2.92

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"EFECTO DE LA ACTIVIDAD ACUOSA EN LA PRESERVACION DE CARNE FRESCA DE CERDO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

EDITH PONCE ALQUICIRA

MEXICO, D. F. 1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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 está 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.

INDICE

1.- Introducción 7

Hipótesis 9
Objetivos 9

2.- Información general 10

I Definición y Composición de la Carne . . . 11
II Microestructura 12
III Cambios Post-mortem 16
IV Vías de Contaminación en carne 18
V Rigidez Cadavérica 19
VI Resolución de la Rigidez Cadavérica . . . 19
VII Métodos de conservación de carne 24
VIII Efecto combinado de Factores de Conservación 27
IX Productos Autoestables 30
X Actividad Acuosa 33
XI Uso de Humectantes 38

3.- Parte Experimental 39

I Metodología 40
II Resultados y Análisis Estadístico . . . 43

4.- Discusión 75

6.- Conclusiones 82

7.- Bibliografía 85

8.- Apéndice 91

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La producción de ganado porcino es importante económicamente porque se adapta a las variadas condiciones del medio ambiente y explotación; transformando una gran cantidad de productos agricolas e industriales en alimentos de gran valor nutritivo (Aldana,1984), debido a:

- Su corto ciclo biológico
- Alimentación omnívora
- Fácil adaptación a todos los climas y explotación
- Proporciona gran variedad de productos

Es importante hacer notar que el cerdo rinde hasta un 75% de carne en canal y que este rendimiento es mayor que en los bovinos. Los cerdos mejorados y alimentados con raciones balanceadas producen una canal magra con mucha carne. Cuando el manejo de los cerdos es adecuado la incidencia de enfermedades es relativamente baja, los cerdos pueden proveer proteinas en forma tan eficiente como otros animales. Sin embargo se presenta mayor dificultad para la conservación de su carne, comparado con la de bovinos (Paltrinieri,1984).

A menudo en áreas semirurales de México el centro de matanza de cerdos está situado a distancias considerables de los centros de distribución y consumo; el mal manejo higiénico durante la matanza aunado al tiempo y temperatura de almacenamiento y transporte tienen como consecuencia una elevada contaminación microbiana, que provoca una disminución en la vida de anaquel, riesgos sanitarios y pérdida en la calidad final de la carne.

La refrigeración durante el almacenamiento y transporte de la carne fresca requiere de cantidades considerables de energía que aumentan los costos de producción.
Con el fin de disminuir los costos energéticos durante la refrigeración se han desarrollado métodos alternativos que alargan la vida de anaquel de la carne sin necesidad de temperaturas bajas de almacenamiento. Entre estos métodos se encuentra el tratamiento de cortes completos de carne con ácidos orgánicos y la aplicación de humectantes inócuos (Leistner,1983;Thiel,1979), de tal forma que la carga microbiana superficial en la canal disminuya a valores que aseguren una prolongación en la vida de anaquel de 50 a 100%.

HIPOTESIS

Se propone el uso de humectantes que permiten la reducción de la actividad acuosa superficial en carnes, almacenadas a altas temperaturas (15 C) abatiendo la flora microbiana contaminante.
Estos humectantes son principalmente Glicerol, Cloruro de sodio, Acetato de sodio y el uso de Tween 80 como surfactante. Se propone que la aplicación de estos compuestos permite una conservación de canales de cerdo, disminuyendo la cuenta de patógenos y organismos responsables de la descomposición.

OBJETIVOS

1.- Estudiar el efecto de algunos humectantes en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de carne de cerdo

2.- Estudiar el efecto de utilizar carne tratada con humectantes en la vida de anaquel de dos productos procesados: Salchicha y Salami.

INFORMACION GENERAL

I. DEFINICION Y COMPOSICION DE LA CARNE

La carne es uno de los alimentos más completos en la dieta del hombre. Las proteínas que contiene son de alta calidad, es una fuente apreciable de vitaminas del complejo B y de ciertos minerales, sobre todo de hierro; además es facilmente digestible (Price,1976).
Está formada de varios tejidos: el muscular (que es el más importante, para la formación de la carne), el conjuntivo, el óseo, el tendinoso, el adiposo, los nervios y ganglios linfáticos. La proporción en que se encuentra cada uno de ellos, su asociación y distribución, influyen en la valoración de la carne (Aldana,1976).
La composición química de la carne varía según la especie, edad, sexo, raza y el corte. En la tabla 1 se muestra la composición química aproximada en diferentres músculos esqueléticos.
El agua es el componente mayoritario, en peso, mientras que las proteínas representan la fracción más importante de la materia seca del músculo. Los porcentajes de agua y proteína se mantienen relativamente constantes en las diferentes especies animales, y varían, única e inversamente en función del contenido de grasa (Flores,1983; Paltrinieri,1984; Price,1976).

Tabla 1.- Composición general aproximada de músculos de diferentes especies (Flores,1983).

Componentes	vacuno %	ovino %	porcino %	pollo %
Agua	70-75	70-75	68-72	70-75
Proteínas	20-25	20-22	18-20	20-25
Grasas	4-8	5-10	5-12	4-6
Compuestos nitrogenados no proteicos	del orden de 1.5			
Carbohidratos	del orden de 1.0			
Minerales	del orden de 1.0			

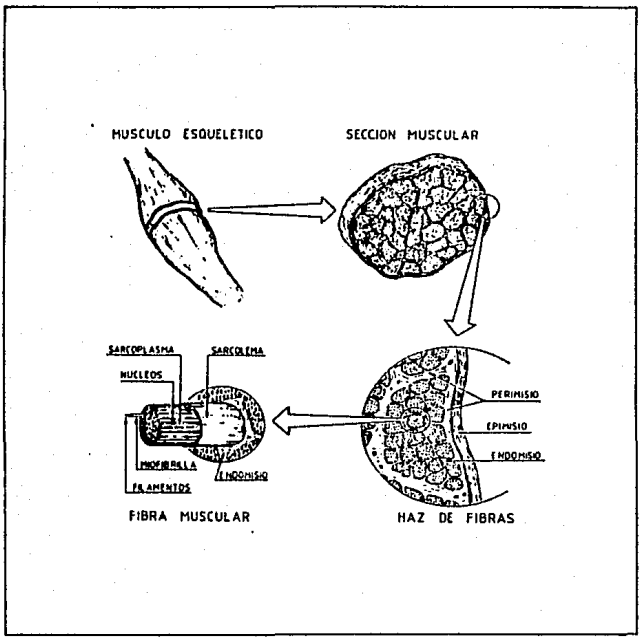
II. MICROESTRUCTURA

Estructuralmente existen dos componentes principales de la carne, las fibras musculares y el tejido conectivo; ambos responsables de las caracteristicas mecánicas de la carne. El músculo (figura 1) está formado por fibras musculares, dispuestas dentro de una estructura de tejido conectivo que recibe el nombre de epimisio, el cual se prolonga en su interior, en forma más delgada llamandose perimisio dividiendo el músculo en haces o fasciculos, que engloban numerosas fibras musculares, separadas unas de otras por una membrana muy fina de tejido conectivo llamada endomisio.
Entre las fibras musculares se encuentran los capilares y terminaciones nerviosas (Flores,1983;Price,1976).

La fibra muscular es la unidad fundamental en donde tienen lugar todos los procesos metabólicos del músculo, se clasifican como rojas blancas e intermedias, de la proporción en que se encuentrán depende el color y la función que presente el músculo. Las fibras rojas tienen un diámetro menor que las blancas, una mayor concentración de mioglobina y gran número de mitocondrias, por lo que su metabolismo es oxidativo. Las fibras blancas tienen gran cantidad de enzimas glucoliticas; los estímulos determinan una respuesta rápida en las fibras blancas, mientras que las rojas producen una contracción lenta que se mantiene por un periódo de tiempo relativamente largo (Flores,1983;Price,1976).
Las fibras musculares (figura 2) son células tubulares alargadas con un diámetro que oscila entre 10-100 micras, y una longitud de 1 a 40 mm; sobre las fibras se presentan estructuras ramificadas que son los nervios motores que dan la señal a las fibras para que se contraigan . Alrededor de las fibras se encuentra una membrana polarizada llamada sarcolema, siendo en la parte interna 0.iv más negativa que la externa.
En el citoplasma o sarcoplasma se encuentran las miofibrillas, los núcleos (situados en la periferia), las mitocondrias (que actuan como organelos productores de energía), el retículo sarcoplasmico , los sistemas tubulares transversales (orientados paralelamente a las miofibrillas que intervienen en el mecánismo de acoplamiento excitación-contracción), los complejos de Golgi, lípidos y lisosomas.

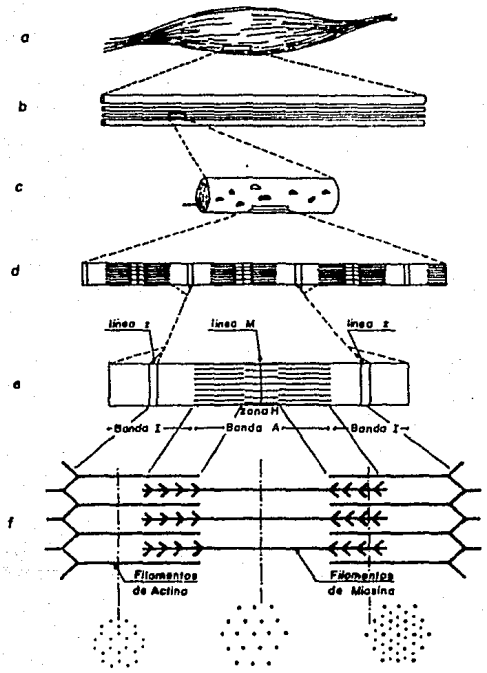
Las miofibrillas (figura 2) son los elementos contráctiles intracelulares, su aspecto estriado se debe a la sucesión de segmentos oscuros (anisótropos) y claros (isótropos); los segmentos oscuros se denominan bandas A y los claros bandas I una linea oscura llamada linea Z divide a la banda I; dentro de la banda A existe una zona clara llamada banda H, seccionada a su vez por una linea M oscura. El sarcomero o unidad estructural del músculo es el segmento entre dos lineas Z adyacentes.

Fig. I Estructura del músculo esquelético (Flores, 1983)



Las miofibrillas se componen de dos clases de filamentos que se sobremontan. Los filamentos gruesos (anisotropos) que forman la banda A y los filamentos delgados (isotropos) que forman la banda I.
Los filamentos gruesos estan formados por un cuerpo central constituido por las colas de las moléculas de miosina (meromiosina ligera) y puentes transversales que sobresalen del filamento constituidos por las cabezas de la miosina (meromiosina pesada).Los filamentos gruesos contienen cada uno de 200 a 400 moléculas de miosina y en ellos se han identificado pequeñas fracciones de otras proteinas que tienen funciones reguladoras entre las que se encuentran las proteinas C y M.
Los filamentos delgados de la banda I estan constituidos basicamente por F-actina, polipétido formado por la polimerización de monómeros globulares de G-actina. Dos cadenas de F-actina se unen entre si, dando lugar al filamento delgado, que contiene de 500 a 600 monómeros. En los filamentos delgados se han encontrado, en pequeñas cantidades, tropomiosina, troponina T, troponina C, troponina I y beta-actinina, que tienen funciones reguladoras (Flores,1983).

Fig. 2 Estructura del músculo esquelético (Flores, 1983)



a) músculo, b) fibras musculares, c) fibra muscular aislada, d) miofibrilla, e) sarcolema, f) filamentos gruesos y delgados.

III. CAMBIOS POST-MORTEM

Para comprender la transformación del músculo en carne es necesario conocer los procesos químicos que tienen lugar en el animal vivo y las subsecuentes alteraciones de los mismos después de la muerte; las vías metabolicas implicadas en la contracción y relajación muscular sólo difieren ligeramente de las que conducen al rigor mortis.

-Metabolismo in vivo

La contracción y relajación muscular dependen de los compuestos ricos en energía y de los compuestos que intervienen para su síntesis y degradación. La glucólisis es uno de los procesos implicados, mediante una serie de reacciones, la energía química potencial de la glucosa es utilizada en la síntesis de ATP.
El proceso comienza con la utilización de ATP en la fosforilación de la glucosa y termina con la formación de ácido pirúvico y ATP a partir del ácido fosfopirúvico mediante la acción catalítica de la ácido pirúvico quinasa; el ácido pirúvico es metabolizado por descarboxilación oxidativa formandose Acetil CoA que entra al ciclo del ácido cítrico, siendo finalmente oxidada para formar CO_2.
Las coenzimas de la respiración desempeñan un papel importante al actuar como aceptores de iones H+ y de electrones y permitir la continuación del ciclo, entre las que se encuentran : NAD, NADP, FMN y FAD.
En el músculo vivo en condiciones de estrés presenta un metabolismo anaerobio, debido a la falta de aporte de oxígeno necesario para la síntesis oxidativa de ATP.
El ATP es la fuente más directa de energía para la contracción muscular. Todo exceso de enlaces ricos en energía producidos durante la glucólisis se convierte en CP (creatinin fosfato) y se almacena en esta forma hasta que se necesite para transformar el ADP en ATP (Bendall,1984; Price,1976).

ATP + estimulos ---------> energía + ADP

ADP + CP <--------> ATP + creatinina

La contracción se inicia cuando los estímulos nerviosos despolarizan la membrana de las fibras, transmitiéndola hacia la línea Z en cuyo nivel se encuentra el retículo sarcoplásmico, entonces se libera una onda de iones calcio que estimula la degradación de ATP por los filamentos de actina y miosina . La contracción comienza cuando la concentración de iones calcio asciende a 10E-7 y cesa cuando desciende por debajo de ese nivel.

La energía producida por la degradación del ATP se utiliza en tres formas:

- Para poner en acción la bomba Na+/K+ de las membranas proporcionando el potencial de acción para la despolarización.
- Para poner en acción la bomba de Calcio del retículo sarcoplásmico.
- Para proporcionar la energía necesaria para la contracción muscular (Price,1976).

-Metabolismo Post-mortem

A consecuencia de la muerte la glucosa deja de proporcionar la energía necesaria para el metabolismo, quedando tres fuentes para mantener la glucólisis; al cesar el flujo sanguíneo el metabolismo se hace anaerobio, el oxígeno almacenado en la mioglobina se agota metabolicamente en unos pocos movimientos de contracción .
Las fibras rojas que tienen un metabolismo aerobio son las más afectadas con lo que su actividad metabolica se ve disminuida; las fibras blancas aptas para el metabolismo anaerobio no se afectan y pueden incluso estimular la ATPasa.
Al degradarse rápidamente el ATP la reserva de CP empieza a agotarse para reforzar el ADP; una vez agotado el CP empiezan a disminuir el nivel de ATP y se incrementa la glucólisis.
La glucólisis constituye un medio rápido de obtención de ATP en condiciones anaeróbicas, que se presentan en el músculo vivo en momentos de estrés o después de la muerte hasta que desaparece el glucógeno.
En condiciones anaerobicas el ácido pirúvico proveniente del glucógeno es reducido a ácido láctico; in vivo el ácido láctico puede difundir hacia los tejidos y ser utilizado para la síntesis de glucógeno proporcionando energía, mientras que después de la muerte provoca el descenso de pH (Price,1976).

IV. VIAS DE CONTAMINACION

La cálidad de la carne fresca depende de las modificaciones metabólicas que experimenta el músculo, y de los consiguientes cambios químicos, lo cual esta estrechamente relacionado con el manejo de los animales en su última etapa de industrialización, transporte y sacrificio (Price,1976).

