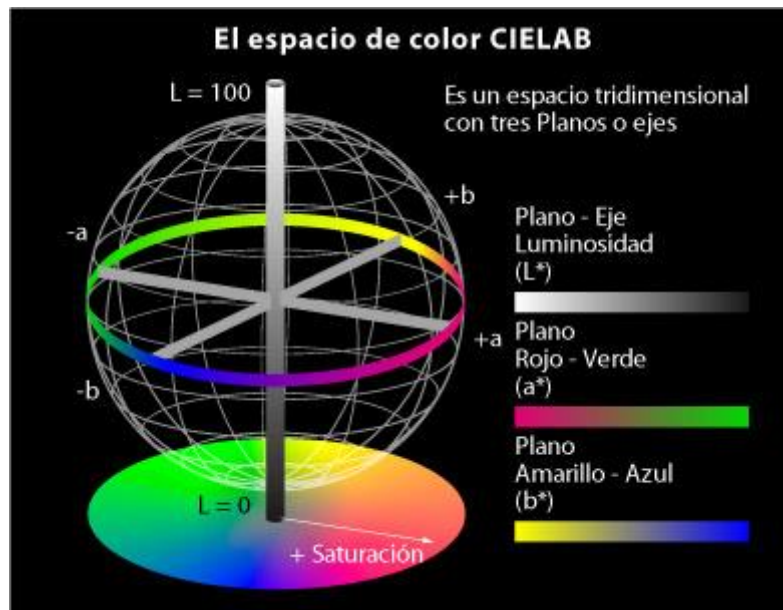


Figura 1 Modelo CIEL^{*}a^{*}b^{*}

Fuente: <http://www.gusgsm.com>

- ❖ Ángulo hue, se define como un atributo de color que nos permite distinguir el rojo del azul, y se refiere al recorrido que hace un tono hacia uno u otro lado del círculo cromático. Valores altos indican

menos rojos y más metamioglobina, útil para indicar los cambios en el color durante el tiempo.

- ❖ Croma, representa la pureza o intensidad de un color particular, la viveza o palidez del mismo, donde valores altos indican mayor saturación del tono de la muestra.
- ❖ ΔE^* : es la distancia entre los dos puntos dentro del espacio de color $L^*a^*b^*$, un observador medio sólo puede percibir diferencias superiores a 5 o 6 ΔE^* .

A pesar de las propiedades deseadas, la seguridad de nitrito a la salud humana ha sido cuestionada, ya que pueden causar la formación de N-nitrosaminas cancerígenas, su formación sólo puede ocurrir bajo ciertas condiciones fuertemente ácidas (Cenci-Goga, y otros, 2012).

El uso de las mezclas de nitratos y nitritos servirá como adyuvante de procesamiento al promover la formación del color rojo característico de las carnes crudas curadas y retrasa la oxidación de lípidos (De Mey, et al., 2014).

Con respecto al curado, es de significado especial que el NaCl reacciona con el nitrito y forma NOCl, que es un agente de nitrosilación más fuerte que el nitrito en sí (figura 2), el efecto del nitrito en la formación de color característico es prominente entre los cambios sensoriales que ocurren en el proceso de curado (Hammes, 2012).

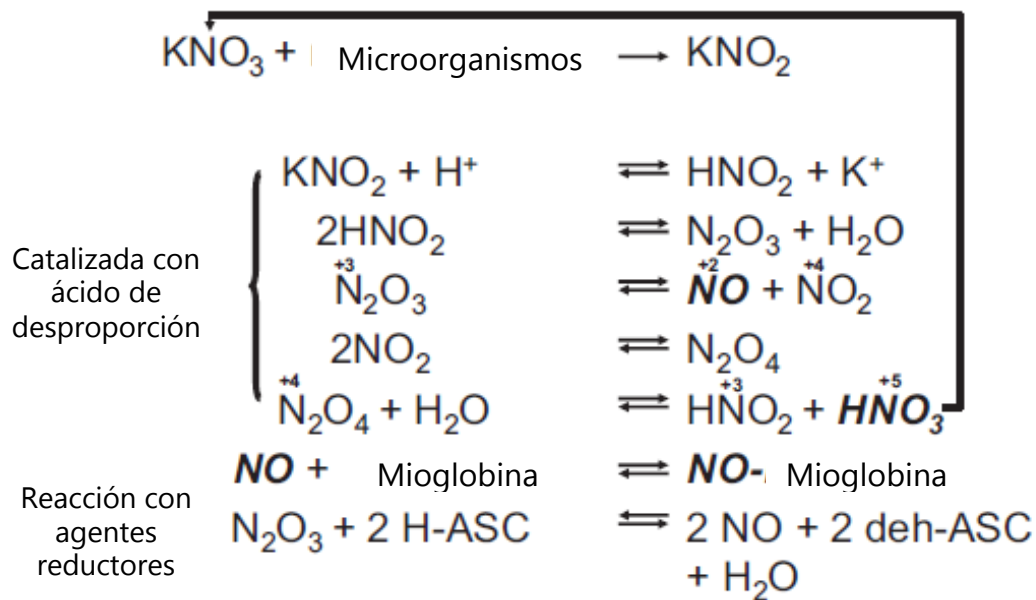


Figura 2 Reacciones de nitrato y nitrito en la carne fermentada que conducen al pigmento rojo de la curación

Fuente: Hammes, 2012.

A un pH inferior a 5.5 se descomponen los nitritos bajo la acción de ácidos y microorganismos, sobre todo en óxido nítrico (NO); una parte de los compuestos nitrogenados se pierde en el metabolismo microbiano. Se une el óxido nítrico con la mioglobina para formar Nitroso-mioglobina (NO-Mb) que constituye el rojo de curado (Coretti, 1986).

Los *starters* evitan defectos en el proceso originados por bacterias alterantes, que se manifiesta en cambios indeseables de color. El enrojecimiento se extiende desde el interior hacia afuera, la técnica de maduración requiere de varios días o una semana. Las bacterias ácido lácticas reductoras de nitratos en los embutidos crudos se pueden transformar cuantitativamente en la microbiota dominante de la maduración (Coretti, 1986).

1.5.6. Cuenta de mesófilos aerobios (BAT) en placa

Los microorganismos presentes en la masa cárnica se hallan benéficas e indispensables bacterias de la maduración (Figura 3) y microorganismos alterantes capaces de estropear los embutidos crudos o bien alterar su textura y color, pudiendo así perjudicar el olor y sabor de los productos (Coretti, 1986).

Las bacterias ácido lácticas se pueden emplear como cultivos bioprotectores para mejorar la seguridad microbiológica en productos cárnicos, ya que los recuentos de enterobacterias disminuyen durante el almacenamiento; las BAL no necesitan oxígeno para crecer, son tolerantes al CO₂, concentraciones altas de sal, nitritos y toleran pH bajos (Pérez-Chabela, et al., 2008).

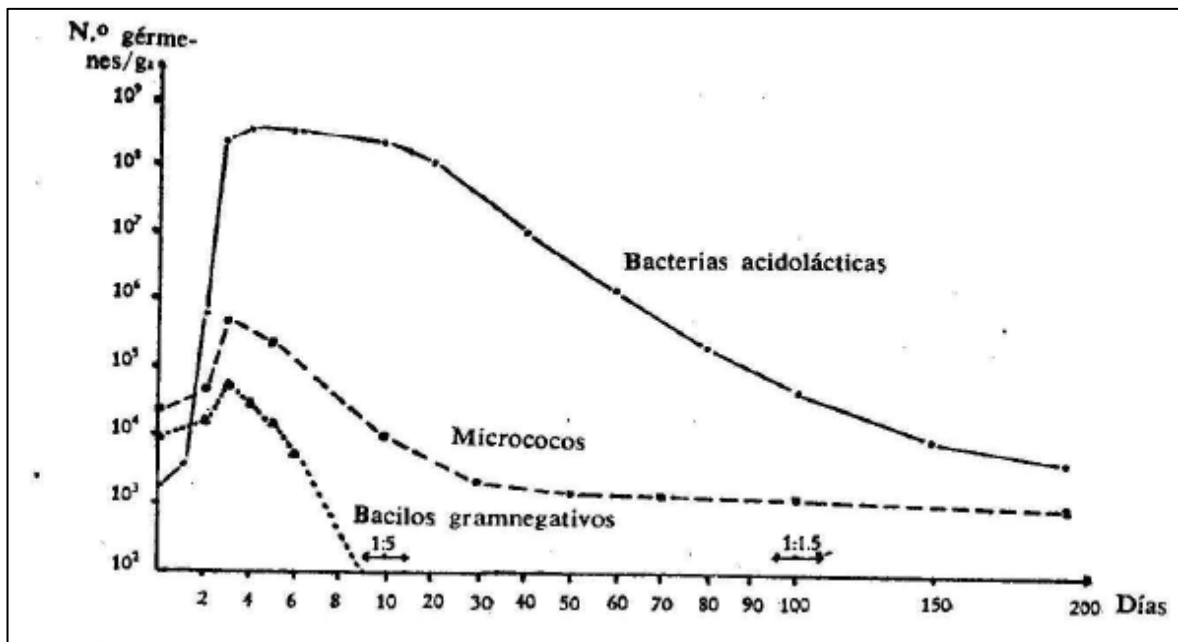


Figura 3 Variación del contenido de M.O. durante la maduración del embutido crudo

Fuente: Hammes, 2012.

De acuerdo con la NOM-213-SSA1-2002 de productos y servicios para productos cárnicos; la cuenta de mesófilos aerobios (UFC/g) no aplica para productos cárnicos crudos curados madurados y de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1999 no pone en evidencia a todos los tipos de microorganismos presentes, la variedad de especies por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento , oxígeno disponible, etc.

Una acidificación correcta y suficiente protege a la proteína cárnica en el embutido crudo ante la acción de los microorganismos proteolíticos (microbiota presente), sensibles a un pH bajo y cuyo conteo disminuye durante la maduración al aumentar la acidez y elevarse el contenido de sal.

1.6. Antecedentes de la investigación

En el presente trabajo se tienen como antecedentes los estudios realizados por:

- Dra. Adriana Llorente Bousquets (1998). Evaluó la producción de bacteriocinas de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 bajo diferentes condiciones de cultivo y se demostró que la cepa de *Pediococcus acidilactici* produce sustancias con actividad capaz de inhibir *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p y caracterizó la actividad antibacteriana de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 al identificar las sustancias responsables de este fenómeno.
- M. en C. Joaquín Rivera (2005). Al adicionar *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 como cultivo iniciador evaluó el efecto de la bioconservación elaboró lotes de salamis donde observó una disminución en la cuenta total de mesófilos aerobios, bacterias ácido lácticas y de *Staphylococcus aureus*.
- I.A. Ernesto Jacob Texpa Hernández (2009). Evaluó el efecto de la adición de cultivos iniciadores en los cambios que sufren los lípidos en embutidos cárnicos madurados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases.
- I.A. Luis Alberto Velasco Pérez (2013). Estudio el efecto de la adicción de cultivos iniciadores en el desarrollo de parámetros de perfil de textura de embutidos cárnicos madurados, donde demostró que las

formulaciones inoculadas permitieron los mejores resultados para los parámetros de dureza, adhesividad, cohesividad y elasticidad. La dureza fue mayor en los inoculados respecto a los no inoculados.

