



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CULTIVOS  
INICIADORES EN LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE  
EMBUTIDOS CÁRNICOS MADURADOS EN TÉRMINOS DE  
MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y  
COLIFORMES FECALES”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A**

**RITA ANGÉLICA PULIDO SÁNCHEZ**

**Asesores: Dra. Adriana Llorente Bousquets**

**M en C. Jorge López Pérez**

**Cuautitlán Izcalli, Edo. de México 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



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

Efecto de la aplicación de cultivos iniciadores en la calidad microbiológica de embutidos cárnicos madurados en términos de mesófilos aerobios coliformes totales y coliformes fecales

Que presenta la pasante: Rita Angélica Pulido Sánchez  
Con número de cuenta: 402101136 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 24 de febrero de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Clara Inés Álvarez Manrique	
VOCAL	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
SECRETARIO	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
1er. SUPLENTE	I.A. María Guadalupe López Franco	
2do. SUPLENTE	I.A. Ana María Sabina de la Cruz Javier	

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

**El presente Trabajo de Tesis fue desarrollado en el Laboratorio 7 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria UIM de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán FESC-UNAM**

**Recibió apoyo del Proyecto 7.5.4: “ELABORACIÓN DE ALIMENTOS A TRAVÉS DE PROCESOS MICROBIANOS”**

**De la Línea 5 del MACROPROYECTO 7 de la UNAM: “PRODUCTIVIDAD SOSTENIBLE DE LOS HATOS DE CRÍA EN PASTREO”**

**Y del PROYECTO DGAPA-PAPIIT IT 202312-3:  
“APLICACIÓN DE ALTERNATIVAS DE BIOCONSERVACIÓN Y CONSERVACIÓN PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA CARNE Y LOS PRODUCTOS CÁRNICOS”**

**Creo en la determinación humana. A lo largo de la historia se ha comprobado que la voluntad humana es más poderosa que las armas.**

**Dalai Lama**

## DEDICATORIAS

Padres, este sueño y este logro es tan mío como de ustedes, gracias por estar a mi lado en las buenas, en las malas y en las peores, siempre echándome porras y alentándome a seguir, por darme los valores y el ejemplo, porque gracias a todo eso me he convertido en la mujer que ahora soy, gracias por darme la mejor herencia que pude haber recibido... ¡¡Lo logramos Papichis!!

Oscarín, gracias por decidir acompañarme en esta aventura llamada vida, porque tú eres lo que siempre pedí y porque me has dado una familia extraordinaria, tú eres el claro ejemplo de que Dios no se equivoca... ¡Te amo con todo mi corazón!

David, desde el momento que me enteré que llegarías, supe que mi vida, ya jamás volvería a ser mía y cuando te vi por primera vez, me robaste el corazón, hijito hermoso, tú eres mi motor y mi aliento, espero algún día convertirme en el mejor ejemplo para ti.

Gabriel, Paty y mis queridos sobrinos y ahijados, Diego, Vane y Kevin, porque siempre están en mi mente y en mi corazón y siempre me dejan sentir su amor y su cariñito aun estando tan lejos.

Naranjillo, porque aún sin saberlo, siempre me has motivado a seguir adelante y superarme cada día.

## AGRADECIMIENTOS

A Diosito, por permitirme concluir esta etapa de mi vida, porque siempre me has puesto en el lugar correcto y en el momento perfecto, rodeada de ángeles que me enseñan, me cuidan y me guían... Gracias por dejarme sentir tu mano siempre...

A la UNAM-FESC campo 1, por formarme y darme las bases necesarias para convertirme en la profesionista que soy.

A Adriana Llorente, por la paciencia, los consejos, pero sobretodo la confianza, porque no solo ha sido mi maestra, se ha convertido en una gran amiga.

A Brenda, Jacob, Lúa y Terecua, ustedes hicieron de mi vida universitaria la mejor experiencia que cualquiera puede tener, pero sin duda alguna lo que más agradezco es su amistad incondicional, ustedes son mis hermanitos adoptivos, los quiero...

Al Cow para de: Jimena, Toño querido, Tamarindo, Marcela, Karla, Paco, Isaac y Karina, por su amistad y apoyo, pocas veces en la vida me he reído y llorado y gritado y divertido tanto como estando con ustedes... ¡ustedes le dieron los colores a esta etapa de mi vida!

A la Familia Mora Sánchez, porque para empezar, si no hubiera sido por ustedes, probablemente no habría comenzado con mi carrera, gracias por abrirme la puertas de su casa y permitirme ser parte de su familia, gracias por el cariño, el apoyo y los consejos...

A mi nueva familia Marisela, Chenchito, Malena, Enrique y Juan, por aceptarme y cuidarme en todo momento...

Al equipo de trabajo del Laboratorio 7 de Bioconservación de Productos cárnicos de la UIM FESC C-4; M.A. Jorge López Pérez, M.C. Jorge Rico, por el apoyo y la paciencia, así como por dejarme aprender de ustedes.

A la Dra. Alma Virginia Lara Sagahón, por su asesoría y aportaciones en este proyecto.

Al personal del Taller de Carnes de la FESC C-4 I.A. Alicia Pérez Morales, M.V.Z. Andrés Cardona Lieja, por permitirnos trabajar en las instalaciones a su cargo, aún a deshoras, por la asesoría en el manejo de los equipos y acondicionamiento de los materiales.

Al I.A. Zósimo Guerrero Cancino por la asesoría para la formulación de los productos.

A los profesores que integran el jurado de esta Tesis por sus valiosas aportaciones en mejora de este trabajo:

Dra. Clara Inés Álvarez Manrique

Dra. Adriana Llorente Bousquets

M. en C. Tais Nopal Guerrero

I.A. María Guadalupe López Franco

I.A. Ana María Sabina de la Cruz Javier



# ÍNDICE

Índice de figuras .....	ix
Índice de cuadros .....	x
Abreviaturas .....	xi
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
CAPITULO 1 MARCO TEÓRICO .....	3
1.1 Carne .....	4
1.1.1 Aspectos bioquímicos de la conversión del músculo en carne .....	5
1.1.2 Composición química de la carne .....	7
1.1.3 Seguridad sanitaria .....	8
1.1.4 Calidad microbiológica de la carne .....	9
1.1.5 Factores que afectan el desarrollo de microorganismos .....	12
1.2 Clasificación de Productos cárnicos procesados .....	19
1.2.1 Calidad microbiológica de los productos cárnicos .....	21
1.3 Materias primas requeridas para la elaboración del salami .....	22
1.4 Sistema de barreras para el control de la calidad microbiológica de alimentos .....	23
1.5 Bioconservación .....	25
1.5.1 Bacterias ácido lácticas (BAL) .....	29
1.5.1.1 Pediococcus .....	31
1.5.2 Sustancias antimicrobianas producidas por BAL .....	32
1.5.3 NORMAs microbiológicas para alimentos .....	32
1.6 Sistema HACCP .....	33
1.6.1 Aplicación del sistema HACCP .....	34
1.6.2 Aplicación del programa DE prerrequisitos (PPR) .....	37
Justificación y Planteamiento .....	38
Hipótesis .....	38
Objetivo General .....	39
Objetivos particulares .....	39

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA.....	40
2.1 Cuadro metodológico.....	41
2.2 Diagrama de flujo para la elaboración de un modelo cárnico.....	42
2.3 Descripción de las etapas de proceso de elaboración del modelo cárnico.....	46
2.3.1 Preparación de la tripa.....	46
2.3.2 Preparación del inóculo.....	46
2.3.3 Preparación de modelos cárnicos.....	47
2.4 Metodología para realizar las determinaciones microbiológicas.....	52
2.4.1 Obtención de la muestra.....	52
2.4.2 Preparación de diluciones.....	52
2.4.3 Determinación de bacterias aerobias totales (BAT).....	53
2.4.4 Determinación de coliformes totales.....	54
2.4.5 Determinación de Coliformes fecales (Pruebas confirmatorias para Escherichia coli).....	55
2.5 Análisis de peligros.....	56
2.5.1 Establecimiento del plan HACCP.....	62
CAPÍTULO 3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	63
3.1 Análisis de peligros.....	64
3.2 Plan HACCP.....	70
3.3 Manejo de materias primas críticas.....	71
3.4 Evaluación de las medidas de control.....	72
3.4.1 Determinación de pH.....	74
3.4.2 Determinación de Ácido Láctico (%).....	75
3.4.3 Determinación de aw.....	76
3.4.4 Determinación de Bacterias Aerobias Totales (BAT).....	77
3.4.5 Determinación de Coliformes Totales.....	80
3.4.6 Determinación de Coliformes fecales.....	81
CONCLUSIONES.....	83
BIBLIOGRAFÍA.....	85
Apéndice A: Formato de determinaciones microbiológicas.....	91

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cortes de carne .....	4
Figura 2. Proceso de conversión del músculo en carne .....	6
Figura 3. Gráfica de crecimiento microbiano .....	13
Figura 4. Degradación y ataque bacteriano de los alimentos de acuerdo a su aw .....	17
Figura 5. Bioconservación en un sistema de barreras .....	23
Figura 6. Bioconservación en el tiempo .....	26
Figura 7. <i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	31
Figura 8. Secuencia para la aplicación del sistema HACCP .....	35
Figura 9. Preparación de la tripa .....	42
Figura 10. Preparación del inóculo .....	42
Figura 11. Diagrama de flujo para la elaboración de un modelo cárnico tipo Salami .....	43
Figura 12. Simbología .....	45
Figura 13. Incubación de inóculos .....	47
Figura 14. Cosecha de células por centrifugación .....	47
Figura 15. Acondicionamiento y pesado de carne .....	48
Figura 16. Molienda de carne de res .....	49
Figura 17. Molienda de carne de cerdo .....	49
Figura 18. Molienda de lardo de cerdo .....	49
Figura 19. Homogenización de materias primas .....	50
Figura 20. Adición de cultivos iniciadores .....	50
Figura 21. Embutido de la pasta cárnica y amarre de los salamis .....	51
Figura 22. Colgado de los salamis a T° ambiente .....	51
Figura 23. Maduración de los salamis en condiciones controladas .....	51
Figura 24. Preparación de soluciones decimales .....	53
Figura 25. División de las cajas para siembra en superficie para la determinación de BAT .....	54
Figura 26. Siembra en superficie para determinación de coliformes totales .....	55
Figura 27. Siembra para determinación de <i>Escherichia coli</i> .....	56
Figura 28. Árbol de decisión de materia prima .....	60
Figura 29. Árbol de decisión por etapa de proceso .....	61

Figura 30. Determinaciones de pH durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami.....	75
Figura 31. Determinación del % ácido láctico durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami.....	76
Figura 32. Determinación del aw durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami.....	76
Figura 33. Determinación de BAT en un embutido tipo salami.....	78
Figura 34. Determinación de coliformes totales en embutidos tipo salami.....	80

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición nutrimental de la carne y otras fuentes de alimentos.....	7
Cuadro 2. Parásitos en carne fresca (Especificaciones sanitarias).....	10
Cuadro 3. Especificaciones microbiológicas en cortes de carne.....	11
Cuadro 4. Parámetros microbiológicos de sanidad para la Comunidad Europea.....	12
Cuadro 5. Clasificación de bacterias de acuerdo a sus temperaturas óptimas de desarrollo.....	14
Cuadro 6. pH máximo y mínimo por microorganismo.....	15
Cuadro 7. Niveles de aw mínimos necesarios para el desarrollo de microorganismos.....	17
Cuadro 8. Condiciones de Eh que limitan el crecimiento de ciertos microorganismos.....	19
Cuadro 9. Pruebas microbiológicas obligatorias para productos cárnicos procesados.....	21
Cuadro 10. Cultivos iniciadores asociados con alimentos fermentados.....	29
Cuadro 11. Cuadro metodológico.....	41
Cuadro 12. Formulación con carne de Res, Lardo de cerdo y carne de Cerdo (RLC).....	49
Cuadro 13. Clasificación de la probabilidad para el análisis de peligros.....	58
Cuadro 14. Clasificación de la severidad para el análisis de peligros.....	58
Cuadro 15. Clasificación de las medidas de control requeridas de acuerdo al nivel de riesgo calculado.....	59
Cuadro 16. Análisis HACCP materias primas.....	64
Cuadro 17. Análisis HACCP etapas de proceso.....	67
Cuadro 18. Plan HACCP para salami.....	70
Cuadro 19. Determinaciones fisicoquímicas de modelos cárnicos (salamis).....	73
Cuadro 20. Determinaciones microbiológicas de modelos cárnicos (salamis).....	74

## ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
µL	Microlitro
a <sub>w</sub>	Actividad de agua
<b>BAL</b>	Bacterias Acido Lácticas
<b>BAT</b>	Bacterias Aerobias Totales
<b>CNA</b>	Consumo Nacional Aparente
<b>ETA</b>	Enfermedades Transmitidas por los Alimentos
<b>FDA</b>	Administración de alimentos y medicamentos ( <i>Food and Drugs Administration</i> )
<b>g</b>	Gramo
<b>GRAS</b>	Generalmente reconocidas como seguras ( <i>Generally Recognized As Safe</i> )
<b>h</b>	Horas
<b>HACCP</b>	Análisis de riesgos y puntos críticos de control ( <i>Hazard Analysis Critical Control Points</i> )
<b>kg</b>	Kilogramo
<b>TIF</b>	Tipo Inspección Federal
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colonias
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>%</b>	Porcentaje
<b>ml</b>	Mililitros
<b>Mod</b>	Modelo
<b>HR</b>	Humedad Relativa
<b>PCC</b>	Punto Crítico de Control
<b>PPR</b>	Programa Prerrequisitos
<b>PPR Op</b>	Prerrequisito Operativo
<b>Soln</b>	Solución
<b>CE</b>	Comunidad Europea
<b>DOUE</b>	Diario Oficial de la Unión Europea
<b>POES</b>	Procedimientos Operativos de Sanitización Estándar
<b>N/A</b>	No aplica

## RESUMEN

La adición de BAL como cultivos iniciadores en alimentos, ha sido ampliamente estudiada debido a su efecto bioconservador en los productos, su uso es sugerido debido a que cuentan con la denominación “GRAS” *Generally Recognized As Safe*, por sus siglas en inglés (Generalmente reconocidas como seguras). Un cultivo iniciador apropiado tiene que ser seleccionado a partir de microbiota de origen, presentes en los productos alimenticios, con el fin de aumentar su competitividad, adaptarse bien y tener una alta capacidad metabólica para obtener los beneficios y efectos de calidad y seguridad alimentaria. En la presente tesis, se seleccionó a *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 como cultivo iniciador en la elaboración de un embutido cárnico crudo madurado tipo salami, con el fin de evaluar el efecto de su adición sobre la calidad sanitaria en términos de bacterias mesófilas aerobias totales (BAT), coliformes totales y coliformes fecales. De igual forma, se implementó la metodología HACCP como base para la determinación de las medidas de control, así como para el análisis de la eficacia de dichas medidas. Los resultados de la adición de este iniciador permitieron una disminución de 1.75 ciclos logarítmicos de BAT y 0.44 ciclos logarítmicos de coliformes totales, mientras que los embutidos fermentados espontáneamente (sin iniciador), presentaban un aumento de 2.31 ciclos logarítmicos de BAT y una disminución de 0.18 ciclos logarítmicos de coliformes totales. La aplicación de este iniciador tuvo un efecto importante en combinación de factores que promueven su bioconservación: la producción de ácido láctico, la reducción importante del pH durante las 48 h desde su elaboración, así como la reducción de la  $a_w$ , de estos productos cárnicos crudos, que favorecen la seguridad para el consumidor.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente en la elaboración de alimentos existe una expectativa de larga vida útil, así como de asegurar la inocuidad de los alimentos; sin embargo, es necesario considerar que las preferencias de los consumidores están cambiando hacia los alimentos mínimamente procesados y libres de conservadores químicos (Ross, y otros 2002).

En los inicios de la fabricación de embutidos, el crecimiento microbiano no estaba controlado y era resultante de la contaminación bacteriana de la carne o equipo de producción, así como del manejo inadecuado. Desafortunadamente, estos métodos tradicionales, no siempre eran confiables y estaban sujetos a diversos errores tales como diferencias en la adición de sal, errores en el tiempo de cortado, crecimiento de bacterias ácido lácticas equivocadas, etc. (Hudnall 1999); por otro lado, los procesos tradicionales de conservación se basan en limitar o prevenir el crecimiento microbiano, utilizando técnicas que afectan la supervivencia de los microorganismos, tales como la temperatura, la actividad de agua, el potencial redox, el pH, la ausencia de oxígeno, los conservadores, etc. (Garriga 2005), sin embargo algunas de estas técnicas tienden a modificar la estructura original de los alimentos proporcionando al consumidor la sensación de productos altamente industrializados. El uso de la Bioconservación como método de conservación único o como parte de un sistema de barreras, es la opción más viable, para aquellos productos que requieren de un control sanitario eficaz, en procesos poco agresivos, de igual forma, si estos métodos de conservación van respaldados por alguna metodología como el Sistema HACCP, la cual permita un análisis estandarizado y objetivo del proceso productivo, así como la determinación de la eficacia de estos métodos de conservación, la inocuidad de los productos, está casi asegurada.

# CAPÍTULO 1

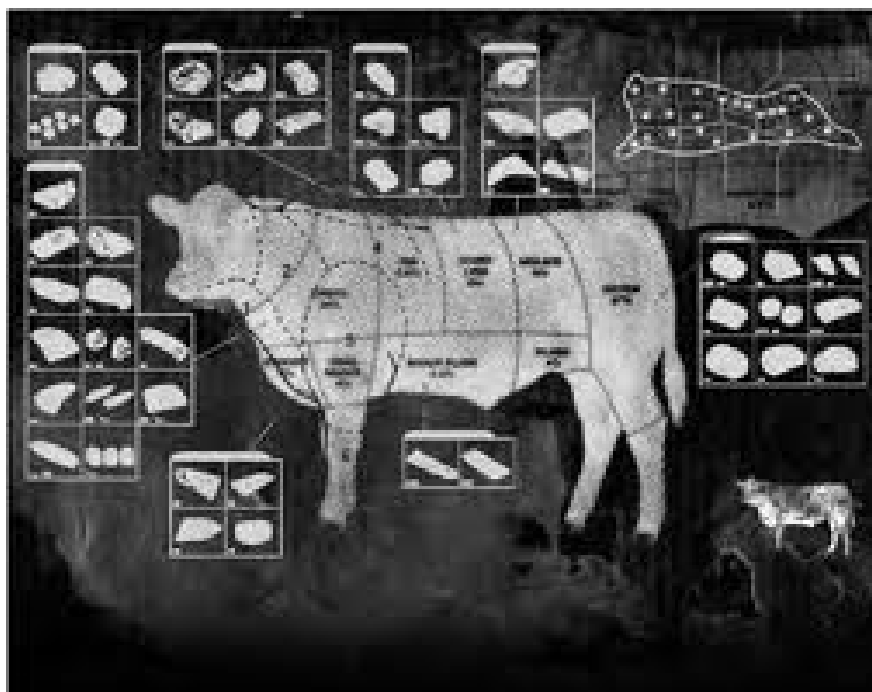
## MARCO TEÓRICO



## 1.1 CARNE

De acuerdo con el Reglamento de control sanitario de productos y servicios de la Secretaría de Salud y la NOM-004-ZOO-1994, la carne se define como la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conectivo como hueso, grasa, vasos linfáticos y sanguíneos, así como fibras nerviosas de las especies animales consideradas aptas para consumo humano.

Como alimento, la carne es una fuente primaria de proteínas de alta calidad, vitaminas y minerales como el hierro. La composición de la carne varía según la especie, la edad y el sexo del animal. Estas diferencias determinan en gran parte la aceptación y la calidad sensorial final de la carne (Figura 1) (Chacón 2004).



**Figura 1. Cortes de carne**

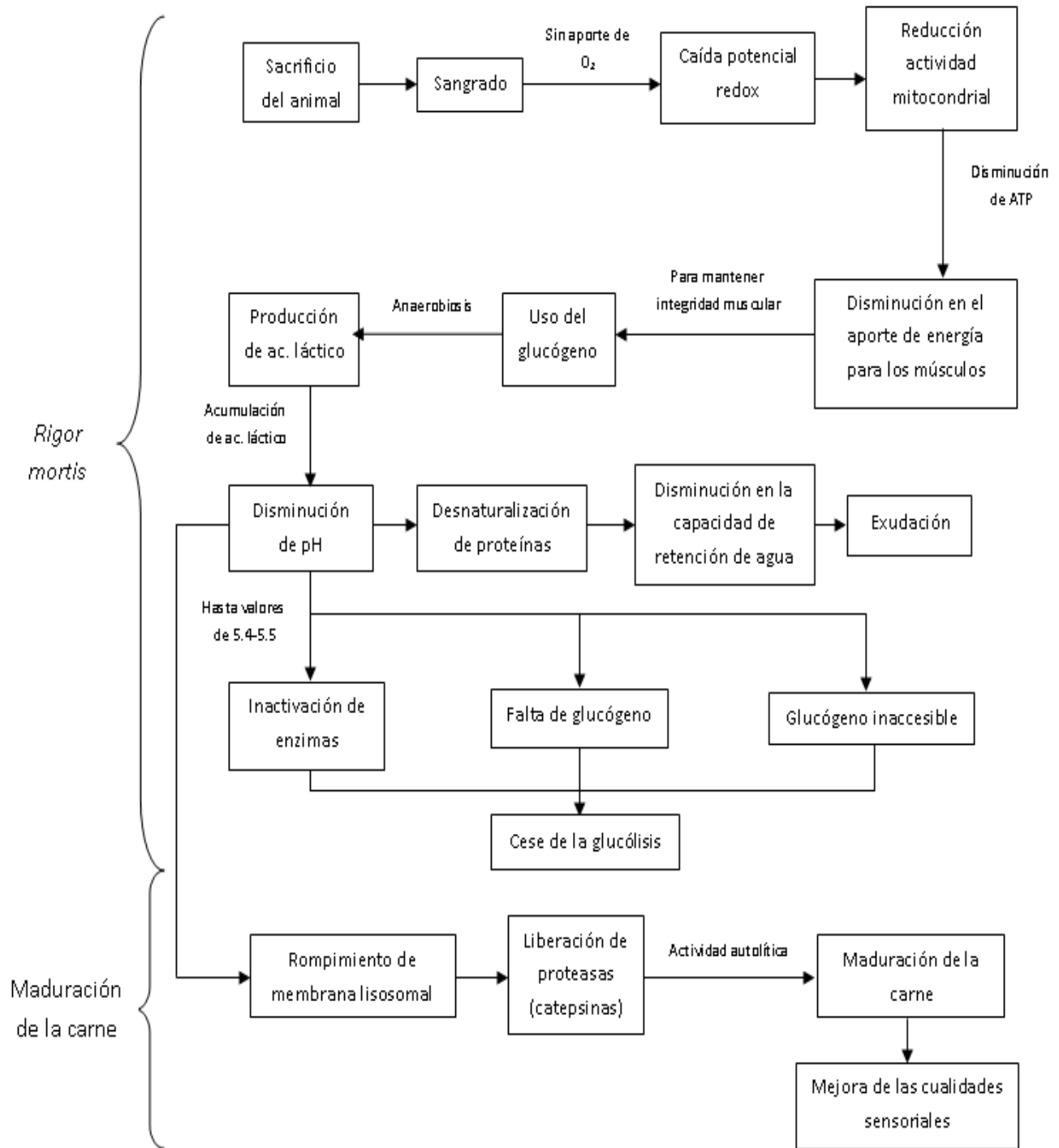
**Fuente:** USDA, 2013

### 1.1.1 ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE LA CONVERSIÓN DEL MÚSCULO EN CARNE

En el proceso de conversión del músculo en carne (Figura 2) se llevan a cabo muchos procesos importantes, los cuales determinan en gran medida las características organolépticas de la carne. Uno de estos procesos importantes es el *rigor mortis*, durante el cual disminuye el pH, provocando la rigidez cadavérica, después de este proceso se estabiliza el pH y se produce la maduración de la carne.