Se admite que la masa interna de la carne de animales sanos no contiene gérmenes o que estan en muy baja concentración. La contaminación más importante de la carne es de origen externo durante el sacrificio, manipulación y tratamiento al que se le somete. Durante la sangría, desuello y cuarteado de los animales, las principales fuentes de contaminación son las partes externas del animal (piel, pezuñas, pelo, etc.). Algunos animales albergan microorganismos en hígado, riñones y nódulos linfáticos que pueden llegar a los músculos via sistema circulatorio (Fernández,1981;Frazier,1976).
Los métodos "humanitarios" de sacrificio no contribuyen mucho a la contaminación, pero estos van seguidos de incisión y sangría que pueden introducir microorganismos.
La superficie de la carne además de contener su flora natural tiene microorganismos contaminantes del suelo, agua, piensos y estiercol; los cuchillos, paños, aire y el personal son fuentes de contaminación intermedia (Price,1976; Frazier,1976).
En el contenido intestinal del animal existe una gran cantidad de microorganismos; si durante el eviscerado no se conserva la integridad de los órganos, estós contaminarán la carne (Aldana,1984).
Durante la manipulación posterior puede haber nuevas contaminaciones a partir del transporte, cajones, otras carnes contaminadas y personal (Esesarte,1983).
Debido a la gran variedad de fuentes de contaminación, los tipos de microorganismos presentes en carne son muchos. Mohos de diferentes géneros, son especialmente importantes: Cladosporium, Sporotrichum, Oospora, Thamnidium, Penicillium, Alternaria y Monilla. A menudo se encuentran algunas levaduras especialmente las no esporuladas. Entre las bacterias que pueden encontrarse, las más importantes son las de los géneros: Pseudomonas, Achromobacter, Micrococcus, Streptococcus, Sarcina, Leuconostoc, Lactobacillus, Proteus, Flavobacterium, Bacillus, Clostridium, Escherichia, Salomonella y Streptomyces. Muchas de estas crecen a temperaturas de refrigeración, tambien es posible encontrar gérmenes patógenos del hombre, especialmente de origen entérico (Frazier,1976).

V. RIGIDEZ CADAVERICA

Al momento de la matanza en el que ocurre un paro respiratorio y cardiaco, del animal se originan cambios en el tipo de actividad metabólica al establecerse un ambiente de anaerobiosis . Los músculos contienen ATP (10 umol/g), CP y un pH de 6.7 a 7.2 y el músculo aun es extensible (figura 3). Los niveles de ATP, se mantienen relativamente constantes hasta que el CP se agota, en ese momento comienza a disminuir la concentración de ATP, ya que no se puede regenerar por fosforilación oxidativa, tambien se inicia el descenso de pH debido a la transformación anaeróbica de glucógeno a lactato hasta valores finales de pH=5.5 .
Cuando los niveles de ATP descienden a valores de 0.1umol/g se forman puentes transversales entre los filamentos de actina y miosina que normalmente se forman y destruyen durante la contracción muscular, y no pueden romperse en ausencia de ATP, por lo que la rigidez se mantiene por la tensión continua que ejercen los puentes transversales de la miosina sobre los filamentos delgados de la actina contrayendose el músculo en la condición conocida como rigor mortis o rigidez cadavérica (Price,1976).

VI. RESOLUCION DE LA RIGIDEZ CADAVERICA

En el post-rigor, los mecánismos por las cuales la carne puede ablandarse son de indole enzimática, activados por factores como el abatimiento de pH y la liberación de enzimas del sarcoplasma, entre otros.
Durante el almacenamiento del músculo se presenta un ablandamiento, rápido durante los primeros días de almacenamiento y lento a medida que se continue la maduración y depende de la especie de que se trate (Dutson,1983). La suavidad de la carne se asocia con un incremento en el nivel de nitrógeno no proteíco insoluble en agua, péptidos y aminoácidos derivados de las proteínas del músculo por la actividad de las enzimas proteolíticas. Sin embargo aun no es posible explicar totalmente los cambios que sufre la carne durante su maduración (Edwards y Dainty;1986).
Se han observado modificaciones en la estructura de las miofibrillas que pueden ser responsables del aumento en la suavidad. El debilitamiento de las miofibrillas es provocado por la acción de las enzimas proteolíticas activadas después de la muerte del animal. Estas endopeptidasas se clasifican como no lisosomales que tienen una actividad máxima a valores de pH cercanos a la neutralidad y las lisosomales (catepsinas) que actuan a valores de pH entre 3 y 6 (Etherington,1984).

Fig. 3 Cambios Post-mortem (Price,1976)

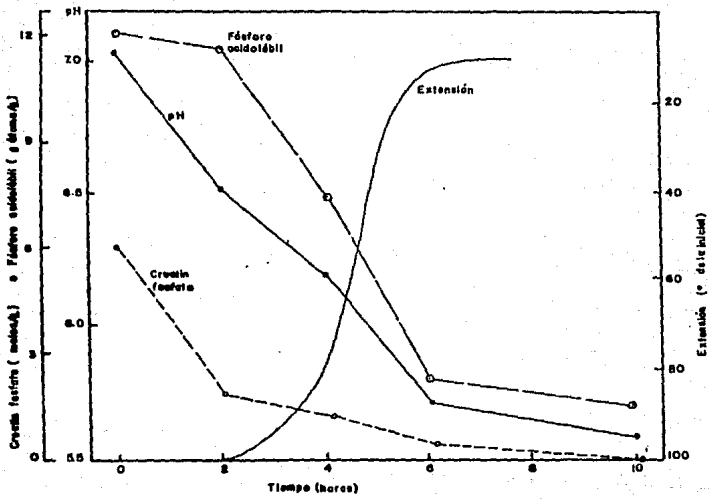


Tabla 2. Proteinasas en el músculo (Etherington, 1984).

Proteinasas	intervalo de valores pH para proteolisis
NO LISOSOMALES	
Proteinasas neutras activadas por calcio	6.5 - 8.0
Proteinasas similares a tripsina (serina)	6.5 - 8.0
Proteinasas neutras (tiol)	6.5 - 8.0
Proteinasas alcalinas (serina)	7.5 - 10.5
LISOSOMALES	
Catepsina B	3.0 - 6.0
Catepsina D	2.5 - 4.5
Catepsina H	5.0 - 7.0
Catepsina L	3.0 - 6.0
Catepsina N	3.0 - 6.0

Después de la muerte la acumulación de ácido láctico provoca el abatimiento de pH hasta valores finales de 5.5, a la vez el potencial redox del músculo cae a niveles tales que las proteinasas con un centro activo de cisteina son activadas. Por otra parte la actividad enzimática se ve afectada por la velocidad a la cual la temperatura de la canal desciende; si la canal se somete a un enfriamiento rápido la actividad enzimática es menor que si se somete a un enfriamiento lento. La concentración de calcio en el músculo vivo es de alrededor de 1E-8, con un descenso durante la contracción; después de la muerte el calcio se libera del retículo sarcoplásmico activando las proteinasas que requieren calcio (Penny, 1974).

El primer cambio que se observa durante la maduración de la carne es el cambio en la linea Z, la cual se degrada durante los 2 a 3 días post-mortem en carne de res, posteriormente se producen espaciamientos entre la linea Z y la banda I; la pérdida completa de la estructura ocurre después de un periódo mayor a los 15 días necesarios para producir un mínimo de blandura.
La velocidad de degradación de la linea Z y la banda I varia de un tipo de fibra a otra; las fibras blancas con una linea Z mas estrecha se degradan más rápidamente que las fibras rojas (Nagainis,1982)
La actina y la actinina son las únicas proteinas que se han identificado como componentes de la linea Z, y la desmina que se localiza en la periferia, formando una red proteica alrededor de la linea Z y es responsable de la inserción, alineación y anclaje de las miofibrillas. La actinina se encuentra en los extremos de los filamentos de actina en el disco Z (Dransfield,1981), durante la maduración esta permanece inalterada, sin embargo se afectan las uniones con la linea Z. Esta acción ocurre sobre la desmina, perdiendose en consecuencia la alineación correspondiente (Etherington,1984).
Como consecuencia del debilitamiento de la linea Z la carne presenta mayor porcentaje de fracciones miofibrilares, el grado de fragmentación es proporcional al nivel de maduración y al ablandamiento de la carne (Edwards y Dainty;1987). El tamaño del sarcomero esta en proporción de la suavidad, a mayor tamaño del sarcomero la carne es más suave (Dransfield,1981 ;Dutson,1983).
Otras proteinas que se degradan son la troponina T, troponina I y la proteina C (Penny,1979); la disminución de la dureza esta relacionada cuantitativamente con la pérdida de la troponina T, aunque no parece estar relacionado con la degradación de la linea Z sino que posiblemente afecte a la union de otros componentes como las troponinas I, C y la tropomiosina (Penny,1974).
Durante la maduración la actina y la miosina son cada vez mas solubles; a medida que transcurre la maduración, aumenta la cantidad de actina y alfa-actinina solubles lo que indica un debilitamiento del anclaje de estas dos proteinas a la estructura miofibrilar (Penny,1984).

- Enzimas involucradas en la maduración

Sólo las proteinasas neutras activadas por calcio se encuentran dentro de la célula muscular, las catepsinas lisosomales se encuentran cerca del sarcolema (Dutson,1983).
La proteinasa neutra no lisosomal mas importante es la activada por calcio (CANP), la cual actua en las miofibrillas en la region del disco Z; promueve el debilitamiento de la miofibrilla liberando a la alfa-actinina y degradando a las troponinas T e I y a la proteina C. Se han identificado dos formas de CANP, la primera necesita de concentraciones de Calcio de 1 a 2 uM para tener una actividad maxima (mCANP),

la otra (cCANP) con una actividad máxima a concentraciones de calcio de 50 a 100 uM. Por lo que solo la mCANP puede estar totalmente activa en la célula muscular a los niveles de Calcio que se encuentran en el estado post-mortem; ambas formas tambien tienen la capacidad de liberar Z-nina de la linea Z (Penny,1974).
Recientemente se ha encontrado que los filamentos delgados estan anclados a la linea Z por una forma diferente de actina, la cual es especialmente sensible a la acción de la CANP (Etherington,1984).

Entre las proteinasas neutrales, se ha encontrado en el músculo liso una con caracteristicas similares a la tripsina; esta proteinasa es muy activa en la degradación del complejo alfa-actinina, actina, miosina y troponina.
(Etherington,1974).

A medida que el pH del músculo decae después de la muerte la actividad de las proteasas neutras, especialmente de la CANP declina hasta que a pH de 5.5 se inactiva (Dutson,1983).

Las proteasas lisosomales son inactivas a pH de 7, aumentando su actividad a medida que el pH se acerca a 5.5 y con la presencia de cisteina (Dutson,1980). La cisteina proteasa más estudiada es la catepsina B , la cual degrada a la miosina y en menor grado a la actina. La catepsina L es sumamente activa sobre la miosina, actina, alfa-actinina, troponina T y troponina I en presencia de tioles. La catepsina H es una endo y exopeptidasa, muy activa sobre la miosina. La aspartato proteasa o catepsina D es el componente más importante de las enzimas lisosomales y no necesita de activador, degrada a la actina y a la miosina hasta peptidos pequeños , a valores de pH cercanos a 5.5 reduce su actividad pero aun hay fragmentación de las miofibrillas, sobre todo en la linea Z (Etherington,1984).

- Accion de las proteasas en el tejido conectivo

La dureza de la carne se debe, en parte al tejido conectivo que forma el endomisio y el perimisio, esta dureza depende del contenido de colagena en el músculo, sin embargo no se tiene certeza del debilitamiento del tejido conectivo durante la maduración. El músculo no contiene colagenasas en cantidades apreciables, aunque otras proteasas pueden despolimerizar a la colagena por ruptura en la región del telopeptido. Esta ruptura puede eliminar los entrecruzamientos entre fibras adyacentes de colagena en forma suficiente para que algunos monómeros de colagena desnaturalizada se solubilicen (Penny,1984).

VII. METODOS DE CONSERVACION DE CARNE

Mientras se desarrolla la maduración, el pH de la carne vuelve a subir hasta un valor de 6.3; si la carne no es utilizada antes de que el pH haya alcanzado un valor de 6.2 los cambios bioquímicos provocados por las enzimas proporcionan un ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos (Paltrinieri,1984).
La conservación de carne permite retardar o evitar la alteración producida por microorganismos, cambios químicos y físicos que reducen la calidad de la carne. Al sacrificar al animal se pierden sus defensas antimicrobianas por lo que la carne se vuelve muy susceptible al desarrollo de microorganismos (Price,1976).

Refrigeración

La refrigeración es el medio más comun para conservar la carne fresca durante periodos de tiempo relativamente cortos. La temperatura baja (1 a 3 C) retarda tanto el desarrollo de microorganismos como las reacciones químicas y enzimáticas causantes de alteraciones; la velocidad de tales cambios es proporcional a la temperatura de la carne (Price,1976).

Curado

Las sales de cura (NaCl, nitritos, nitratos, fosfatos, etc.) utilizados en un gran número de productos cárnicos y el método de procesamiento crean un microambiente en la carne que favorece el crecimiento de bacterias gram positivas, a la vez que inhibe el crecimiento de organismos causantes de descomposición gram negativos, incrementando la vida de anaquel (Bacus,1984a). Se fevorece el desarrollo de microorganismos deseables presentes en pequeñas cantidades como: Micrococos, Lactobacilos, Estreptococos, Leuconostoc y Microbacterias; productores de metabolitos tales como ácido láctico y otros compuestos que actuan como inhibidores de patógenos, aunque estos microorganismos pueden producir compuestos relacionados con la putrefacción (Price,1976).

Fermentación

La fermentación de productos cárnicos ha sido un método tradicional de conservación de carne, sobre todo en Europa. Aunque en un principio este método de conservación se dio por accidente (Bacus,1984b); cada vez es mayor el grado de sofisticación que se emplea al procesar carnes utilizando microorganismos seleccionados para que produzcan sabor, olor y textura deseados.

Ahumado

Entre las sustancias químicas identificadas en el humo de maderas duras se encuentran ácidos alifáticos, alcoholes primarios y secundarios, cetonas, formaldehído, fenoles, cresoles y una mezcla de resinas y ceras; el formaldehído y los fenoles son los principales agentes bacteriostáticos y bactericidas. Durante el ahumado los productos cárnicos experimentan un calentamiento ; la acción combinada de calor y humo reducen la población microbiana de la superficie de la carne (Price,1976).

Descontaminación Superficial

El curado, ahumado y fermentación de carne y productos cárnicos requieren de la acción combinada de la refrigeración para asegurar su estabilidad. En México generalmente las facilidades de refrigeración son escasas y costosas ; incrementando el costo del producto.
La carga microbiana superficial contaminante de la carne se puede reducir mediante la descontaminación superficial, en la que se utilizan recubrimientos con sustancias que disminuyen el gasto de energía en la refrigeración, transporte y almacenamiento de las canales (Leistner,1983) como lavado con agua a presión , lavado con cloro, ácidos, antibióticos y humectantes.

-Lavado con agua a presión

Este método fue utilizado para abatir cargas microbianas superficiales por Thompson (1976), en pollo y controlar Salmonella; Biemuller (1973) utilizo vapor durante 10 segundos sobre canales de res; Lilliard y colaboradores (1984) aplicaron agua a presion sobre canales de pollo.