→ I.A. Rita Angélica Pulido Sánchez (2014). Evaluó el efecto de la aplicación de cultivos iniciadores en la calidad microbiológica de embutidos cárnicos crudos madurados en términos de mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales. Demostró la reducción de BAT y coliformes totales en los lotes inoculados con *Pediococcus* respecto de los no inoculados, asimismo indicó ausencia de coliformes fecales.

JUSTIFICACIÓN

Dado que los fenómenos de Bioconservación de productos cárnicos, son regulados por la microbiota presente en este trabajo se buscó evaluar el proceso de fermentación-maduración de embutidos crudos madurados al contrastar dos cultivos, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, para el caso de la fermentación heteroláctica y *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, para la fermentación homoláctica, con un tercer lote en el que se favoreció el desarrollo de una fermentación espontánea mediante la microbiota natural.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Contrastar el efecto de la adición de *Pediococcus acidilactici* o *Lactobacillus plantarum* como cultivos iniciadores en productos cárnicos crudos madurados tipo salami con la fermentación espontánea debida a la microbiota natural, para evaluar el efecto sobre los parámetros ΔE^* , Croma, ángulo hue, pH, acidez titulable, a_w , resistencia a la deformación y bacterias aerobias totales.

Objetivos particulares:

- Contrastar el efecto en productos cárnicos crudos fermentados tipo salami de la fermentación espontánea y controlada, en el desarrollo de pH, acidez titulable, a_w y resistencia a la deformación durante 11 días.
- Demostrar el efecto en productos cárnicos crudos fermentados tipo salami de la fermentación espontánea y controlada, en los parámetros de perfil de color, para obtener ΔE^* , cromas y ángulo hue durante 11 días.
- Verificar la calidad sanitaria en productos cárnicos crudos fermentados tipo salami de la fermentación espontánea y controlada, en términos de bacterias aerobias totales durante 11 días.

HIPÓTESIS

La microbiota natural de una masa cárnica incluye la presencia de bacterias ácido lácticas capaces de realizar una fermentación espontánea, entonces la fermentación controlada mediante la adición de cultivos iniciadores de las cepas de *P. acidilactici* y *L. plantarum* favorecerán mejores características de los salamis fermentados-madurados al obtener los valores de pH, acidez titulable, a_w , resistencia a la deformación, ΔE^* , Cromo, ángulo hue en tiempos menores.

II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

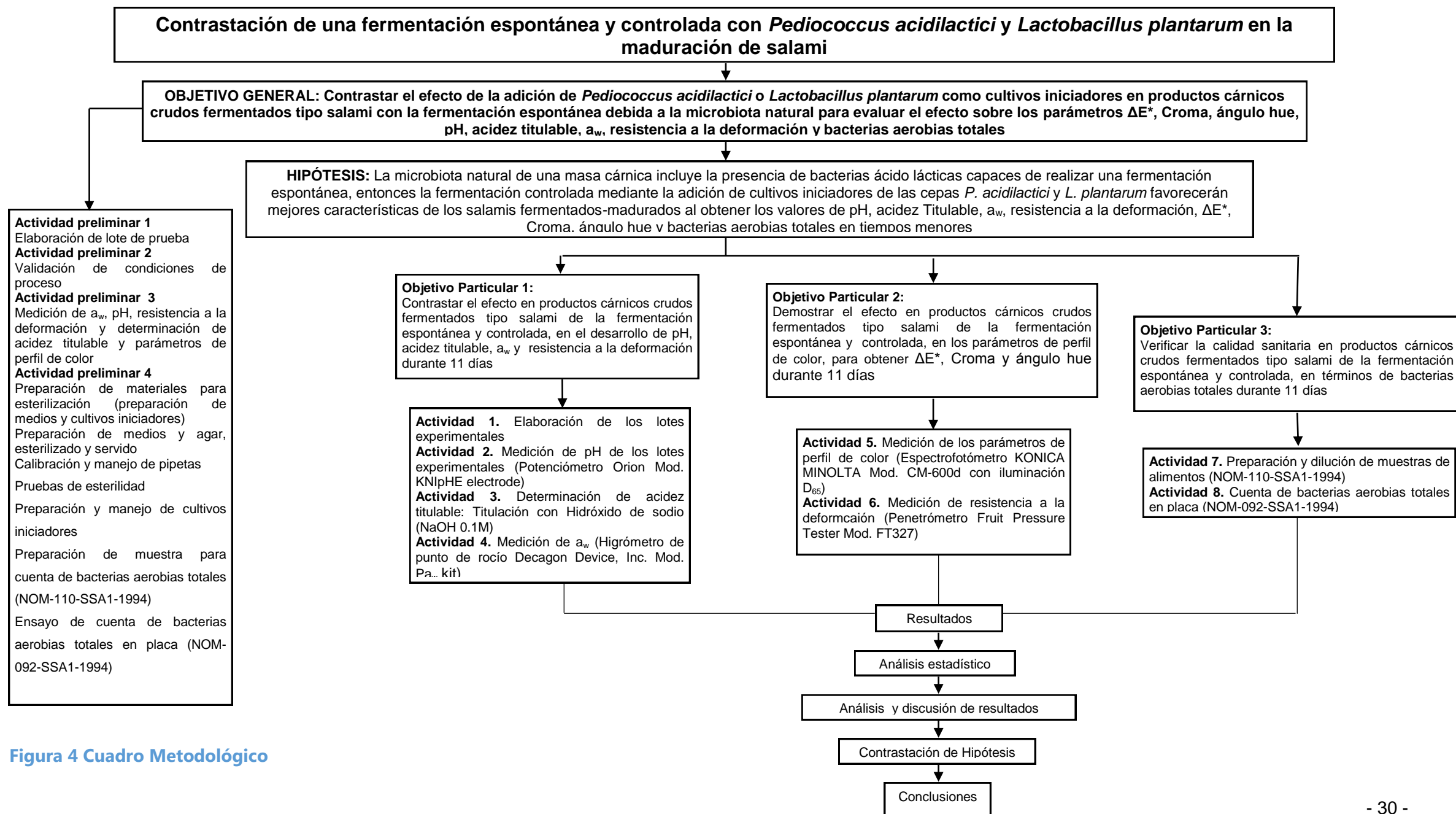


Figura 4 Cuadro Metodológico

DIAGRAMA DE BLOQUES

En la figura 5 se muestra el diagrama de proceso de elaboración de los salamis para los tres lotes experimentales (sin cultivo, con *P. acidilactici* y con *L. plantarum*).

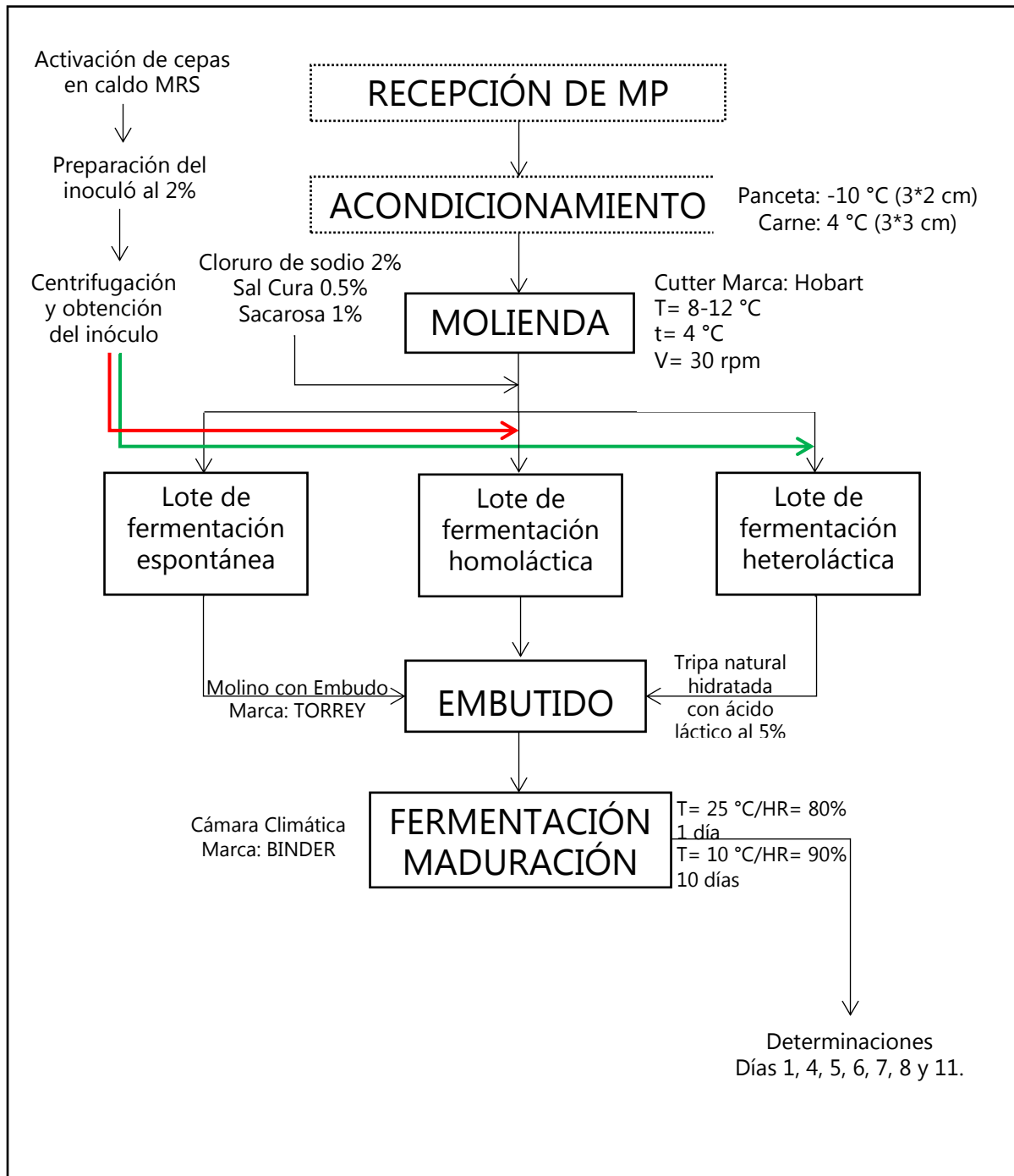


Figura 5 Diagrama de Bloques

La presente investigación se desarrolló mediante la preparación de lotes de salami, para lo cual se estableció un diseño experimental factorial 3^3 . De cada lote se prepararon 3kg de masa cárnica y previo al embutido, se adicionaron o no del iniciador como microbiota predominante, de la siguiente manera: 1) de origen (sin adición de cultivo iniciador o lote Control), 2) adicionado de *Pediococcus acidilactici* y 3) de *Lactobacillus plantarum* como iniciadores respectivamente.