Tanto la velocidad como el descenso de pH *post-mortem* están influidos por factores intrínsecos tales como la especie, edad, el tipo de músculo y su localización, así como por factores extrínsecos como la administración de drogas antes del sacrificio, la temperatura ambiental y el tipo de sacrificio proporcionado al animal. Los factores intrínsecos no pueden ser controlados por manipulación, pero los factores extrínsecos sí son imputables a dicha manipulación (López y Casp 2004).

El descenso en el pH, el *rigor mortis* y la maduración se encuentran muy estrechamente relacionados, sobre todo si se toma en cuenta que entre mayor sea la dureza que alcanza el músculo durante el rigor, el efecto de la maduración para revertirla es menor (Chacón 2004).



**Figura 2. Proceso de conversión del músculo en carne**

**Fuente:** Información obtenida de López y Casp (2004)

## 1.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE

La carne está compuesta principalmente de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos (Cuadro 1) (FAO 2012).

**Cuadro 1 Composición nutrimental de la carne y otras fuentes de alimentos**

Producto	Agua	Proteína	Grasa	Cenizas	Energía (KJ)
Carne de vacuno (magra)	75.0	22.3	1.8	1.2	116
Canal de vacuno	54.7	16.5	28.0	0.8	323
Carne de cerdo (magra)	75.1	22.8	1.2	1.0	112
Canal de cerdo	41.1	11.2	47.0	0.6	472
Grasa de cerdo (tocino dorsal)	7.7	2.9	88.7	0.7	812

**Fuente:** FAO, 2012

Sin embargo, la comprensión de la naturaleza, desarrollo de la carne y de su variabilidad, no puede ser basada en esta simplificación. Por el contrario, debe ser reconocido que esta carne es el aspecto *post-mortem* de un tejido biológicamente complicado, por lo tanto es importante tomar en cuenta las características de los animales en vivo para poder determinar objetivamente la composición química de la carne; dichas características son: el músculo, la actividad y el tipo de acción para el que era requerido (Lawrie y Ledward 2006).

### **1.1.3 SEGURIDAD SANITARIA**

Actualmente la definición de calidad de la carne, obliga a admitir tres conceptos de calidad: a) la calidad sensorial, b) La calidad nutricional, dictaminada mayormente por el valor nutritivo y c) la calidad higiénico-sanitaria o seguridad del alimento (Huerta Leidenz y Rodas 2001).

Hace menos de una década la industria y hasta los organismos reguladores, a nivel mundial, tenían una actitud permisiva, respecto a que las bacterias, incluyendo los patógenos, eran una parte natural del ambiente y que no podían ser controlados. Esta actitud ha cambiado radicalmente y en los países industrializados se han establecido estándares para la reducción de patógenos y sistemas de monitoreo como los planes HACCP (Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos) para evitar la contaminación por bacterias patógenas, particularmente en productos crudos; sin embargo no solo estos microorganismos se deben tomar en cuenta, ya que la vida de anaquel de los productos perecederos a menudo es determinada por el número de microorganismos inicial que presenta la materia prima. Como regla general, el alimento con una carga microbiológica mayor tiene una vida de anaquel más corta, que el mismo alimento, con el mismo tipo de microorganismo, pero en menor cantidad. Algunos microorganismos tienen gran impacto en las cualidades sensoriales debido a la presencia de actividad enzimática en diferentes componentes del alimento (Huerta Leidenz y Rodas 2001, Smoot y Pierson 2001).

El número y los tipos de microorganismos presentes en los alimentos, pueden ayudar a juzgar la calidad y seguridad sanitaria de éstos. La seguridad es determinada por la presencia o ausencia de microorganismos patógenos y sus toxinas (Smoot y Pierson 2001).

#### 1.1.4 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE

La calidad microbiológica de la carne es de suma importancia, ya que actualmente hay reportes de más de 250 Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), en donde las infecciones más comunes ocasionadas por el consumo de cualquier tipo de carne, son las provocadas por las especies *Campylobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7.

Los microorganismos de la carne, pueden acceder a ella de dos formas: por medio del animal vivo o contaminación endógena y por contaminación de la carne *post-mortem* o contaminación exógena (Lawrie y Ledward 2006, Jackson, Acuff y Dickson 2001).

- **Flora endógena.** La carne puede ser contaminada por un mal sacrificio o por un mal manejo de la canal durante la evisceración y el desollado (Jackson, Acuff y Dickson 2001, López de Torre, Carballo y Madrid 2001).
- **Flora exógena.** Algunas de las fuentes más importantes de contaminación están constituidas por el ambiente del matadero, como suelos, paredes, superficies de contacto, cuchillos, manos de los operadores, la carga microbiana del aire, así como el uso de ropas o paños de limpieza sucios. De igual forma, la contaminación cruzada durante el almacenamiento de la carne, es un factor muy importante para tomar en cuenta, ya que en este punto se pueden encontrar las condiciones idóneas, no solo para la contaminación de los productos, también para la proliferación de los microorganismos. Entre los microorganismos encontrados más comunmente por contaminación exógena, se consideran: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O154:H7 y *Listeria monocytogenes*, los cuales además son originarios de las ETA más comúnmente detectadas por consumo de cárnicos (Marcos 2007).

Una carne de buena calidad sanitaria, es aquella que desde el punto de vista parasitológico, microbiológico y toxicológico no representa ningún riesgo para el consumidor. Desde el punto de vista microbiológico la carga microbiana inicial de la carne, depende de una serie de factores, como son:

- El animal «*per se*» (especie, proporción de las grasas, etc.) La presencia de las grasas y proteínas ejerce un efecto protector sobre los microorganismos
- El estado del animal (ayuno, reposo, etc.)
- Hábitat del animal (si el animal estaba estabulado habrá gran cantidad de bacterias entéricas)

Cuando se sacrifica el animal y ocurre el proceso de maduración, suceden una serie de cambios enzimáticos que afectan el pH final de la carne y por tanto influyen en la carga microbiana (López de Torre, y otros 2001).

En México en materia de normatividad, la NOM-194-SSA1-2004 establece las especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de los animales para abasto, almacenamientos, transporte y expendio, así como las especificaciones microbiológicas para la venta y distribución de carne fresca y sus cortes. Esta norma considera diferentes tipos de microorganismos y sus límites máximos de acuerdo al origen de la carne, según se indica en el Cuadro 2.

**Cuadro 2. Parásitos en carne fresca (Especificaciones sanitarias)**

Especificaciones	Limite máximo	Especies
Cisticerco	Ausente	Porcinos
Quiste hidatídico	Ausente	Bovinos y ovinos
<i>Trichinella sp.</i>	Ausente	Porcinos y equinos
<i>Cisticerco bovis</i>	Ausente	Bovinos

**Fuente:** NOM-194-SSA1-2004

Las especificaciones microbiológicas para cortes de carne en Cuadro 3.

**Cuadro 3. Especificaciones microbiológicas en cortes de carne**

Producto	<i>E. coli</i> * UFC/g límite máximo	<i>Salmonella</i> en 25g
Congelado	No aplica	Ausente
Refrigerado	1000	Ausente
Carne molida	5000	Ausente
Envasado al vacío o en atmósfera modificada	No aplica	Ausente

\*Como microorganismo indicador

**Fuente:** NOM-194-SSA1-2004

Sin embargo, no considera la determinación de mesófilos aerobios, ni tampoco se tienen especificaciones para *Staphylococcus aureus*, puesto que la norma que los incluía, fue derogada en 2005. Se debe recordar que la carga microbiana de la carne, es un indicador determinante relacionado con un manejo apropiado de los animales durante y después de la matanza.

En este mismo sentido, en la NOM-213-SSA1-2002, se establecen las especificaciones sanitarias para los productos cárnicos procesados, entre los que se incluyen a los productos cárnicos crudos, definidos como los elaborados con carne, vísceras o sus mezclas, que pueden ser o no curados o madurados, y que **no son** sometidos a algún tratamiento térmico, como es el caso del salami. En esta norma los mesófilos aerobios No Aplican para los productos crudos, por lo que entonces la calidad sanitaria de la carne que se utiliza para su elaboración cobra mayor relevancia.



La Unión Europea, en su reglamento CE 1441/2007, establece como parámetros de sanidad los que se indican en la Cuadro 4.

**Cuadro 4. Parámetros microbiológicos de sanidad para la Comunidad Europea**

Alimento	Microorganismo	Límites	
		m	M
Canales de bovinos, ovinos, caprinos y equinos	Recuento de colonias aerobias	3.5 log UFC/cm <sup>2</sup>	5.0 log UFC/cm <sup>2</sup>
	Enterobacteriáceas	1.5 log UFC/cm <sup>2</sup>	2.5 log UFC/cm <sup>2</sup>
Canales de porcinos	Recuento de colonias aerobias	4.0 log UFC/cm <sup>2</sup>	5.0 log UFC/cm <sup>2</sup>
	Enterobacteriáceas	2.0 log UFC/cm <sup>2</sup>	3.0 log UFC/cm <sup>2</sup>

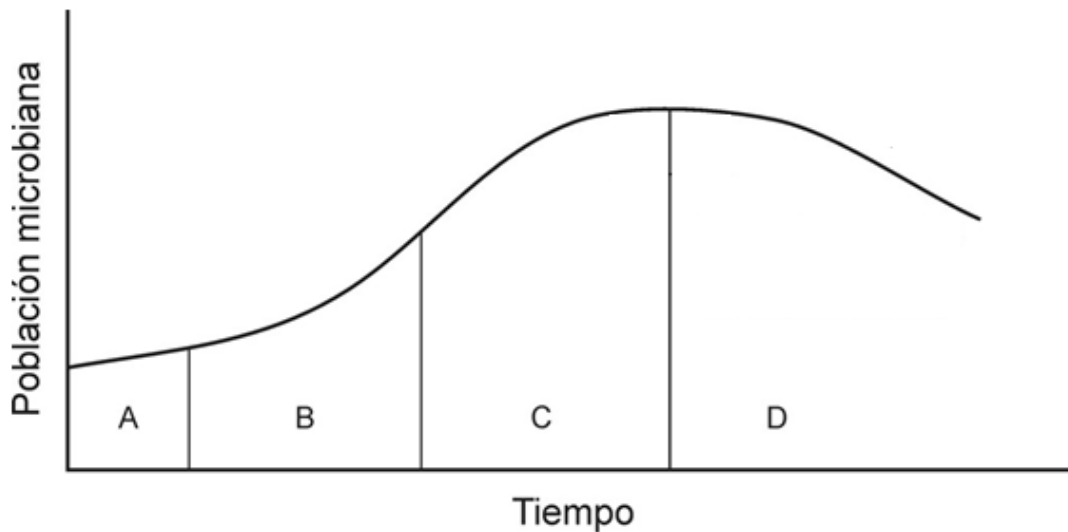
**Fuente:** Fragmento del reglamento CE 1441/2007

### 1.1.5 FACTORES QUE AFECTAN EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS

La calidad microbiológica de los alimentos, se ve afectada por diversos factores que modifican o alteran alguna de las etapas o fases del desarrollo de los microorganismos. Dicho de otra forma, cada vez que las condiciones de desarrollo de los microorganismos, sean las óptimas, la velocidad de crecimiento será mayor.

El crecimiento microbiano se define como el aumento en el número de las células microbianas de una población; también puede medirse como un incremento de la masa celular. La velocidad de crecimiento es el aumento en el número de células o en la masa celular experimentado por unidad del tiempo (Madigan, y otros 2003).

El crecimiento microbiano está dividido en 4 fases, llamadas: Fase de latencia (A), Fase exponencial o logarítmica (B), Fase estacionaria (C) y Fase de muerte (D) (Figura 3).



**Figura 3. Gráfica de crecimiento microbiano**

**Fuente:** Madigan, y otros, 2003

- **Fase de latencia (A):** Es el periodo en el cual, un microorganismo comienza su crecimiento después de ser inoculado, este tiempo puede variar dependiendo de la procedencia del cultivo, de las condiciones de crecimiento, así como de la capacidad del cultivo para adaptarse al medio.
- **Fase exponencial o logarítmica (B):** Es la fase en la cual se desarrollan las células y se duplican, las células tomadas en el punto medio de la fase exponencial, son a menudo las más indicadas para estudios enzimáticos y estructurales.
- **Fase estacionaria (C):** Esta fase comienza cuando un nutriente esencial del medio de cultivo se usa y llega a ser un factor limitante del crecimiento, o bien se acumulan en el medio algunos productos de desecho hasta niveles inhibitorios que hacen que cese el crecimiento exponencial. Generalmente ocurren ambas cosas, en esta etapa del crecimiento bacteriano, no hay ni crecimiento ni descenso en el número de células.

- **Fase de muerte (D):** Si la incubación continúa después de que la población haya alcanzado la fase estacionaria, las células pueden continuar vivas y metabólicamente activas, pero también pueden morir. Si ocurre esto último se dice que la población está en fase de muerte, en algunos casos la muerte está acompañada de lisis celular. En la mayoría de los casos, la velocidad de muerte es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial.

Existen diversos factores que afectan de manera directa la supervivencia de los microorganismos. Estos factores incluyen: temperatura, pH, oxígeno, actividad de agua ( $a_w$ ), potencial óxido reducción (Eh). Con una combinación y control apropiados, ayudan a extender la vida de anaquel de los productos alimenticios, al controlar el desarrollo microbiano.

- **Temperatura:** Según el modo en que la temperatura influye sobre el crecimiento, las bacterias pueden clasificarse en psicrófilas, psicrótrofas, mesófilas y termófilas (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Clasificación de bacterias de acuerdo a sus temperaturas óptimas de desarrollo**

Tipo	Temperatura (°C)		
	Mínima	Óptima	Máxima
Psicrófilas	0-5	10	20
Psicrótrofas	5	15	25
Mesofílicas	10	35	50
Termofílicas	45	50	90

**Fuente:** López, 2001, Doyle, y otros, 1997

- **pH:** Los cambios en el pH pueden dañar de dos maneras a la célula microbiana. Afectan la funcionalidad de sus enzimas o afectan el sistema de transporte de nutrientes al interior de la célula (Jay, y otros 2009). Los pH bajos pueden promover la conservación de los alimentos inhibiendo el crecimiento microbiano o disminuyendo la resistencia al calor de los microorganismos (ICMSF 1980) (Cuadro 6).

El control del pH es uno de los factores de mayor importancia en los alimentos; en productos como la carne, su descomposición por degradación microbiológica, se ve afectada por el pH alcanzado después del *rigor mortis* (Jay, y otros 2009). Por otro lado, la adición de ácidos orgánicos tales como el ácido acético o ácido láctico, han sido utilizados en la industria cárnica, con el fin de modificar el pH natural de los productos y crear un ambiente desfavorable para el desarrollo de los microorganismos, así como incrementar el sabor y extender su vida de anaquel, la actividad de éstos ácidos contra *Cl. botulinum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 ha sido estudiada y reportada por diversos autores (Faruk y Bibek 1996, Aymerich, y otros 2007).

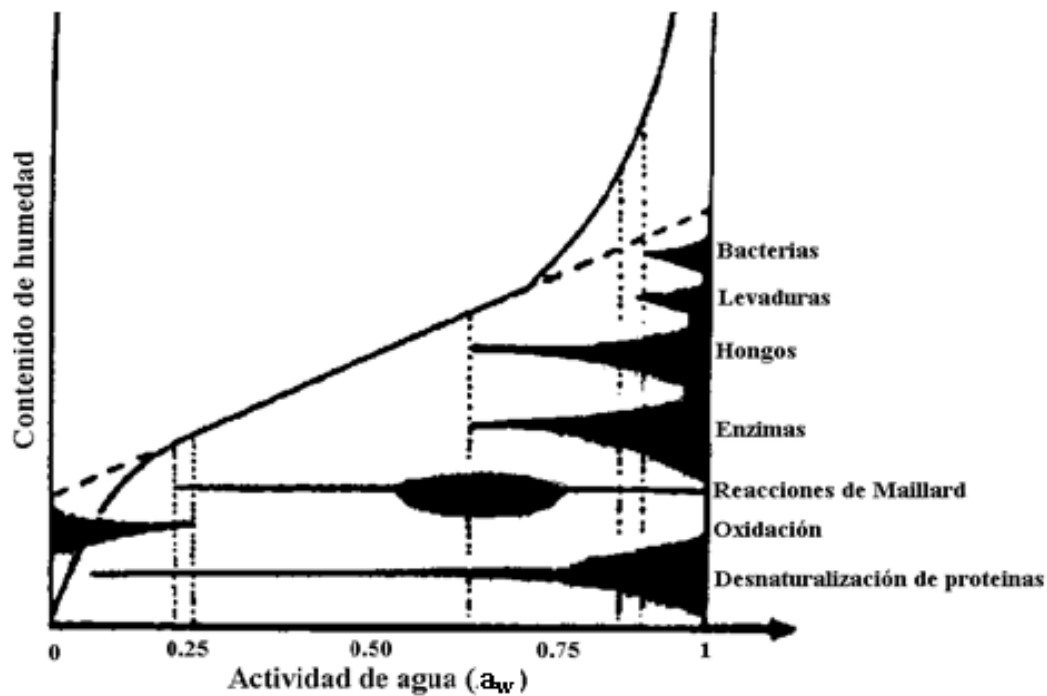
**Cuadro 6. pH máximo y mínimo por microorganismo**

Microorganismo	pH	
	Mínimo	Máximo
<i>Penicillium variable</i>	1.6	11.1
<i>Aspergillus oryzae</i>	1.6	9.3
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	2.3	8.6
<i>Lactobacillus</i> sp.	4.0	7.2
<i>S. aureus</i>	4.0	9.8
<i>E. coli</i>	4.4	9.0
<i>S. paratyphi</i>	4.5	7.8
<i>B. subtilis</i>	4.5	8.5
<i>Streptococcus lactis</i>	4.5	9.2
<i>C. botulinum</i>	4.7	8.5
<i>Enterococcus</i> sp.	4.8	10.6
<i>B. cereus</i>	4.9	9.3
<i>Micrococcus</i> sp.	5.6	8.1

Fuente: ICMSF, 1980

- **Oxígeno:** Desde el punto de vista de capacidad del aprovechamiento del oxígeno libre o respiración de las bacterias, éstas se clasifican como: aerobias, anaerobias, aerobias facultativas y microaerofílicas (Jay, y otros 2009).
  - **Aerobias:** Requieren Oxígeno para llevar a cabo sus funciones metabólicas
  - **Anaerobias:** Es indispensable un ambiente libre de oxígeno para que puedan desarrollarse y llevar a cabo sus funciones metabólicas (*Clostridium*)
  - **Aerobias facultativas:** Pueden desarrollarse en ambientes con o sin presencia de oxígeno (algunos mohos y levaduras)
  - **Microaerofílicas:** Se ha descubierto que esta clase de bacterias se desarrollan mejor en ambientes en donde la presencia de oxígeno es muy baja (*Lactobacillus* y *Campylobacter*)
  
- **Actividad de agua ( $a_w$ ):** Las necesidades de  $a_w$  de diversos microorganismos varían significativamente. En el rango vital de crecimiento, la reducción del  $a_w$  incrementa la fase de latencia y reduce la velocidad de crecimiento (Figura 4).

Los microorganismos que producen ETA (por producir toxinas o infectar al organismo) se agrupan de acuerdo a sus necesidades de  $a_w$  mínimas (Jay, y otros 2009). En general, entre las bacterias, las especies Gram-negativas tienen las necesidades de  $a_w$  más elevadas. Algunos microorganismos pueden multiplicarse a valores de  $a_w$  bajos, estos son conocidos como: halófilos, xerófilos y osmófilos (ICMSF, 1980, López, 2001) (Cuadro 7).