-Lavado con soluciones de cloro

Heitter y col. (1975) aplicaron soluciones de cloro (100-200 ppm) en canales de res , cerdo y borrego, patentando el proceso como Chlor-chil, reduciendo la contracción e inhibiendo el crecimiento bacteriano en la carne. El mismo tratamiento lo aplicaron Thompson y colaboradores (1976) para inhibir el crecimiento de Salmonella en pollo. D'Vries (1974) utilizo soluciones con 200 ppm de cloro a fin de inhibir Salmonella. Hansen y colaboradores (1973) utilizaron soluciones similares en cerdo.

-Uso de ácidos

Los ácidos tienen propiedades bacteriostáticas y fingistáticas, debido a la concentración de iones hidrógeno. Van-Hoff y colaboradores (1984) aplicaron ácido láctico a canales de borrego en refrigración (12 C) tomando como indice las cuentas de mesófilos aerobios, Enterobacterias, microorganismos psicróflos, Microbacterium thermosfacta, Pseudomonas sp,hongos y levaduras; sus resultados muestran la disminución de todos los organismos, pero continúa la predominancia de bacterias lácticas, hongos y levaduras, presentando problemas de decoloración.
Lilliard y Thompson (1984) controlaron las cuentas de Salmonella sp con una solución de ácido succinico (1%) y ácido citrico (0.3%). Bush y colaboradores (1984) controlaron las cuentas de Pseudomonas sp en res, cerdo, borrego, ternera y pollo con ácido acético. Mountney y D'Malley (1965) utilizaron ácidos acético, adipico, citrico, fumárico, clorhidrico, láctico, málico, fosfórico, succinico y sórbico en pollo. Modic y colaboradores (1978) probaron mezclas de ácidos orgánicos y cloruro de sodio . Bremuller (1973) utilizo ácido acético para controlar Salmonella sp en canales de cerdo.

-Uso de Antibióticos

Los antibióticos se aproximan a lo que debe ser un conservador ideal, las concentraciones requeridas no imparten olor, sabor ni color extraño al alimento; pero la FDA se opone a su uso basándose principalmente en que los antibióticos pueden sensibilizar al consumidor o crear resistencia o interferir con su uso terapúutico (Price,1976).

-Uso de Humectantes

Los humectantes son sustancias capaces de adsorber agua y mantenerla a niveles bajos. Silverside y Sanders (1985) utilizaron mezclas de polisacaridos, tetra, tri, di y monosacaridos ademas de ácido cítrico, cloruro de sodio y glucosa; los polisacaridos dieron una consistencia viscosa , mientras que los mono. di y trisacaridos actuaron como humectantes, la viscosidad ayuda a que los humectantes se adsorban a la carne difundiendose a las células superficiales. Early y colaboradores (1984) utilizaron peliculas de alginatos muy viscosas de forma que no haya goteo, la aplicación consiste en ácido glucónico y una solución gelificante (Ca2+) . Heine y colaboradores (1984) utilizaron la siguiente mezcla de acilgliceridos acetilados: 50-65% mono, 20-25% di y 10-20% tri. Obanu y col. (1977) utilizaron glicerol, L-lisina, gelatina o caseina evitando el oscurecimiento.

VIII. EFECTO COMBINADO DE FACTORES DE CONSERVACION

Los métodos de conservación de carne como calentamiento, refrigeración , congelación, secado, curado, salazon, acidificación, fermentación , ahumado y eliminación de oxígeno, tienen como fin inhibir la descomposición evitando la acción de enzimas y/o microorganismos capaces de producir compuestos tóxicos o que alteren las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de la carne . Todos estos procesos se basan en el manejo de algunos parámetros como los que se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Factores que afectan el crecimiento microbiano (Leistner,1987).

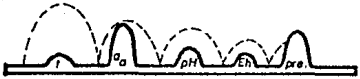
temperatura elevada	F
temperatura baja	t
actividad acuosa	aw
pH	pH
potencial redox	Eh
adicion de conservadores	nitritos, humo, CO2
microflora competitiva	bacterias lácticas

La combinación de estos factores en un orden particular para cada alimento, produce la estabilidad sanitaria ; de ahi el termino de barrerras de crecimiento. Cada factor limitante presenta una barrera al crecimiento microbiano, si la barrera no es suficiente para inhibir este crecimiento, el producto no será estable y seguro. En la mayoría de los alimentos es necesaria más de una barrera para inhibir el crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento .
El número de barreras y el nivel en que se requieren depende del tipo y número de gérmenes presentes. Si la carga microbiana inicial es baja, esta se puede inhibir con pocas barreras o de baja intensidad que las requeridas para inhibir una elevada carga microbiana, por lo que es importante cuidar la calidad microbiana de los materiales en la preparación de un producto (Leistner,1986).

Fig. 4 Efecto de barreras

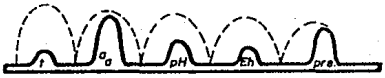
No. 4.1

No. 4.2



No. 4.3

No. 4.4



No. 4.5

No. 4.6

No. 4.7

No. 4.8

No. 4.9

La figura 4.1 ilustra el principio del efecto de barreras o factores limitantes, y presenta a un alimento que contiene 6 de ellas (F, t, Eh, pH, Aw, y un conservador). Los microorganismos no pueden proliferar en el alimento debido a los factores limitantes que inhiben su crecimiento, por lo tanto el alimento es sanitariamente seguro ; esta es una situación teórica ya que en un alimento no todos los factores tienen la misma intensidad.

En la figura 4.2 la estabilidad microbiana del alimento esta dada por barreras de diferente intensidad, los principales factores son Aw y conservadores, y las de menor intensidad son temperatura de almacenamiento, pH y potencial redox; las cinco barreras son suficientes para inhibir los organismos asociados a estos productos.

Si se tiene una carga microbiana inicial baja (figura 4.3) se requieren pocos factores limitantes o de baja intensidad .

En la figura 4.4 las malas condiciones de higiene tienen como resultado una carga microbiana inicial elevada, y las barreras no previenen la descomposición del mismo.

La figura 4.5 muestra un alimento rico en nutrientes, lo que permite un crecimiento microbiano abundante, por lo que las barreras deben ser reforzadas. La fig.4.6 muestra el comportamiento de tratamientos subletales de esporas por efecto del calor; las células vegetativas que se derivan pueden ser inhibidas facilmente por factores de baja intensidad. En las Fig. 4.7 y 4.8 la estabilidad del alimento, se relaciona con los periodos de procesamiento y almacenamiento.

En ciertos alimentos, como las salchichas fermentadas y los jamones crudos la estabilidad del producto se logra durante el procesamiento a traves de una serie de factores limitantes. Para la estabilidad de los jamones crudos es fundamental que la carga microbiana en el interior del mismo sea baja, el pH debe ser inferior a 6 y la temperatura debe mantenerse baja hasta que haya penetrado suficiente sal y en consecuencia haya disminuido la actividad acuosa del músculo; después que la actividad acuosa en el interior del jamon haya disminuido a valores inferiores de 0.96 el producto puede ser ahumado a temperatura ambiente para desarrollar el sabor característico. El producto de los factores limitantes y no su número es responsable de la estabilidad del alimento; la figura 4.9 muestra el efecto potencializador de los factores limitantes.

En los ejemplos dados anteriormente, la secuencia de los factores de conservación es arbitraria. Sin embargo en algunos salamis fermentados, la secuencia de los factores esta fija, debido a que algunos de ellos se desarrollan durante su procesamiento y otros durante el almacenamiento (Leistner,1985).

IX. PRODUCTOS AUTOESTABLES

A través del uso de la tecnología de barreras se pueden desarrollar nuevos productos y mejorar los tradicionales. Este razonamiento se aplica a productos autoestables y a los alimentos de actividad acuosa intermedia (Leistner,1986). Ambos productos se pueden almacenar sin refrigeración, lo que es importante en areas industrializadas debido al considerable ahorro de energía y en áreas no industrializadas en donde no existen las facilidades de refrigeración.

El término productos autoestables se introdujo en 1979 (Scorza,1981) para alimentos de alta actividad acuosa (AW>0.9) que pueden almacenarse sin refrigeración, después de un tratamiento térmico moderado (70 a 110 C en el centro del producto) . Se almacenan en recipientes sellados inactivando a todas las bacterias excepto las esporuladas; por lo que el principal interés es la inhibición de esporas de Bacillus y Clostridium que se presenta por la disminución considerable de la Aw, pH y Eh (Leistner,1976).

Los productos autoestables ofrecen las siguientes vetajas:
- El tratamiento térmico moderado aumenta las características organolépticas y nutricionales del producto.
- Simplifica la distribución por que no requieren de refrigeración y se ahorra energía
- Para áreas industrializadas, la producción de productos autoestables es más atractiva que alimentos de humedad intermedia debido a que su Aw no es tan baja y requieren de menor cantidad de humectantes y/o menos secado.

Se distinguen varios tipos de productos autoestables, dependiendo del factor limitante del crecimiento microbiano : actividad acuosa, procesamiento térmico y pH; las barreras adicionales contribuyen a la estabilidad sanitaria del producto. El mecánismo fundamental para los productos autoestables dependientes del procesamiento térmico es la inactivación o daño subletal de esporas y bacterias; la reducción de la actividad acuosa para los dependientes de ésta y el aumento de acidez para los dependientes de pH.

Alimentos de actividad acuosa intermedia

Son los que tienen actividad acuosa de 0.9 a 0.6 , se estabilizan por factores adicionales como: pH, potencial redox, calentamiento, temperatura de almacenamiento y conservadores. Estos productos a pesar que tienen una actividad acuosa reducida conservan su suculencia. La producción de alimentos cárnicos de actividad acuosa intermedia, logrados por el uso de humectantes presentan algunos problemas de exceso de aditivos y por lo tanto de

aceptación legal. Se han hecho estudios sobre el abatimiento de la actividad acuosa en canales completas aplicando humectantes, la mayoría de ellos polialcoholes (Ross,1976). Leistner (1983) desarrolló una solución compuesta de sorbato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio, la cual se aplicó a canales de res aumentando la vida de anaquel un 100% a 15 C . Ledward (1986) ha publicado estudios sobre la aplicación de mezclas de glicerol en res reportando el problema de oscurecimiento por el desarrollo de reacciones de Maillard.

Tabla 4. Microorganismos importantes en alimentos de Humedad Intermedia (Karel,1976).

Bacterias	Levaduras	Hongos
Pediococcus	Hansenula	Clodosporium
Streptococcus	Candida	Paecylomyces
Micrococcus	Hanseniospora	Penicillium
Lactobacillus	Torulopsis	Aspergillus
Vibrio	Devaromyces	Emericella
Staphylococcus	Sacaromyces	Eremascus
Bacterias halofilas		Wallemia
		Eurotium
		Chrysosporium
		Monascus

Tabla 5. Efectividad de varios factores para la inhibición de microorganismos osmófilos en alimentos de actividad acuosa intermedia (Karel,1976).

Organismos	pH	Eh	t	F	sorbato	microflora competitiva
Bacterias	q	q	q	+	q	q
Levaduras	-	q	-	+	q	q
Hongos	-	+	-	+	+	q

t= efecto de temperatura de almacenamiento, F= proceso térmico, Eh= potencial redox. (+) = inhibición, (q) = ligera inhibición, (-) = no hay inhibición.

Como se muestra en la tabla 5 las bacterias osmófilas se inhiben por abatimiento de pH hasta un valor de 5.5 , aunque algunos microorganismos del género Micrococcus se inhiben a un pH inferior a 4.5 . Para inhibir a las demas bacterias (Pediococcus, Streptomices y Lactobacillus) al igual que levaduras y hongos es necesario obtener un valor menor de pH ya que su desarrollo se ve favorecido en un rango de pH de 6.0 a 3.0.
Sólo los microorganismos del género Micrococcus se inhiben a un valor de potencial redox bajo ; por que las demás bacterias son anaeróbicas facultativas, la mayor parte de las levaduras se inhiben debido a que la mayoria son aeróbicas, mientras que los hongos son totalmente inhibidos .

Existen diferencias en el valor de temperartura de almacenamiento requerida para inhibir a las bacterias osmófilas, para Staphylococcus aureus 7 C ; las bacterias lácticas se inhiben a una temperatura inferior a 1 C ; las levaduras a -12 C; y los hongos a una temperatuta inferior a -18 C.
Los microorganismos osmófilos no son resistentes al calor por lo que un proceso térmico de 85 C es suficiente para eliminarlos. La resistencia al calor algunas veces se incrementa por el decremento de la acitiviad acuosa.
Las sustancias fungicidas como el sorbato de potasio, piramicin, parabenos, glicoles, glicerol y butanoidol inhiben el desarrollo de hongos, algunas levaduras y bacterias.
En algunos productos de actividad acuosa intermedia la microflora competitiva, especialmente del género Lactobacillus contribuye a la estabilidad (Leistner,1976).

En la elaboración de carne con actividad acuosa intermedia el agua es eliminada de la carne fresca y la disponible es reducida por la adición de solutos . La actividad acuosa debe regularse a un valor en el cual se evite el desarrollo de microorganismos para asegurar su estabilidad.
Como todos los alimentos la carne con humedad intermedia puede deteriorarse por desarrollo de microorganismos, reacciones quimicas y enzimaticas; sin embargo la pérdida de calidad durante el almacenamiento se debe principalmente a reacciones químicas; las más importantes son :

- Oxidación de lípidos insaturados que puede dar origen a la rancidez; pérdida de la solubilidad de proteinas, por formación de complejos, destrucción de aminoácidos azufrados y vitaminas.

- Oscurecimiento no Enzimatico Reacción de Maillard con la producción de pigmentos oscuros (melanoidina) y generación de olores y sabores desagradables.

- Reacción de los componentes de la carne con los componentes de la solución de infusión, por ejemplo con trazas de peróxidos presentes en el glicerol utilizado para abatir la actividad acuosa (Ledward,1986).

X. ACTIVIDAD ACUOSA

Los tejidos animales y vegetales contienen agua en diferentes concentraciones, distribuida en forma compleja y heterogenea . El contenido de humedad de un alimento se refiere a toda el agua en forma global que contiene, sin considerar que en la mayoría de los alimentos existen zonas o regiones microscópicas, que debido a la elevada concentración de lipidos no permiten la presencia de agua, obligándola a distribuirse en forma heterogenea.
El agua no sólo contribuye a las propiedades reológicas y de textura de un alimento a través de su estado físico, sino que sus interacciones con los deferentes componentes de este, determinan el tipo de reacciones químicas que se pueden suscitar . El término "Actividad Acuosa" (Aw) determina el grado de interacción del agua con los demás constituyentes de los alimentos y es una medida indirecta del agua disponible para llevar a cabo las diferentes reacciones a las que estan sujetos.

Se puede calcular por la siguiente ecuación :

$$Aw = P/Po = \%HR/100$$

Aw= actividad acuosa
P = presión de vapor del alimento a una temperatura T
Po= presión de vapor del agua a una temperatura T
HR= humedad relativa de equilibrio

La actividad acuosa se relaciona con el contenido de agua del alimento a través de sus correspondientes isotermas de adsorción y desorción; como se muestra en la figura 5 la Aw es menor durante la desorción que durante la adsorción para un contenido de humedad igual.

La actividad acuosa de los alimentos desepeña un papel muy importante para su estabilidad ya que muchas reacciones dañinas ocurren de acuerdo con el valor de este factor.