Los 3 kg de masa cárnica de cada lote fue porcionada en 60 salamis de aproximadamente 50g cada uno. Todos los salamis bien identificados fueron

colocados en cámara climática BINDER (MOD. KBF 240) a $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 80% de HR, durante 24 h, tras las cuales las condiciones fueron modificadas a $10^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 90% HR durante los 11 días de proceso. Para la realización de las mediciones se tomaron tres réplicas con sus tres repeticiones para cada parámetro a evaluar. Las evaluaciones de pH, acidez titulable, a_w , los parámetros de perfil de color y cuenta de bacterias mesófilas aerobias se realizaron a partir de las 24 h de preparación de los embutidos y durante los días 1, 4, 8 y 11 se determinó pH; 1, 5, 6, 7, 8 y 11 se determinaron a_w y acidez titulable y del proceso de fermentación-maduración al día 11. La resistencia a la deformación se midió los días 1, 4, 5, 6, 7, 8 y 11 y los parámetros de perfil de color desde la preparación de los lotes o día 0, 1, 4, 5, 6, 7, 8 y 11. La cuenta de bacterias mesófilas aerobias durante los días 1, 5, 6, 7, 8 y 11.

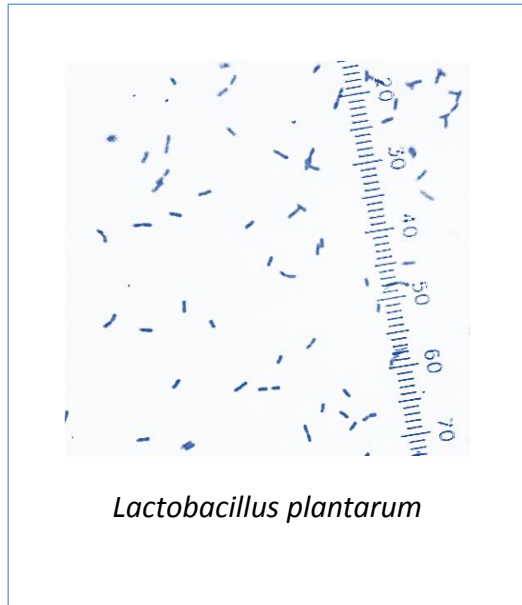
2.1 Manejo y preparación de los inóculos de cultivos iniciadores

Se cultivó cada *pellet* de las cepas liofilizadas (ATCC 8042 de *Pediococcus acidilactici* y ATCC 8014 de *Lactobacillus plantarum*) en matraces Erlenmeyer de 50 mL con 30 mL de caldo MRS modificado estéril (Figura 6), bajo condiciones de esterilidad se activaron los *pellet* y se incubaron a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 h en incubadora Quincy Lab, MOD12-140; se tomó una impronta de cada cultivo para tinción de Gram y observación al microscopio de las cepas para asegurar pureza y corroborar que se tenían cocos y bacilos gram positivos.

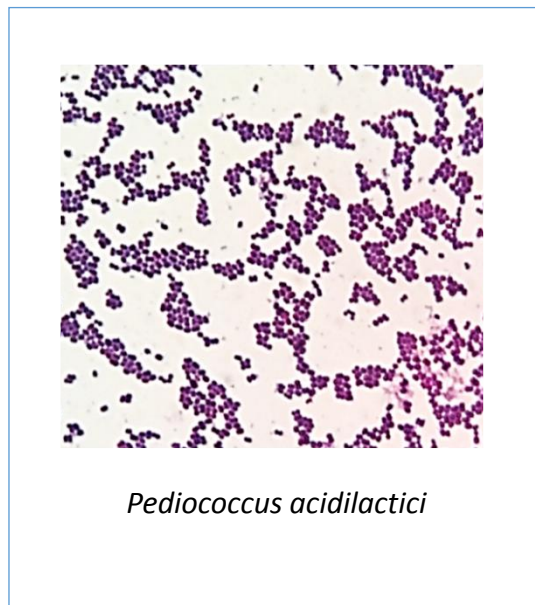


Figura 6 Reconstitución de pellets de cepas ATCC en caldo MRS

Una vez confirmado por tinción de Gram, su morfología y pureza como se observa en la figura 7, se prepararon pre inóculos al 2%, de *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, y de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 en matraces de 125 mL con 60 mL de caldo MRS estéril y se incubaron a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18 h esto de acuerdo con investigaciones anteriores se realizó la identificación de la fase logarítmica.



Lactobacillus plantarum



Pediococcus acidilactici

Figura 7 Verificación de la identidad y pureza de las cepas empleadas



Figura 8 Preparación del inoculo para los lotes de salami

Identificada la fase logarítmica se procedió a la preparación de los inóculos (figura 8) de *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, y de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, en fase logarítmica (10^9 UFC/mL). Se cosecharon por centrifugación a 6500 rpm como se observa en la figura 9 y resuspendieron en 2 mL de agua peptonada estéril para adicionar a los lotes experimentales de formulaciones cárnicas al 2% (60 mL).

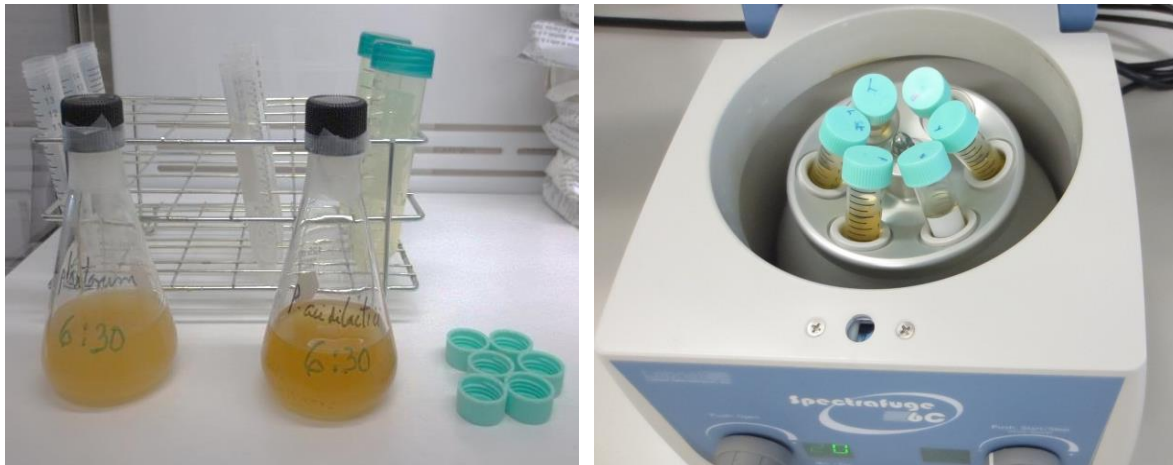


Figura 9 Centrifugación de los cultivos iniciadores para los salamis

2.2 Proceso de elaboración de los lotes experimentales

Para la elaboración de los lotes se empleó carne de res con dos ciclos de congelación-descongelación proveniente de cuarto delantero de bovino de cruza europeas, de dos años de edad, alimentado con granos. Carne de cerdo macho, de seis meses (figura 10) y tripa de cerdo salada provenientes de rastro TIF No. 94 (San Lorenzo) ubicado en el municipio de Cuautitlán Izcalli. Panceta de cerdo (figura 11). Sacarosa, NaCl, Sal Cura (0.2% Nitritos).



Figura 10 Carne de res y cerdo para la elaboración de los lotes



Figura 11 Panceta de cerdo

Para los tipos de fermentación se desarrollaron tres lotes que a continuación se describen:

1. Res-Cerdo-Panceta sin inóculo (espontánea)
2. Res-Cerdo-Panceta adicionado con *Pediococcus acidilactici* (1×10^9 UFC/g)
3. Res-Cerdo-Panceta adicionado con *Lactobacillus plantarum* (1×10^9 UFC/g)

2.2.1 Acondicionamiento de las materias primas

Para la elaboración de los lotes experimentales se procedió al acondicionamiento de las materias primas. La carne de res se encontraba en envases al vacío, congelada a -20 °C cortada en cubos de 5 cm. La carne de cerdo se recibió en pieza completa bajo condiciones de refrigeración, la cual se fue cortada en cubos de 5 cm, colocada en envases de plástico en forma de bloque; al igual que la panceta de cerdo en cubos de 3 cm como se puede observar en la figura 12.



Figura 12 Acondicionamiento de las materias primas

2.2.2 Formulación de lotes experimentales

Para el desarrollo de los salamis se utilizó la siguiente formulación (Bello y Durán, 1992).

Cuadro 1 Formulación de salami

| Ingredientes | Sin inóculo (%) | <i>P. acidilactici</i> (%) | <i>L. plantarum</i> (%) |
|----------------|-----------------|----------------------------|-------------------------|
| Carne de res | 38.5 | 38.5 | 38.5 |
| Carne de cerdo | 38.5 | 38.5 | 38.5 |
| Panceta | 19.5 | 19.5 | 19.5 |
| Sal | 2 | 2 | 2 |
| Sacarosa | 1 | 1 | 1 |
| Sal cura | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Inóculo | -- | 2 | 2 |

2.3 Elaboración de lotes experimentales

La elaboración de los tres lotes experimentales se realizó en una cutter (HOBART MOD. 84181) con capacidad de 15 kg y motor de 1 HP a 30 rpm (figura 13).



Figura 13 Cutter modelo HOBART

2.3.1 Descripción del proceso

Primero se realizó la molienda de la carne de res y cerdo (figura 14) durante un minuto y por último la panceta por 30 seg. La molienda de los diferentes tipos de carne debe realizarse a temperaturas no mayores de $5\text{ }^{\circ}\text{C} > 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar defectos en el producto. Realizada la molienda de la carne se adicionaron los aditivos en el siguiente orden NaCl, sal cura y sacarosa consecutivamente por un minuto.



Figura 14 Incorporación de los aditivos

El primer lote elaborado fue al que se identificó como fermentación espontánea debida a la microbiota de origen o *Lote Control* (figura 15).



Figura 15 Lote fermentación espontánea

En los otros dos lotes donde se adicionaron los cultivos iniciadores (*Pediococcus acidilactici* o *Lactobacillus plantarum* 1×10^9 UFC/mL) al 2 % de la formulación y se mezcló con la cutter (figura 16).



Figura 16 Adición del cultivo iniciador y lote con *Lactobacillus plantarum*

Previo al embutido de la masa cárnica, la tripa se desaló con agua durante 10 min tras lo cual se sumergió en una solución de ácido láctico al 5% por 20 s para mejorar el manejo y elasticidad (figura 17).



Figura 17 Tripa de cerdo para embutir en solución de ácido láctico (5%)

La masa cárnica se embutió con un molino (TOR REY MOD. M-2-FS), utilizando un cedazo de 10/16" acondicionado con un embudo para embutir (figura 18) y finalmente el amarre y formación de los salamis atados con hilo cáñamo estéril (figura 19).



Figura 18 Molino TOR REY adicionado con un embudo



Figura 19 Embutido de lotes experimentales

Una vez porcionados los lotes de los salamis se colocaron en una cámara climática (BINDER MOD. KBF 240) bajo condiciones constantes a 25 ± 1 °C y HR de 80% durante las primeras 24 h (Bello y Durán, 1992), los siguientes 10 días las condiciones fueron de 10 ± 1 °C y HR de 90% (figura 20).



Figura 20 Lotes de salamis en cámara climática BINDER

2.4 Medición de parámetros de calidad

Cada lote de salami durante del proceso de fermentación-maduración fue analizado en los distintos parámetros de calidad, según se indica en cada caso.