**Figura 4.** Degradación y ataque bacteriano de los alimentos de acuerdo a su  $a_w$

**Fuente:** Depósito de documentos de la FAO, 2008.

**Cuadro 7.** Niveles de  $a_w$  mínimos necesarios para el desarrollo de microorganismos

Grupos de microorganismos	$a_w$ mínima necesaria
Bacterias	0.91-0.88
Levaduras	0.88
Mohos	0.80
Bacterias halófilas	0.75
Mohos xerotoleantes	0.71
Mohos xerofílicos y levaduras osmofílicas	0.62-0.60

**Fuente:** Doyle, y otros, 1997.

- **Potencial óxido-reducción (Eh):** Es bien conocido el hecho de que el principal factor responsable de la descomposición de los alimentos lo constituye la contaminación y el desarrollo de bacterias subsecuente. Así mismo, se sabe que dichos microorganismos presentan ciertos requerimientos ambientales (o microecológicos) específicos, uno de estos requerimientos es la tensión de oxígeno, mismo que se considera el más importante para la determinación del Eh, aunque es necesario mencionar que no solo éste determina el potencial, pues existen una gran cantidad de sustancias oxidativas o reductoras; un claro ejemplo de estos es el cobre, el cual tiene un efecto oxidativo a concentraciones de 1 ppm, de igual manera se encuentran sustancias reductoras como algunos azúcares y ácido ascórbico. El Eh es considerado uno de los factores selectivos, ya que influye en los tipos de microorganismos presentes en los alimentos, así como sus metabolitos, de manera tal, que los microorganismos aerobios necesitan para crecer valores redox positivos, mientras que los anaerobios frecuentemente requieren valores redox negativos (ICMSF 1980, J. López 2001)

Los procesos de oxidación y de reducción se definen en términos de migraciones electrónicas entre compuestos químicos. La oxidación es la pérdida de electrones, mientras que la reducción es la ganancia de estos. Se ha encontrado que la caída más rápida en el Eh, frecuentemente coincide con el comienzo de la fase logarítmica de crecimiento de los microorganismos, en la que la intensidad de las actividades metabólicas es máxima (ICMSF 1980).

Un ejemplo de modificaciones en los alimentos debidas al Eh (Cuadro 8), lo vemos en las piezas interiores de carne, que se encuentran lo suficientemente reducido como para prevenir el crecimiento de los microorganismos aerobios (pseudomonas, bacilos u

hongos), pero el bajo Eh (*post-rigor*) estimula el crecimiento de enterobacterias y clostridios (ICMSF 1980).

**Cuadro 8. Condiciones de Eh que limitan el crecimiento de ciertos microorganismos**

Condiciones de Eh	Tipos de Microorganismos que pueden desarrollarse	Ejemplos de Microorganismos
Condiciones reducidas	Anaerobias	<i>Clostridium</i>
Condiciones de oxidación	Aerobios	Bacilos, <i>Pseudomonas</i> , Hongos y levaduras
Condiciones de oxidación baja	Microaerófilicos	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i>
Condiciones de oxidación o reducción	Anaerobias facultativas	<i>Staphylococcus</i>

Fuente: López, 2001

- **Acidez:** La actividad antimicrobiana de un ácido orgánico o su sal, se debe a sus moléculas no disociadas. Algunos ácidos orgánicos en su estado no disociado son muy solubles en las membranas celulares. Únicamente los ácidos lipófilos muestran actividad antimicrobiana, estos compuestos inhiben el crecimiento de los microorganismos o los matan, por interferir con la permeabilidad de la membrana celular al producir un desacoplamiento en el transporte de sustratos y en la fosforilación oxidativa del sistema transportador de electrones (ICMSF 1980).

## 1.2 CLASIFICACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS

Existe una gran variedad de productos cárnicos llamados embutidos. Sus clasificaciones son diversas, y generalmente dependen del tipo de procesamiento al que fueron sometidos. Una forma de clasificarlos desde el punto de vista de la práctica de elaboración, reside en referir al estado de la carne al incorporarse al producto (Müller y Ardoino 2003).



En este sentido, Venegas y Valladares (1999), clasifican a los embutidos en Crudos, Escaldados y Cocidos, de acuerdo con esta, el salami se puede considerar un **Producto cárnico crudo**.

En México, la clasificación de los embutidos, se encuentra establecida en la NOM-213-SSA1-2002, en la cual se definen los siguientes productos:

- Productos cárnicos cocidos
- Productos cárnicos crudos
- Productos cárnicos curados
- Productos cárnicos desecados, secos o salados
- Productos cárnicos empanados o rebozados congelados
- Productos cárnicos fritos
- Productos cárnicos madurados
- Productos cárnicos marinados o en salmuera
- Productos cárnicos procesados

Definiciones establecidas en la NOM-213-SSA1-2002:

- **Productos cárnicos crudos**, a los elaborados con carne, vísceras o sus mezclas, que pueden ser curados o no curados o madurados, y que no son sometidos a algún tratamiento térmico.
- **Productos cárnicos madurados**, a los que son sometidos a deshidratación parcial, pudiendo ser ahumados o no, sometidos durante cierto tiempo a la acción de cultivos microbianos o enzimas o microorganismos propios de la carne y su acción sobre azúcares añadidos o no. Pueden ser en cortes, enteros o troceados.

- **Productos cárnicos curados**, a los que se agregan por vía húmeda o seca, sal o azúcares, nitratos o nitritos, independientemente de que sean sometidos a algún tratamiento térmico, a maduración o se manejen crudos.

Dicho de otra forma el salami se puede definir de la siguiente manera: *Producto crudo elaborado con carne y grasa molidas o picadas, embutido en tripa natural, adicionado con sal común, sustancias de curación, azúcar, aditivos y productos coadyuvantes para el curado y sometido a un proceso de fermentación-maduración que le confiere sus características organolépticas y de conservabilidad, con la adición de cultivos iniciadores y aditivos permitidos* (Venegas y Valladares 1999, Coretti 1986).

### 1.2.1 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

En la NOM-213-SSA1-2002, se estableces especificaciones microbiológicas para los embutidos cárnicos (Cuadro 9), a través de las cuales se asegura la calidad sanitaria de los productos terminados. Según la definición de salami del párrafo anterior, las pruebas microbiológicas aplicables al producto serán las consideradas para embutidos crudos.

**Cuadro 9. Pruebas microbiológicas obligatorias para productos cárnicos procesados**

<b>Producto</b>	<b>BAT (UFC/g)</b>	<b>Coliformes fecales (NMP/g)</b>	<b>Salmonella spp en 25 g</b>	<b>Trichinella spiralis</b>	<b>Cisticercos</b>
Cocidos	10000 <sup>1</sup> 60000 <sup>2</sup>	<3	Ausente	N.A.	N.A.
Crudos	N.A.	N.A.	Ausente	Ausente <sup>3</sup>	N.A.
Curados	N.A.	<3	Ausente	N.A.	N.A.
Marinados o en Salmuera	N.A.	<3	Ausente	N.A.	N.A.
Fritos	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	Ausente

En planta y en punto de venta No aplica a madurados crudos N.A. No Aplica

**Fuente:** NOM-213-SSA1-2002

### 1.3 MATERIAS PRIMAS REQUERIDAS PARA LA ELABORACIÓN DEL SALAMI

**Sal común:** Actúa como generadora de sabor, de igual forma influye en los procesos físico-químicos y microbianos de maduración que se desarrollan durante el curado y desecado. Reduce el  $a_w$  de la masa embutida, con lo cual diversos microorganismos patógenos y de putrefacción se ven afectados en su desarrollo y multiplicación, también la actividad enzimática se encuentra comprometida por el  $a_w$  (Coretti 1986).

**Nitratos y Nitritos:** Denominados también aditivos de salazón o sales de curación, su función como bacteriostático es fundamental; otra función importante de las sales de curación es la formación del color característico de los embutidos. El nitrito promueve el establecimiento de bacterias ácido lácticas y especies *Micrococcaceae* pero puede inhibir bacterias ácido lácticas si se agrega en cantidades excesivas (Torres 2009).

**Dextrosa/ Sacarosa:** El contenido de glucosa de la carne de bovino y cerdo fresco post-rigor es de 0.08-0.1 % lo cual no es suficiente para producir cantidades significativas de ácido láctico. En consecuencia azúcares, como la sacarosa o la dextrosa se agregan a la mezcla del embutido como sustrato de fermentación para las bacterias ácido lácticas (Torres 2009, Coretti 1986).

**Tripa natural:** Son obtenidas del tubo digestivo de los porcinos, bovinos, ovinos o equinos, sin ninguna transformación (Torres 2009).

## 1.4 SISTEMA DE BARRERAS PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS

La creciente demanda de productos mínimamente procesados y listos para el consumo o “ready to eat” plantea un importante riesgo para la seguridad alimentaria y ha conducido al desarrollo de tratamientos post-procesados suaves, que permitan inhibir el crecimiento microbiano manteniendo la calidad y frescura de los alimentos. En este contexto adquiere una especial importancia el uso combinado de barreras contra el crecimiento de microorganismos que aseguren su calidad higiénico-sanitaria, garantizando las propiedades sensoriales (Figura 5) (Marcos 2007).

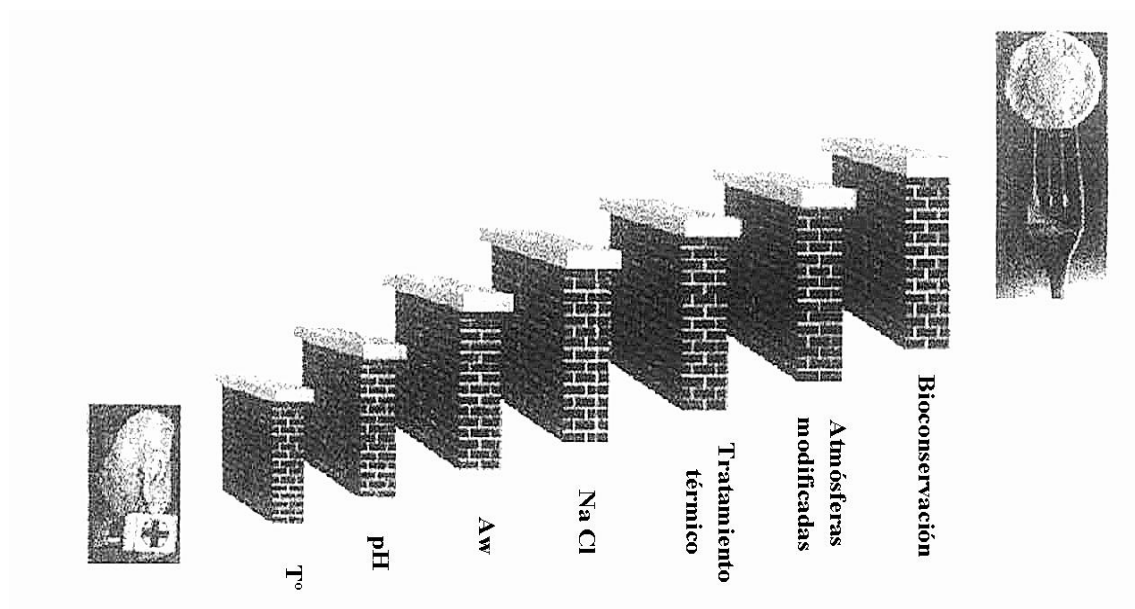


Figura 5. Bioconservación en un sistema de barreras

Fuente: *Codex Alimentarius*

Las técnicas tradicionales de conservación de los alimentos se basan en limitar o prevenir el crecimiento microbiano, utilizando factores que afectan la supervivencia de los

microorganismos, tales como la temperatura, la actividad del agua, el Eh, el pH, la ausencia de oxígeno, los conservadores, etc. El uso combinado de distintos factores inhibidores puede resultar más ventajoso, que el uso individual de los mismos. Otros autores propusieron el efecto barrera para ilustrar que tanto los alimentos más tradicionales como los más novedosos, pueden evitar el desarrollo de los microorganismos presentes y aportar mejoras en la estabilidad microbiana, si se usa la combinación apropiada de diferentes métodos de conservación (Garriga 2005).

Los métodos de conservación son orientados hacia la muerte de algunos microorganismos, así como prevenir o retardar el desarrollo de la población sobreviviente para proporcionar la seguridad necesaria y extender la vida de anaquel de los alimentos.

En la práctica, este objetivo generalmente no es alcanzado por un solo método de conservación, dos o más métodos deben ser aplicados en combinación. La regla básica establece que mientras más alto sea el número de métodos o barreras usadas, la viabilidad de los microorganismos se pierde y el desarrollo de los sobrevivientes se retarda. La aplicación simultánea de más de un método, incrementa la efectividad de producir alimentos seguros con larga vida de anaquel. Estos métodos de conservación han hecho que productos perecederos estén disponibles todo el año, en lugar de solo algunas temporadas y ayudan en la selección de nuestra dieta dando un amplio intervalo de productos alimenticios. Esto también ayuda en el procesado comercial de grandes volúmenes y en la distribución de alimentos nacional e internacionalmente. Sin embargo los métodos de conservación para los alimentos dependen de varios factores, los cuales incluyen el tipo de alimento, el tipo de microorganismo, la extensión de la vida de anaquel, el costo y otros factores. El número y el tipo de barreras dependen específicamente del tipo de alimento (Bibek y Mark 2000).

## 1.5 BIOCONSERVACIÓN

Una de las tecnologías de conservación de alimentos más antiguas es la fermentación, un proceso dependiente de la actividad biológica de los microorganismos y su producción de metabolitos, los cuales pueden suprimir el desarrollo y la supervivencia de microflora indeseable en los alimentos.

Algunas fermentaciones han sido usadas en alimentos y bebidas por miles de años, sin embargo el reconocimiento e identificación de los microorganismos como responsables de los procesos de fermentación fue en 1861, con el desarrollo de la pasteurización (Figura 6).

Debido al crecimiento de las ciudades, las poblaciones, la producción de alimentos a gran escala y su distribución a mercados más lejanos, se volvió necesario el desarrollo de procesos de fermentación a gran escala para la producción de estos alimentos y bebidas, los microorganismos más comúnmente usados fueron las bacterias ácido lácticas. En cada uno de los casos, los alimentos proveían a las bacterias de los sustratos necesarios para la formación de los metabolitos microbianos que contribuían a la extensión de la vida de anaquel y la calidad de los productos (Ross, y otros 2002).

Actualmente, al uso de la microbiota natural o adicionada, así como sus metabolitos antimicrobianos (estos compuestos pueden ser de origen vegetal, animal y/o microbiológico), para extender la vida de anaquel de los productos y para incrementar su seguridad, se le llama Bioconservación; esto con la finalidad de diferenciarla de la conservación artificial o química. Este método de conservación ha sido usado en los alimentos por muchos años, sin causar efectos adversos en la salud humana (Bibek y Mark 2000, Castellano, y otros 2008).

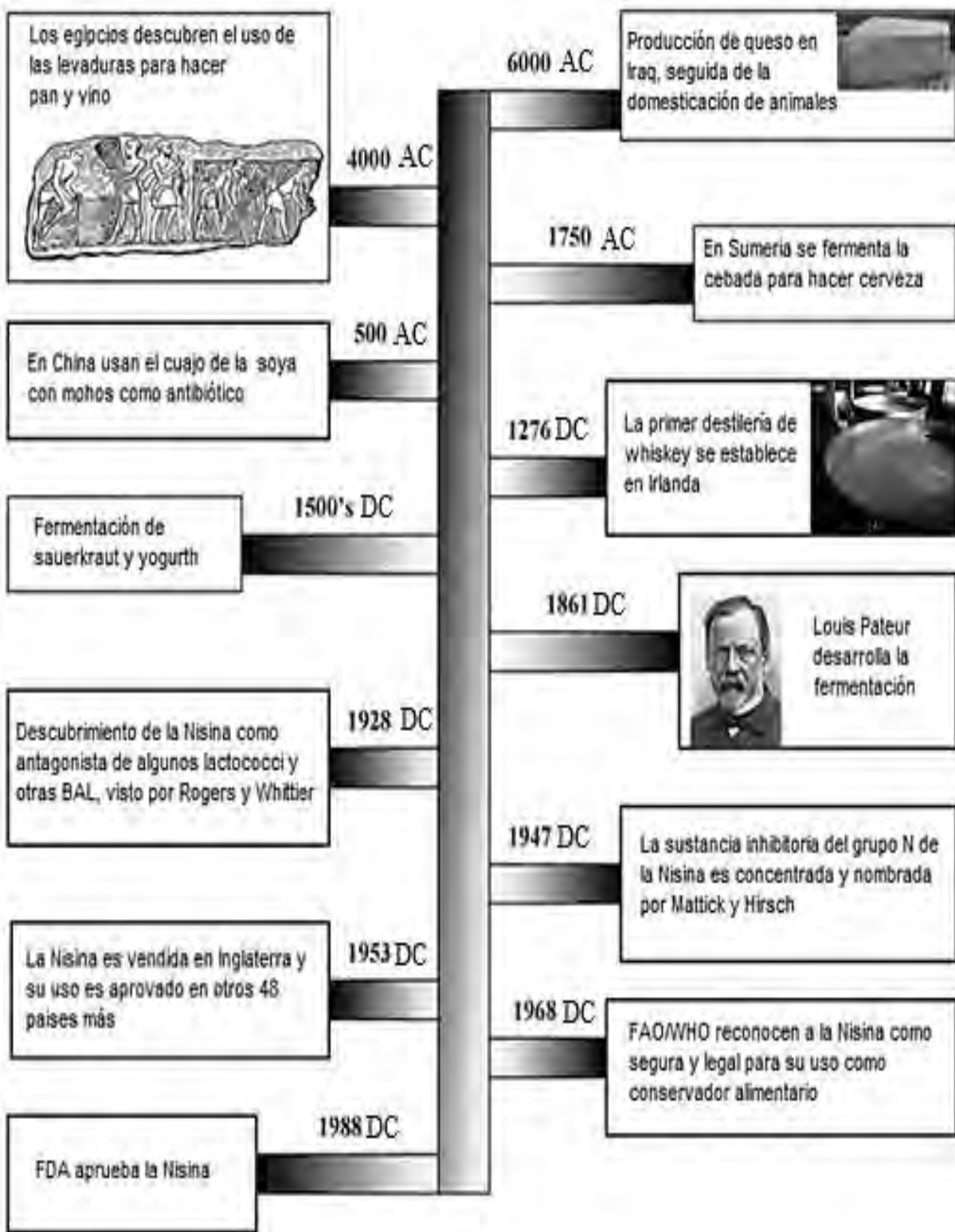


Figura 6. Bioconservación en el tiempo

Fuente: Modificado de Ross, y otros, 2002.

En los estudios realizados por varios investigadores, los alimentos que contenían microorganismos patógenos como *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* fueron inhibidos cuando se adicionaron con cultivos de *Streptococcus diacetylactis*. En este caso el *S. aureus* fue reducido en más del 99% en alimentos como el jamón, los aderezos para pollo y algunos cortes de carne (Ross, y otros 2002).

Algunas BAL que han sido comúnmente asociadas con la carne, han demostrado un efecto de antagonismo frente a microorganismos patógenos y esporulados, estos cultivos pueden ser adicionados como iniciadores en la producción de productos cárnicos fermentados-madurados bajo este principio de evitar el desarrollo de patógenos y así alargar la vida de anaquel, además de favorecer el desarrollo de propiedades sensoriales características de estos alimentos. Este antagonismo se debe a la producción de uno o más metabolitos con actividad antimicrobiana como ácidos orgánicos (láctico y acético), peróxido de hidrógeno, enzimas antimicrobianas, bacteriocinas y reuterina. Estudios realizados en productos cárnicos demuestran que se pueden inhibir patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 (Vermeiren, y otros 2004, Aymerich, y otros 2007, Cosansu, y otros 2010)

La bioconservación puede ser utilizada como una alternativa en el uso de aditivos químicos actuando como un obstáculo extra, conservando así, alimentos, carnes fermentadas y productos mínimamente procesados.

Dicha alternativa es aplicada con el uso de sustancias antimicrobianas metabolizadas por las bacterias, las cuales pueden ser rociadas en la superficie de los alimentos, o agregadas como ingredientes activos en los empaques, dependiendo el tipo de producto al que se aplique.



Cuando se lleva a cabo la bioconservación con el uso de cultivos iniciadores o cultivos bioprotectores, ésta depende de la habilidad del cultivo para desarrollarse y producir los factores antimicrobianos bajo el ambiente fisicoquímico y tecnológico del alimento (temperatura, pH, ingredientes, aditivos, actividad de agua, etc.). En alimentos frescos, estos cultivos iniciadores pueden competir con la microflora endógena (Aymerich, y otros 2007)

Las BAL y sus sales han sido muy utilizadas en la industria cárnica para potencializar los sabores y extender la vida de anaquel de los productos. Su actividad contra *Cl. botulinum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 han sido reportados por diversos autores. En Europa su uso es regulado por la directiva europea 95/2/CE. En Estados Unidos, estas han sido reconocidas como agentes antilisteria y su uso ha sido regulado por el registro federal (Aymerich, y otros 2007, Minor Perez, y otros 2002).

Las bacteriocinas producidas por BAL son péptidos antimicrobianos, generalmente estables al calor, aparentemente hipoalergénicos y fácilmente degradados por enzimas proteolíticas en el tracto intestinal humano. Algunas bacteriocinas han sido probadas en alimentos, la nisina es una de las más comerciales y la única regulada como aditivo por la comunidad europea (Aymerich, y otros 2007).

A los cultivos antagónicos agregados a los alimentos para inhibir a los microorganismos patógenos y/o extender la vida de anaquel, los cuales no cambian las propiedades sensoriales se les llama cultivos protectores. Existe una distinción importante entre los cultivos iniciadores y los cultivos protectores en el cual, la actividad metabólica (producción de ácidos e hidrólisis de proteínas) y la acción antimicrobiana constituyen el principal objetivo, respectivamente (Cuadro 10) (Castellano, y otros 2008).