Como se observa en la figura 6 el deterioro de grasas por oxidación se produce en alimentos deshidratados con una Aw muy baja y a medida, que aumenta se inducen reacciones enzimáticas, hidrolíticas y de oscurecimiento no enzimatico, y se favorece el desarrollo de bacterias, hongos y levaduras. Debido a las propiedades coligativas, la adición de solutos a los alimentos, aumenta el punto de ebullición del agua y reduce el de congelación, lo cual dependerá del peso molécular del soluto y de su concentración. Disminuyendo la presión de vapor del alimento y reduciendo la facilidad del agua para actuar como disolvente de reacciones secundarias dañinas (Badui,1982).

Fig. 5 Isotermas de adsorción y desorción de los alimentos (Badui, 1982)

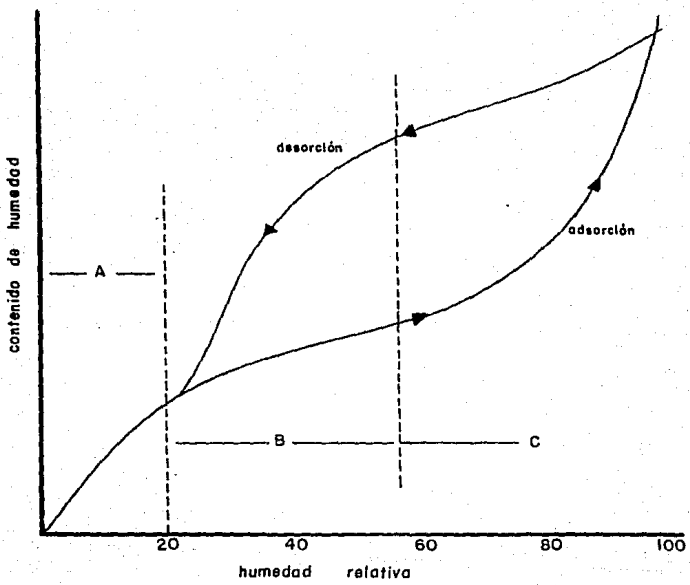
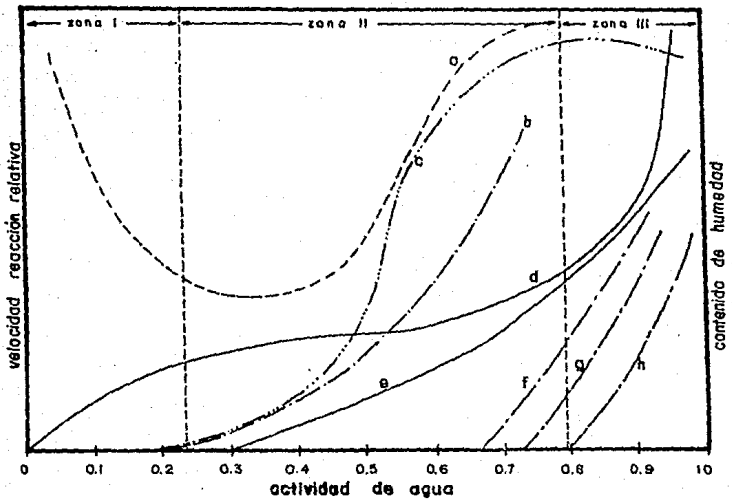


Fig. 6 Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad de agua a 20° C. (Badui, 1982)



a) oxidación de lípidos, b) reacciones hidrolíticas, c) oscurecimiento no enzimático, d) isoterma, e) actividad enzimática, f) crecimiento de hongos, g) Crecimiento de levaduras, h) crecimiento de bacterias.

En base a los solutos que contiene el alimento, la actividad acuosa se puede calcular como:

$$Aw = P/Po = Ma / Ma+Ms$$

donde: Ma = moles de agua
Ms = moles de soluto

Existen diversos modelos matemáticos para la predicción de actividad acuosa (Muñozcano,1987):

a) Ecuación de Bromley en donde la Aw es la función del coeficiente osmótico (*J*), del número de kilogramos de NaCl por mol de agua (m1) y de la molalidad de NaCl (m) y el número de moles de todas las especies producidas por un mol de NaCl en solución (v).

$$Aw = \exp(-J\ m1\ m\ v)$$

El coeficiente osmótico (*J*) se calcula deacuerdo al procedimiento descrito por Bromley (1973) y los restantes factores se evaluan a partir de la determinación de cloruro de sodio presente en el alimento.

b) El modelo de Norrish (1966), en el X1 es la fracción molar de agua, X2 es la fracción molar de soluto y K es una constante característica de cada soluto.

$$Aw = X1 \exp(-KX2)$$

c) El modelo de Ross (1975) ; asume la independencia de los diferentes solutos en una solución compleja, la actividad acuosa del alimento final se define como:

$$Awf = (Awi)\ (Aw)1\ (Aw)2 \ldots (Aw)n$$

donde:

Awf = actividad acuosa del alimento final
Awi = actividad acuosa inicial del alimento
Awi-Awn = actividad de agua de una solución que contenga el soluto dado a la concentración que se puede encontrar si toda el agua en el alimento es capaz de disolver unicamente este soluto .

Esta ecuación es muy útil si se conoce el valor individual de la actividad acuosa ya sea experimentalmente o por aproximaciones teóricas .

d) El modelo de Ferro-Fontan y col. (1981), es similar al de Ross sólo que la contanste K es redefinida y expresada en función de la concentración de sólidos totales del alimento.

$$Aw = c \cdot [Aw \cdot (m)]^{ms/m}$$

ms = molalidad del componentes
m = molalidad total de la mezcla

La diferencia con respecto al modelo de Ross es que la actividad acuosa de cada no-electrolito debe tomarse con respecto al valor de la molalidad total de la mezcla y elevarse a la potencia ms/m.

La predicción de la actividad acuosa por medio de los modelos matemáticos basados en el conocimiento de la concentración de solutos depresores de la Aw de un alimento es ventajosa obteniéndose buenas predicciones con las cuales se puede formular un producto (Muñozcano,1987).

XI. USO DE HUMECTANTES

Los humectantes son sustancias que tienden a adsorber la humedad de la atmósfera, es decir son higroscópicos, la facilidad de adsorber humedad, está relcionada con su caracter hidrófilo , debido a que forman puentes de hidrógeno con las moléculas de agua (Badui,1982); reduciendo la presión de vapor y por tanto la actividad acuosa. Muchas de estas sustancias humectantes actuan por diferentes mecanismos, atrapando el agua necesaria para el desarrollo de microorganismos (Sinskey,1976).
En general los materiales que se usan actualmente son sales, azúcares y alcoholes polihidricos (glicerol, propilenglicol, etc). El glicerol y el propilenglicol tienen un efecto nocivo en el producto (sabor a quemado), otros compuestos como la sacarosa, almidón de maiz, sorbitol y dextrosa estan restringidos por su sabor dulce (Sinskey,1976).

En la preparación de carne con humedad intermedia el agua es eliminada o reducida por la adición de solutos para asegurar su consumo humano. Los solutos utilizados para el control de la Aw no deben modificar las cualidades organolépticas del producto, deben tener alta solubilidad en agua a temperatura ambiente y preferentemente peso molecular bajo; deben ser estables, no volátiles y químicamente inertes y de ser posible metabolizarse in vivo como fuente de energía .

De los ingredientes comunmente usados el cloruro de sodio es el mas efectivo en la depresión de la Aw aunque la cantidad necesaria es excesiva y objetable fundamentalmente por el sabor y las implicaciones fisiológicas de un elevado consumo. Otros de los compuestos permitidos es el glicerol que se acerca mucho a los requerimientos de un soluto ideal para carne con actividad acuosa intermedia; sin embargo posee un sabor distinguible por lo que se está investigando el uso de hidrolizados enzimáticos de proteinas (Ledward,1986), poligliceroles y esteres de poligliceridos (Sinskey,1976).

PARTE EXPERIMENTAL

I. METODOLOGIA

A) Tratamientos

Se formularon 4 soluciones a base de: Glicerol, Cloruro de sodio, Acetato de sodio, y Tween 80 (como surfactante, ya que el caracter graso de la carne de cerdo previene la adsorción de soluciones acuosas) correspondiente cada una a un tratamiento con la siguiente formulación:

Tratamiento 1.- NaCl 5%, Acetato de sodio 5% y Tween 80 20 ppm.
Tratamiento 2.- NaCl 5%, Glicerol 20% y Tween 80, 20 ppm.
Tratamiento 3.- NaCl 5%, Acetato de sodio 5%, Glicerol 20% y Tween 80, 20 ppm .
Tratamiento 4.- Acetato de sodio 5%, Glicerol 20% y Tween 80, 20 ppm.

La concentración de cada componente se determino en base a los resultados de trabajos anteriores (Guerrero y col.,1987). A cada solución se le determinó la acitividad acuosa por el modelo de Ross:

$$Aw = (Aw)i + (Aw)1 + (Aw)2 + ... + (Aw)n$$

Para este modelo se tomarón los valores reportados por Silverside y Sanders (1985)

Tabla 6. Sistema WAD (g/100 ml para disminuir Aw en 0.01 unidades) Silverside y Sanders,1985.

Compuesto	g
NaCl	1.62
Lactato de sodio	2.5
etilenglicol	3.5
propilenglicol	3.8
acetato de sodio	4.0
glicina	4.8
glicerol	5.7
glucosa	9.2
galactosa	9.5
manosa	10.0
sorbitol	11.0
sacarosa	18.0

B) Pruebas con carne fresca

La carne se adquirió de un obrador municipal, se dividió en cinco lotes con cinco muestras de 80 g; a los cuales se les asigno en forma aleatoria uno de los cuatro tratamientos. Las muestras fueron sumergidas durante 5 min en soluciones de 500 ml de cada uno de los 4 tratamientos, después de los cuales se dejó drenar durante 30 seg para eliminar el exceso de solución, se envolvieron con una película de Saran a fin de evitar contaminación procedente de la cámara de refrigeración y se almacenaron a 15 C hasta el momento del análisis; a la vez se dejó un lote de carne sin tratamiento, como control. Las muestras se analizaron a los 0, 1, 2, 3 y 4 días. El diseño experimental utilizado en todos los casos fué totalmente al azar. Las variables de respuesta fueron: pH (AOAC,1980), grado de oxidación (Ockerman,1980), cuenta de mesófilos y cuenta de coliformes (APHA,1976).
Los datos se analizaron a través de un análisis de varianza de dos vías, a un nivel de significancia de 5%, utilizando un paquete estadístico Daisy, adaptado a una microcomputadora Apple IIe (Killion,1981).

Los valores obtenidos de los análisis de las muestras para las variables de respuesta se sometieron a una ecuación de regresión, probando los ordenes 1 y 2, y reportando aquellas ecuaciones que tuvieron un coeficiente de correlación mayor (Steel y Torrie,1976). Las ecuaciones utilizadas para definir los valores de predicción se graficaron posteriormente .

b. Pruebas con salchicha

Otros 2 lotes de carne se sometieron al azar a dos de los tratamientos en los cuales la carne presento mejores características, es decir menor aumento de pH y de grado de oxidación, así como inhibición de coliformes.
Otro lote se dejó sin tratamiento como control. El diseño experimental fué similar al utilizado para carne fresca.
Una vez aplicados los tratamientos, la carne se almacenó a 15 C por 2 días , al cabo de ese tiempo los lotes se utilizaron para la fabricación de salchicha con la siguiente formulación

SALCHICHA

carne de cerdo	1500 g
lardo	400 g
fécula	200 g
hielo	690 g
sal de cura	10 g
polifosfatos	15 g
sal	65 g
eritorbato de sodio	3 g

Las salchichas se almacenaron a 15 C por un total de 14 días tomandose muestras cada 3 días y analizandose para las mismas variables de respuesta que en carne fresca. El análisis de varianza utilizado fué similar que para carne fresca.
Las ecuaciones de regresión y los valores de predicción obtenidos a través de ellas se graficaron posteriormente.

c. Pruebas con Salami

A dos lotes de carne se les asignaron al azar dos tratamientos en la misma forma que para las pruebas con salchicha almacenandose a la misma temperatura y durante el mismo tiempo que en las pruebas para salchicha.

Se elaboraron salamis con cada uno de los lotes, utilizando la siguiente formulación

SALAMI

carne de cerdo	600 g
papada	200 g
sal	28 g
azúcar	30 g
sal de cura	1.6 g
inóculo (DO=1)	75 ml

La mezcla de carne y aditivos se inoculó con una mezcla de Lactobacillus plantarum , Pediococcus pentosaceus y Micrococcus glutamicus; cada cepa obtenida de la colección del Departamento de Biotecnología de la UAM-I, se inoculó en 100 ml de medio rogosa y se incubo por 24 hrs a 37 C, hasta obtener una DO=1 . Los cultivos se mezclaron en partes iguales y esta mezcla se inoculó en un 3% v/w a la mezcla de carne y aditivos. Estos se colocaron en fundas de vinilán y se incubaron por 24 horas a 37 C, hasta que el pH bajo a menos de 5.8 . En ese momento se colocaron en la cámara de refrigeración a 15 C por 24 días para reducir el contenido de humedad.

Los salamis se analizaron cada 4 días en la misma forma que en el caso de las salchichas, las variables de respuesta fueron: pH, grado de oxidación, cuenta de mesófilos, cuenta de coliformes, cuenta de bacterias lácticas y perdida de peso, realizandose similar tratamiento estadístico que para los casos anteriores.