2.4.1 Medición de pH

Se determinó el pH de los salamis de cada lote con un potenciómetro con electrodo de inmersión marca OAKTON los días 1, 4, 7 y 11 del proceso (figura 21), calibrado con la solución buffer de pH (4 y 7), mediante la técnica electrométrica, 981.12 descrito en el AOAC (2000).

Se tomaron 10 g de muestra de cada réplica por cada lote experimental y se adicionaron 90 mL de agua destilada y homogenizo durante 2 min en licuadora Oster y posterior filtrado con ayuda de vacío, el filtrado se dividió en tres porciones de 25 mL cada una.



Figura 21 Potenciómetro Oakton con electrodo de bulbo de inmersión

2.4.2 Determinación de Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable, se realizó por el método (920.124) descrito en el AOAC 2000, se preparó Fenolftaleína (0.1%). Sé monto el material para la titulación con NaOH (0.1 M) como se muestra en la figura 22.



Figura 22 Materiales y montaje del material para determinar acidez titulable

Se preparó la muestra pesando 10 g de salami con 90 mL de agua destilada para su homogenización según el método descrito, se filtró la muestra y se colocó en matraces Erlenmeyer 25 mL del filtrado, se adicionaron 2 gotas del indicador (Fenolftaleína 0.1%), para llevar a cabo la titulación con NaOH (0.1 M) hasta el vire como se observa en la figura 23. La determinación se realizó los días 1, 5, 6, 7, 8 y 11 del proceso.



Figura 23 Titulación de lotes experimentales

2.4.3 Medición de a_w

La medición de a_w se realizó siguiendo el método 32.004, AOAC (2000) con un higrometro de punto de rocío portátil marca Decagon Devices, Inc. Mod. Pa_w kit, el cual se calibró con una solución NaCl (M) de a_w 0.76 en una caja Petri de metal (Figura 24 izquierda).



Figura 24 Calibración del higrometro de punto de rocío Pa_w kit

Las mediciones se realizaron en recipientes de plástico, propios del equipo, los cuales se llenaron a mitad de altura con la muestra del salami y se colocaron en la cámara para iniciar la medición según instrucciones del proveedor, el valor de a_w aparece en el display del equipo, como se observa en la Figura 25. Las determinaciones se realizaron los días 1, 5, 6, 7, 8 y 11 del proceso.



Figura 25 Medición de a_w de los lotes experimentales

2.4.4 Medición de los parámetros del perfil de color

La evaluación de los parámetros de perfil del color se realizó con un espectrofotómetro KONICA MINOLTA MOD. CM-600d con iluminación D_{65} (Luz incandescente) (Figura 26). El color de un alimento está influenciado por la absorción de la luz por las partículas del alimento, por este motivo la AMSA, 2012, establece el procedimiento bajo el cual se deben realizar estas mediciones, las cuales se realizaron los días 0, 1, 4, 5, 6, 7, 8 y 11 del proceso.

2.4.4.1 Medición de coordenadas L^* , a^* , b^*



Figura 26 Espectrofotómetro KONICA MINOLTA CM-600d

Se prepararon las muestras para análisis, según arreglo matricial (figura 27) de la siguiente manera, se tomaron tres piezas de salami, de cada una de las tres réplicas de cada formulación (Sin inóculo (1), con *Lactobacillus plantarum* (2), con *Pediococcus acidilactici* (3), en total 9 muestras y se realizó la determinación de los parámetros L^* , a^* , b^* y los cálculos para obtener ángulo hue, Croma y ΔE^* , con el Software SpectraMagic NX.

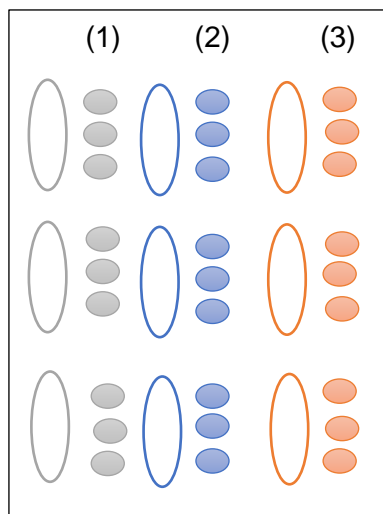


Figura 27 Arreglo matricial de los parámetros de perfil de color de los lotes experimentales

2.4.5 Medición de resistencia a la deformación

Se utilizó un Penetrómetro Fruit Pressure Tester y punta de 11 mm de diámetro Figura 28 (b), las determinaciones se realizaron días 1, 4, 5, 6, 7, 8 y 11 del proceso.

Se prepararon las muestras para análisis, según arreglo matricial (figura 28a) de la siguiente manera, se tomaron cinco piezas de salami, de cada una de las tres réplicas de cada formulación (Sin inóculo (1), con *Lactobacillus plantarum* (2), con *Pediococcus acidilactici* (3), en total 15 muestras.

Se prepararon 5 rebanadas de 1 cm de espesor de cada formulación como se muestra en la figura 28 (a), se insertó la punta de 11mm de diámetro al penetrómetro, donde esta punta se colocó sobre cada muestra presionando progresiva y gradualmente de tal forma que la aguja se moviera por secciones hasta que a través del dinamómetro proporcionara el valor de la máxima lectura, que es la que se tomó como medida.

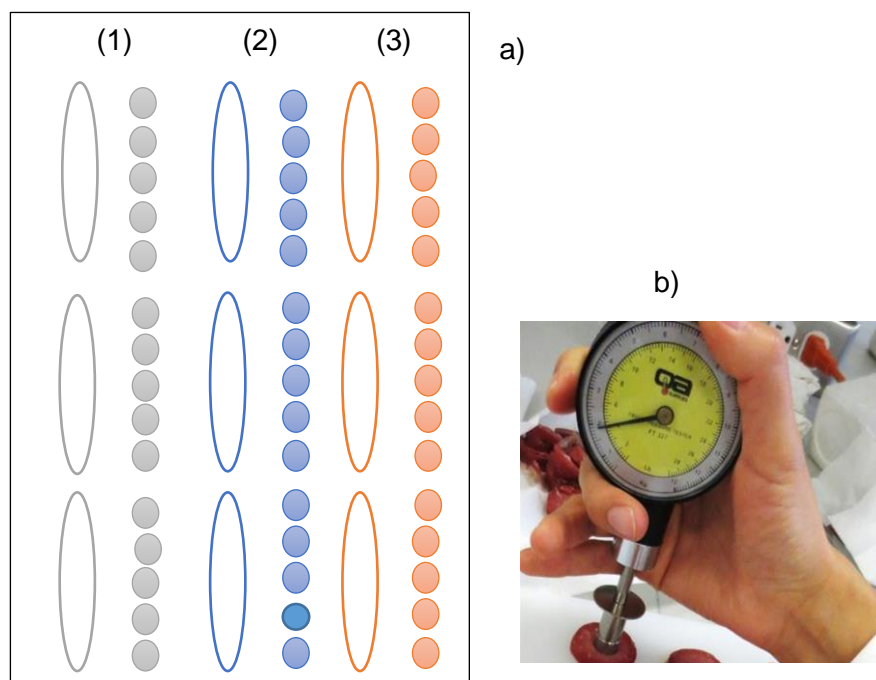


Figura 28 Muestras para la resistencia a la deformación de los lotes experimentales

2.4.6 Determinación de la cuenta de mesófilos aerobios totales en placa

2.4.6.1 Preparación de material, Agar Triptona-Extracto de Levadura y agua peptonada

Se prepararon para cada día 900 mL de Agar Triptona-Extracto de Levadura (NOM-092-SSA1-1994), 300 mL de agua peptonada y 54 tubos con agua peptonada de 9 mL (NOM-110-SSA1-1994). Las cuales se esterilizaron junto con una probeta de vidrio de 100 mL y cajas de puntas (1000 μ L) a 121 ± 1 °C por 15 min. En autoclave marca Hiramaya. Se utilizaron cajas Petri estériles desechables.

Se desinfectaron licuadoras y cuchillos con una solución de cloro a 200 ppm durante 30 min, después se colocaron bajo luz U.V. por 10 min.

2.4.6.2 Preparación de la muestra

Para realizar la preparación de la muestra de acuerdo con la NOM-110-SSA1-1994 una vez que se preparó agua peptonada para la dilución primaria (90 mL) y las nueve diluciones decimales (9 mL) para cada modelo experimental; la cual paso la prueba de esterilidad a 35 ± 2 °C



Figura 29 Preparación de serie de diluciones decimales

Se pesaron 10 g de muestra de cada replica (para cada lote experimental) en la licuadora desinfectada con 90 mL de agua peptonada estéril y se homogenizó por 1 min para obtener la dilución primaria (figura 29).

Se colocaron de manera horizontal 9 tubos con agua peptonada estéril (9 mL), para realizar las diluciones decimales; se tomó 1 mL de la dilución primaria con pipeta automática y se vertió en el primer tubo con agua peptonada realizando así la primera dilución decimal, se cerró el tubo y se mezcló por unos segundos; se tomó 1 mL de la primera dilución decimal y se repitió dicha operación hasta la novena dilución bajo campana laminar y utilizando puntas estériles para cada dilución guardando así condiciones de esterilidad (figura 30). Esta operación se realizó por duplicado según la norma.



Figura 30 Diluciones decimales de la muestra de cada lote experimental

2.4.6.3 Siembra en profundidad

Se determinó la cuenta de mesófilos aerobios totales mediante siembra en profundidad, de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994, tomando 1 mL de cada dilución decimal y colocándolos en cajas Petri estériles, con un duplicado para cada

dilución, adicionando de 12 a 15 mL de Agar Triptona-Extracto de Levadura a temperatura no mayor de 40 °C.

Para lograr una completa incorporación de la muestra en el medio, se realizaron 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás hacia adelante, sobre una superficie lisa y horizontal, cuidando evitar su derrame. Una vez gelificadas las cajas, se colocaron invertidas en la incubadora a 35 ± 2 °C durante 48 ± 2 h.

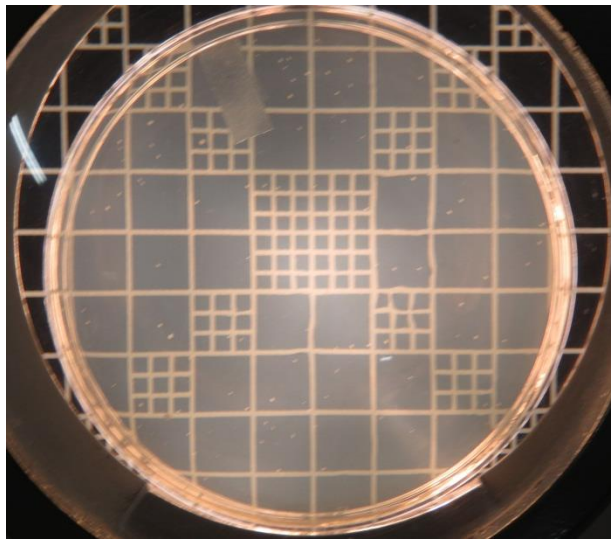


Figura 31 Cuenta de mesófilos aerobios totales en placa de salami

De cada lote de salami se tomaron dos piezas y se les cuantificó los mesófilos aerobios totales (figura 31) los días 1, 5, 6, 8 y 11 del proceso de fermentación-maduración. De cada pieza se realizó un duplicado de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994.