**Cuadro 10. Cultivos iniciadores asociados con alimentos fermentados**

Bacteria	Alimentos fermentados
<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>cremoris</i>	Todo tipo de quesos, crema ácida
<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> serovar <i>diacetylactis</i>	Crema ácida, mantequilla, queso
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp <i>thermophilus</i>	Yogurt, queso suizo, queso italiano
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp <i>cremoris</i>	Suero, crema ácida, queso cottage, mantequilla
<i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Embutidos fermentados, vegetales fermentados, cereales fermentados
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Leche ácida fermentada
<i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	Queso suizo
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i>	Yogurt, queso suizo, queso italiano, kumis, leche de búlgaros
<i>Lactobacillus casei</i>	Leche fermentada
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Embutidos fermentados, sauerkraut
<i>Lactobacillus brevis</i>	Kefir, sauerkraut
<i>Lactobacillus sake</i>	Embutidos fermentados
<i>Lactobacillus sanfrancisco</i>	Pan de levadura estilo San Francisco
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Leche bífidos
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Queso suizo

Fuente: Bibek y Mark 2000

### 1.5.1 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)

Una de las principales características de esta clase de bacterias son las relativamente grandes cantidades de ácido láctico que producen, derivado de la descomposición de los carbohidratos del medio. En este grupo se incluyen los géneros de: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* y *Streptococcus* (Bibek y Bhunia 2007).

Las BAL son las que más se utilizan como bioconservadores debido a que son seguras para su consumo y durante el almacenamiento dominan naturalmente la microbiota de varios alimentos. Las BAL son identificadas como “GRAS” *Generally Recognized As Safe*, por sus siglas en inglés (Generalmente reconocidas como seguras) y se asocian con alimentos fermentados, además de ser bacterias de uso tradicional en la industria alimentaria. Los péptidos antimicrobianos producidos por BAL pueden ser fácilmente digeridos por las proteasas digestivas, por lo que no producen disturbios en la microbiota natural del intestino (Castellano, y otros 2008, Alaniz de la O, y otros 2006).

Las BAL son caracterizadas Gram positivas, cocos o bacilos, anaeróbicas pero aerotolerantes, capaces de fermentar carbohidratos para obtener energía y producen ácido láctico, pueden ser homofermentativas (producen lactato) o heterofermentativas (producen lactato, etanol y dióxido de carbono), también pueden producir pequeñas cantidades de sustancias orgánicas que contribuyen al aroma y que dan características sensoriales específicas (Parada, y otros 2007).

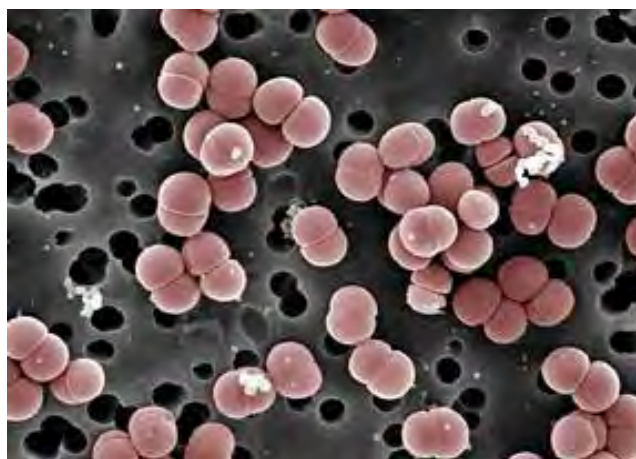
Estos microorganismos son encontrados en leche, carne, productos fermentados y bebidas, y pueden inhibir el desarrollo de patógenos y microorganismos deterioradores, manteniendo la calidad nutritiva y aumentando la vida de anaquel, también son utilizados para mejorar el sabor y la textura de algunos alimentos (Parada, y otros 2007).

La fermentación de azúcares seguida de la reducción de pH, debida a la producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos, es un factor importante para la inhibición del desarrollo de microorganismos indeseables, esto es debido a que los bajos niveles de pH permiten que los ácidos orgánicos liposolubles rompan la membrana celular y alcanzan el citoplasma de los microorganismos patógenos (Parada, y otros 2007).

Los cultivos antagónicos que son adicionados a los productos cárnicos para inhibir patógenos y/o prolongar la vida de anaquel, logran dicha inhibición, compitiendo por los nutrientes y/o produciendo uno o más metabolitos antimicrobianos, tales como ácidos orgánicos (acético, láctico), peróxido de hidrógeno, enzimas antimicrobianas, bacteriocinas y reuterina (Vermeiren, y otros 2004).

#### 1.5.1.1 *PEDIOCOCCUS*

Estas células son esféricas y forman tétradas, pero pueden presentarse en pares (Figura 7). Las células individuales o cadenas están ausentes. Son Gram positivas, no móviles, no esporuladas, microaerofílicas. Se desarrollan bien entre 25 y 40°C y algunas especies pueden desarrollarse hasta los 50°C, fermentan la glucosa a L (+) o DL-ácido láctico, algunas especies reducen el pH hasta 3.6; dependiendo de la especie, estas pueden fermentar la sacarosa, arabinosa, ribosa y xilosa; generalmente la lactosa no es fermentada, especialmente en leche y leches no cuajadas (Bibek y Bhunia 2007).



**Figura 7.** *Pediococcus pentosaceus*

**Fuente:** Genome news network 2002

Según la especie, estas se encuentran en plantas, vegetales, ensilajes, cerveza, leche, vegetales fermentados, carnes y pescados. El género tiene de siete a ocho especies, de las cuales *Pediococcus pentosaceus* y *Pediococcus acidilactici*, son usados en vegetales, carne, cereales, y otros tipos de alimentos fermentados. También están implicados en la maduración y producción de sabor de algunos quesos como cultivos secundarios. Estas dos especies son difíciles de diferenciar, sin embargo, comparando, el *P. pentosaceus* fermenta maltosa y no crece a 50°C y muere a los 70°C en 5 min (Bibek y Bhunia 2007).

### **1.5.2 SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR BAL**

La acción conservadora de los cultivos iniciadores en alimentos y bebidas es atribuida a la acción combinada de los metabolitos antimicrobianos producidos durante el proceso de fermentación. Entre estos están incluidos algunos ácidos orgánicos tales como láctico, acético y propiónico, producidos como productos finales de la fermentación, los cuales desarrollan una acidez poco favorable para el desarrollo de algunos microorganismos patógenos y deterioradores. En conjunto con los ácidos, los cultivos iniciadores también producen otros metabolitos antimicrobianos tales como bacteriocinas, etanol, peróxido de hidrógeno, diacetilo, reuterina y reuterociclina, etc. (Ross, y otros 2002).

### **1.5.3 NORMAS MICROBIOLÓGICAS PARA ALIMENTOS**

Uno de los puntos más importantes a tomar en cuenta en la calidad sanitaria de los alimentos, es sin duda alguna, las técnicas para la detección de microorganismos, esto es debido a que una mala evaluación de la flora microbiana, puede causar problemas importantes en la salud de los consumidores, así como pérdidas por descomposición o alteración de los alimentos.

En la NOM-213-SSA1-2002, se plantean como referencias, el uso de las siguientes normas para el análisis microbiológico de los productos cárnicos:

- NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-092-SSA1-1994, Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-112-SSA1-1994, Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
- NOM-114-SSA1-1994, Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.

Otras referencias para el análisis microbiológico de los alimentos son:

- NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

## **1.6 SISTEMA HACCP**

El sistema de Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos o mejor conocido como sistema HACCP (por sus siglas en inglés), es una herramienta que ha sido utilizada con el fin de reducir los riesgos de seguridad en los alimentos.

El principal objetivo de este sistema es la prevención de los peligros reconocidos durante los procesos productivos dentro de la cadena de suministro de alimentos, disminuyendo así la probabilidad de ocurrencia en los productos finales.

La aplicación de este sistema, está basado en 5 pasos preliminares y 7 principios básicos (Mortimore y Wallace 2013, Carro y González 2012).

### 1.6.1 APLICACIÓN DEL SISTEMA HACCP

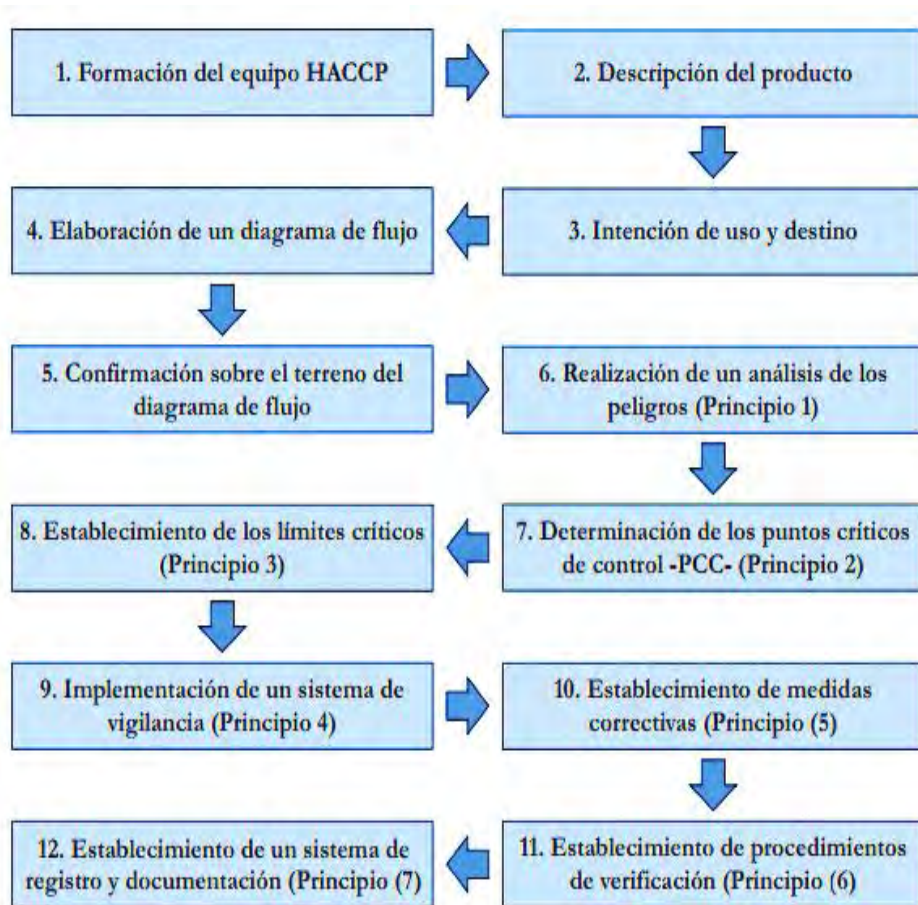
La aplicación del sistema HACCP implica una secuencia de pasos (Figura 8), así como la revisión y aplicación de la regulación aplicable.

**Paso 1: Formación del Equipo HACCP.** Este equipo debe ser multifuncional y estar coordinado por personal capacitado en el tema.

**Paso 2: Descripción del producto.** Debe describirse el producto en forma completa, considerando datos como:

- Composición (materias primas, ingredientes, aditivos, etc.)
- Estructura y características físicas y químicas (sólido, líquido, gel, emulsión,  $a_w$ , pH, etc.)
- Tecnología de procesos (cocción, congelamiento, secado, salazón, ahumado, trabazón, etc.)
- Envasado (hermético, al vacío, en atmósferas controladas, etc.)
- Condiciones de almacenamiento y sistemas de distribución.
- Recomendaciones de conservación y uso.
- Periodo de vida útil.
- Establecimiento y adopción de criterios microbiológicos

**Paso 3: Intención de uso y destino.** Se debe considerar el uso previsto que el consumidor hará del producto y a qué grupo de consumidores está destinado, es necesario poner énfasis en los grupos de la población vulnerables detectados.



**Figura 8. Secuencia para la aplicación del sistema HACCP**

**Fuente:** Carro y González, 2012

**Paso 4: Elaboración del diagrama de flujo.** Debe proporcionar una descripción simple y clara de todas las operaciones involucradas en el proceso del producto a evaluar; se deben considerar todas las etapas del proceso y factores que puedan afectar la estabilidad e inocuidad de los productos.

**Paso 5: Confirmación *in situ* del diagrama de flujo.** Se debe validar la confiabilidad del diagrama de flujo durante el proceso y hacer los ajustes pertinentes en caso de ser necesarios.

**Principio 1: Análisis de Peligros.** Este principio consiste en evaluar todos los peligros detectados (físicos, químicos y biológicos) dentro de los flujos de proceso, considerando desde el suministro de materias primas, hasta el empaqueo de los productos terminados.



**Principio 2: Determinación de Puntos Críticos (PCC).** Una vez que todos los peligros han sido identificados y descritos, se deben establecer las medidas de control a través de las cuales se eliminarán o disminuirán a niveles aceptables los peligros identificados.

**Principio 3: Establecimiento de Límites Críticos.** Para cada PCC identificado, se deben establecer límites o parámetros, entre los cuales se pueda identificar un producto seguro de uno inseguro, dichos parámetros deben ser medibles.

**Principio 4: Establecimiento del sistema de monitoreo para el control de los PCC's.** Se deben especificar las actividades a través de las cuales se llevará a cabo el monitoreo de los PCC's, considerando, frecuencia y responsabilidad.

**Principio 5: Establecimiento de acciones correctivas cuando el monitoreo indica que los PCC's no se encuentran controlados.** Las acciones correctivas, procedimientos y responsabilidades deben ser específicos e implementados, cada vez que se detecten pérdidas de control durante el proceso, o se determine que un producto es potencialmente inseguro.

**Principio 6: Establecimiento de procedimientos de comprobación para confirmar que el sistema HACCP trabaja correctamente.** Estos procedimientos permiten la validación del buen funcionamiento de los PCC's, así como la verificación que el sistema se encuentra trabajando día a día como fue planeado.

**Principio 7: Establecimiento de un sistema de documentación y registros apropiados para los principios y su aplicación.** Los registros deben demostrar que el sistema HACCP está operando bajo control y que las acciones correctivas han sido ejecutadas, cada vez que se detectan desviaciones en los límites críticos, esto con el fin de proporcionar la evidencia de la elaboración de productos inocuos.

## 1.6.2 APLICACIÓN DEL PROGRAMA DE PRERREQUISITOS (PPR)

La norma ISO 22000:2005, define los PPR como: “*Condiciones y actividades básicas que son necesarias para mantener a lo largo de toda la cadena alimentaria un ambiente higiénico apropiado para la producción, manipulación y provisión de productos terminados inocuos y alimentos inocuos para el consumo humano*”. Sin embargo el establecimiento de estos prerrequisitos en la norma ISO 22000, no es específico, por lo que en el año 2008, la BSI (*British Standards Institute*) desarrolló el PAS 220 (*Public Available Specifications*), documento en el cual se especifican 15 prerrequisitos a través de los cuales se aseguraba la inocuidad de los alimentos dentro de los procesos de la cadena alimentaria; En el año 2010 la BSI da de baja el PAS 220 debido a que ISO (*International Standards Organization*) adopta éstos prerrequisitos y en conjunto con la norma ISO 22000 desarrollan el FSSC 22000 (*Food Safety System Certification*).

Los prerrequisitos considerados son los siguientes:

1. Construcción y distribución de edificios
2. Disposición de locales y áreas de trabajo
3. Servicios- aire, agua, energía
4. Eliminación de desechos
5. Diseño de equipos, limpieza y mantenimiento
6. Requisitos de ingreso de materiales
7. Medidas de prevención de contaminación cruzada
8. Limpieza y desinfección
9. Control de plagas
10. Higiene del personal e instalaciones para los empleados
11. Reproceso
12. Recuperación de producto (Recall)
13. Depósitos
14. Información del producto/  
Conocimiento del cliente
15. Defensa alimentaria, biovigilancia y bioterrorismo

## JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO

En el presente trabajo de tesis, se evalúa la calidad sanitaria de un embutido crudo madurado, tipo salami, en términos de bacterias aerobias totales, coliformes totales y coliformes fecales, tomando como base para dicha evaluación, las técnicas de análisis establecidas en las normas oficiales mexicanas.

De la misma manera, se realiza un análisis HACCP, con el fin de determinar oportunidades de mejora dentro del proceso, así como validar las medidas de control establecidas durante dicho análisis, para el planteamiento de los límites críticos para cada medida de control establecida, se tomaron en cuenta los requerimientos de las normas oficiales mexicanas, así como de *Codex alimentarius* y FDA.

Para los modelos cárnicos, se realizaron embutidos madurados, elaborados a base de la mezcla de carne de bovinos alimentados al pastoreo y de los cuartos traseros de porcinos.

## HIPÓTESIS

La adición de bacterias ácido lácticas (BAL) genera un control de la microbiota presente en un embutido cárnico fermentado-madurado, promoviendo así únicamente el desarrollo de BAL y evitando el desarrollo de otros microorganismos presentes en el embutido.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la aplicación de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 respecto de un control sin inocular, en la calidad sanitaria de embutidos tipo salami en términos de bacterias aerobias totales, coliformes totales y fecales.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici*, contra la fermentación espontánea (control) en términos de bacterias aerobias totales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.
2. Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici*, contra la fermentación espontánea (control) en términos de coliformes totales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.
3. Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici*, contra la fermentación espontánea (control) en términos de coliformes fecales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.
4. Aplicar el análisis de peligros y determinar su control durante el proceso de elaboración de un embutido tipo salami.
5. Establecer las medidas de control necesarias para garantizar la inocuidad de un embutido tipo salami.
6. Evaluar el buen funcionamiento de las medidas de control establecidas para los peligros biológicos.

# CAPÍTULO 2

# METODOLOGÍA

## 2.1 CUADRO METODOLÓGICO

**Cuadro 11. Cuadro metodológico**

<b>Objetivo General:</b>			
Evaluar el efecto de la aplicación de cultivos iniciadores de <i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042 respecto de un control sin inocular, en la calidad sanitaria de embutidos tipo salami en términos de bacterias aerobias totales, coliformes totales y fecales.			
<b>Hipótesis:</b>			
La adición de bacterias ácido lácticas (BAL) genera un control de la microbiota presente en un embutido cárnico fermentado-madurado, promoviendo así únicamente el desarrollo de BAL y evitando el desarrollo de otros microorganismos presentes en el embutido.			
Objetivos	Variable	Dimensiones	Indicadores
Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de <i>Pediococcus acidilactici</i> , contra la fermentación espontánea (control) en términos de bacterias aerobias totales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.	Uso de cultivos iniciadores	Calidad sanitaria	Bacterias aerobias totales / Tiempo de fermentación-maduración
Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de <i>Pediococcus acidilactici</i> , contra la fermentación espontánea (control) en términos de coliformes totales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.			coliformes totales / Tiempo de fermentación-maduración
Contrastar la aplicación de cultivos iniciadores de <i>Pediococcus acidilactici</i> , contra la fermentación espontánea (control) en términos de coliformes fecales, a lo largo del proceso de fermentación-maduración.			coliformes fecales / Tiempo de fermentación-maduración
Aplicar el análisis de peligros y determinar su control durante el proceso de elaboración de un embutido tipo salami.	Análisis HACCP	Control durante el proceso	Peligros biológicos, químicos y físicos
Establecer las medidas de control necesarias para garantizar la inocuidad de un embutido tipo salami.		Medidas de control	Probabilidad y severidad de los peligros
Evaluar el buen funcionamiento de las medidas de control establecidas para los peligros biológicos.		Nivel de control de peligros biológicos	Bacterias aerobias totales, coliformes totales coliformes fecales