II. RESULTADOS Y ANALISIS ESTADISTICO

La Actividad acuosa, de las mezclas de las soluciones acuosas de los tratamientos, calculadas según el modelo de Ross, a partir de los datos de Silverside y Sanders (1985), fué la siguiente:

Tabla 7. Actividad acuosa de soluciones (Silverside,1985)

Solución	Aw
1	0.96
2	0.93
3	0.92
4	0.95

8. Resultados promedio para carne fresca

8.1 pH

Tiempo (días) / tratamiento	0	1	2	3	4
control	5.52	6.02	6.17	5.97	5.42
1	5.46	6.10	6.19	5.73	4.72
2	5.52	5.92	6.27	6.57	6.82
3	5.51	5.85	5.84	5.49	5.77
4	5.50	5.88	6.11	6.19	6.12

8.2 Grado de Oxidación (valores TBA)

Tiempo (días) / tratamiento	0	1	2	3	4
control	0.005	0.033	0.061	0.078	0.086
1	0.087	0.037	0.028	0.062	0.137
2	0.004	0.036	0.062	0.083	0.097
3	0.013	0.020	0.044	0.057	0.061
4	0.014	0.020	0.047	0.066	0.082

8.3 Cuenta de Mesófilos aerobios (log número de microorganismos/cm2)

Tiempo (días) / tratamiento	0	1	2	3	4
control	3.747	6.191	8.634	11.078	13.521
1	2.945	5.285	7.626	9.967	12.308
2	3.144	5.511	7.877	10.244	12.611
3	3.396	5.233	7.070	8.907	10.744
4	3.351	5.837	8.322	10.808	13.294

8.3 Cuenta de Coliformes (log número de microorganismos/cm2)

Tiempo (días) / tratamiento	0	1	2	3	4
control	0.743	4.467	8.201	11.935	15.669
1	2.433	3.182	3.930	4.671	5.427
2	2.493	5.253	8.012	10.771	13.531
3	0.299	1.400	3.100	4.800	6.490
4	1.731	2.923	4.116	5.308	6.500

9. Resultados promedio para Salchicha

9.1 pH

tratamiento / dias	Control	3	4
0	6.48	5.97	3.27
2	5.97	6.11	4.71
4	6.43	6.23	5.89
6	6.46	6.33	6.61
8	6.53	6.48	6.94
10	6.63	6.45	6.88
12	6.78	6.47	6.42
14	6.90	6.47	6.58

9.2 Grado de Oxidación (valores TBA)

tratamiento / dias	Control	3	4
0	0.155	0.009	0.035
2	0.156	0.011	0.021
4	0.149	0.035	0.067
6	0.134	0.061	0.102
8	0.110	0.091	0.125
10	0.079	0.123	0.138
12	0.039	0.158	0.140
14	0.009	0.197	0.131

9.3 Cuenta de mesofilos aerobios (log número de microorganismos/g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	2.14	2.56	2.92
2	3.09	3.09	3.45
4	4.04	3.75	3.98
6	4.99	4.35	4.52
8	5.94	4.95	5.05
10	6.89	5.55	5.59
12	7.84	6.15	6.12
14	8.79	6.44	6.66

9.4 Cuenta de Coliformes (log número de microorganismos/g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	0.04	1.08	1.32
2	2.30	1.94	1.86
4	4.25	2.52	2.26
6	5.79	2.85	2.52
8	6.94	2.91	2.65
10	7.68	2.70	2.64
12	8.02	2.24	2.50
14	7.97	1.50	2.22

10. Resultados promedio para Salami

10.1 pH

tratamiento / días	Control	3	4
0	5.99	6.19	6.31
2	6.01	5.33	5.57
4	6.02	4.71	5.01
6	6.05	4.35	4.65
8	6.07	4.23	4.46
10	6.10	4.36	4.47
12	6.13	4.73	4.66
14	6.16	5.36	5.04
16	6.20	6.23	5.60
18	6.24	7.34	6.35
20	6.28		7.29
22	6.33		
24	6.38		

10.2 Grado de Oxidación (valores TBA)

tratamiento / días	Control	3	4
0	0.244	0.882	0.108
2	0.349	0.700	0.494
4	0.431	0.576	0.769
6	0.493	0.510	0.987
8	0.533	0.502	1.036
10	0.551	0.551	1.008
12	0.549	0.658	0.762
14	0.532	0.823	0.640
16	0.490	0.045	0.300
18	0.429	1.325	
20	0.344		
22	0.246		

10.3 Cuenta de Mesófilos aerobios (log número de microorganismos/g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	3.64	3.68	3.88
2	2.58	5.52	5.86
4	6.82	7.12	7.34
6	7.34	8.50	8.32
8	7.16	9.64	8.81
10	6.27	10.54	8.81
12	4.66	11.22	8.31
14	2.35	11.67	7.32
16			5.84
18			3.86
20			1.38

10.4 Cuenta de Coliformes (número de microorganismos/g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	2.06	1.92	1.95
2	3.05	2.76	2.68
4	3.44	2.88	2.03
6	3.19	2.30	0.65
8	2.35	0.99	
10	0.89		

10.5 Cuenta de Bacterias lácticas (número de microorganismos/g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	3.62	2.61	3.03
2	5.84	4.71	5.00
4	7.22	6.43	6.65
6	7.77	7.78	7.99
8	7.47	8.74	9.03
10	6.34	9.33	9.75
12	4.36	9.54	10.23
14	1.55	9.38	10.28
16		8.83	10.07

10.6 Pérdida de peso (g)

tratamiento / días	Control	3	4
0	0.00	0.00	0.00
2	29.35	24.66	24.29
4	54.28	47.85	45.70
6	74.81	69.01	64.23
8	90.94	88.69	79.89
10	102.65	106.73	92.67
12	109.95	123.11	102.58
14	112.85	138.01	109.71
16	113.34	151.13	113.90
18		162.60	115.22
20		172.44	
22		180.10	

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de dos vias reportando la madia cuadrada y los grados de libertad para elerror y los valores de Fo para carne fresca, salchicha y salami en las tablas: 11.1, 11.2 y 11.3 respectivamente (Killion,1981).

Tabla 11.1 Efecto de Humectantes en carne fresca

Variable	fuente de varianza	Error		Fo
		Media Cuadrada	Grados de Libertad	
pH	dias	0.238 (1)	15	54.34*
	tratamientos	0.238 (1)	15	4.31
Grado de Oxidación	dias	0.883 (2)	20	1.00
	tratamientos	0.883 (2)	20	5.41*
Cuenta de Mesófilos	dias	1.021 (3)	15	5.42*
	tratamientos	1.021 (3)	15	4.56
Cuenta de Coliformes	dias	3.230 (3)	15	11.23*
	tratamientos	3.230 (3)	15	5.47*

* significativo al 5%

(1) unidades de pH
(2) valores TBA
(3) log número de microorganismos/cm2

Tabla 11.2 Efecto de Humectantes en Salchicha

Variable	fuente de varianza	Error		Fo
		Media Cuadrada	Grados de Libertad	
pH	dias	0.032 (1)	20	7.411*
	tratamientos	0.032 (1)	20	5.290*
Grado de Oxidación	dias	4.85E-3 (2)	8	0.273
	tratamientos	4.85E-3 (2)	8	0.589
Cuenta de Mesófilos	dias	0.806 (3)	16	0.700
	tratamientos	0.806 (3)	16	11.116*
Cuenta de Coliformes	dias	0.269 (3)	6	118.371*
	tratamientos	0.269 (3)	6	3.847

* significatvivo al 5%

(1) unidades de pH
(2) valores TBA
(3) log número de microorganismos/g

Tabla 11.3 Efecto de Humectantes en Salami

Variable	fuente de varianza	Error		Fo
		Media Cuadrada	Grados de Libertad	
pH	días	0.156 (1)	10	3.544
	tratamientos	0.156 (1)	10	15.897*
Grado de Oxidación	días	0.192 (2)	10	0.796
	tratamientos	0.192 (2)	10	0.633
Cuenta de Mesófilos	días	0.605 (3)	10	22.848*
	tratamientos	0.605 (3)	10	2.093
Cuenta de Coliformes	días	0.316 (3)	10	14.752*
	tratamientos	0.316 (3)	10	3.210
Cuenta de B. Lácticas	días	0.970 (3)	8	0.113
	tratamientos	0.970 (3)	8	12.664*
Peso	días	15.770 (4)	6	1949.120*
	tratamientos	15.770 (4)	6	239.650*

* significativo al 5%

(1) unidades de pH
(2) valores TBA
(3) log número de microorganismos/g
(4) g

Las tablas 12, 13 y 14 muestran los modelos empleados en los diferentes tratamientos aplicados a carne fresca , salchicha y salami; así como los coeficientes de regresión y de determinación (R2) para cada tratamiento (Steel y Torrie,1976).

Tabla 12. Ecuaciones de predicción para el efecto de humectantes en carne fresca:

12.1 pH

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	5.525	0.675	-0.175	0.974	0.940
1	5.465	0.915	-0.275	0.966	0.930
2	5.524	0.425	-0.025	0.989	0.980
3	5.515	0.515	-0.175	0.982	0.960
4	5.504	0.455	-0.455	0.999	0.990

12.2 Grado de Oxidación

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	-5.24 E-4	4.37 E-3	-5.24 E-4	0.981	0.964
1	8.74 E-3	-7.13 E-3	2.09 E-3	0.994	0.988
2	3.95 E-4	3.52 E-2	-2.95 E-4	0.958	0.910
3	-1.31 E-3	3.84 E-4	-4.96 E-4	0.947	0.897
4	-1.47 E-3	3.83 E-3	-3.78 E-4	0.956	0.914

12.3 Cuenta de Mesófilos aerobios

modelo : $\hat{y} = Bo + Bix$

Tratamiento	Bo	Bi	r	R2
Control	3.747	2.443	0.933	0.870
1	2.945	2.340	0.995	0.979
2	3.144	2.366	0.966	0.929
3	3.396	1.837	0.958	0.909
4	3.351	2.485	0.919	0.839

12.4 Cuenta de Coliformes

modelo : $\hat{y} = Bo + Bix$

Tratamiento	Bo	Bi	r	R2
Control	0.733	3.733	0.987	0.970
1	2.433	0.748	0.775	0.600
2	2.493	2.279	0.975	0.950
3	-0.300	1.700	0.989	0.969
4	1.731	1.192	0.576	0.330

Tabla 13. Ecuaciones de predicción para el efecto de humectantes en Salchicha :

13.1 pH

$$\text{modelo :} \quad y = Bo + Bix + Biix^2$$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	6.487	-0.032	4.77 E-3	0.953	0.900
3	5.971	0.077	-2.98 E-3	0.721	0.520
4	3.273	0.850	0.048	0.721	0.520

13.2 Grado de Oxidación

$$\text{modelo :} \quad y = Bo + Bix + Biix^2$$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	0.155	2.70 E-3	-1.03 E-3	0.994	0.980
3	-9.40 E-3	9.67 E-3	3.61 E-4	0.995	0.990
4	0.035	0.031	-1.37 E-3	0.990	0.980

13.3 Cuenta de Mesófilos aerobios

modelo : $y = Bo + Bix$

Tratamiento	Bo	Bi	r	R2
Control	2.143	0.475	0.972	0.977
3	2.561	0.299	0.937	0.937
4	2.921	0.267	0.823	0.827

10.4 Cuenta de Coliformes

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	-0.037	1.272	-0.050	0.995	0.989
3	1.087	0.492	-0.030	0.727	0.525
4	1.326	0.302	-0.017	0.618	0.379

Tabla 14. Ecuaciones de predicción para el efecto de humectantes en Salami :

14.1 pH

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	5.995	6.60 E-3	3.98 E-4	0.557	0.310
3	6.191	-0.492	0.031	0.911	0.829
4	0.108	0.220	0.013	0.906	0.930

14.2 Grado de Oxidación

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	0.244	0.057	-2.60 E-3	0.424	0.170
3	0.882	-0.105	7.20 E-3	0.274	0.070
4	0.108	0.220	0.013	0.872	0.760

14.3 Cuenta de Mesófilos aerobios

modelo : $y = Bo + Bix$

Tratamiento	Bo	Bi	r	R2
Control	4.491	0.337	0.734	0.734
3	3.960	0.711	0.946	0.946
4	4.472	5.545	0.850	0.850

14.4 Cuenta de Coliformes

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	2.061	0.649	-0.076	0.995	0.548
3	1.921	0.599	-0.089	0.730	0.530
4	1.954	0.541	-0.087	0.806	0.649

14.5 Cuenta de Bacterias lácticas

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	3.621	1.320	-0.104	0.958	0.910
3	2.615	1.142	-0.047	0.997	0.870
4	3.037	1.058	-0.038	0.887	0.781

14.6 Pérdida de peso

modelo : $y = Bo + Bix + Biix^2$

Tratamiento	Bo	Bi	Bii	r	R2
Control	494.628	-15.775	0.551	0.997	0.990
3	333.333	-12.742	0.206	0.997	0.990
4	464.753	-12.863	0.359	0.996	0.990

Las Figuras 7, 8, 9 y 10 muestran las gráficas generadas a partir del modelo obtenido en las ecuaciones de regresión de las variables estudiadas, contra tiempo para carne fresca.

Asimismo las figuras 11, 12, 13 y 14 las generadas para salchicha, y las 15, 16, 17, 18, 19 y 20 para Salami .

Los coeficientes de regresión (r) y de determinación (R2) se encuentran en las tablas 12, 13 y 14 respectivamente.

Efecto de humectantes en carne fresca de cerdo

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2$$

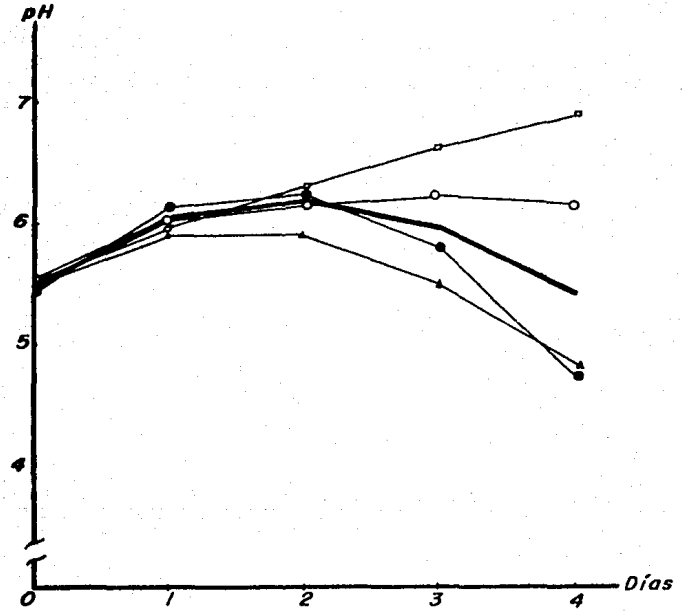


Fig. 7 pH en carne fresca almacenada a 15° C. Control (-), Tratamiento 1 (•), Tratamiento 2 (=), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

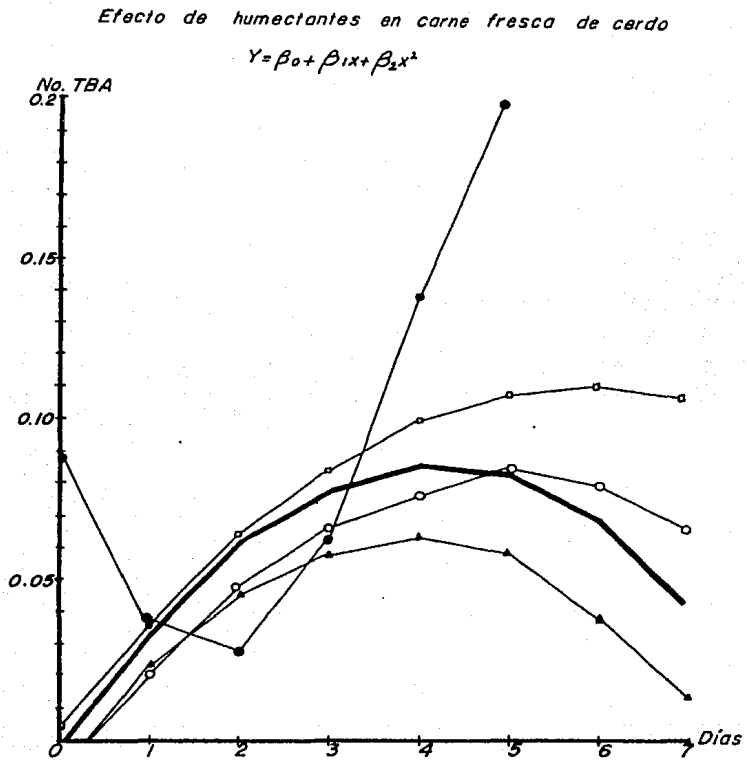


Fig. 8. Grado de oxidación en carne fresca almacenada a 15° C
Control (=) Tratamiento 1 (●), Tratamiento 2 (=), Tratamiento 3 (▲),
Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en carne fresca de cerdo