2.5 Análisis estadístico

Los datos experimentales se recopilaron en una hoja de Office Excel 2010 y se utilizaron para el análisis estadístico ANOVA de dos vías, para pH, acidez titulable, a_w , resistencia a la deformación y cuenta de mesófilos aerobios. Los parámetros del perfil de color, obtenidos según los lineamientos de uso de AMSA, 2012, por espectrofotometría de reflectancia: Cromo y ángulo hue se analizaron mediante ANOVA de una vía y se aplicó prueba de Tukey. En paralelo se utilizaron los parámetros L^* , a^* , b^* , y se calculó el ΔE^* promedio de los lotes para su análisis.

Los promedio de los resultados de la cuantificación de mesófilos aerobios se graficaron con Office Excel 2010. Se utilizó el software MINITAB 14 para los análisis estadísticos.

III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentan los análisis estadísticos y discusión de los resultados obtenidos durante la experimentación para cada variable evaluada, mediante análisis de varianza, promedios de las medias y gráficos según el caso.

3.1 pH

La medición de los valores de pH se recopiló en el cuadro 2 donde se muestra una disminución de pH desde el día 1 al 11 del proceso de fermentación-maduración, siendo la fermentación con *Lactobacillus plantarum* la de mayor descenso en comparación con la fermentación espontánea y con *Pediococcus acidilactici*.

Cuadro 2 pH de salamis de los diferentes lotes

| DÍA | Control (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
|------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 5.87 | 5.84 | 5.08 |
| 4 | 4.84 | 4.91 | 4.60 |
| 7 | 4.57 | 4.65 | 4.35 |
| 11 | 4.63 | 4.59 | 4.34 |

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa MINITAB versión 14 en el cual se ingresaron los datos recopilados durante la experimentación con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$) en un ANOVA de dos vías, donde los tratamientos son los lotes: sin adición de cultivo iniciador (Lote Control) en el caso de la fermentación espontánea, adición de *P. acidilactici* en la homoláctica y de *L. plantarum* en la heteroláctica; y los bloques fueron asignados al tiempo de fermentación-maduración y se plantearon dos pruebas de hipótesis:

Para Tratamientos:

$$H_0 = \mu_{CONTROL} = \mu_{HOMOLÁCTICA} = \mu_{HETEROLÁCTICA}$$

$$H_1 = \text{no se acepta } H_0$$

Para Bloques:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_4 = \mu_7 = \mu_{11}$$

$$H_1 = \text{no se acepta } H_0$$

Cuadro 3 ANOVA dos vías para pH

| | SC | GL | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 0.4168 | 2 | 9.30 | 0.015 |
| Día | 2.3322 | 3 | 34.67 | 0.000 |
| Error | 0.1345 | 6 | | |
| Total | 2.8836 | 11 | | |

El ANOVA de dos vías (cuadro 3), muestra un valor de significancia $P=0.015$ para tratamientos y $P=0.000$ para días, por lo que se rechaza la hipótesis nula H_0 en tratamientos y bloques debido a que el valor P es menor que α , indicando que en al menos una de las medias es diferente y por lo tanto existe diferencia significativa estadísticamente en los valores de pH.

Al disminuir los valores de pH se asegura la calidad microbiológica del salami y ocurre la desnaturalización de las proteínas que ayuda a las características sensoriales deseables en el producto (Coretti, 1986).

Los cambios de pH en el lote 1 son más notorios al no controlar el tipo de fermentación en comparación con los otros lotes y se debe de considerar que el comportamiento del pH en estos productos es aleatorio.

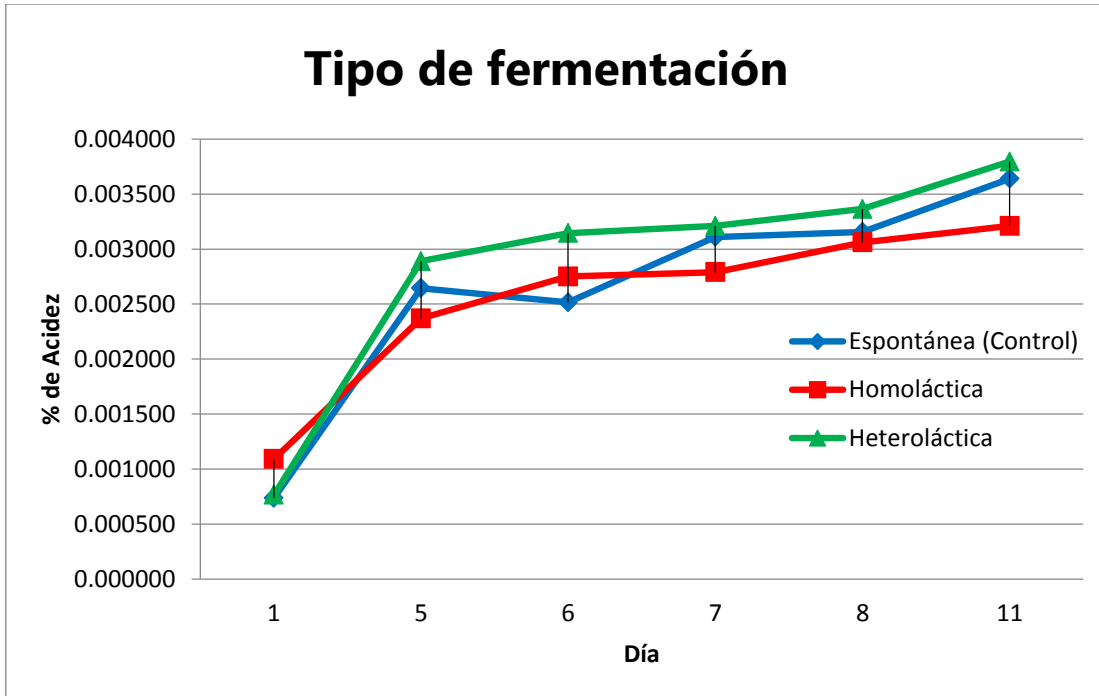


Figura 32 Producción de ácido láctico

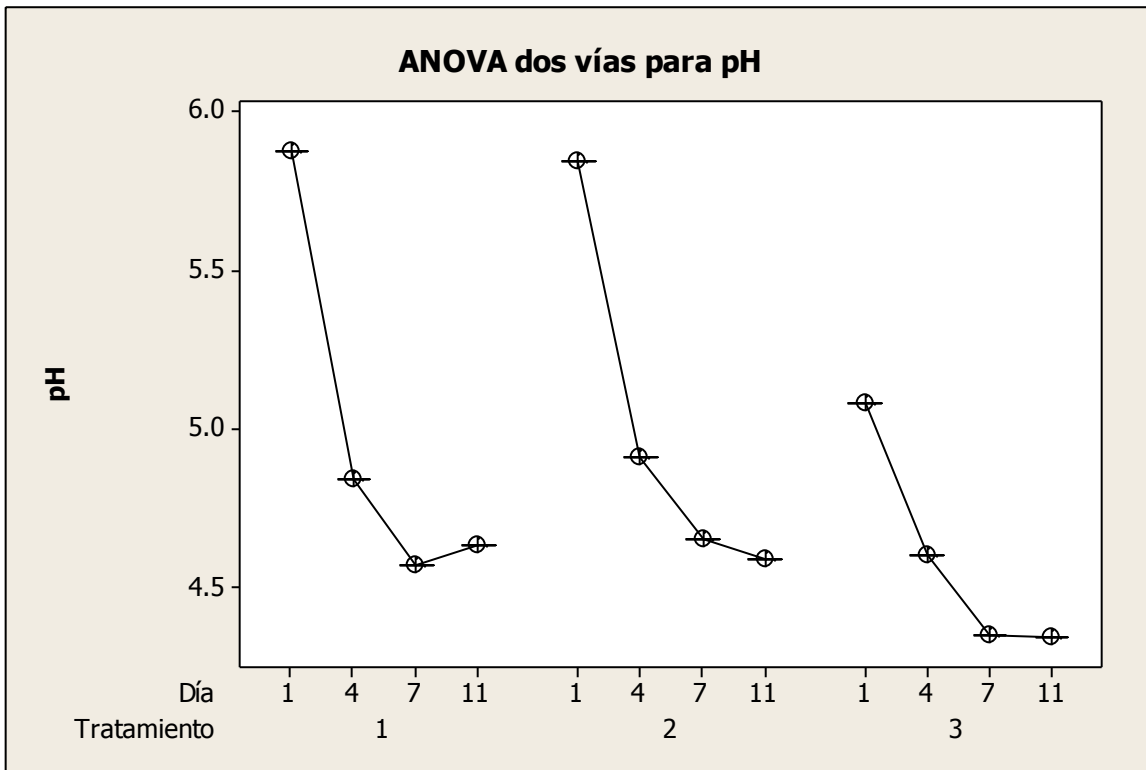


Figura 33 Efecto del tipo de fermentación sobre el pH durante la maduración

En la Figura 33 se puede observar el descenso inmediato de pH del lote de la fermentación con *L. plantarum*, y al final del proceso este lote es el que tiene el pH más bajo (4.34) en comparación con los otros dos lotes. Los valores de pH disminuyen significativamente al cuarto día de fermentación y se puede observar el comportamiento de pH en el proceso de maduración del salami donde no se muestra una tendencia lineal, esto ocurre del mismo modo en los tres lotes.

3.2 Acidez titulable

En la cuadro 4 se muestran los valores del ácido láctico, en todos los casos el incremento del ácido láctico se vio reflejado en los valores durante el proceso de fermentación-maduración del día 1 al 11.

Cuadro 4 Acidez (%) de salamis de los lotes

| DÍA | Control (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
|------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0.073 | 0.109 | 0.076 |
| 5 | 0.264 | 0.237 | 0.289 |
| 6 | 0.251 | 0.275 | 0.314 |
| 7 | 0.311 | 0.279 | 0.321 |
| 8 | 0.315 | 0.306 | 0.336 |
| 11 | 0.364 | 0.321 | 0.379 |

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un ANOVA de dos vías, con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$), en el programa MINITAB versión 14.

Cuadro 5 ANOVA 2 vías para acidez

| | SC | GL | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 0.003259 | 2 | 3.87 | 0.057 |
| Día | 0.133714 | 5 | 63.57 | 0.000 |
| Error | 0.004207 | 10 | | |
| Total | 0.141179 | 17 | | |

El ANOVA de dos vías (cuadro 5) muestra un valor de significancia $P=0.057$ para tratamiento por lo que no rechazo la hipótesis nula H_0 no hay diferencia significativa estadísticamente; y por día un valor de significancia $P=0.000$, por lo que se rechaza la hipótesis nula H_0 , debido a que el valor P es menor que α (0.05), indicando que en al menos una de las medias es diferente y por lo tanto existe diferencia significativa en los valores de acidez por día de proceso.

La producción de ácido láctico fue similar a partir del 5° día de fermentación para el lote de fermentación espontánea (0.364%) y de fermentación heteroláctica (0.379%), por el contrario el lote de fermentación homoláctica donde se obtuvieron valores menores (0.321%) y estadísticamente no existe diferencia significativa $P=0.057$.

El ácido láctico ha sido evaluado por su efecto antibacteriano de interés en alimentos, de este modo se busca su presencia para asegurar la calidad sanitaria del producto (Pérez-Chabela, et al., 2008).