## 2.2 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE UN MODELO CÁRNICO

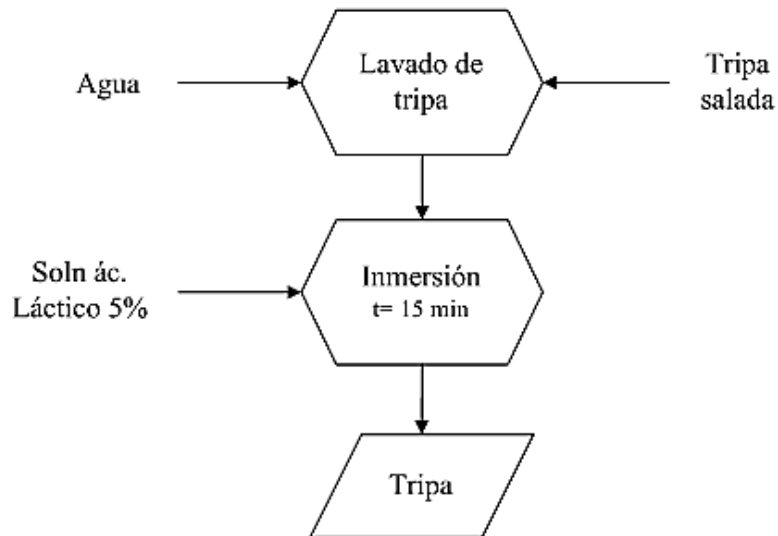


Figura 9 Preparación de la tripa

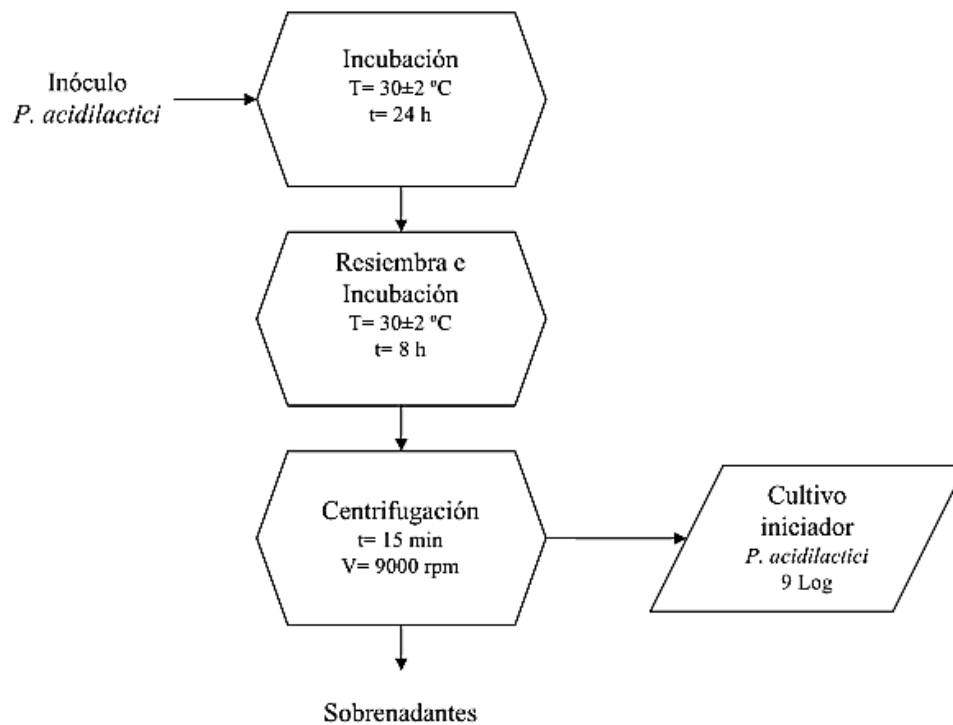


Figura 10 Preparación del inóculo

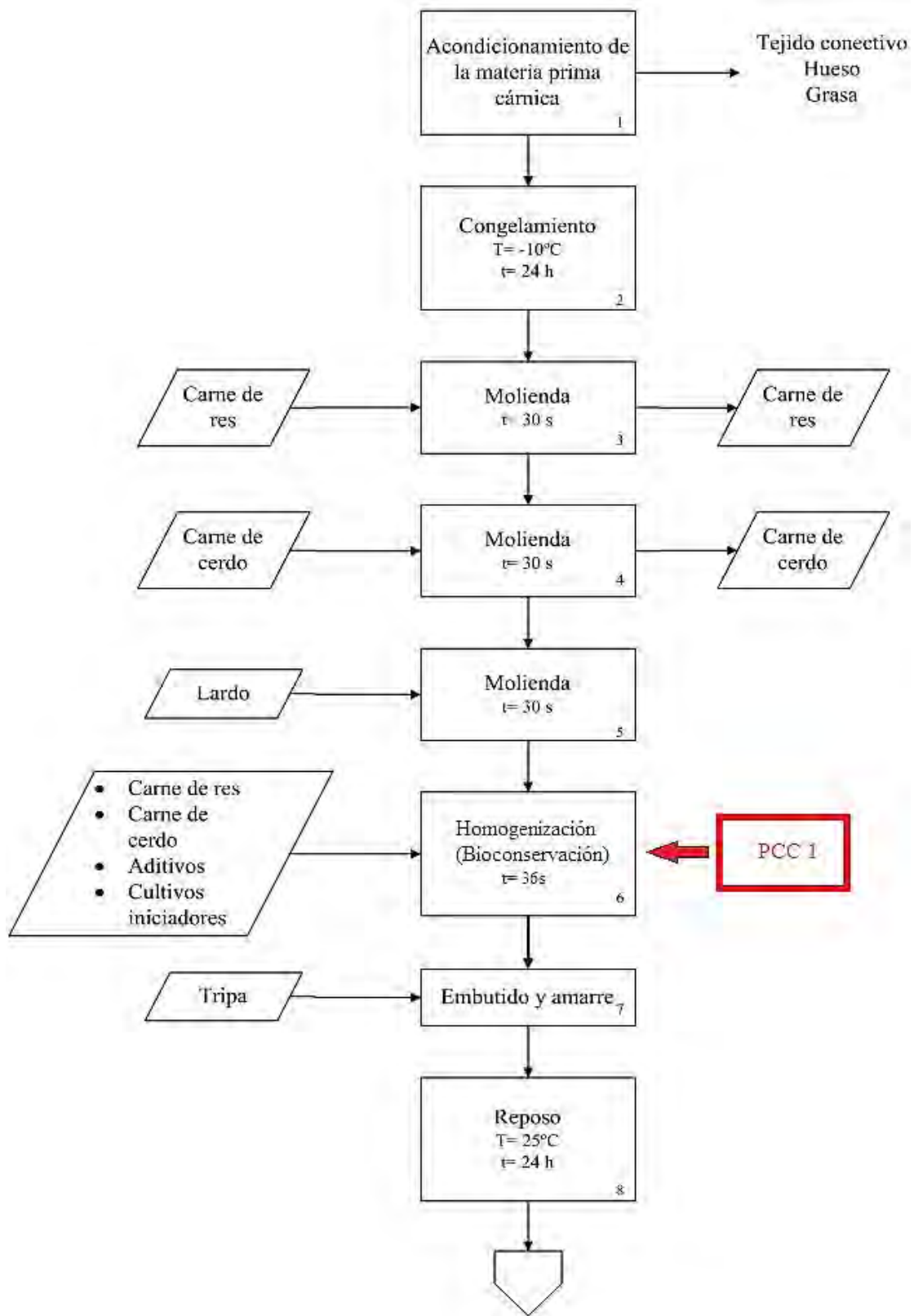


Figura 11 Diagrama de flujo para la elaboración de un modelo cárnico tipo Salami



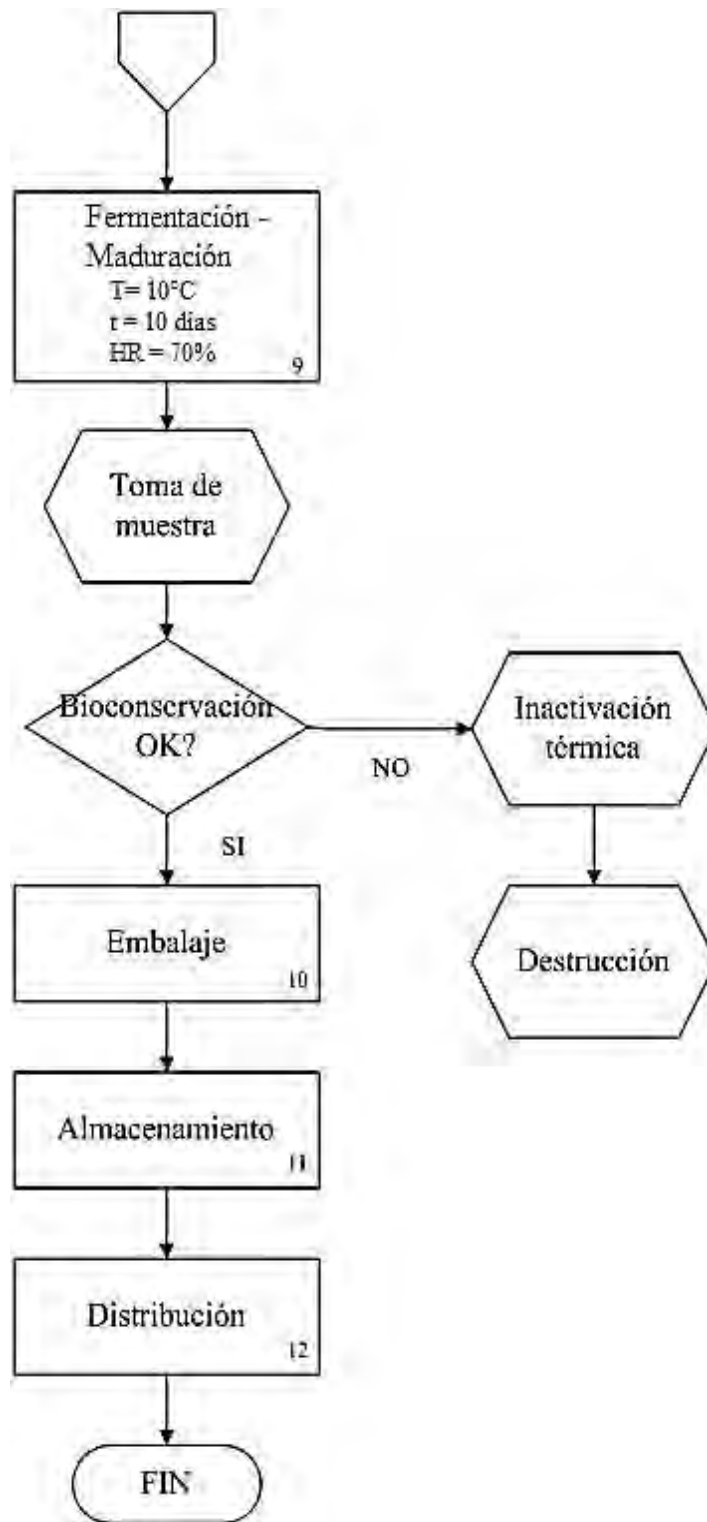
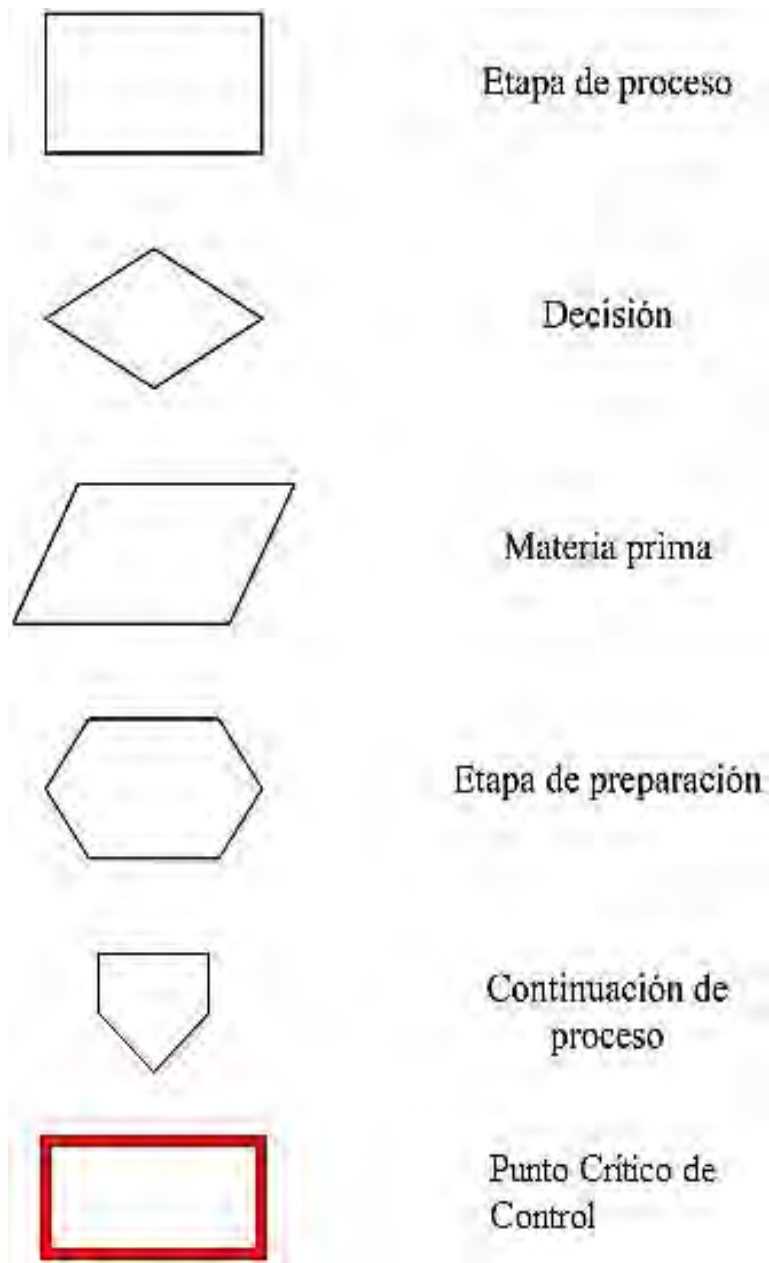


Figura 11 Diagrama de flujo para la elaboración de un modelo cárnico tipo Salami (continuación)



**Figura 12 Simbología**

## **2.3 DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS DE PROCESO DE ELABORACIÓN DEL MODELO CÁRNICO**

### **2.3.1 PREPARACIÓN DE LA TRIPA**

Para el acondicionamiento de la tripa, es necesario, realizar un lavado hasta retirar los excesos de sal e identificar fugas.

Posteriormente, se lleva a cabo una inmersión en ácido láctico al 5% por 15 min y se deja escurrir.

### **2.3.2 PREPARACIÓN DEL INÓCULO**

Materiales, reactivos y equipos empleados:

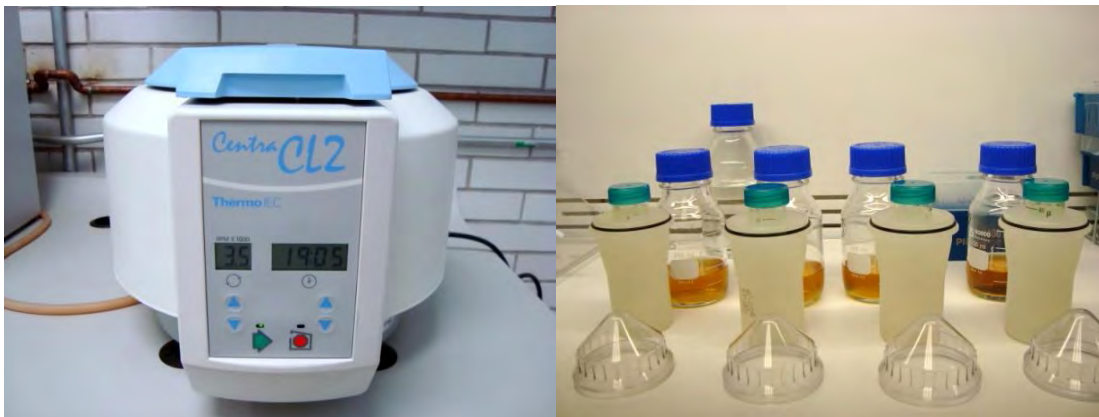
- Cepa: *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042
- Matraces de cultivo con rosca de 250 y 500 ml
- Tubos cónicos estériles de 50 ml
- Caldo MRS modificado
- Balanza de 2 platos
- Centrífuga Centra CL2 Mod. Thermo IEC
- Incubadora Lab-line Mod. 4628CCGM
- Campana de flujo laminar Nuair 400

Se inocularon cepas de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 (1 pellet) en matraces de 500 ml con 200 ml de caldo MRS modificado. La incubación se realizó a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante 24 h, posteriormente se llevó a cabo una resiembra de los inóculos, la cual se incubó a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 8 h (Figura 13).



**Figura 13. Incubación de inóculos**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se cosecharon las células por centrifugación a 5000 rpm durante 15 min en tubos cónicos estériles (Figura 14).



**Figura 14. Cosecha de células por centrifugación**

### **2.3.3 PREPARACIÓN DE MODELOS CÁRNICOS**

Para la elaboración de los modelos experimentales, se emplearon cortes no convencionales (cuartos delanteros de bovinos) de carne de res, carne de cerdo (pierna), lardo de cerdo y tripas naturales como materia prima.

La carne de res proviene del rancho experimental ubicado en el municipio de Martínez de la Torre en el Estado de Veracruz. La carne de cerdo, el lardo y las tripas, fueron adquiridos en el rastro TIF No. 94 (San Lorenzo) ubicado en el Municipio de Cuautitlán Izcalli.

Para el acondicionamiento de la carne (res y cerdo), es necesario descongelar los bloques de carne y retirar el tejido conectivo, hueso y exceso de grasa (Figura 15). Se cortaron las piezas de carne en cubos de 5x5 cm. El lardo de cerdo se cortó en cubos de 3x3 cm.



**Figura 15. Acondicionamiento y pesado de carne**

Se empacó la carne de acuerdo con cada la formulación (Cuadro 12) y a la cantidad de pasta a preparar, se empacó al vacío, se identificó y se metió a cámara de congelación a  $-18^{\circ}\text{C}$ , durante 24 h (Figura 15), esto con el fin de mantener la carne durante el proceso en estado sólido y evitar defectos tecnológicos en el producto final.

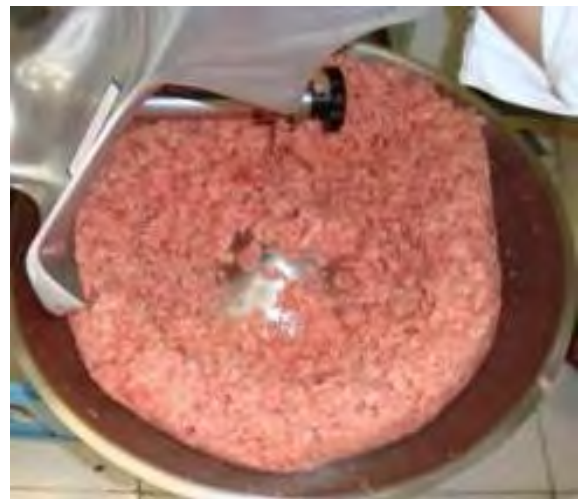
Después de la congelación, se llevó a cabo la molienda de la materia prima cárnica por etapas, iniciando con la carne de bovino (Figura 16), seguida de la carne de porcino (Figura 17) y finalizando con el lardo (Figura 18). Este proceso se llevó a cabo por etapas, para evitar que la grasa intramuscular y el lardo, aumentaran su temperatura y se formara una pasta cárnica suave. La molienda se llevó a cabo en una cutter (Marca: Hobart, mod: 84181D) con capacidad de 15 kg de producto.

**Cuadro 12. Formulación con carne de Res, Lardo de cerdo y carne de Cerdo (RLC)**

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad (%)</b>
Carne de res	38.5
Carne de cerdo	38.5
Lardo	19.5
Sal	2
Sacarosa	1
Sal cura	0.5



**Figura 16. Molienda de carne de res**



**Figura 17. Molienda de carne de cerdo**



**Figura 18. Molienda de lardo de cerdo**

El proceso de homogenización de la pasta cárnica, consistió en la mezcla de los dos tipos de carne, junto con el lardo de cerdo y la adición de los ingredientes no cárnicos (Figura 19).



**Figura 19. Homogenización de materias primas**

Posteriormente, se adicionaron 10 ml cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici* en fase logarítmica (Figura 20) asegurando una concentración en la pasta de 6 log UFC/g de pasta cárnica. La bioconservación, se favorece con una apropiada homogenización con la correcta distribución de los microorganismos en toda la pasta cárnica.



**Figura 20. Adición de cultivos iniciadores**

El embutido de los salamis, se realizó con la embutidora marca: Hollymatic, mod: M900-0207, con boquilla de 1"; se dejó reposar 15 min y se hicieron los amarres para obtener salamis de aproximadamente 20 cm.



**Figura 21. Embutido de la pasta cárnica y amarre de los salamis**

Los salamis se colgaron a temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}$ ) durante 24 h (Figura 22).

Transcurrido este tiempo, se llevaron los salamis a temperatura controlada de  $10\pm 1^{\circ}\text{C}$  por un lapso de 10 días (Figura 23).



**Figura 22. Colgado de los salamis a  $T^{\circ}$  ambiente**



**Figura 23. Maduración de los salamis en condiciones controladas**

Se realizan muestreos para evaluar las variables de respuesta según metodología propuesta.



## **2.4 METODOLOGÍA PARA REALIZAR LAS DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS**

### **2.4.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA**

El procedimiento para la toma de muestra se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en la NOM-109-SSA1-1994 “Bienes y servicios. Procedimiento para la toma, Manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico”.

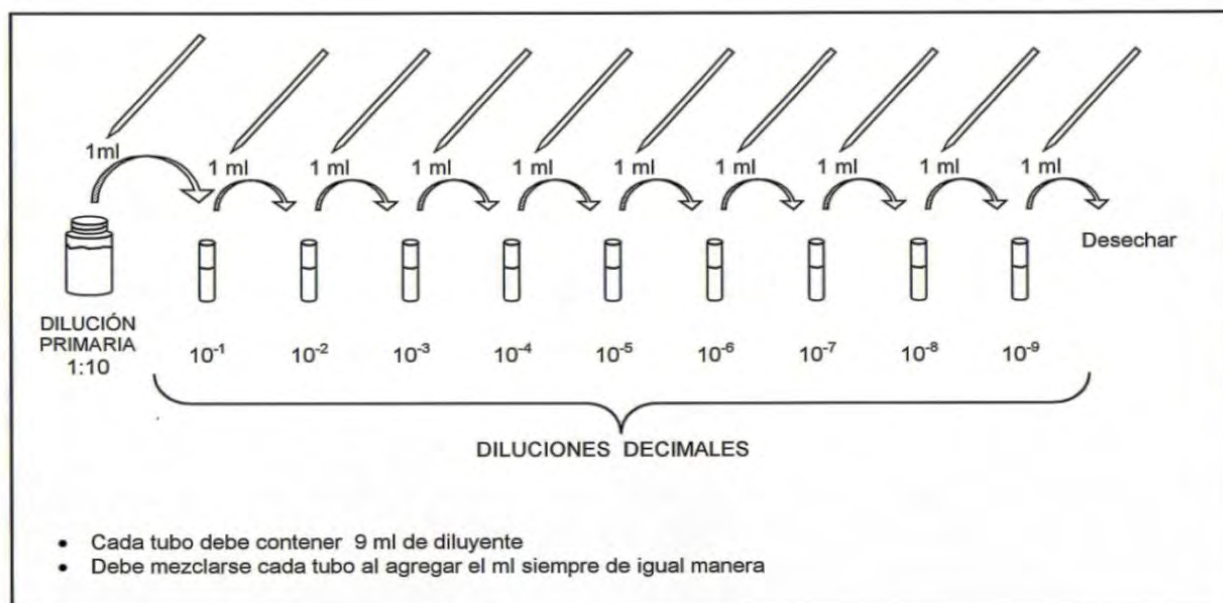
Se tomó un salami por día de prueba y por lote; la muestra se guardó en una bolsa etiquetada con los datos correspondientes (lote, fecha de elaboración y fecha de toma de muestra) y se mantuvieron en una hielera mientras se procesaban para las diluciones.