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x$$

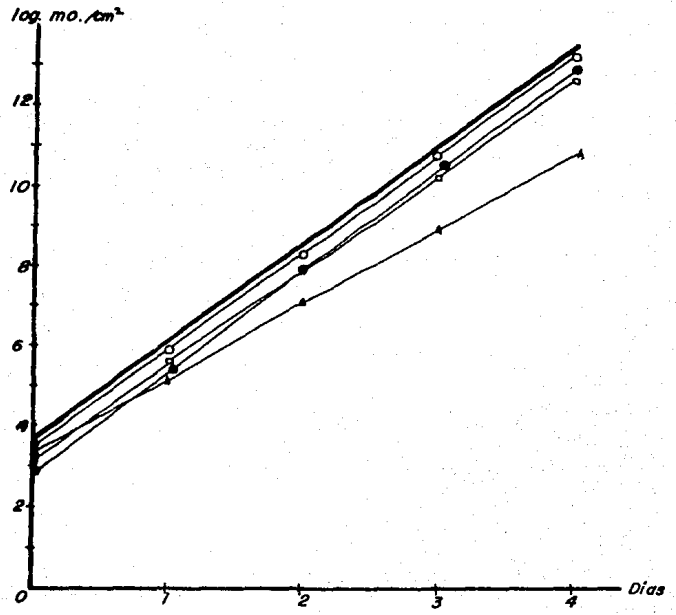


Fig. 9 Cuenta de mesofilos aerobios en carne fresca de cerdo almacenada a 15° C. Control (-), Tratamiento 1 (•), Tratamiento 2 (•), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en carne fresca de cerdo

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x$$

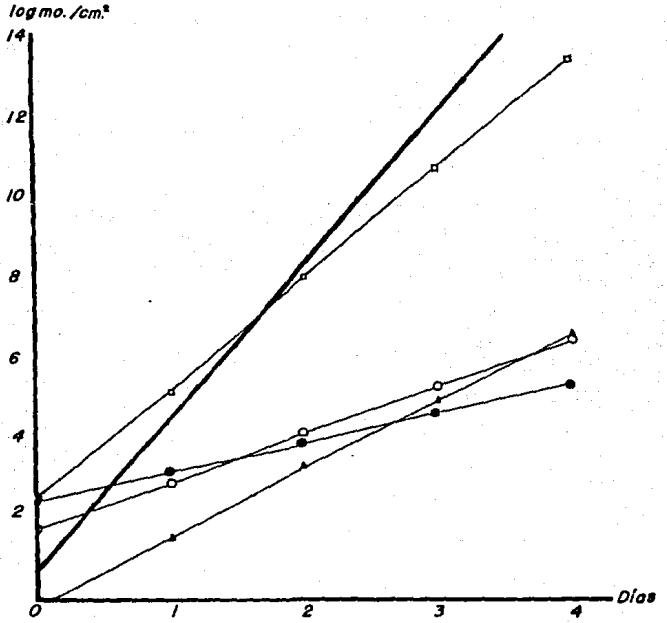


Fig. 10 Cuenta de Coliformes en carne fresca almacenada a 15° C. Control (-), Tratamiento 1 (•), Tratamiento 2 (□), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (○).

Efecto de humectantes en salchicha

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2$$

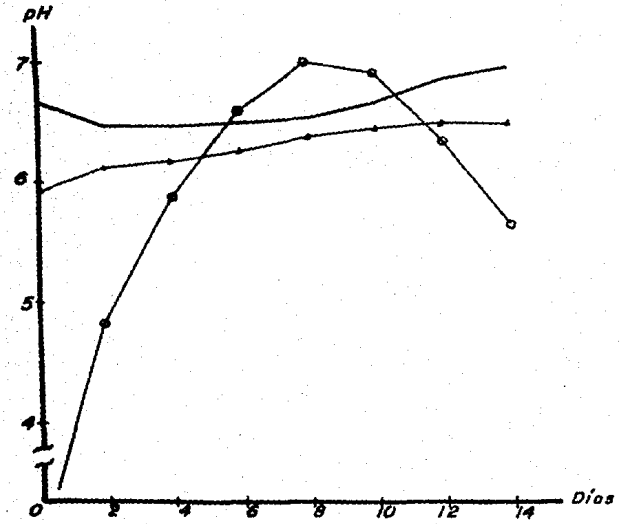


Fig. II pH en salchicha almacenada a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o);

Efecto de humectantes en salchichas

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_{11} x^2$$

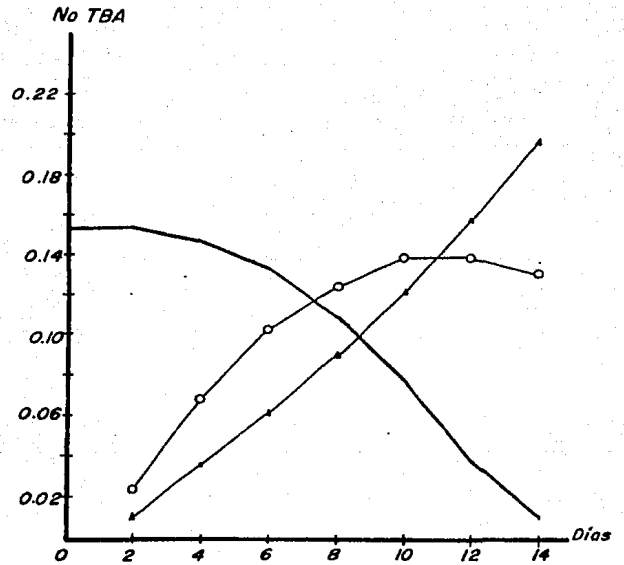


Fig. 12 Grado de oxidación en salchicha almacenada a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salchicha

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x$$

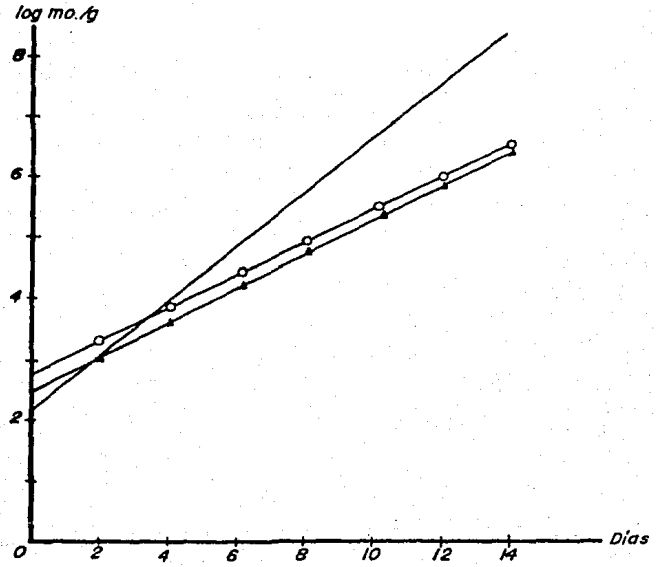


Fig. 13 Cuenta de mesófilos aerobios en salchicha almacenada a 15° C, Control (–), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salchicha

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_n x^2$$

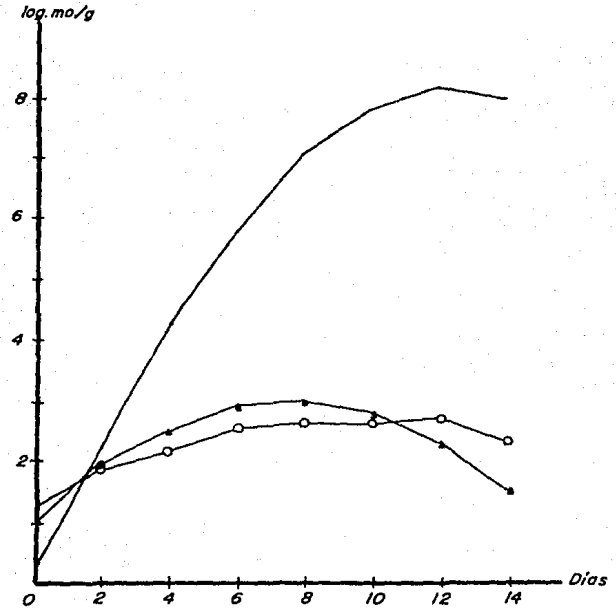


Fig. 14 Cuenta de coliformes en salchicha almacenada a 15°C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salami

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_{11} x^2$$

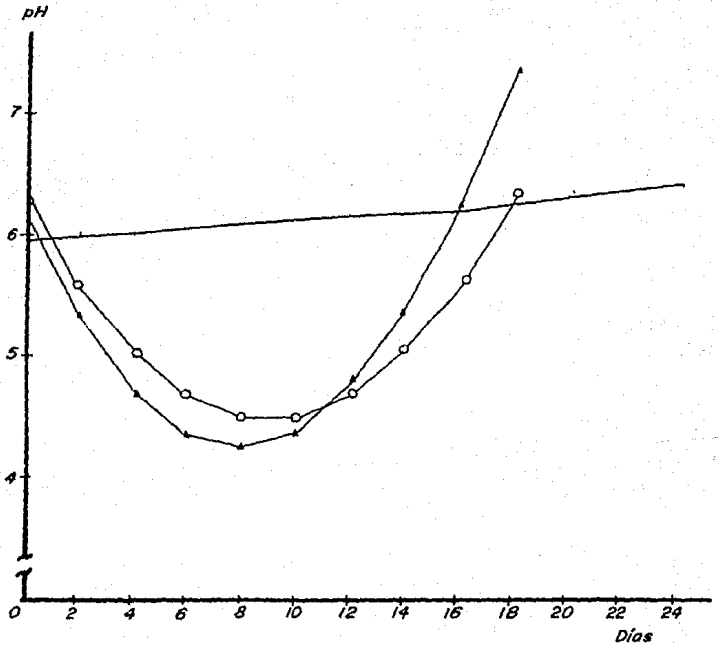


Fig. 15 pH en salami almacenado a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o);

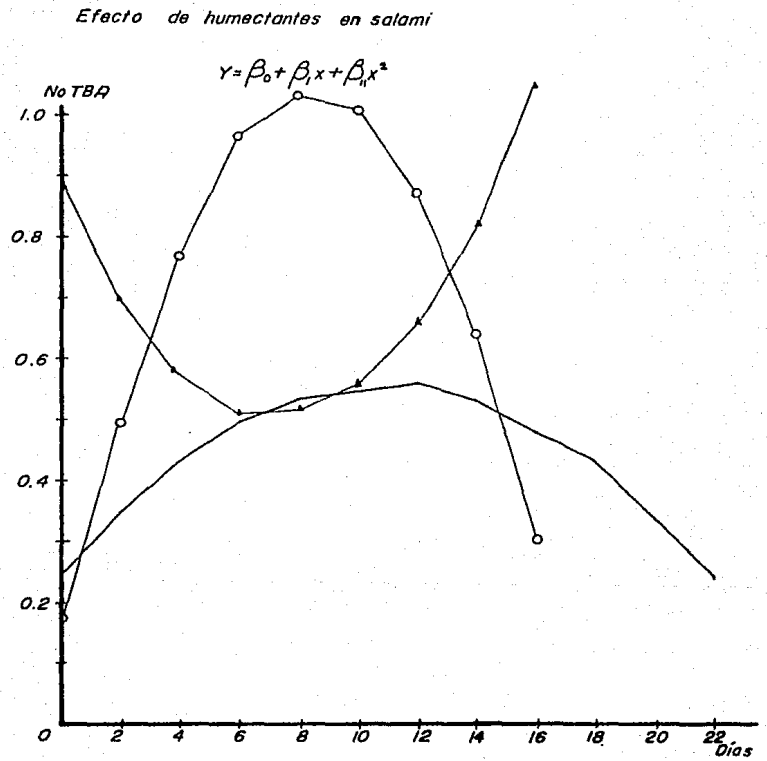


Fig. 16 Grado de oxidación en salami almacenado a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

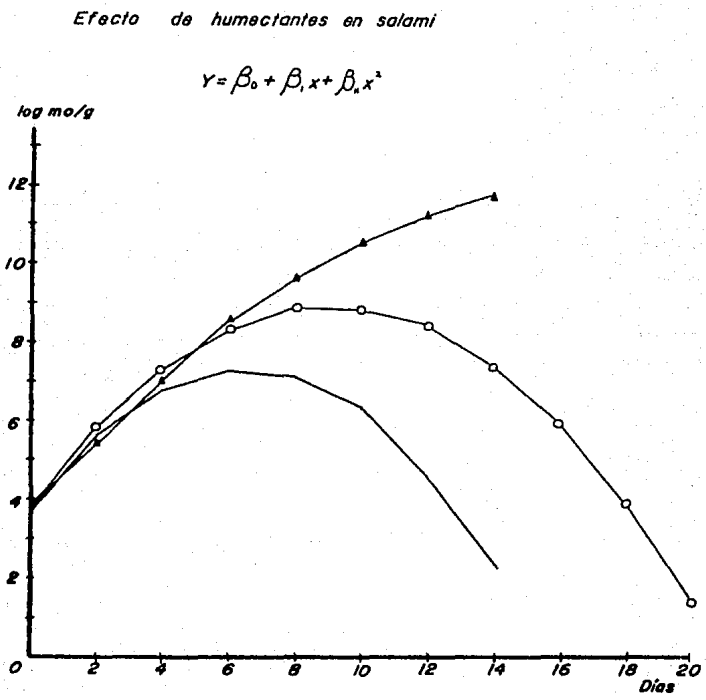


Fig. 17 Cuenta de mesófilos aerobios en salami almacenado a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salami

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_{11} x^2$$

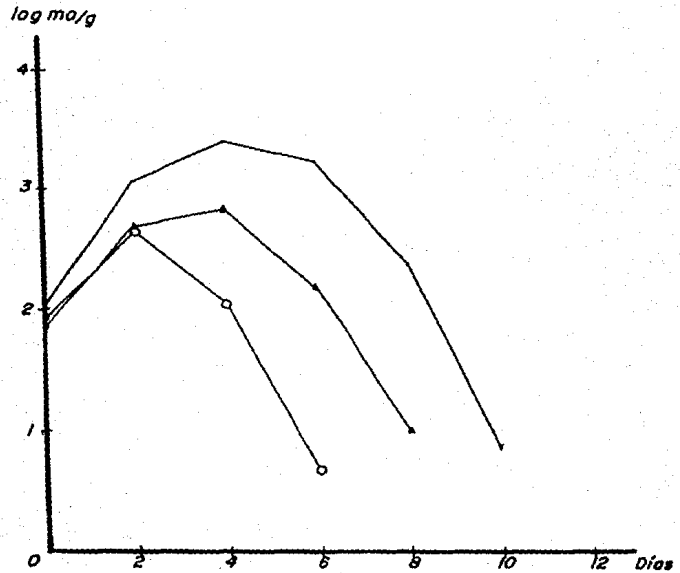


Fig. 18 Cuenta de coliformes en salami almacenado a 15° C, Control (-), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salami

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_{11} x^2$$

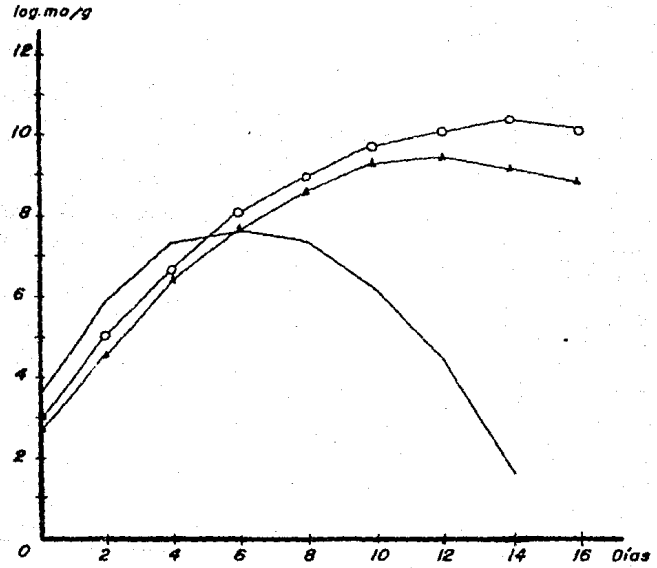


Fig. 19 Cuenta de bacterias lácticas en salami almacenado a 15° C, Control (=), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

Efecto de humectantes en salami

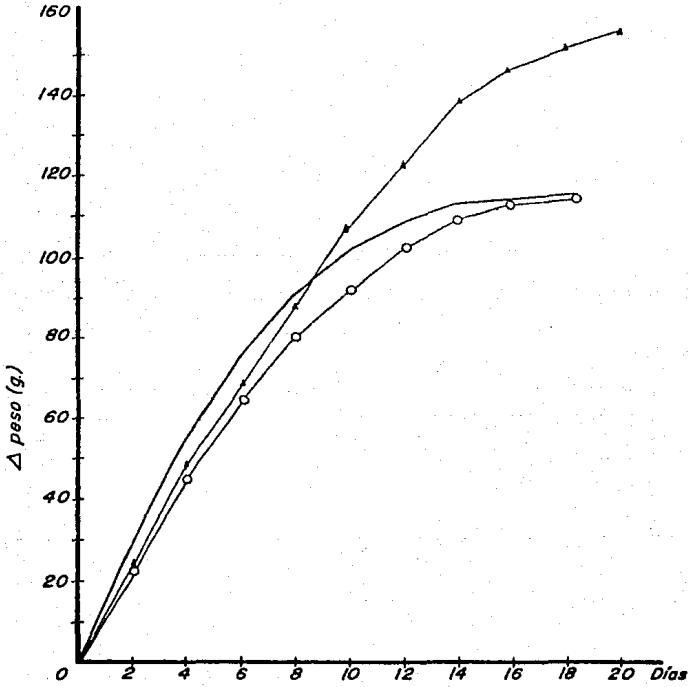


Fig. 20 Perdida de peso en salami almacenado a 15° C, Control (–), Tratamiento 3 (▲), Tratamiento 4 (o).