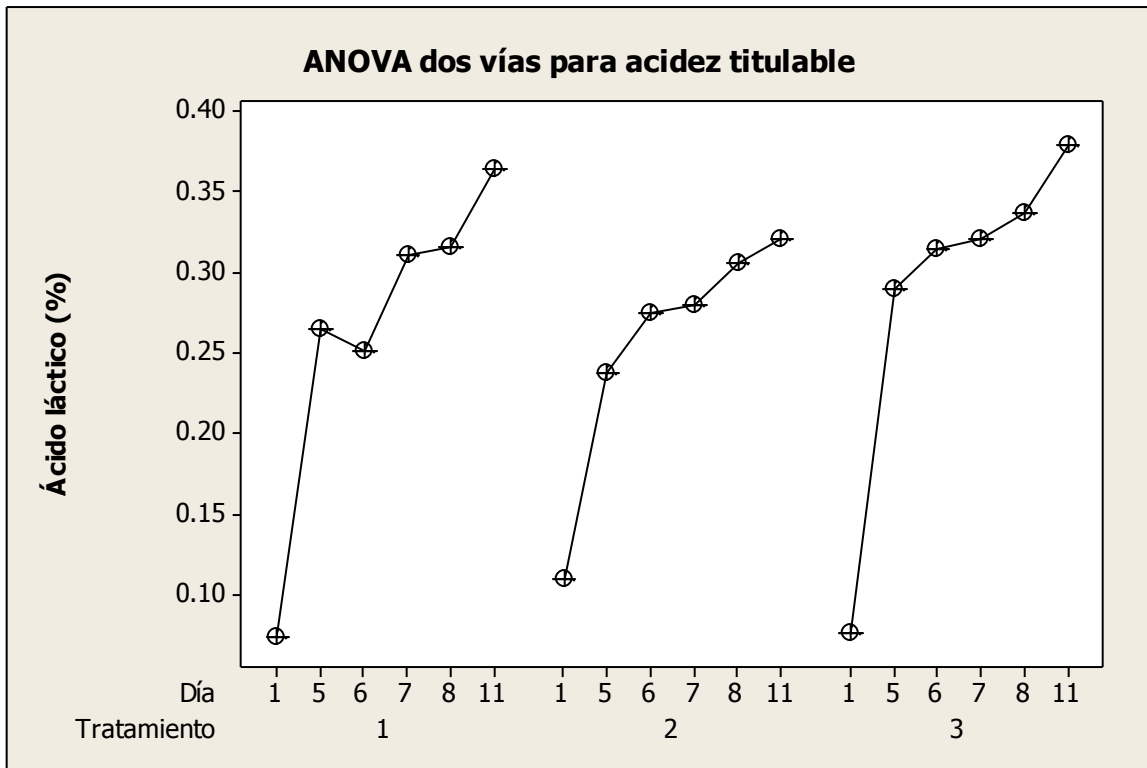


Figura 34 Efecto del tipo de fermentación sobre la acidez

En la figura 34 se puede observar el comportamiento de la producción de ácido láctico con respecto al tipo de fermentación, el tratamiento 1 es una fermentación espontánea y no se sabe qué tipo de microorganismo se encuentra presente en comparación con los lotes 2 y 3 que fueron controlados.

La acidificación de los productos cárnicos relacionada con la producción de ácido láctico, promueve la desnaturalización de proteínas de la carne que resulta en mejores características texturales del producto (Vásquez, et al., 2009), adicionalmente, es capaz de influir en la reducción del pH y de este modo afectar la percepción del color característico de estos productos (Hammes, 2012).

3.3 a_w

En el cuadro 6 se muestran los valores de a_w se puede observar la disminución de este parámetro muy importante para el crecimiento de las BAL debido al proceso de fermentación-maduración del día 1 al 11.

Cuadro 6 a_w de salamis de los lotes

| DÍA | Control (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
|------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0.89 | 0.90 | 0.93 |
| 5 | 0.89 | 0.89 | 0.89 |
| 6 | 0.88 | 0.89 | 0.88 |
| 7 | 0.86 | 0.88 | 0.88 |
| 8 | 0.87 | 0.88 | 0.87 |
| 11 | 0.85 | 0.86 | 0.84 |

Los valores de a_w en el lote 1 muestra que el proceso no es controlado por lo tanto se puede observar incrementos y decrementos en los valores.

Cuadro 7 ANOVA 2 vías para a_w

| | SC | GL | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 0.00043 | 2 | 1.47 | 0.275 |
| Día | 0.00614 | 5 | 8.40 | 0.002 |
| Error | 0.00146 | 10 | | |
| Total | 0.00803 | 17 | | |

El ANOVA de dos vías (cuadro 7) muestra un valor de significancia $P=0.275$ para tratamientos por lo que se no se rechaza la hipótesis nula H_0 ; y por días un valor de significancia $P=0.002$, por lo que se rechaza la hipótesis nula H_0 , debido a que el valor P es menor que α (0.05), indicando que en al menos una de las medias es diferente y por lo tanto existe diferencia significativa en los valores de a_w por día de proceso.

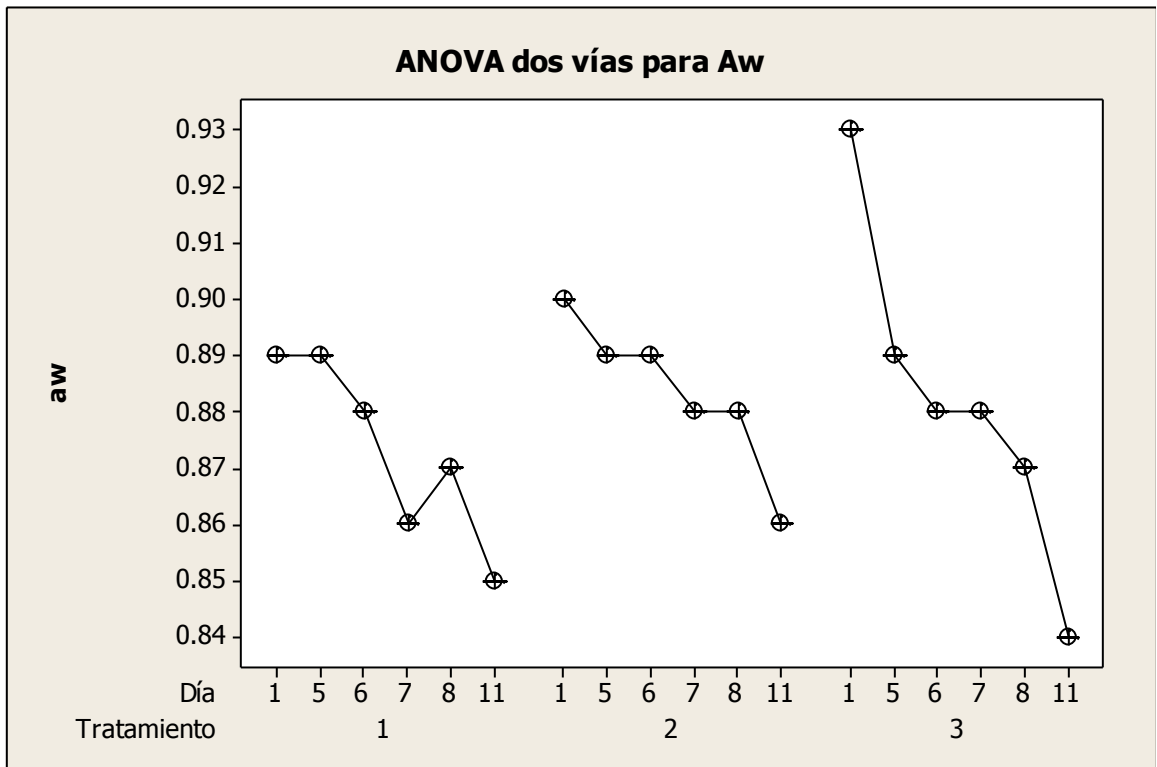


Figura 35 Efecto del tipo de fermentación sobre a_w

En la figura 35 se puede observar el decremento de la a_w al día 5 en el lote 3 en comparación con los lotes 1 y 2 a lo que se puede atribuir a los metabolitos por la fermentación heteroláctica (Dalla, et al., 2006).

En términos de bioconservación, los productos cárnicos madurados tienen como características poseer un bajo valor de a_w , que aunado al valor bajo de pH y a su contenido de ácido láctico producido por las BAL presentes como microbiota de origen o como cultivos iniciadores (Bourchidon, et al., 2012) en los lotes 2 y 3, la adición de iniciadores, asegura la obtención de características similares, lo que favorece el control de la calidad microbiológica ya durante su proceso no es sometido a ningún proceso térmico de alta temperatura alguno y es la combinación de pH, a_w y ácido láctico, los responsables de este control.

3.4 Resistencia a la deformación

En la cuadro 8 se pueden observar los valores de resistencia a la deformación (kgf) de los diferentes lotes durante el proceso de fermentación-maduración de los salamis del día 1 al 11.

Cuadro 8 Resistencia a la deformación (kgf) de los salamis de los lotes

| DÍA | Control (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
|------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 4 | 0.00 | 0.60 | 1.20 |
| 5 | 0.73 | 1.07 | 1.28 |
| 6 | 1.20 | 0.93 | 1.50 |
| 7 | 1.55 | 1.00 | 1.75 |
| 8 | 1.80 | 1.35 | 1.55 |
| 11 | 1.85 | 1.86 | 2.14 |

El lote sin cultivo iniciador tardó más días en adquirir resistencia a la deformación, Como se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 9 ANOVA 2 vías para resistencia a la deformación

| | SC | GL | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 0.70563 | 2 | 5.34 | 0.026 |
| Día | 7.00672 | 5 | 21.20 | 0.000 |
| Error | 0.66110 | 10 | | |
| Total | 8.37345 | 17 | | |

El ANOVA de dos vías (cuadro 9) muestra un valor de significancia $P=0.026$ para tratamientos y por día $P=0.000$, por lo que se rechaza la hipótesis nula H_0 en ambos casos, debido a que el valor P es menor que α (0.05), indicando que en al menos una de las medias de los valores de resistencia a la deformación, es diferente y por lo tanto existe diferencia significativa.