De cada salami se obtuvo una muestra representativa cortando de los extremos y del centro del embutido, porciones del mismo peso, y con éstas se llevaron a cabo las diluciones.

### **2.4.2 PREPARACIÓN DE DILUCIONES**

El procedimiento para la preparación de diluciones fue el establecido en la NOM-110-SSA1-1994. “Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico”, y el medio utilizado para las diluciones fue una solución salina fisiológica al 9%, misma que se esterilizó en autoclave (Presto Steele con capacidad de 21 L) a  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 min. La homogenización de la dilución, se realizó en el procesador de alimentos Osterizer Blender (mod: Classic de tres velocidades), moliendo 10 g de muestra en 90 ml de solución salina a primera velocidad por 15 segundos; se dejó reposar por 5 - 7 min, hasta conseguir la sedimentación de los sólidos y se tomó 1 ml de la parte menos densa de la dilución (evitando tomar partes sólidas de la muestra, para evitar que se tape la pipeta) y se

mezcló con 9 ml de solución salina estéril, una vez conseguida la homogenización de la primera dilución, se tomó 1 ml de dilución y se mezcló con 9 ml de solución salina estéril para conseguir la segunda dilución, éstos pasos se repitieron hasta obtener la 6ª dilución de acuerdo a lo sugerido por la NOM-110-SSA1-1994 (Figura 24).



**Figura 24. Preparación de soluciones decimales**

Fuente: NOM-110-SSA1-1994

### 2.4.3 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AEROBIAS TOTALES (BAT)

Para la determinación de BAT se hicieron algunos ajustes a la metodología establecida en la NOM-092-SSA1-1994. “Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa”.

Se preparó agar Triptona Extracto de Levadura, se esterilizó y se dejó en prueba de esterilidad por 24 h a 35± 2°C.

Una vez comprobado que el agar era estéril, se marcaron las cajas con tres divisiones (Figura 25) y se llevó a cabo la siembra en superficie de 60  $\mu$ L de la misma dilución, por cada apartado, esto con el fin de realizar las réplicas necesarias para los análisis estadísticos. Esta operación se repitió hasta la siembra de la sexta dilución.



**Figura 25. División de las cajas para siembra en superficie para la determinación de BAT**

La incubación se llevó a cabo a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48 h

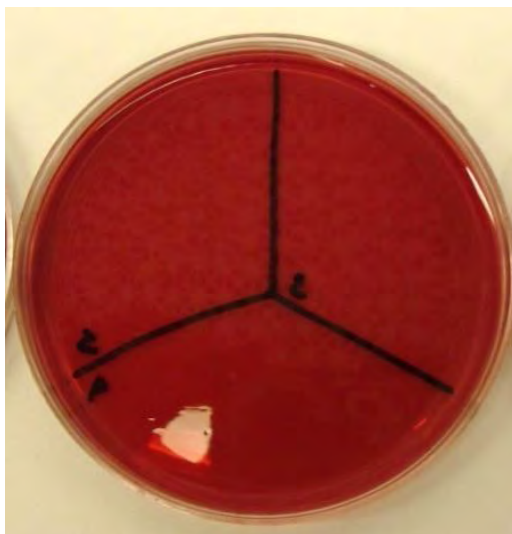
Para el conteo de colonias, se tomaron en cuenta aquellas diluciones que tenían crecimientos entre 25 y 200 colonias.

#### **2.4.4 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES**

Para la determinación de coliformes totales, se consideró el procedimiento establecido en la NOM-113-SSA1-1994. “Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa”; al cual se le hicieron algunas modificaciones para éste desarrollo experimental.

Para las determinaciones de coliformes totales se utilizó Agar Bilis Rojo Violeta, el cual fue sometido a pruebas de esterilidad a condiciones de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 h.

Una vez comprobado que el agar era estéril, se marcaron las cajas con tres divisiones (Figura 26) y se llevó a cabo la siembra en superficie de 60  $\mu$ L de la misma dilución, por cada apartado, esto con el fin de realizar las réplicas necesarias para los análisis estadísticos. Esta operación se repitió hasta la siembra de la sexta dilución.



**Figura 26. Siembra en superficie para determinación de coliformes totales**

La incubación se llevó a cabo a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24h

Para el conteo de microorganismos de éstas determinaciones, fueron consideradas las cajas con crecimiento entre 25 y 200 colonias.

#### **2.4.5 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES (PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA *Escherichia coli*)**

Para la determinación de coliformes fecales, se realizaron pruebas confirmatorias de *Escherichia coli* a través del uso de placas Petrifilm™ 3M, la metodología utilizada fue la establecida en los folletos de 3M (Petrifilm™ 3M. 1999).

Para dicha determinación se sembró 1 ml de dilución por placa, se esparció la muestra con un difusor y se dejó reposar por 5 min (Figura 27), para ser incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 h.



**Figura 27. Siembra para determinación de *Escherichia coli***

Para estos conteos, únicamente se tomaron en cuenta las colonias que presentaban tonalidad morada y presencia de burbuja (producción de gas).

## **2.5 ANÁLISIS DE PELIGROS**

El análisis de peligros se debe realizar considerando todos los peligros (biológicos, químicos y físicos) relacionados con la inocuidad desde las materias primas, hasta cada una de las etapas de proceso identificadas en el diagrama de flujo, para cada peligro se debe identificar el nivel de control necesario, para lo cual, los controles se dividirán en tres niveles:

1. Prerrequisitos (PPR)
  2. Prerrequisitos Operativos (PPR Op)
  3. Control de Puntos Críticos (PCC)
- } Medidas de control

Al realizar la evaluación del peligro, se considera:

- El origen del peligro (de donde proviene y cómo puede introducirse en el producto o en el ambiente)
- La probabilidad de su ocurrencia
- La posible severidad de los efectos adversos para la salud
- La capacidad de multiplicarse, para deteriorarse y producir toxinas.

La información se obtiene de literatura científica, datos experimentales, autoridades reguladoras y colaboración de expertos (ISO 22000:2005).

Para realizar el análisis es necesario enlistar todas las materias primas y etapas del proceso en el formato e identificar los peligros potenciales asociados (NOM-251-SSA1-2009).

- Biológicos, microorganismos dañinos, virus o parásitos.
- Químicos, compuestos que pueden ocasionar enfermedades o lesiones debido a una exposición inmediata o a largo plazo.
- Físicos, objetos extraños en la materia prima o que pueden ser adicionados sin intención durante el proceso y que pueden ocasionarle un daño al consumidor.

Posteriormente, se deben identificar las fuentes de los peligros y evaluar la probabilidad y la severidad de su ocurrencia, para esta evaluación se pueden considerar datos experimentales, literatura científica, colaboración de expertos o información regulatoria. Se deben clasificar la probabilidad (Cuadro 13) y la severidad (Cuadro 14).

**Cuadro 13. Clasificación de la probabilidad para el análisis de peligros**

PROBABILIDAD		Ocurrencia	Descripción
5	FRECUENTE	Diaria	Existe documentación de incidentes relacionados y/o reconocimiento de expertos que señala al peligro como inherente y ocurre frecuentemente.
4	OCASIONAL	Semanal	El peligro es asociado pero hay muy poca frecuencia de reportes y esta potencialmente asociado con materias primas del producto y ocurre ocasionalmente.
3	PROBABLE	Mensual	No está asociado tradicionalmente con las materias primas / procesos y existe poca documentación de evidencia en estas materias primas / procesos y raramente ocurren.
2	POCO PROBABLE	Anual	Muy raramente ocurre.
1	IMPROBABLE	Cada 5 años	No existe evidencia de ocurrencia.

**Cuadro 14. Clasificación de la severidad para el análisis de peligros**

SEVERIDAD		Definido como:	
4	MUY ALTA	Muerte	Peligro que ponga en situación de riesgo la vida (de manera inmediata o a largo plazo)
3	ALTA	Enfermedad	Peligro que resulte en situaciones severas, pero no de riesgo a perder la vida (hospitalización, enfermedad grave o prolongada)
2	MEDIA	Heridas	Peligro que no es severo ni pone en riesgo la vida pero puede resultar en efectos indeseables
1	BAJA	Sin heridas	No pone en riesgo la salud pero es desagradable su presencia.

Para determinar el nivel de riesgo, es necesario realizar la siguiente ecuación:

$$R = P \times S$$

En donde:

$R$  = Nivel de riesgo

$P$  = Probabilidad

$S$  = Severidad

Una vez determinado el nivel de riesgo se debe justificar la decisión y describir las medidas de control necesarias para la eliminación o reducción del peligro (Cuadro 15).

**Cuadro 15. Clasificación de las medidas de control requeridas de acuerdo al nivel de riesgo calculado**

NIVEL DE RIESGO				NIVEL DE CONTROL
13	A	20	Muy alto	<b>Punto Crítico de Control (PCC)</b> (Se requiere aplicar un control y es esencial para prevenir, eliminar o reducir a un nivel aceptable un producto)
9	A	12	Alto	<b>Punto Crítico de Control o Prerrequisito Operativo (PPR Op)</b> (Inspecciones, muestreos y evaluaciones de materia prima, del producto en proceso, equipos y áreas de proceso)
5	A	8	Moderado	<b>Prerrequisito Operativo o Prerrequisitos (PPR)</b> (Existen medidas preventivas para controlar peligros en materias primas, producto en proceso, equipos y áreas de proceso)
1	A	4	Bajo	<b>Prerrequisitos (PPR)</b> (Cumplimiento de los prerrequisitos definidos y el entrenamiento del personal)



En la evaluación de las materias primas, pueden identificarse **materias primas críticas**, las cuales deben ser de manejo controlado.

#### ARBOL DE DECISION

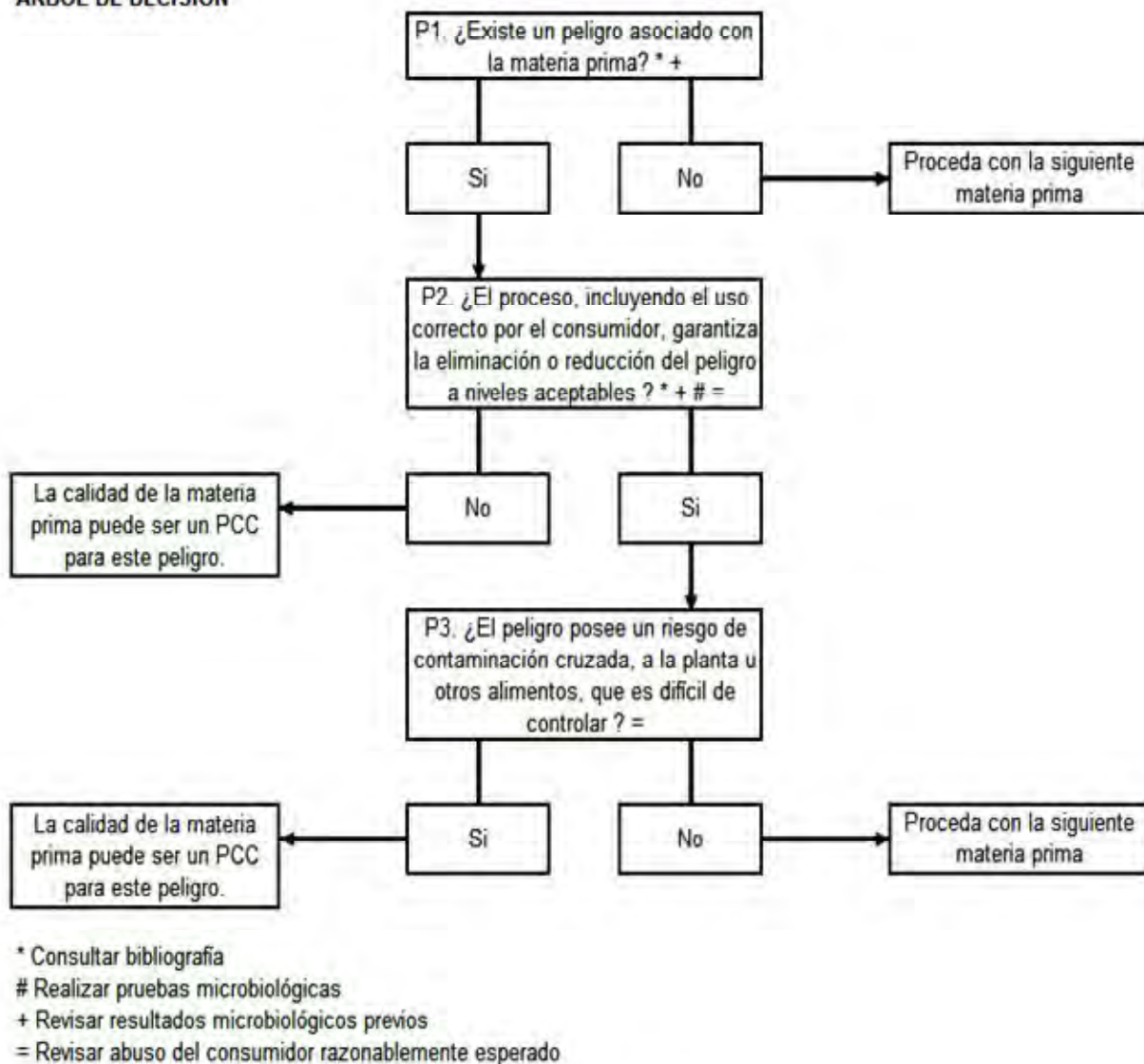
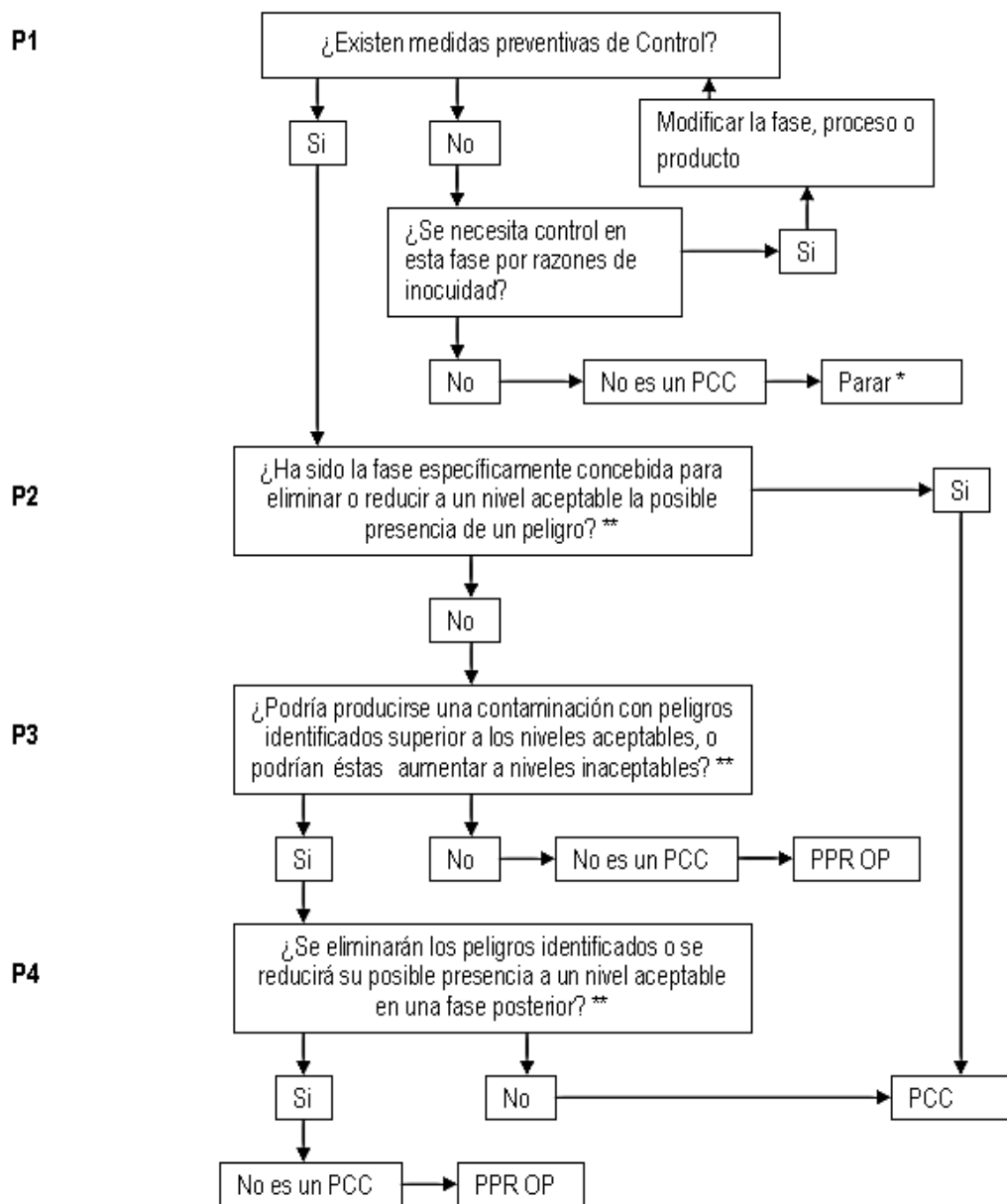


Figura 28. Árbol de decisión de materia prima

Para la clasificación de las medidas de control (PPR Op o PCC) durante las etapas del proceso, se debe considerar el siguiente árbol de decisión:



\* Pasar al siguiente peligro identificado del proceso descrito  
 \*\* Los niveles aceptables u inaceptables necesitan ser definidos teniendo en cuenta los objetivos globales cuando se identifican los PCC del Plan HACCP

**Figura 29. Árbol de decisión por etapa de proceso**

### **2.5.1 ESTABLECIMIENTO DEL PLAN HACCP**

En el Plan HACCP se establecen las condiciones y actividades a seguir para cada medida de control identificada durante el proceso.


En este documento se consideran:

- a) Peligro(s) relacionado(s) con la inocuidad de los alimentos a controlar con las medidas de control
- b) Medida(s) de control
- c) Límite(s) crítico(s)
- d) Procedimiento(s) de seguimiento
- e) Correcciones y acción(es) correctiva(s) a tomar si se superan los límites críticos
- f) Responsabilidades y autoridades;
- g) Registro(s) del seguimiento.


**CAPÍTULO 3:  
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN  
DE RESULTADOS**

### 3.1 ANÁLISIS DE PELIGROS


**Cuadro 16. Análisis HACCP materias primas**

 <b>Materias primas para la elaboración de Salami</b>														
<b>Clave:</b>				<b>Revisión: 0</b>				<b>Emisión: mayo 2013</b>				<b>Página: 1 de 3</b>		
No.	Materia prima	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles Actividades	Identificación de los puntos críticos			¿Es una materia crítica?
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo			1	2	3	
1	Carne de bovino	F:	Hueso	Inherentes a la materia prima	5	2	10	Alto	El hueso forma parte de la materia prima	Se realiza como parte del proceso principal el acondicionamiento de la carne, en el cual se retira el hueso.	SI	SI	NO	NO
		Q:	Antibióticos	Proporcionados al ganado en caso de enfermedades o para evitar contaminaciones o contagios	2	3	6	Moderado	La administración de antibióticos al ganado depende del manejo que se de en las granjas	La carne procede de un rancho experimental, el cual cuanta con los controles necesarios para la producción de bovinos sanos	SI	SI	NO	NO
		B:	BAT, Coliformes totales, Coliformes fecales	Inherentes a la materia prima, mal manejo en el rastro	5	3	15	Muy Alto	La presencia de Microorganismos en la carne es inevitable, sin embargo, su manejo define el tipo de microorganismo que se desarrollará	El manejo de la carne se realiza con todas las condiciones necesarias para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos	SI	SI	SI	SI
2	Carne de porcino	F:	Hueso	Inherentes a la materia prima	5	2	10	Alto	El hueso forma parte de la materia prima	Se realiza como parte del proceso principal el acondicionamiento de la carne, en el cual se retira el hueso.	SI	SI	NO	NO
		Q:	Antibióticos	Proporcionados al ganado en caso de enfermedades o para evitar contaminaciones o contagios	2	3	6	Moderado	La administración de antibióticos al ganado depende del manejo que se de en las granjas	La carne procede de un rancho TIF.	SI	SI	NO	NO
		B:	BAT, Coliformes totales, Coliformes fecales	Inherentes a la materia prima, mal manejo en el rastro	5	3	15	Muy Alto	La presencia de Microorganismos en la carne es inevitable, sin embargo, su manejo define el tipo de microorganismo que se desarrollará	El manejo de la carne se realiza con todas las condiciones necesarias para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos	SI	SI	SI	SI

**Cuadro 16. Análisis HACCP materias primas (continúa)**

 <b>Materias primas para la elaboración de Salami</b>														
<b>Clave:</b>				<b>Revisión: 0</b>				<b>Emisión: mayo 2013</b>			<b>Página: 2 de 3</b>			
No.	Materia prima	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles	Identificación de los puntos críticos			¿Es una materia crítica?
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo			Actividades			
3	Lardo de cerdo	F:	Materia extraña	Mal manejo de la materia prima	3	1	3	Bajo	Debido al mal manejo en el rastro, el lardo se puede mezclar con materia extraña (cabellos, hueso, astillas de hueso, etc.)	Durante el acondicionamiento de las materias primas, se retira cualquier materia extraña que se detecte.	SI	SI	NO	NO
		Q:	Antibióticos	Proporcionados al ganado en caso de enfermedades o para evitar contaminaciones o contagios	2	3	6	Moderado	La administración de antibióticos al ganado depende del manejo que se de en las granjas	El lardo procede de un rancho TIF.	SI	SI	NO	NO
		B:	BAT, Coliformes totales, Coliformes fecales	Inherentes a la materia prima, mal manejo en el rastro	5	3	15	Muy Alto	La presencia de Microorganismos en la carne es inevitable, sin embargo, su manejo define el tipo de microorganismo que se desarrollará	El manejo del lardo se realiza con todas las condiciones necesarias para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos	SI	SI	SI	SI
4	Sal	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
5	Sacarosa	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	