DISCUSION DE RESULTADOS

DISCUSION DE RESULTADOS

a. Carne fresca

Las muestras con los diferentes tratamientos se almacenaron a 15 C determinando su vida de anaquel en base a pH, grado de oxidación, cuenta de mesófilos y cuenta de coliformes.

El análisis de varianza de dos vias de los resultados obtenidos (tabla 11.12), indica que existe un efecto significativo ($P<0.05$) con respecto al tiempo de almacenamiento en tres de las variables de respuesta: pH, cuenta de mesófilos y cuenta de coliformes; es decir que el tiempo de almacenamiento tiene un efecto importante en las cuentas microbianas y en el pH ya que se ven incrementados. Esto coincide con las observaciones hechas por otros autores (Price,1976;Jay,1973), que reportan el aumento de pH debido a producción de compuestos aminados resultantes de la descomposición de la carne, a la vez que aumentan las cuentas de organismos de descomposición .

Con respecto al efecto del tratamiento aplicado a carne fresca (tabla 11.1) se presento diferencia significativa ($P<0.05$) en cuenta de mesófilos, cuenta de coliformes y grado de oxidación (número de TBA).
En cuanto a las cuentas microbianas, los valores menores se observaron para las muestras con tratamiento 3 (Figura 9) en forma significativa, en comparación con los otros tratamientos.
De los valores calculados de actividad acuosa en los tratamientos, se encuentra que el menor es para el tratamiento 3 (tabla 7), lo que influye en la actividad acuosa final de la superficie de la carne, disminuyendola y controlando de forma más eficiente a la cuenta microbiana.

Por otra parte, los valores de TBA son significativamente diferentes en las muestras con los tratamientos que contienen Cloruro de Sodio en su formulación (1,2,3), presentando mayor oxidación que el tratamiento 4 que no incluye a este compuesto. Por lo tanto, en relación a carne fresca, si bien el Cloruro de Sodio disminuye la cuenta microbiana, al disminuir la Actividad acuosa, la oxidación de este material es mayor, presentando problemas de decoloración.

En los valores de pH (figura 7) de carne fresca, se presento, para todas las muestras un aumento desde un valor inicial promedio de 5.5 hasta valores promedio de 6.2 en el segundo dia de almacenamiento, excepto para las muestras con tratamiento 3, cuyo valor máximo fue de 5.82 en el mismo dia. En los subsiguientes dias de almacenamiento se presento un descenso de pH para las muestras con tratamiento 1, 3, 4 y para el control; mientras que para las muestras con tratamiento 2 el pH continuo aumentando.
El pH, como ya se indicó aumenta al aumentar el contenido de

sustancias aminadas relacionadas con la putrefacción (Dainty,1987), lo que coincide al observar que para las muestras con tratamento 2 hay un fuerte incremento de coliformes unicamente inferior al control (figura 10) y de mesófilos (figura 9) similar al del control, y del tratamiento 1; mientras que el tratamiento 3 fué el que conservó un pH con menos variación hecho premiante en el sentido de que este tratamiento controla eficientemente la población microbiana .

La figura 8 presenta la oxidación de las muestras, como valor de TBA. En estas se observa que en la muestra patrón hay un aumento considerable en el valor TBA del día 0 al 3 aumentando en forma mas o menos pronunciada ente los días 3 y 4, en tanto que para la muestra 1 el aumento a través del período de estudio es muy pronunciada . Contrariamente, en la muestra 2, el aumento de valores TBA se produce del día 0 al 2 manteniendose constante de ahí al 4 día; en el caso de las muestras 3 y 4 los valores TBA adquieren una tendencia constante a partir del día 3 ó 4. Esto de debe a que en el tratamiento 1 se incluye Cloruro de Sodio, material prooxidante debido a los metales contaminantes (se usó sal de mesa); en los tratamientos 2,3 y 4, aunque también se incluye Cloruro de Sodio en la formulación, esta contiene un alto porcentaje de glicerol que disminuye la Actividad acuosa a rangos donde la oxidación es menos probable (figura 5, Badui,1982), por lo tanto en relación a grado de oxidación, los tratamientos mas efectivos para controlarla son 2, 3 y 4. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Ledwárd (1976). Es importante hacer notar que los valores encontrados estan dentro del rango de número de TBA permitido para carne fresca (Ockerman,1980). Sin embargo en las muestras con tratamiento 1 el valor de numero de TBA es muy elevado y, para el cuarto dia de almacenamiento, este se considero como inaceptable.

En la figura 9 se presenta las cuentas de mesófilos aerobios; la carga microbiana inicial promedio es de 2 E+3 mo/cm2, después aumenta linealmente a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento en todos los casos; sin embargo en las muestras con tratamiento este aumento es inferior comparado con el control lo que se observa con mayor claridad al comparar las pendientes de cada recta (tabla 12.3) para cada tratamiento ; siendo los tratamientos 3 y 4 los que presentan mayor inhibición.

Para la cuenta de coliformes (figura 10) se presenta, al igual que para la cuenta de mesófilos un aumento lineal; y comparando las pendientes para cada tratamiento (tabla 12.4) se observa que en todos los casos esta es inferior a la del control por lo que se concluye que se presento inhibición de coliformes .
Si bien todas las muestras en el tercer día de almacenamiento presentaron cuentas de mesófilos muy elevadas , del orden de 1 E+10 microorganismos/cm2 puede deberse a que se favorecio

el desarrollo de bacterias formadoras de ácido para los tratamientos 1, 3 y 4 ya que también se presento un descenso de pH (figura 7) en el tercer día, lo que ayudo a inhibir el desarrollo de coliformes.

De acuerdo a las variables de respuesta obtenidas el tratamiento más adecuado para conservar la carga microbiana baja fué el tratamiento 3, ya que en el caso de cuentas de coliformes aún en el cuarto día la cuenta fué inferior a 10E+7, mientras que en las cuentas de mesófilos, aunque la carga fué alta para todos los tratamientos, el que consiguió mantener una cuenta menor fué el tratamiento 3. Con respecto a pH los valores menores fueron obtenidos en las muestras tratadas con la solución 3, lo que implica una menor producción de compuestos de descomposición (principalmente aminas). De igual forma el menor grado de oxidación se encontró en estas muestras.

El segundo tratamiento en eficiencia fué el 4, encontrandose en estas muestras una carga microbiana superficial menor que los tratamientos 1, 2 y para el control. El pH y grado de oxidación para estas muestras fué razonablemente bajo.

b. Salchicha

El análisis de varianza tabla 11.2 muestra diferencia significativa ($P<0.05$) con respecto a días en las variables: pH y cuenta de mesófilos; y con respecto a tratamientos ($P<0.05$) para pH y cuenta de coliformes.

En lo que respecta a la determinación de pH, (figura 11) se observa que en las muestras con tratamiento 3 y para el control el pH permanece casi constante variando sólo en un rango de 0.4 unidades durante el tiempo de estudio (14 días). Mientras que para la salchicha elaborada con carne tratada con la solucion 4 el pH inicial fue de 4.7 y aumento hasta un máximo de 6.94 en el octavo día , presentando después un descenso.
Es notable los bajos valores de pH para la muestra 4, ya que debido a la adición de fosfatos y otros aditivos el pH de los productros emulsionados tiende a subir a niveles similares a los observados en las muestras del control y del tratamiento 3 . Los valores de pH excesivamente bajos de las muestras con tratamiento 4, fueron debidos posiblemente a contaminación con levaduras, o algun organismo productor de ácidos .

Para la oxidacion (figura 12) , el control no presento aumento en el valor TBA, en tanto que para las muestras con tratamiento 3 y 4 se presento un aumento progresivo; en el caso de las muestras elaboradas con tratamiento 4 , este aumento llega a un valor máximo de 0.14 en el doceavo día y después disminuye; mientras que las muestras elaboradas con carne tratada con la solución 3 muestra un incremento progresivo de valores de TBA, debido a la presencia de sal; en este caso la oxidación se inicio en la carne fresca y se continuo durante y después de la cocción
Los valores de TBA obtenidos para las muestras con tratamiento sobrepasan el limite de aceptacion que es de 0.1 a 0.2 como máximo en el séptimo y decimo dias de almacenamiento.

En las cuentas de mesófilos aerobios figura 13, se tiene una cuenta inicial promedio de 2.5 (log número de microorganismos/g) y se presenta un aumento lineal; las muestras elaboradas con carne tratada tienen una pendiente inferior a las elaboradas con carne sin tratamiento, ya que en el décimo día el control presento una cuenta de alrededor de 7 (log número de microorganismos/g) mientras que para las muestras con tratamiento 3 y 4 es de alrededor de 5 (log microorganismos/g) lo cual indica que hay inhibición da la flora microbiana.

Por otra parte las cuentas de coliformes (figura 14), para las muestras con tratamiento aumentan desde un valor inicial de 10 microorganismos/g a 1000 microorganismos/g en el octavo día y después disminuyen, mientras que el control presenta un aumento muy elevado hasta 8 (log microorganismos/g) en el doceavo día de almacenamiento, probablemente debido a una contaminación posterior. El desarollo de coliformes presento una mayor correlación con una ecuación de segundo grado (tabla 13.2).
Las cuentas de mesófilos y coliformes fueron significativamente menores cuando se empleo carne tratada, lo que implica que la disminución del número de microorganismos en la carne utilizada tiene un efecto importante en la disminución de cuentas microbianas en el producto terminado.

En todos los casos se presento desarrollo de hongos en la superficie del producto en el octavo día de almacenamiento, debido a contaminacion dentro de la cámara de refrigeración.

En general, tomando en cuenta los valores de las cuatro variables estudiadas, el tratamiento que resultó más adecuado en cuanto a disminución de carga microbiana, bajo grado de oxidación y pH constante es el tratamiento 3, el cual conserva caracteristicas fisicoquimicas y microbiológicas en la carne fresca que repercuten en un buen producto cocido.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

c. Salami

El análisis de varianza tabla 11.3, de los resultados para las variables pH, grado de oxidación, cuenta de mesófilos, cuenta de coliformes, cuenta de bacterias lácticas y peso, muestran un efecto significativo ($P<0.05$) con respecto al tiempo de almacenamiento en cuatro de las variables de respuesta ; mientras que con respecto al efecto del tratamiento solo se tiene diferencia significativa en dos variables peso y pH.

Para pH figura 15 el valor inicial promedio es de 6.1, para el control y permanece constante durante el periodo de almacenamiento (26 días). Para las muestras con tratamiento el pH disminuyó hasta valores promedio de 4.3 en el octavo día y después aumento.

En la figura 16 se muestran los valores de predicción para grado de oxidación (valores TBA), en estos se observa un comportamiento muy errático, debido tal vez a interacciones microbianas con los compuestos de la carne y con los incluidos en los tratamientos, además de las condiciones de oxido-reducción establecidas por el metabolismo de las bacterias lácticas . Es necesario profundizar en el estudio de este tipo de interacciones.

En la figura 19 se observa que la actividad de las bacterias lácticas llega a un máximo en el octavo día, disminuyento posteriormente debido a que el producto se seca y en consecuencia disminuye la actividad acuosa. En este momento al haber menor actividad láctica, aumenta la población de otros microorganismos (hongos principalmente), cuyos productos metabólicos hacen que el pH aumente; por tanto el pH disminuye a un minimo al día 8 . En la muestra control el número de coliformes (figura 18) es significativamente grande como para hacer que las bacterias lácticas no proliferen en número competitivo, por tanto, el pH permanece dentro de un intervalo reducido a través del periodo de estudio (figura 15).

Para la cuenta de coliformes figura 18, se tiene un aumento desde 2 (log microorganismoss/g) hasta valores promedio de 2.7 (log microorganismos/g) para la carne con tratamiento y de 3.2 (log microorganismos/g) para el control.

Para la cuenta de mesófilos (figura 17), se presento un aumento en la carga inicial de 4 (log microorganismos/g) hasta valores promedio de 8 (log microorganismos./g) en el

séptimo y octavo días de observación, presentando un decremento posterior para el control y para el tratamiento 4; sin embargo en el tratamiento 3 este decremento no se presenta, posiblemente porque los humectantes no funcionaron como inhibidores sino como nutrientes debido a la baja concentración a la que se aplicaron, o a que hubo una contaminación posterior.
Por otra parte en la cuenta de bacterias lácticas se presentó un aumento en la carga hasta un valor de 8 (log microorganismos/g) en el sexto día y después disminuyó para el control mientras que para las muestras con tratamiento está sigue aumentando hasta el décimo cuarto día con un decremento posterior, en mayor grado para el tratamiento 3 .
Comparando las gráficas de el tratamiento 3 para cuenta de mesófilos (figura 17) y cuenta de bacterias lácticas (figura 19) se observa que en los días 12 y 14 se tiene un aumento en la cuenta de mesófilos y disminuye la cuenta de bacterias lácticas y el pH (figura 15) aumenta al igual que el valor de TBA (figura 16) lo que puede indicar que se inhibió el desarrollo de bacterias lácticas por la producción de compuestos derivados de la oxidación.

Con respecto a la pérdida de peso (figura 20) de los salamis no se presenta diferencia significativa para el tratamiento 4, mientras que para el tratamiento 3 se tiene una mayor pérdida de peso, lo que era de esperarse.