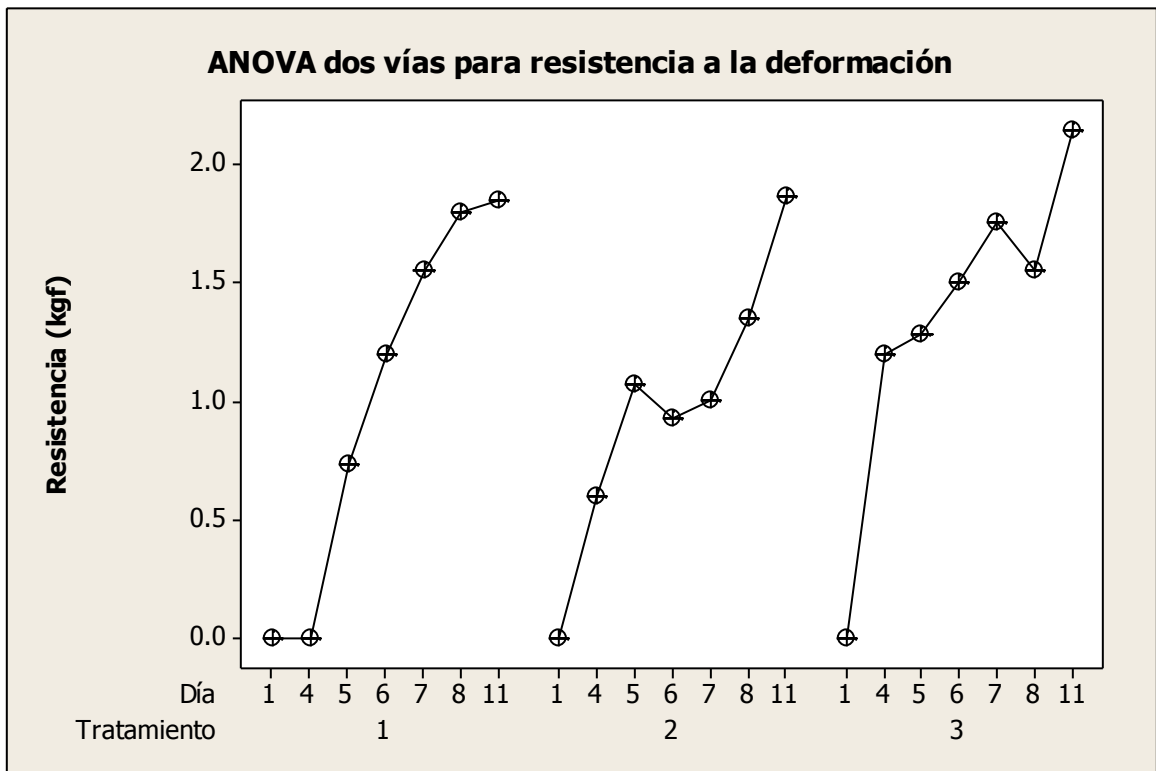


Figura 36 Efecto del tipo de fermentación sobre la resistencia a la deformación

Esto se puede explicar por el proceso de maduración donde se va perdiendo agua el producto (Cenci-Goga, et al., 2012) y adquiere mayor consistencia que se ve reflejado en el aumento en la resistencia a la deformación, el lote que tuvo mayor resistencia a la deformación durante todo el proceso fue el 3 de fermentación Heteroláctica (figura 36).

Los microorganismos presentes en la microbiota natural de los productos cárnicos crudos madurados (BAL) así como los cultivos iniciadores utilizados en estos productos tienen en común la producción de ácido láctico que contribuye a la desnaturalización de las proteínas de la carne por la acidificación que se produce y aunado a bajos valores de a_w , tiene como respuesta un aumento en la ligazón de la masa cárnica que conforme aumenta el tiempo de proceso adquiere mayor resistencia a la deformación (Dureza) (Coretti, 1986).

3.5 Parámetros de perfil de color

Los parámetros de perfil de color se muestran a continuación en el siguiente cuadro

Cuadro 10 Valores promedio de L*

| Día/Fermentación | Microbiota Natural | <i>P. acidilactici</i> | <i>L. plantarum</i> |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 0 | 53.71 ± 1.66 | 57.17 ± 1.22 | 55.34 ± 2.56 |
| 1 | 46.18 ± 1.19 | 49.56 ± 1.01 | 49.82 ± 1.23 |
| 4 | 49.63 ± 1.41 | 49.81 ± 0.97 | 50.61 ± 1.71 |
| 5 | 45.10 ± 1.03 | 50.57 ± 0.80 | 52.12 ± 2.32 |
| 6 | 46.33 ± 0.79 | 51.20 ± 0.81 | 52.20 ± 1.58 |
| 7 | 48.69 ± 1.74 | 52.31 ± 3.29 | 53.01 ± 2.23 |
| 8 | 47.36 ± 1.95 | 51.47 ± 1.42 | 52.87 ± 1.15 |
| 11 | 49.56 ± 1.52 | 50.53 ± 1.52 | 49.15 ± 1.87 |

Cuadro 11 Valores promedio de a*

| Día/Fermentación | Microbiota Natural | <i>P. acidilactici</i> | <i>L. plantarum</i> |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 0 | 4.52 ± 0.38 | 3.92 ± 0.43 | 4.34 ± 1.03 |
| 1 | 6.60 ± 0.82 | 6.35 ± 0.50 | 7.39 ± 0.72 |
| 4 | 12.01 ± 0.59 | 11.60 ± 0.43 | 10.76 ± 1.00 |
| 5 | 12.76 ± 0.72 | 11.88 ± 0.41 | 11.60 ± 0.55 |
| 6 | 12.65 ± 0.43 | 11.57 ± 0.51 | 11.58 ± 0.55 |
| 7 | 12.5 ± 0.75 | 10.66 ± 1.53 | 11.28 ± 0.57 |
| 8 | 13.05 ± 0.52 | 11.93 ± 0.23 | 12.20 ± 0.23 |
| 11 | 12.79 ± 0.36 | 11.79 ± 0.35 | 11.87 ± 0.47 |

3.5.1 Cambios totales en color (ΔE^*)

Sé cálculo ΔE a partir de los parámetros L^* , a^* y b^* (cuadros 10 y 11), mediante la ecuación

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \dots \dots \dots (2)$$

Para realizar el análisis de cambio de color, se debe de tomar como referencia al tratamiento 1 para poder evaluar los tratamientos 2 y 3; el ΔE^* de los lotes 2 y 3 se muestran en la siguiente cuadro (12).

Cuadro 12 ΔE^* de los salamis en función a la adición de M.O. al día 11

| <i>M. natural</i> | <i>P. acidilactici</i> | <i>Lb. plantarum</i> |
|-------------------|------------------------|----------------------|
| Referencia | 2.57 | 5.20 |

El los lotes con adición del microorganismo respecto al lote con microbiota natural se puede observar un ΔE^* mayor en el lote 3 y menor que en el 2. Teniendo como referencia que un valor mayor a 5 ya es notorio de acuerdo con CIEL*a*b*.

Cuadro 13 ΔE^* de los salamis en función al tiempo de maduración al día 11

| <i>M. natural</i> | <i>P. acidilactici</i> | <i>Lb. plantarum</i> |
|-------------------|------------------------|----------------------|
| 50.53 | 63.62 | 65.44 |

De acuerdo a la literatura de color CIEL*a*b* el ΔE^* de los tres lotes con respecto al tiempo de proceso son muy diferentes sin importar si se adiciono algún microorganismo o no como se muestra en el cuadro 13, es decir se puede observar diferencias de color a simple vista y estos cambios son mucho más notorios en el lote 3 que en el 2 y el 1.

3.5.2 Cromo (C*)

En el cuadro 14 se muestran los valores de Cromo de los tratamientos al día 11

Cuadro 14 Valores de croma al día 11 de salamis de los lotes

| Microbiota natural (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 17.29 ± 0.41 | 16.30 ± 0.53 | 15.71 ± 0.35 |

Se puede observar en el cuadro 14 de los valores del tono donde se observa mayor saturación en el salami de fermentación espontánea mientras quien tiene una menor saturación es la muestra de fermentación heteroláctica

Considerando la media de los valores de croma al día 11 del proceso de maduración del salami, se realizó un análisis de varianza para determinar si hay diferencias entre los lotes; se planteó una prueba de hipótesis para los tratamientos:

Para Tratamientos:

$$H_0 = \mu_{CONTROL} = \mu_{HOMOLÁCTICA} = \mu_{HETEROLÁCTICA}$$

$$H_1 = \text{no se acepta } H_0$$

Cuadro 15 ANOVA simple para croma

| | GL | SC | MS | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 2 | 3.759 | 1.875 | 31.45 | 0.000661 |
| Residual | 6 | 0.359 | 0.0598 | | |

Como si hay diferencias significativas con un valor $P=0.0006$ como se muestra en el cuadro 15 de ANOVA simple entre los lotes, se requiere saber las medias que son diferentes por lo que se procede a hacer la prueba de Tukey

Cuadro 16 Prueba de Tukey de croma en salami

| | E | S. Error | t | P |
|------------|----------|-----------------|----------|----------|
| N-L | 1.5667 | 0.1996 | 7.849 | <0.001 |
| P-L | 0.5867 | 0.1996 | 2.939 | 0.0587 |
| P-N | -0.9800 | 0.1996 | -4.910 | 0.0068 |

De acuerdo a la prueba de Tukey (cuadro 16) existe diferencia significativa respecto a la saturación de tono en los dos lotes de fermentación controlada contra la fermentación espontánea no así entre los dos lotes de fermentación controlada ya que no existe diferencia significativa entre ellos

3.5.3 Ángulo hue (°hue)

En el siguiente cuadro (17) se muestran los valores del ángulo hue durante el tiempo al día 11 del proceso de fermentación-maduración se muestra a continuación

Cuadro 17 Valores del ángulo hue de salamis de los lotes al día 11

| Microbiota natural | Homoláctica | Heteroláctica |
|---------------------------|--------------------|----------------------|
| 42.32 ± 0.82 | 43.62 ± 0.81 | 40.79 ± 1.64 |

En el cuadro 17 se puede observar que el salami con fermentación homoláctica es el que tiene menor color rojo mientras que la fermentación heteroláctica es la que muestra mejores resultados respecto al color rojo característico del salami.

Considerando los valores del ángulo hue al día 11 del proceso de maduración del salami, se realizó un análisis de varianza para determinar si hay diferencias entre los lotes; se planteó una prueba de hipótesis para los tratamientos:

Para Tratamientos:

$$H_0 = \mu_{CONTROL} = \mu_{HOMOLÁCTICA} = \mu_{HETEROLÁCTICA}$$

$$H_1 = \text{no se acepta } H_0$$

Cuadro 18 ANOVA simple para ángulo hue

| | GL | SC | MS | F | P |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Tratamiento | 2 | 12.037 | 6.018 | 4.599 | 0.0615 |
| Residual | 6 | 7.851 | 1.309 | | |

De acuerdo al análisis de varianza en el cuadro 18 no existe diferencia significativa respecto al ángulo hue en ninguno de los lotes de fermentación controlada o espontánea.

3.6 Cuenta de Mesófilos Aerobios Totales

A continuación se muestra (Cuadro 19) el conteo de las UFC de mesófilos aerobios totales en placa durante el proceso de fermentación maduración.