**Cuadro 16. Análisis HACCP materias primas (continúa)**

 <b>Materias primas para la elaboración de Salami</b>														
<b>Clave:</b>				<b>Revisión: 0</b>				<b>Emisión: mayo 2013</b>				<b>Página: 3 de 3</b>		
No.	Materia prima	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles	Identificación de los puntos críticos			¿Es una materia crítica?
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo			Actividades	1	2	
6	Sal cura	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	Tripa	F:	Materia extraña	Mal manejo de la materia prima	4	1	4	Bajo	Debido a mal manejo de la tripa en los rastros	Se cuenta con un proceso anterior en el la materia prima se lava y se revisa.	SI	SI	NO	NO
		B:	Coliformes totales y coliformes fecales	Limpieza inadecuada	4	3	12	Alto	Debido a la naturaleza de la materia prima, la contaminación por coliformes puede ser muy probable	La tripa pasa por diferentes procesos previos al proceso principal, que aseguran su inocuidad, entre los cuales se cuenta, salazón, lavado e inmersión en sIn de ác. Láctico.	SI	SI	SI	SI
ELABORÓ				REVISÓ				AUTORIZÓ						

**Cuadro 17. Análisis HACCP etapas de proceso**



<b>Etapas de proceso para la elaboración de Salami</b>			
<b>Clave:</b>	<b>Revisión: 0</b>	<b>Emisión: mayo 2013</b>	<b>Página: 1 de 3</b>

No.	Etapa de Proceso	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles	Identificación de los puntos críticos					PCC
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo			Actividades	1	1a	2	3	
1	Acondicionamiento de la materia prima	Q:	Cloro, agentes de limpieza	Contaminación cruzada con las áreas de contacto de las materias primas	3	1	3	Bajo	Se hacen limpiezas rutinarias para eliminar los residuos de otras MP utilizadas anteriormente	Los agentes de limpieza son especiales para contacto con superficies de alimentos, se cuenta con POES bien establecidos para garantizar la limpieza e inocuidad de las áreas de contacto	NO	NO	—	—	—	NO
		B:	BAT, Coliformes totales, Coliformes fecales	Contaminación cruzada con otras materias primas	4	3	12	Alto	El área de proceso, es utilizada para el manejo que diferentes materias primas, las cuales podrían estar contaminadas.	Se cuenta con POES de las áreas de proceso, de igual forma, se cuenta con la operación de bioconservación en el proceso, por medio de la cual se mantiene control de los microorganismos, tanto los de las materias primas, como de las contaminaciones posteriores.	NO	NO	—	—	—	NO
2	Congelamiento	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	Molienda	F:	Materia extraña	Debido a mal armado y/o desbalanceo de la cutter	2	1	2	Bajo	Al presentarse algún problema con el balanceo o el armado de la cutter, podrían rozar las navajas con el plato y causar rebabas	Antes de comenzar con el proceso, se revisa el armado de la cutter y se hacen pruebas para corroborar su buen funcionamiento	NO	NO	—	—	—	NO
4	Molienda	F:	Materia extraña	Debido a mal armado y/o desbalanceo de la cutter	2	1	2	Bajo	Al presentarse algún problema con el balanceo o el armado de la cutter, podrían rozar las navajas con el plato y causar rebabas	Antes de comenzar con el proceso, se revisa el armado de la cutter y se hacen pruebas para corroborar su buen funcionamiento	NO	NO	—	—	—	NO



**Cuadro 17. Análisis HACCP etapas de proceso (continúa)**



<b>Etapas de proceso para la elaboración de Salami</b>			
<b>Clave:</b>	<b>Revisión: 0</b>	<b>Emisión: mayo 2013</b>	<b>Página: 2 de 3</b>

No.	Etapa de Proceso	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles	Identificación de los puntos críticos					PCC
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo			Actividades	1	1a	2	3	
5	Molienda	F:	Materia extraña	Debido a mal armado y/o desbalanceo de la cutter	2	1	2	Bajo	Al presentarse algún problema con el balanceo o el armado de la cutter, podrían rozar las navajas con el plato y causar rebabas	Antes de comenzar con el proceso, se revisa el armado de la cutter y se hacen pruebas para corroborar su buen funcionamiento	NO	NO	—	—	—	NO
6	Homogenización (Bioconservación)	Q:	Exceso de Nitratos y nitritos	Errores en la formulación	3	3	9	Alto	Se ha demostrado que altas concentraciones de nitratos y nitritos, pueden causar problemas a la salud de los consumidores	La formulación se realizó basada en la dosis recomendada establecida en las NOM, de igual forma, cada vez que se formula, se revisan y validan los pesajes.	NO	NO	—	—	—	NO
		B:	BAT	Mal manejo de los cultivos iniciadores	3	1	3	Bajo	Las BAL son GRAS, por los que no afectan a la salud, sin embargo, una mala cosecha de células, podría afectar el proceso de bioconservación en los productos	Se verifica la etapa de siembra y cosecha de BAL	SI	—	SI	—	—	SI
7	Embutido y Amarre	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	Reposo	F:	Materia extraña	Los productos se dejan en reposo a temperatura ambiente, en un área descubierta	3	1	3	Bajo	Al mantenerse en un área abierta para el reposo, los productos son susceptibles a contaminaciones cruzadas	Se cuenta con POES del laboratorio, así como acceso restringido a las áreas mientras los productos se encuentran en reposo.	NO	NO	—	—	—	NO

**Cuadro 17. Análisis HACCP etapas de proceso (continúa)**



<b>Etapas de proceso para la elaboración de Salami</b>			
<b>Clave:</b>	<b>Revisión: 0</b>	<b>Emisión: mayo 2013</b>	<b>Página: 2 de 3</b>

No.	Etapa de Proceso	Peligros potenciales identificados		Factor o fuente de riesgo (origen del peligro)	Evaluación del Peligro				Justificación de la decisión tomada en la columna anterior	Controles	Identificación de los puntos críticos					PCC	
		P	Descripción		P	S	R	Nivel de riesgo		Actividades	1	1a	2	3	4		
9	Fermentación-Maduración	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10	Embalaje	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
11	Almacenamiento	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
12	Distribución	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

ELABORÓ	REVISÓ	AUTORIZÓ

### 3.2 Plan HACCP

**Cuadro 18. Plan HACCP para salami**



Plan HACCP Salami			
Clave:	Revisión: 0	Emisión: mayo 2013	Página: 1 de 1

Punto Crítico de Control (PCC)	Peligro	Limites Críticos	¿Qué?	¿Cómo?	Frecuencia	¿Quién?	Acciones Correctivas cuando exista una desviación a los límites críticos	Verificación	Registros
PCC 1. Homogenización	BAT,	BAT < 5.0 log UFC/cm <sup>2</sup> (CE 1441/2007)	Asegurar que los productos se encuentren dentro de los parámetros microbiológicos establecidos durante el proceso de maduración	Realizar determinaciones microbiológicas durante el proceso de maduración para determinar: BAT, Coliformes totales y Coliformes fecales.	Todos los lotes	Responsable de microbiología	Inactivación microbiológicas a 121°C por 15 min de los lotes contaminados, para su posterior destrucción *	Los resultados microbiológicos se registrarán en los formatos correspondientes y serán revisados por el responsable de laboratorio.	Determinaciones microbiológicas
	Coliformes totales,	Coliformes totales < 2.5 log UFC/cm <sup>2</sup> (CE 1441/2007)							

\* Una vez hechas todas las determinaciones y pruebas a los salamis, éstos se inactivan y destruyen.

### **3.3 MANEJO DE MATERIAS PRIMAS CRÍTICAS**

De acuerdo al análisis de peligros de las materias primas se detectaron las siguientes materias primas críticas:

1. Carne de res
2. Carne de cerdo
3. Lardo de cerdo
4. Tripa

Para mantener el control sanitario de las materias primas cárnicas se plantearon los siguientes controles:

- Desarrollo y evaluación de proveedores
- Evaluación microbiológica de las materias primas antes de su uso
- Buenas prácticas de manufactura para el manejo de las materias primas cárnicas
- Procedimientos operativos de sanidad estándar para las instalaciones

Con el fin de mantener el control sanitario de la tripa para embutir, además de los controles planteados para las materias primas cárnicas se establecieron los siguientes controles:

- Lavado y salinización de la tripa (por parte del proveedor)
- Enjuagado
- Inmersión en una solución de ácido láctico al 5%

El cumplimiento de estos controles en conjunto con los PCC establecidos, contribuyen al incremento en la seguridad sanitaria de los productos terminados; sin embargo, la validación de los PCC, garantizan la eficacia de los Planes HACCP.

### 3.4 EVALUACIÓN DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

La mayoría de los embutidos tradicionales se elaboran sin la adición de cultivos iniciadores por lo que en el proceso de fermentación participan microorganismos endógenos de la materia prima, así como otros adquiridos a través de contaminación cruzada. Esta microbiota, no solo está constituida por microorganismos de interés tecnológico (BAL), también se pueden encontrar microorganismos patógenos y deterioradores del producto (Martín Juárez 2005).

Los embutidos fermentados se consideran generalmente productos de bajo riesgo a causa de la reducción de los valores de  $a_w$  y pH (4.8 a 5.0), capaz de inhibir los microorganismos patógenos a temperatura ambiente (Barbuti y Parolari 2002). Sin embargo, en los embutidos madurados en frío ( $T \leq 12^\circ\text{C}$ ), caracterizados por presentar valores finales de  $\text{pH} \geq 5.3$  (Aymerich, y otros 2003), se ha minimizado una de las barreras al crecimiento de microorganismos, de igual forma se ha demostrado que deficiencias en la calidad sanitaria de los productos, pueden causar pérdidas de hasta un 25% de la producción (Demeyer, y otros 2000).

Las BAL como cultivos iniciadores; así como el ácido láctico y sus sales, han sido ampliamente utilizados en la industria cárnica para aumentar el sabor y la vida útil de los productos. Su actividad contra microorganismos patógenos como *Cl. botulinum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 ha sido reportada por autores como Aymerich, Picouet y Monfort en 2007 y Garriga en 2005, entre otros, sin embargo el éxito de la adición de los cultivos iniciadores, depende de la capacidad de adaptación al ambiente de los mismos (Aymerich, y otros 2007).

Durante la elaboración de esta tesis, se llevaron a cabo pruebas microbiológicas con el objetivo de evaluar el control en la calidad sanitaria, alcanzado durante el periodo de fermentación-maduración en los modelos cárnicos a través de la fermentación espontánea en contraste con modelos cárnicos adicionados con cultivos iniciadores de *P. acidilactici*.

Para el análisis de la información, se tomaron en cuenta los datos de pH,  $a_w$  y % de ácido láctico, de la tesis de Ing. en Alimentos en proceso, de Cristóbal Martínez Brenda, realizados a los mismos modelos cárnicos (Cuadro 19).

**Cuadro 19. Determinaciones fisicoquímicas de modelos cárnicos (salamis)**

Fermentación	Tiempo (días)	$a_w$	pH	% Ác. Lác
Espontánea	0	0.920 ± 0.06	5.85 ± 0.03	0.102 ± 0.00
	0.5	***	5.87 ± 0.03	0.112 ± 0.01
	1	***	5.90 ± 0.02	0.121 ± 0.09
	1.5	***	5.62 ± 0.06	0.149 ± 0.07
	2	***	5.58 ± 0.07	0.153 ± 0.08
	5	0.901 ± 0.06	5.54 ± 0.03	0.183 ± 0.07
	10	0.901 ± 0.06	5.36 ± 0.05	0.213 ± 0.20
<i>P. acidilactici</i>	0	0.922 ± 0.06	5.92 ± 0.03	0.110 ± 0.07
	0.5	***	5.82 ± 0.03	0.126 ± 0.08
	1	***	5.70 ± 0.04	0.132 ± 0.04
	1.5	***	5.52 ± 0.06	0.154 ± 0.09
	2	***	5.57 ± 0.04	0.145 ± 0.05
	5	0.900 ± 0.04	5.42 ± 0.05	0.168 ± 0.05
	10	0.888 ± 0.03	5.29 ± 0.06	0.201 ± 0.10

**Fuente:** Tesis de Ing. en Alimentos de Cristóbal Martínez Brenda en proceso

Las determinaciones microbiológicas se realizaron los días 0, 1, 2, 4, 8 y 11 para BAT, mientras que para coliformes totales y fecales, se consideraron los días 0, 1, 5 y 10 (Cuadro 20).

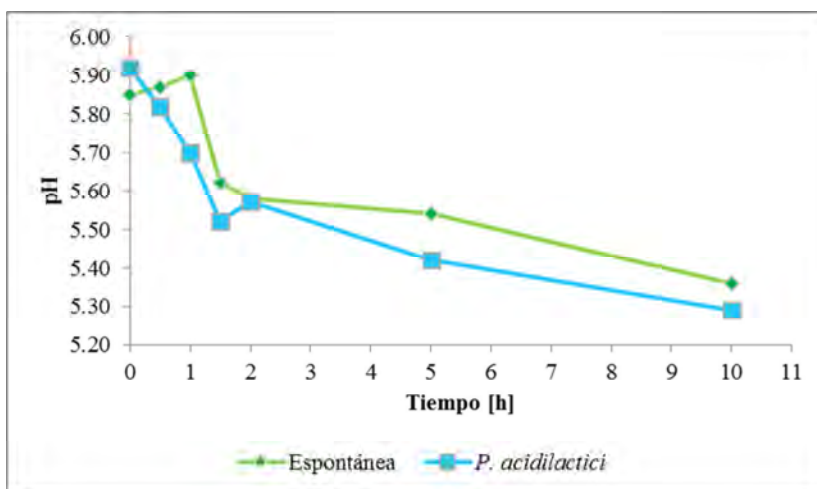
**Cuadro 20. Determinaciones microbiológicas de modelos cárnicos (salamis)**

Días	Determinaciones [log UFC/g]					
	BAT		coliformes totales		coliformes fecales	
	Fermentación espontánea	Con <i>P. acidilactici</i>	Fermentación espontánea	Con <i>P. acidilactici</i>	Fermentación espontánea	Con <i>P. acidilactici</i>
0	4.09 ± 0.02	4.05 ± 0.06	4.26 ± 0.06	4.22 ± 0.02	Negativo	Negativo
1	4.57 ± 0.04	3.91 ± 0.02	4.22 ± 0.04	4.18 ± 0.12	Negativo	Negativo
2	5.13 ± 0.07	3.00 ± 0.04	***	***	***	***
4	6.47 ± 0.03	2.82 ± 0.05	***	***	***	***
5	***	***	4.02 ± 0.04	3.88 ± 0.04	Negativo	Negativo
8	6.30 ± 0.03	2.61 ± 0.05	***	***	***	***
10	***	***	4.08 ± 0.07	3.78 ± 0.08	Negativo	Negativo
11	6.40 ± 0.03	2.30 ± 0.05	***	***	***	***

### 3.4.1 DETERMINACIÓN DE pH

Como se puede observar en la Figura 30, el pH tiene una disminución súbita en las primeras 36 horas después de iniciado el proceso de fermentación-maduración, presentando un pH inicial de 5.85 el cual desciende a 5.62 para el segundo día en los salamis no inoculados; de igual forma podemos ver que para los salamis adicionados con *P. acidilactici* presentan un pH inicial de 5.92 que desciende a 5.52, lo cual representa una diferencia de 0.23 y 0.40 para los salamis sin y con inóculo respectivamente. Esta reducción rápida del pH en los primeros días de fermentación es crítica para evitar riesgos asociados con patógenos como *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *Salmonella*. (Lücke 2000); Por lo que los embutidos adicionados con *P. acidilactici* pueden presentar un mejor control de la microbiota que los embutidos no inoculados.

De igual forma que los resultados presentados por Aymerich, y otros (2003) al final del proceso de fermentación-maduración, los embutidos alcanzaron valores de pH próximos a  $\text{pH} \geq 5.3$ , tal como se observa en la Figura 30. Este valor de pH final es importante, ya que autores como Martín Juárez (2005) reportan que a valores inferiores de 5.0 las reacciones metabólicas de los productos se ven desfavorecidas y pueden presentar problemas en el desarrollo del aroma.



**Figura 30. Determinaciones de pH durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami**

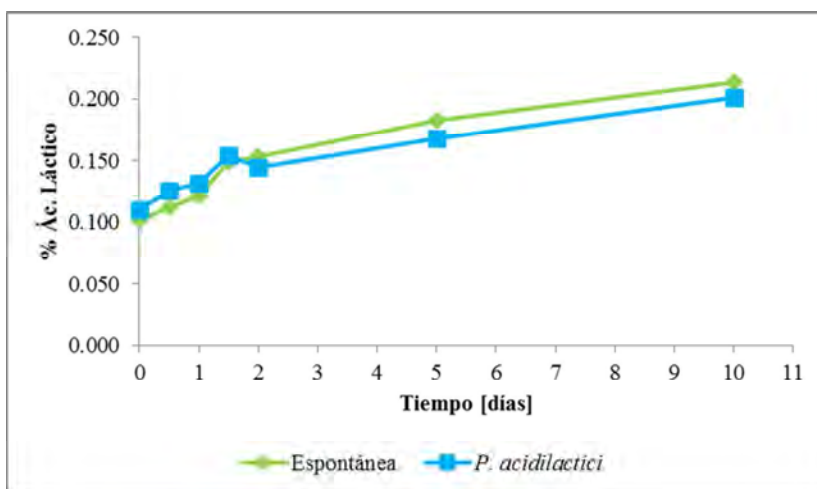
### 3.4.2 DETERMINACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO (%)

La adición de ácidos afecta matando o inhibiendo el crecimiento de los microorganismos, por interferir con la permeabilidad de la membrana celular al producir un desacoplamiento en el transporte de sustratos y en la fosforilación oxidativa del sistema transportador de electrones (ICMSF 1980).

Como se observa, en la Figura 31 se presenta un aumento en el % de ácido láctico, el cual es mayor en los embutidos inoculados durante los primeros 1.5 días, pasando de 0.110 a 0.154 % ác. láctico, mientras que en los salamis sin inóculo va de 0.102 a 0.149 % ác. láctico; sin embargo, dicho comportamiento se revierte a partir del día 2, llegando a una producción al



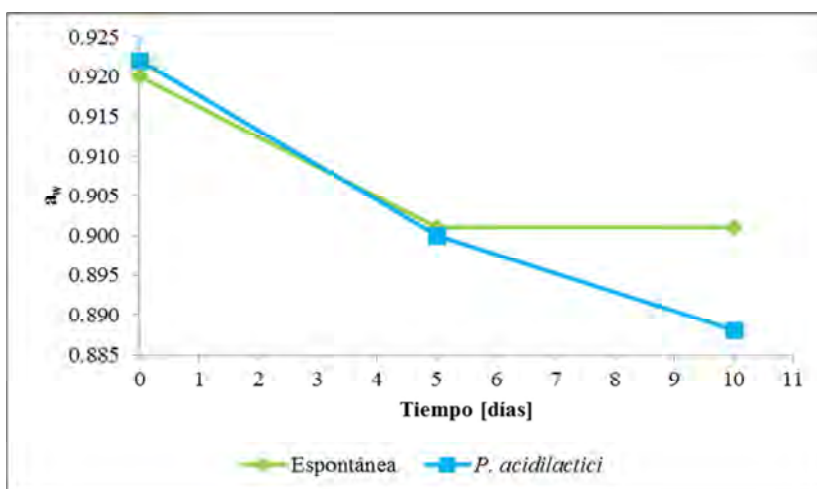
final de la fermentación-maduración, de 0.213 y 0.201 % ác. láctico para embutidos no inoculados y adicionados con *P. acidilactici* respectivamente.



**Figura 31. Determinación del % ácido láctico durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami**

### 3.4.3 DETERMINACIÓN DE $a_w$

Como se ha mencionado anteriormente, los factores intrínsecos de los productos son indispensables para el desarrollo o la inhibición de la microbiota, uno de los más importantes es el  $a_w$ , ya que de éste depende en gran medida la seguridad y la vida útil de los productos.



**Figura 32. Determinación del  $a_w$  durante el proceso de fermentación-maduración de los embutidos tipo salami**

De acuerdo a los datos reportados por Barbut y Griffiths (2001), el  $a_w$  promedio final de los salamis oscila desde 0.796 hasta 0.923. Como se observa en la Figura 32 los dos salamis se encuentran en este parámetro, sin embargo el salami inoculado con *P. acidilactici*, presenta un menor  $a_w$  con 0.888, mientras que el salami fermentado espontáneamente al final de la fermentación-maduración llega a un  $a_w$  de 0.901. Este comportamiento se esperaba, ya que de acuerdo a la justificación planteada anteriormente, la disminución en el pH de los productos provoca la desnaturalización de las proteínas y la pérdida de humedad de los productos (Hudnall 1999).

Es importante recordar que las modificaciones en el  $a_w$ , afectan a la calidad sanitaria, debido a que la reducción del  $a_w$  incrementa la fase de latencia y reduce la velocidad de crecimiento, resultando en una reducción de la población microbiana (Jay, y otros 2009, Barbut y Griffiths 2001).

#### **3.4.4 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AEROBIAS TOTALES (BAT)**

Se ha demostrado que el uso de algunas BAL que han sido comúnmente asociadas con la carne, presentan un efecto de antagonismo frente a microorganismos patógenos y esporulados debido a la producción de uno o más metabolitos con actividad antimicrobiana como ácidos orgánicos (láctico y acético), bacteriocinas, etc. logrando la inhibición de patógenos como: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 (Vermeiren, y otros 2004, Aymerich, y otros 2007, Cosansu, y otros 2010), sin embargo, el principal efecto antimicrobiano responsable de la seguridad sanitaria es la acidificación de los productos, la cual, en conjunto con agentes antimicrobianos tales como las bacteriocinas, logran un control más eficaz de la microbiota, debido a la

eliminación de microorganismos que pueden mostrar tolerancia a los ácidos (Leroy, y otros 2006).