Cuadro 19 Cuenta de mesófilos aerobios en placa

| | UFC/g | | |
|-----------|------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | Microbiota natural (1) | <i>P. acidilactici</i> (2) | <i>L. plantarum</i> (3) |
| 1 | 1.50X10 ⁷ | 3.10X10 ⁷ | 3.58X10 ⁷ |
| 5 | 2.36X10 ⁸ | 2.14X10 ⁸ | 7.00X10 ⁷ |
| 6 | 1.54X10 ⁹ | 1.22X10 ¹⁰ | 5.21X10 ¹⁰ |
| 8 | 6.96X10 ⁹ | 1.57X10 ¹⁰ | 2.80X10 ⁹ |
| 11 | 2.65X10 ⁹ | 1.32X10 ⁹ | 8.50X10 ⁸ |

Las cuentas de bacterias mesofílicas aerobias en placa (UFC/g) en los tres lotes tras 24h fueron de 7 log. En el caso de la fermentación espontánea al día 8 alcanzó el mayor número de UFC/g, en comparación con la fermentación homoláctica que se mantiene al día 8 cuando empieza a decrecer y mientras que la fermentación heteroláctica empieza a decrecer al día 6 siendo esta quien disminuye las BAT en placa en al menos un logaritmo con respecto a los demás lotes.

| | SC | GL | F | P |
|--------------------|-----------------------|----|------|-------|
| Tratamiento | 2.01x10 ²⁰ | 2 | 0.22 | 0.810 |
| Día | 2.34x10 ²¹ | 4 | 1.26 | 0.362 |
| Error | 3.72x10 ²¹ | 8 | | |
| Total | 6.27x10 ²¹ | 14 | | |

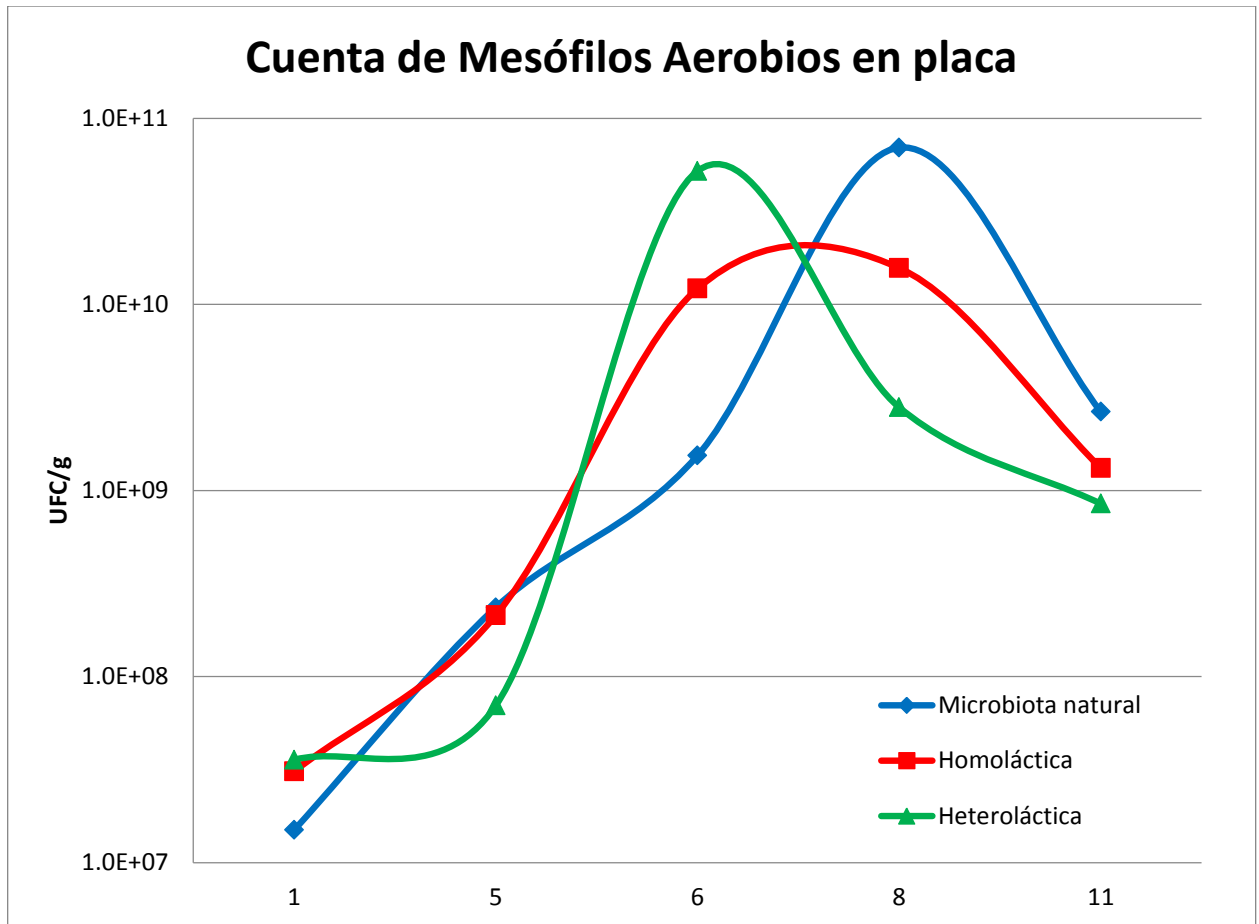


Figura 37 Cuenta de Mesófilos Aerobios en placa

En la figura (37) se puede observar claramente que *Lactobacillus plantarum* al día 6 controla la microbiota aerobia presente en los salamis, predominando presumiblemente, la fermentación heteroláctica, por otro lado es hasta el día 7 de maduración de los salamis adicionados con *P. acidilactici*, cuando se tiene predominancia de fermentación homoláctica. Cabe mencionar que aún sin la adición de iniciadores, la microbiota natural o de origen, bajo condiciones de manejo sanitario y control de temperatura y humedad, favorece la instauración y desarrollo de la misma, logrando que se produzca una fermentación espontánea, corroborados estos resultados al contrastarlos con el pH y la acidez titulable.

CONCLUSIONES

La contrastación entre los tres tipos de fermentación indicaron resultados significativos ($P \leq 0.05$), para los valores de pH, mismos que fueron menores, al aplicar *Lactobacillus plantarum*, durante los días 1-4 y 11, respecto de los otros dos lotes, los adicionados con *Pediococcus acidilactici* y el de microbiota natural.

En cuanto a la acidez titulable, durante los días (1-4) y (11), los valores más altos fueron para los salamis con *L. plantarum* y los salamis control (microbiota natural). Fueron menores, al aplicar *Pediococcus acidilactici*, respecto de los otros dos lotes, con resultados significativos entre los tres lotes ($P \leq 0.05$).

Se obtuvieron resultados significativos, ($P \leq 0.05$), para los valores de a_w , entre los tres lotes y fueron menores al aplicar *Lactobacillus plantarum*, durante los días 1-4 y 11.

Los valores de resistencia a la deformación, fueron mayores, al aplicar *Lactobacillus plantarum*, durante los días 1-4 y 11, respecto de los otros dos lotes, los adicionados con *Pediococcus acidilactici* y el de microbiota natural, con resultados altamente significativos ($P \leq 0.05$).

Se obtuvieron valores de ΔE^* de 5.2 al aplicar *Lactobacillus plantarum* como iniciador, se logró un cambio de color mayor que en el lote de salamis con *Pediococcus acidilactici* en donde el valor fue 2.57.

Para el Croma se demostró que los resultados obtenidos en los lotes adicionados con iniciador (*Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum*), con respecto del control, fueron significativos ($P \leq 0.05$), demostrando que la adición de iniciador, favorece una mayor saturación de color.

Se demostró que no existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$), para el ángulo hue (tono) entre los lotes.

La cuenta de mesófilos aerobios disminuyó dos logaritmos el lote al que se adicionó *Lactobacillus plantarum* como cultivo iniciador y de 1 logaritmo para los otros dos lotes.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado Camacho, G. (2010). *Caracterización física, química y fisicoquímica de la materia prima cárnica utilizada en la elaboración de embutidos madurados. Tesis Ingeniería en Alimentos*. Cuautitlán: UNAM FESC.
- Bedia, M., Méndez, L., & Bañón, S. (2011). Evaluation of different starter cultures (Staphylococci plus Lactic Acid Bacteria) in semi-ripened Salami stuffed in swine gut. *Meat Science*(87), 381-386.
- Beganović, J., Kos, B., Pavunc, A. L., Uroić, K., Jokić, M., & Šušković, J. (2013). Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiological Research*.
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., . . . Huys, G. (2012). Food fermentation: Microorganism with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*(154), 87-97.
- Casquete, R., Benito, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., & Córdoba, M. G. (2011). Effect of autochthonous starter cultures in the production of "Salchichon" a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes. *LTW-Food Science and Technology*(44), 1562-1571.
- Cenci-Goga, B. T., Rossitto, P. V., Sechi, P., Parmegiani, S., Cambiotti, V., & Cullor, J. S. (2012). Effect of selected dairy starter cultures on microbiological, chemical and sensory characteristics of swine and venison (Dama dama) nitrite-free dry-cured sausage. *Meat Science*, 599-606.
- Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Ratsiou, K., Cattaneo, P., Lantoni, C., & Cocolin, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*(69), 381-392.
- Coretti, K. (1986). *Embutidos: Elaboración y defectos*. Zaragoza: Acribia.
- Dalla, S., Coelho, F., Freitas, J., Dalla, J., & Terra, N. (2006). Características de salamis fermentados producidos sin adición de cultivo iniciador. *Ciencia y tecnología alimentaria*(2), 231-236.
- De Mey, E., De Klerck, K., De Maere, H., Dewulf, L., Derdelinkx, G., Peeters, M.-C., . . . Paelinck, H. (2014). The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and

-
-
- biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat Science*(96), 821-828.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G.-J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*(157), 130-141.
- Fennema, O. R. (2000). *"Química de alimentos"*. España: Acribia.
- Fernández, M., Ordóñez, J. A., Bruna, J. S., Herranz, B., & De la Hoz, L. (2000). Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends in Food Science & Technology*(11), 201-209.
- Hammes, W. P. (2012). Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiology*(29), 151-156.
- Huertas, R. A. (2010). Reviw Lactic Acid Bacteria: Funtional role in the foods. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-105.
- Hui, Y. H., Nip, W.-K., Rogers, R. W., & Young, O. A. (2001). *Meat Science and Applications*. Nueva York, USA: Marcel Dekker.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., & Cofradu, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as funtional foods. *Meat Science*(59), 5-13.
- Lawrie, R. (1998). *Ciencia de la carne* (Tercera ed.). España: Acribia.
- Leroy, F., Verluten, J., & De Vuyst, L. (2006). Funtional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiolog*(106), 270-285.
- López de Torre, G., & Carballo García, B. (1991). *Manual de bioquímica y tecnología de la carne*. España: A. Madrid Vicente.
- Mendònca, R. C., Gouvêa, D. M., Hungaro, H. M., Sodrè, A., & Querol-Simon, A. (2013). Dynamics of the yeast flora in artisanal country style and industrial dry cured sausage (yeast in fermented sausage). *Food Control*, 29, 143-148.
- Norma Oficial Mexicana NOM-009-Z00-1994. Proceso sanitario de la carne.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Pérez-Chabela, M., Totosaus, A., & Guerrero, I. (2008). Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausage and the effects of their addition on the quality of cooked sausage. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*(28), 132-138.

Prandl, O. (1994). *Tecnología e higiene de la carne*. España: Acribia.

Rubio, R., Aymerich, T., Bover-Cid, S., Guàrdia, M. D., & Arnau, J. (2013). Probiotic strains *Lactobacillus plantarum* 299V and *Lactobacillus rhamnosus* GG as starter cultures for fermented sausages. *LTW-Food Science and Technology*, 51-56.

Vásquez, M. S., Suárez, M. H., & Zapata, B. S. (2009). Use of antimicrobial substances produced by acid lactic bacteria on meat conservation. *Rev Chil Nutr*(36), 64-71.

Zhou, G. H., Xu, X. L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat-A review. *Meat Science*(86), 119-128.