Las bacteriocinas son proteínas antimicrobianas extracelulares sintetizadas ribosomalmente o péptidos, los cuales tienen un efecto bactericida o bacteriostático sobre otras bacterias Gram positivas (Aymerich, y otros 2007, Devlieghere, y otros 2004). Las bacteriocinas a menudo tienen espectros inhibitorios estrechos y actúan creando un efecto antagónico o afectando la membrana citoplasmática para disipar la fuerza motriz de protones a través de la formación de poros en la bicapa de fosfolípidos, estos efectos generalmente van dirigidos hacia otras bacterias íntimamente relacionadas, las cuales se encuentran presentes en el mismo ambiente (Leroy, y otros 2006, Devlieghere, y otros 2004).

De acuerdo a los resultados presentados por Rivera Quiroz (2005) La adición de *P. acidilactici* en un embutido tipo salami, provoca una disminución en la población de BAT al segundo día, aún con la adición de *S. aureus*. Dicha disminución se mantuvo hasta el final del proceso y alcanzó un nivel de 1-1.5 ciclos logarítmicos. En contraste, los salamis no adicionados con cultivo iniciador, presentaron un incremento de hasta 3-3.5 ciclos logarítmicos.

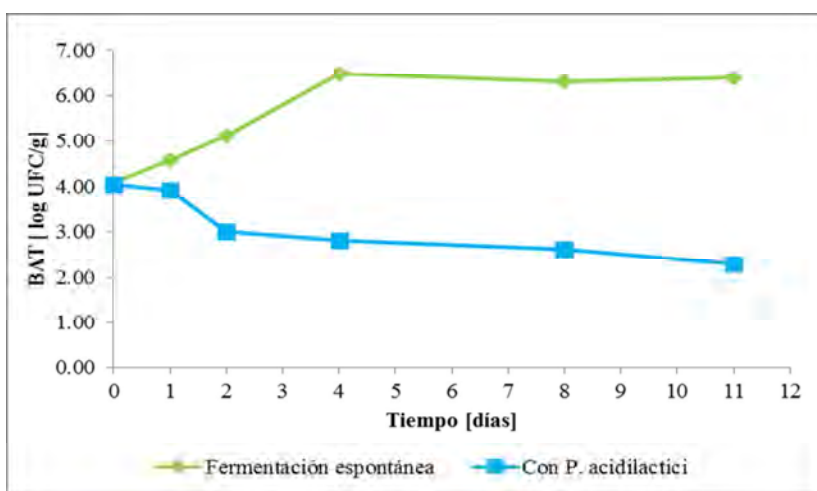


Figura 33. Determinación de BAT en un embutido tipo salami

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la Figura 33 podemos observar que los embutidos adicionados con el cultivo iniciador presentaron una disminución de 1.05 ciclos logarítmicos desde el inicio de la fermentación-maduración hasta el segundo día, mientras que los salamis fermentados espontáneamente tuvieron un incremento de 1.04 ciclos logarítmicos. Al final se obtuvo una diferencia de 1.75 ciclos logarítmicos menos en los salamis inoculados y 2.31 ciclos logarítmicos más en los salamis fermentados espontáneamente, respecto al inicio de la fermentación-maduración. Este comportamiento es debido al efecto bioconservador de las BAL, las cuales conforme sucede el proceso de fermentación-maduración, producen ácido láctico, mismo que al aumentar su concentración provoca la disminución del pH y con esto la desnaturalización de los compuestos proteicos, induciendo así a la disminución de  $a_w$ , y provocando el secado de los embutidos, creando un ambiente desfavorable para el desarrollo y supervivencia de los microorganismos (Hudnall 1999). Por otro lado es importante resaltar que el efecto bioconservador se ve beneficiado por la adaptación de los microorganismos al medio.

Microorganismos tales como *L. monocytogenes*, la cual es relativamente resistente a agentes de curación, puede sobrevivir durante el proceso de maduración; aunque los niveles en el producto final suelen ser bajos. En estudios europeos recientes se han detectado entre 1-16% de *Listeria* en productos cárnicos fermentados (Martín Juárez 2005). Actualmente, las normas oficiales mexicanas no consideran este microorganismo como parte de las evaluaciones de calidad sanitaria para los productos cárnicos, sin embargo la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF) ha establecido como límite máximo 2 log UFC/g en poblaciones de bajo riesgo.

De acuerdo a los Límites críticos establecidos en el Plan HACCP (Cuadro 18), se tomó como base una cuenta de 5.0 log UFC/cm<sup>2</sup> para BAT, mismo que se cumplió, tanto para embutidos

inoculados, como para embutidos no inoculados, por lo que el PCC establecido es eficaz para el control de BAT.

De igual forma es importante resaltar que la hipótesis establecida es confirmada para BAT en las condiciones de proceso aplicadas para este modelo cárnico.

### 3.4.5 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

Respecto a la seguridad alimentaria, los microorganismos patógenos y de descomposición Gram negativos son especialmente problemáticos por su resistencia inherente a algunos agentes antimicrobianos tales como las bacteriocinas. Esta incapacidad se debe a la membrana externa de protección que cubre la membrana citoplasmática y la capa de peptidoglicano de las células (Castellano, y otros 2008, Devlieghere, y otros 2004).

Es importante resaltar que las bacterias Gram negativas crecen con dificultad en condiciones ambientales hostiles como las que se dan en la maduración de los embutidos (Lücke 1998).

En la Figura 34 podemos observar que los embutidos adicionados con *P. acidilactici* presentan una disminución de 0.44 ciclos logarítmicos de coliformes totales desde el inicio de la fermentación-maduración, hasta el día 10, mientras que los embutidos fermentados espontáneamente, presentan una disminución de 0.18 ciclos logarítmicos.

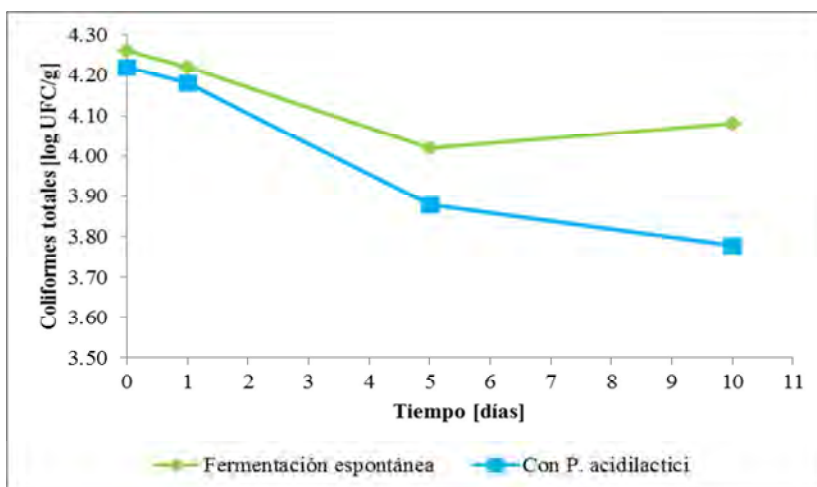


Figura 34. Determinación de coliformes totales en embutidos tipo salami

Según el Plan HACCP, se planteó un LCC  $< 2.5 \log \text{ UFC/cm}^2$ , y de acuerdo a las determinaciones de coliformes totales realizadas, al final del proceso de fermentación-maduración, se alcanzaron 3.78 y 4.08 logaritmos de coliformes totales para embutidos adicionados con cultivo iniciador y cultivos no inoculados respectivamente, por lo que no se alcanzó el LCC establecido.

Con el fin de garantizar la inocuidad de los productos es necesario considerar diferentes recomendaciones a través de las cuales se podría alcanzar el nivel de inocuidad planteado.

1. Repetir las determinaciones de coliformes totales
2. Reevaluar la materia prima
3. Revisar las condiciones de manejo durante el acondicionamiento de la materia prima
4. Evaluar el manejo de la materia prima proporcionado por los proveedores
5. Ampliar el periodo de fermentación-maduración y evaluar si se alcanza el límite establecido
6. Evaluar si es necesario el uso de barreras adicionales al sistema de barreras, las cuales sean de bajo impacto, por ejemplo el envasado en atmósferas modificadas

De acuerdo a la hipótesis planteada y a pesar de no haberse logrado el LCC establecido, se puede observar que la hipótesis se cumplió para coliformes fecales en las condiciones aplicadas a este modelo cárnico, sin embargo es conveniente evaluar los diferentes ajustes propuestos, con el fin de garantizar la inocuidad del producto.

### **3.4.6 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES**

Tomando como microorganismo indicador de coliformes fecales a *E. coli*, la NOM-194-SSA1-2004, establece que en cárnicos refrigerados es admisible hasta 3 log UFC/ g, por lo que para las pruebas realizadas a los productos cárnicos se tomo como LCC este valor, sin

embargo los productos no presentaron contaminación de este tipo de microorganismo, por lo que no se evaluó el efecto de la adición de *P.acidilactici* sobre este microorganismo; sin embargo es de suma importancia resaltar que la calidad microbiológica de la carne como materia prima y las buenas prácticas de manufactura durante la elaboración del producto, fueron claves para la producción de embutidos libres de coliformes fecales.

De igual forma, es importante considerar que en la NOM-213-SSA1-2002, la evaluación de BAT y coliformes fecales, no aplica para productos cárnicos crudos, situación que podría ser riesgosa debido a que los productos crudos generalmente no son sometidos a procesos que puedan eliminar o disminuir las cargas bacterianas a niveles aceptables, por lo que si se presentara alguna contaminación cruzada en la materia prima, ésta no podría ser detectada en los productos terminados, y aunque la fermentación es un método de conservación efectivo, es necesario considerar que el control de microorganismos Gram negativos (*E. coli* o *Salmonella*), no es tan eficaz como el control de Gram positivos.

## CONCLUSIONES

1. Los salamis adicionados con *P. acidilactici* disminuyeron su pH hasta 5.52 durante las primeras 36 h, mientras que los salamis fermentados de manera espontánea 5.62 en el mismo periodo.
2. La producción de ácido láctico durante las primeras 36 h, es mayor en los embutidos adicionados con *P. acidilactici*, alcanzando 0.154% de ácido láctico, mientras que sin iniciador 0.149% de ácido láctico
3. Al final del proceso del periodo de fermentación-maduración evaluado, se obtuvo un  $a_w$  menor en los embutidos adicionados con *P. acidilactici* alcanzando valores de 0.888, mientras que en los embutidos no inoculados fue de 0.920
4. Los embutidos adicionados con *P. acidilactici*, presentaron un control en términos de bacterias aerobias totales, con una disminución al final de la maduración de 1.75 ciclos logarítmicos para BAT, en contraste los salamis no inoculados, en los que aumentaron 2.31 ciclos logarítmicos en el mismo periodo. Durante el proceso de fermentación-maduración, se alcanzó el LCC establecido para BAT
5. Los embutidos adicionados con *P. acidilactici*, lograron un control de coliformes totales, con una disminución al final de la maduración de 0.44 ciclos logarítmicos, mientras que para los embutidos no inoculados esta disminución fue de sólo de 0.18 ciclos logarítmicos en el mismo periodo. No se alcanzó el LCC establecido para coliformes totales, por lo que se plantearon diferentes opciones como medidas correctivas
6. Las determinaciones de coliformes fecales indicaron ausencia, por lo que se considera que la calidad de la materia prima cumplió con este indicador. El control en la calidad sanitaria



de las materias primas, es crucial para el aseguramiento de la calidad sanitaria de los productos finales. La hipótesis planteada se cumplió en términos de bacterias aerobias totales y coliformes totales

7. La aplicación de un Sistema HACCP facilita la detección, tanto de materias primas sensibles, así como de las medidas de control y las evaluaciones de peligros son objetivas y estandarizadas
8. En procesos de elaboración de embutidos crudos madurados, la homogenización es considerado un PCC, debido a que los errores que pudieran ocurrir durante esta etapa del proceso, pueden provocar una mala distribución de los inóculos, lo cual deriva en errores tecnológicos, así como deficiencias en la bioconservación
9. La evaluación de las medidas de control establecidas, permite valorar la eficacia de éstas, así como plantear modificaciones o ajustes que permitan mejorarlas

## BIBLIOGRAFÍA

- Alaniz de la O, R., C. I. Martín del Campo, L. J. Morales, y B. T. Rosas. «Aislamiento de bacterias ácido lácticas con acción antagonica en contra de patógenos bacterianos de importancia en salud pública.» *Avances en la investigación científica en el CUCBA*. Guadalajara, 2006. 703-706.
- Aymerich, T, B Martin, M Garriga, y M Hugas. «Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and nonpathogenic staphylococci from artisanal low-acid sausages.» *Applied and environmental microbiology* 69, nº 8 (2003): 4583-4594.
- Aymerich, T., P. Picouet, y J. M. Monfort. «Descontamination technologies for meat products.» *Meat Science* (IRTA), nº 78 (2007): 114-129.
- Barbut, Shai, y Mansel Griffiths. «Developing Validation Models for E. coli 0157 Inactivation in Dry Fermented Sausage.» *Journal of Dairy Science* 1, nº 84 (2001): 58.
- Barbuti, Silvana, y Giovanni Parolari. «Validation of manufacturing process to control pathogenic bacteria in typical dry fermented products.» *Meat Science* 62, nº 3 (2002): 323-329.
- Bibek, R., y A. Bhunia. *Fundamental Food Microbiology*. 4a. Boca raton, Fl: CRC Press, 2007.
- Bibek, R., y D. Mark. *Food biopreservatives of microbial origin*. U.S.A: CRC Press, 2000.
- Carro, Roberto, y Daniel González Gómez. *Normas HACCP. Sistema de Análisis de peligros y puntos críticos de control*. 2012.
- Castellano, P., C. Belfiore, S. Fadda, y G. Vignolo. «A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina.» *Meat Science*, nº 79 (2008): 483-499.

- Chacón, A. «La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al menaje y proceso agroindustrial.» *Agronomía mesoamericana* 15, n° 002 (2004).
- Coretti, K. *Embutidos: Elaboración y defectos*. Zaragoza: Acribia, 1986.
- Cosansu, S., I. Geornaras, K. Ayhan, y J. Sofos. «Control of listeria monocytogenes by bacteriocin producing *Pediococcus acidilactici* 13 and its antimicrobiological substance in a dry fermented sausage sucuk and turkey breast.» *Journal of Food and Nutrition Research* 4, n° 49 (2010): 206-214.
- Demeyer, D, y otros. «Control of bioflavor and safety in fermented sausage: first results of a European project.» *Food Res Intern*, n° 33 (2000): 171-180.
- Devlieghere, Frank, Lieve Vermeiren, y Johan Debevere. «New preservation technologies: Possibilities and limitations.» *International Dairy Journal*, n° 14 (2004): 273-285.
- DOUE. «CE 1441/2007.» *REGLAMENTO (CE) No 1441/2007 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios*. Diario Oficial de la Unión Europea, 5 de diciembre de 2007.
- Doyle, Michael, Larry Beuchat, y Thomas Montville. *Microbiología de los alimentos; Fundamentos y fronteras*. Zaragoza, España: Acribia, 1997.
- Fadda, Silvina, Constanza López, y Graciela Vignolo. «Role of lactic acid bacteria during meat conditioning and fermentation: peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers.» *Meat science* 86, n° 1 (2010): 66-79.
- FAO. *Departamento de agricultura y Protección al Consumidor Producción y Sanidad Animal*. 25 de septiembre de 2012.
- [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr\\_composition.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html) (último acceso: febrero de 2014).

- Faruk, Bozoglu, y Ray Bibek. *Lactic Acid Bacteria: current advances in metabolism, genetics and applications*. Germany: Springer, 1996.
- Garriga, M. *Desarrollo y aplicación de tecnologías emergentes en la conservación de productos cárnicos*. IRTA- Centro de tecnología de la carne, 2005.
- Genome news network*. 22 de noviembre de 2002.
- [http://www.genomenewsnetwork.org/articles/11\\_02/keepers\\_art.shtml](http://www.genomenewsnetwork.org/articles/11_02/keepers_art.shtml) (último acceso: marzo de 2014).
- Hudnall, William. «Food Safety and Inspection Service (FSIS).» 1999.
- <http://www.waltonsinc.com/PDF/SausageFSIS.pdf> (último acceso: febrero de 2013).
- Huerta Leidenz, N., y A. Rodas. *Aspectos de calidad de carne para inicios de milenio*. Maracaibo, Venezuela: Facultad de Agronomía, Universidad de Zulia, 2001.
- ICMSF. *Ecología Microbiana de los alimentos I*. Zaragoza: Acribia, 1980.
- «ISO 22000:2005.» *NMX-F-CC-22000-NORMEX-IMNC-2007 Sistemas de Gestión de la Inocuidad de los Alimentos- Requisitos para cualquier organización en la cadena alimentaria*. 2005.
- Jackson, T., G. Acuff, y J. Dickson. «Carne de mamíferos, aves y pescado.» En *Microbiología de los alimentos, fundamentos y fronteras*, de M. Doyle, L. Beuchat, & T. Montville, 87-104. Zaragoza: Acribia, 2001.
- Jay, James M, Martin J Loessner, y David A Golden. *Microbiología moderna de los alimentos*. España: Acribia, 2009.
- Lawrie, R. A., y D. A. Ledward. *Lawrie's meat science*. Boca ratón, FL: CRC Press, 2006.
- Leroy, Frédéric, Jurgen Verluyten, y Luc De Vuyst. «Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation.» *International journal of food microbiology* 106, nº 3 (2006): 270-285.

- López de Torre, G., B. Carballo, y A. Madrid. *Tecnología de la carne y de los productos cárnicos*. Madrid: Mundi-Prensa, 2001.
- López, Jorge. «Generalidades sobre la microbiología de los alimentos: Microecología.» *Industria alimentaria* (Alfa editores) 23, nº 5 (septiembre-octubre 2001): 12-23.
- López, R, y A Casp. *Tecnología de los mataderos*. México: Mundiprensa, 2004.
- Lücke, F. K. «Fermented Sausage.» En *Microbiology of Fermented Foods*, de B. J. Wood, 441-483. Londres: Blackie Academic and Professional, 1998.
- Lücke, F. K. «Utilization of microbes to process and to preserve meat.» *Meat Science*, nº 56 (2000): 105-115.
- Madigan, Michael T., John M. Martinko, y Jack Parker. *Biología de los microorganismos*. Décima. Pearson, Prentice Hall, 2003.
- Marcos, B. *Mejora de la seguridad alimentaria de productos cárnicos listos para el consumo mediante la aplicación combinada de tecnologías de conservación emergentes*. Girona: IRTA, 2007.
- Martín Juárez, Belen. *Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, seguridad y mejora tecnológica*. Institut de Recerca I Tecnologia Agroalimentàries, 2005.
- Minor Perez, H., E. Ponce Alquicira, S. Macias Bravo, y I. Guerrero Legarreta. «Conservación de la carne fresca de cerdo por fermentación láctica. Efecto sobre el color, la textura y la formación de ácidos grasos libres.» *Revista Mexicana de Ingeniería* 1-2, nº 1 (2002): 73-80.
- Mortimore, Sara, y Carol Wallace. *HACCP: A practical approach*. Springer, 2013.
- Müller, Seigfried, y Mario Ardoino. *Procesamiento de carnes y embutidos, elaboración, estandarización y control de calidad*. Centro impresor piedra santa, 2003.

NOM-004-ZOO-1994. *Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñon de bovinos, equinos, porcinos y ovinos.* S.E., s.f.

NOM-092-SSA1-1994. «Métodos para la cuenta de bacterias aerobias en placa.» s.f.

NOM-109-SSA1-1994. «Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestra para su análisis microbiológico.» s.f.

NOM-110-SSA1-1994. «Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.» s.f.

NOM-113-SSA1-1994. «Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.» s.f.

NOM-194-SSA1-2004. «Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.» s.f.

NOM-213-SSA1-2002. «Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.» s.f.

Parada, J. L., C. Ricoy, P. M. Bianchi, y C. R. Soccol. «Bacteriocins from acid lactic bacteria: purification, properties and use as biopreservatives.» *Brazilian archives of biology and technology* 3, n° 50 (2007): 521-542.

*Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de la Ley General de Salud.* Diario Oficial de la Federación, 1999.

Rivera Quiroz, Joaquín. *Evaluación del efecto de bioconservación en salamis al adicionar *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 como cultivo iniciador.* Edo de Mex: Tesis de Maestría, UNAM, 2005.

Ross, R. P., S. Morgan, y C. Hill. «Preservation and fermentation: past, present and future.» *International journal of food microbiology*, 2002: 3-16.

- Smoot, L. M., y M. D. Pierson. «Indicator microorganisms and microbiological criteria.» En *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, de M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville, 66-80. Washington D.C.: ASM Press, 2001.
- Torres, Irina del Carmen. «Desarrollo de un snack cárnico fermentado-seco-madurado con valor funcional y estabilidad organoléptica, utilizando cepas de microorganismos fermentadores y cepas probióticas.» Guayaquil, Ecuador: Tesis doctoral, 2009.
- USDA. «Actualidad Ganadera.» 1 de julio de 2013.  
<http://www.actualidadganadera.com/noticias/usda-afirma-que-el-consumo-mundial-de-productos-carnicos-aumento.html> (último acceso: febrero de 2014).
- Venegas, Octavio, y Caridad Valladares. «Clasificación de los productos cárnicos.» *Revista cubana de alimentación y nutrición* 13, nº 1 (1999): 63-67.
- Vermeiren, L., F. Devlieghere, y J. Debevere. «Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products.» *International journal of food microbiology*, nº 96 (2004): 149-164.

# APÉNDICE A: FORMATO DE DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS



<b>Determinaciones microbiológicas</b>			
Clave:	Revisión: 0	Emisión: mayo 2013	Página: de

<b>Microorganismo</b>	<b>Datos de la muestra:</b>				
<b>Condiciones de incubación:</b>					
<b>Dilución</b>	<b>Fecha</b>				
1					
2					
3					
4					
5					
6					

<b>Observaciones:</b>
-----------------------

Verificó: \_\_\_\_\_