Dado lo anterior, en Salami fermentado no se observó inhibición de bacterias lácticas por ninguno de los dos tratamientos probados, no se observó diferencia significativa entre tratamientos con respecto a pH, ni con respecto a cuenta de mesófilos ni coliformes. Por tanto ninguno de los dos tratamientos afectan notablemente a las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas del Salami, comparado con el salami fabricado con carne sin tratar.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En carne fresca el tratamiento 3 presento mayor inhibición de la carga microbiana en comparación con los demás tratamientos, al igual que un menor incremento en el valor de pH y del grado de oxidación, debido a que la actividad acuosa calculada para esta solución fué la menor influyendo en mayor grado en la reducción de la actividad acuosa superficial de la carne.

En las muestras cuyo tratamiento contenia en su formulación Cloruro de sodio se observó mayor tendencia a la oxidación, presentando problemas de decoloración; debido a que se usó sal de mesa que esta contaminada con metales que favorecen la tendencia a la oxidación.

En general se observó un decremento en la carga microbiana superficial, un aumento menor de pH y menor tendencia a la oxidación en la carne tratada, siendo en mayor grado para los tratamientos 3 y 4.

Al utilizar carne tratada para la elaboración de salchicha se observó inhibición en la carga microbiana del producto terminado.
En general el tratamiento 3 resultó más apropiado en cuanto a disminución de la carga microbiana, bajo grado de oxidación y pH constante. Por lo que el producto conservó las características fisicoquímicas y microbiológicas adecuadas para un buen producto cocido.

En cuanto a salami fermentado no se presento inhibición de bacterias lácticas, no se observó diferencia significativa entre el tratamiento con respecto a pH, ni con respecto a la cuenta de mesófilos ni de coliformes, por lo que ninguno de los tratamientos afecta notablemente las caracteristicas fisicoquímicas y microbiológicas del salami, comparado con uno sin tratar.

Como lo han reportado algunos autores, el uso de humectantes puede prolongar la vida de anaquel de la carne fresca al disminuir la carga microbiana superficial. Por otra parte, el uso de carne tratada en esta forma para la fabricación de productos, no presenta, en lo general, diferencias con respecto al uso de carne no tratada en cuanto a la calidad del producto terminado.

Se puede concluir que el uso de humectantes es potencialmente útil para prolongar la vida de anaquel de carne de cerdo a 15 C, lo que representa un ahorro de energía al comparar el almacenamiento de la carne a 4 C. Es necesario hacer los estudios conducentes para conocer el beneficio del uso de estos compuestos en canales completas.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Aldana, L.L.,1984 . Tecnologia de la Carne y sus Productos. Editorial Pueblo y Educación, Habana Cuba.

AOAC, 1980. Official methods of analysis. W Horowitz (Editor) 13a edicion. Capitulo 25. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

APHA, 1976. Compendium of methods for microbiological examination of foods. M.L. Speck (Editor). American Public Health Association. Intersociety agency committee on microbial methods of foods. Washington D.C.

Bacus,J. 1984a. Utilization of microorganisms in meat processing. Research Studies Press. Ltd. Letchworths, Inglaterra.

Bacus,J. 1984b. Update: Meat Fermentation. Food Technol. (6),59-63.

Badui, D.S. 1982 . Quimica de los Alimentos. Editorial Alhambra . México, D.F. 19-38,70.

Bendall, J.R. 1984. Postmortem changes in muscle. En "The structure and functions of muscle". E.J. Briskey, R.G. Cassens y B.B. Marsh.(Editores) Vol. 2,243-309. Academic Press. Nueva York.

Biemuller, G.,Carpenter,J.,Reynolds,A. 1973. Reduction of bacteria on pork carcasses. J. Food Sci. 38:261.

Bromley, L.A. 1973. Thermodynamic propiertiss of strong electrolytes in aqueos solutions. AICHE Journal,19(2):313.

Dransfield, E. & E.J. Etherington. 1981. Enzymes in the tenderization of meat. En "Enzymes and food processing". G.Birch , N.Blakeborough y T.Parker. (Editores) 177-194. Applied Science, Ltd. Londres.

Dutson,T.R., G.C. Smith, Z.L. Carpenter. 1980 Lysosomal enzymes distribution in electrically stimulated ovine muscle. J. Food Sci. 45,1097-1098.

Dutson, T.R. 1983. Relationship of pH and temperature to disruption of specific muscle proteins and activity of lysosomas proteases. J. Food Bioch. 7,223-230.

Edwards, R.A., R.H. Danty. 1987. Volatile compounds associated wiyh the spoilage of normal and high pH vacuum-packed beef. J. Sci. Food Agric. 38,57-66.

Edwards,R.A., R.H.Dainty, C.M.Hibbard, S.V.Ramantanis. 1986 . Bacterial sources of putrescine and cadaverine in chill stored vacumm-packaged beef. J.Appl.Bactriol. 61,117-123.

Esesarte,T.R.1983. Higiene de los Alimentos y Bebidas. p.p.83-87. EDUG. Guadalajara, México.

Etherington,D.J. 1984. The contribution of proteolytic enzymes to postmortem changes in muscle. J.An.Sci. 59(6),1644-1650.

Fernández,D.J. 1981. Microbiologia Sanitaria de Agua y Alimentos.vol.1 19-155,173-199. EUDG, Guadalajara, México.

Ferro-Fontan,C., J.Chirife, R.Boquet. 1981. Water Activity in multicomponent non-electrolyte solutions. J. Food Tech. 18,533-557.

Flores,D.J., S.Bermell. 1983. El músculo esquelético: Estructura y composición química.vol 1 p.p. 99-104. Ali. Eq. Tec. Valencia España .

Frazier,W.C. 1976. Microbiologia de los Alimentos. p.p.81-88,115-127,163-180,251-279 Ed. Acribia, Zaragoza España. .

Guerrero,I., J.Otero, G.Méndez, H.Gomez. 1987. Estudios sobre la vida de anaquel de carne fresca de cerdo, utilizando humectantes y ácidos orgánicos. Reporte International Foundation for Science. UAM-I.

Hansen, R., T. Ray, G.Reimer. 1973. Chlorine containing aqueosus spray solutions. U.S.A. patent 3,745,026.

Heitter,E. 1975. Chlor-Chill. Proc. Meat Ind. Res. Conf. p. 31.

Jay,J.M., J.I.Tormo. (1973). Microbiologia Moderna de los Alimentos.p.p.67-89,103-114 Editorial Acribia, Zaragoza, España. .

Karel,M. 1976. Technology and Application of New Intermediate Moisture Foods. En "Intermediate Moisture Foods". p.p.4-29. Editores R. Davies, G.G.Birch, K.J.Parker Elsevier Applied Science Publishers, Ltd. Londres.

Killion,K. 1981. Statistics with Daisy. Rainbow Publishers. California U.S.A.

Kotula,A.W., W.R.Lusby, J.D.Crouse, B.deVries. 1974. Beef carcass washing to reduce bacterial contamination. J.An.Sci. 39:674.

Ledward,D. 1986. Novel intermediate moisture meat products. En "Properties of water in foods". p.p. 447-469. D.Simatos y J.L.Multon (Editores).Martinus Nijhoff, Amsterdam, Holanda.

Leistner,L. 1983. Prospects of the preservation and processing of meat. Proceedings of the Fifth world Conference on animal production. p.p.255-262. Tokio.

Leistner,L. 1986. Hurdle technology applied to meat products of the shelf life stable product and intermediate moisture food types. En "Properties of water in foods". p.p.309-332. D. Simatos y J.L Multon (Editores). Martinus Nijhoff, Amsterdam, Holanda.

Leistner,L. 1987. Shelf stable products and intermediate moisture foods based in meat. En "Water activiy: theory and applications". p.p.295-327. L.B. Rockland y L.R. Benchant. Marcel Dekker (Editores), Inc. Nueva York.

Leistner,L., W.Rodel. 1976. The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganisms. En "Intermediate moisture foods". p.p.120-132. R.Davies, G.G.Birch y K.J.Parker (Editores). Elsevier Applied Sience Publishers, Ltd. Londres.

Lilliard,H., J.Thompson. 1984. Effect of spray-washging uneviscerated carcasses on microbial quality of hot boned poultry meat harvested after reduced processing. J. Poultry Sci.63:661.

Mc Cune,T.D.,K.Lang,M.Steinberg.1981. Water activity determination with the equilibration cell. J.Food Sci. 46(6)1978.

Modic,P., J.Bastic, R.Zivarovic, V.Milosevski. 1978. The group of weak organic acids with common salt on the prolongation of shelf life of grounf young beef. European Meeting of Meat Research Workers. p. 5.11

Mountney,G.L., J.D'Malley. 1965. Acids as poultry meat preservatives. Poultry Sci. 44:582.

MuMozcano,A. ,H.Wesche, R.Arana, H.Garciia. 1987. Determinación y predicción de la actividad acuosa en alimentos mexicanos de humedad intermedia y alta. ATAM 22(4)10-13.

Nagainis,P., F.H.Wolfe.1982. Calcium activated neutral protease hidrolyzes z-disc actin. J.Food Sci. 47,1358- 1365.

Norrish,R.S. 1966. An equation for the activity coefficients and equilibrium relative himidities of water in confectionery syrups. J.Fd Technol. 1(1):25.

Ockerman,H. 1980. Quality control of post mortem muscle. Vol I. Meat and additive analysis. 11a. ed.p90 The Ohio State University. Columbus.
Obanu,Z., A,Ledward, R.Lawrie. 1977. Reactivity of glicerol in intermediate moisture meats. Meat Sci. 1:177.

Paltrinieri,G.,M.Meyer. 1984. Elaboración de Productos Cárnicos. Manuales para la educación agropecuaria.p.p.13-16,25-40,49-56,63-68,71-74. Editorial Trillas. Mex.

Penny,I.F. 1974. The action of a muscle proteinase on the miofibrillar proteins of bovine muscle. J.Sci.Food. Agric. 25,1273-1284.

Penny,I.F.1984. Enzimologia de la maduración. En "Avances de la Ciencia de la Carne". Vol 1. 148-181. Editorial Acribia, Zaragoza.

Penny,I.F., E.Dransfield. 1979. The relationship between toughness and troponin T in conditiones beef. Meat Sci. 3,121-134.

Price,J.F. 1976. Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Editorial Acribia, Zaragoza.

Roberts,T., W.Hudson, O.Whelehan, B.Simonse, K.Olgaard, H.Labots, J.Snijders, J.Van Hoof, J.Debevere, J.Dempster, J.Devereux, L.Leistner, H.Gehra. J.Gledel, J.Formaud, B.Bush, D.Early, A.Heine. 1984. Number and distribution of bacteria on some carcasess at selected abattoirs in some member states of the European Communities. Meat Sci. 11:191.

Ross, K.D. 1975. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. Fd.Technol. 29(3),26-31.

Scorza,O.C.,J.Chirife,P.Cattaneo,M.S.Vigo,M.H.Bertoni y P.Sarrailh. 1981. Factores que condicionan el crecimiento microbiano en alimentos de humedad intermedia. La Alimentación Latinoamericana. 127,62-69

Silverside,D.E., A.Sanders. 1985. The use of humectants to gain increased shelf-life of meat and meat products at tropical ambient temperatures. TDRI Annual training report.

Sinskey,A. 1976. New Developments in intermediate moisture foods: Humectans. En "Intermediate moisture foods". p.p.120-132. R.Davies, G.G.Birch y K.J.Parker. (Editores). Elsevier Applied Sience Publishers, Ltd. Londres.

Stell,R.G.,J.H.Torrie. 1976. Principles and procedures of Statistics. Mc Graw Hill Book Co.

Thiel,W. 1979. Maintaining and improving the quality of foods of animal origin in tropical and subtropocal regions. Fleischwirtschaft. 10:1458.

Thompson,J., G.Banwart, D.Sanders, A.Mercuri. 1976. Reduction of bacteria on poultry carcasses. Poultry Sci. 46:146.

APENDICE

I. DETERMINACION DE pH

Material y Equipo

vasos de precipitado de 250 ml
pipeta
probeta de 100 ml
licuadora
Potenciometro
Balanza analitica

Método

Se toman 10g de la muestra, se adicionan 100 ml de agua destilada y se muele en licuadora por 1 minuto aproximadamente, medir el pH directamente en la suspensión acuosa resultante, previa calibración del potenciómetro según las instrucciones del fabricante.

AOAC. 1980.

II. GRADO DE OXIDACION (VALOR TBA)

Este método se basa en la reacción de condensación entre dos moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) y una de malonaldehido, formando un compuesto cromógeno de color rojo cuya concentración se puede determinar espectroscópicamente a 530 nm .

Material

matraz de destilación de 500 ml
Probeta de 100 ml
pipetas de 1, 5 y 10 ml
tubos de ensayo de 16x150 mm con tapon de rosca
perlas de ebullición
baño maria
gradilla
espectrofotómetro
destilador

Reactivos

HCl 1:2 v/v
Sulfanilamida 0.5% en HCl al 20% v/v
Antiespumante
Acido 2-tiobarbitúrico 0.02M

Método

A. Carne Fresca

a) mezclar 10g de carne con 50 ml de agua destilada a 50 C, agitar por dos minutos, transferir a un matraz de destilación y adicionar 47.5 ml de agua destilada a 50 C y 2.5 ml de HCl (1:2 v/v).
b) Añadir dos gotas de antiespumante
c) Adicionar perlas de ebullición
d) Destilar aproximadamente 50 ml de solución
e) Transferir 5 ml del destilado a un tubo de ensayo
f) Agregar 5 ml de ácido 2-tiobarbitúrico
g) tapar y calentar a ebullición durante 35 minutos
h) Enfriar en baño de hielo
i) Leer en espectrofotómetro a 530 nm usando un blanco para ajustar a 100% de transmitancia
j) El valor TBA es el número de mg de malonaldehído en 1000g de muestra.

$$TBA = 7.0 \times D.O.$$

k) Los valores máximos de TBA en carne fresca deben ser de 0.7 a 1.0 en carne fresca y de 0.1 a 0.2 en productos curados.

B. Productos Curados

a) Mezclar 10 g del producto con 49 ml de agua destilada a 50 C agitar por dos minutos, adicionar 1 ml de sulfonilamida (0.5%). Transferir a un matraz de destilación usando 48 ml de agua destilada a 50 C y agregar 2 ml de HCl (1:2 v/v).
La sulfanilamida forma una sal de diazonio con el nitrito lo que evita su interferencia.

b) continuar en la misma forma que para carne fresca. (Ockerman,1980).

III. Tecnicas Microbiológicas para el conteo de Mesófilos aerobios, Coliformes y Bacterias lácticas.

A. Material y equipo

Autoclave con termómetro o manómetro
Licuadora
Balanza granataria
Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de 0.1 C
Utensilios estériles para la preparación de las muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, espátulas, hisópos, varillas de vidrio.
Pipetas bacteriológicas estériles de 10 y 1 ml graduadas
Frascos de vidrio de boca angosta de 250 ml de capacidad con tapón de rosca conteniendo 90 ml de solución diluyente estériles.
Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca conteniendo 9 ml de solución diluyente, estériles.
Contador de colonias
Cajas petri estériles de 100 x 15 mm

B. Medios de Cultivo

Solución diluyente

Peptona	5.0	g
Cloruro de sodio	2.5	g
KH_2PO_4	1.5	g
Na_2HPO_4	9.0	g
Agua destilada	1000	ml

Disolver los componentes en el agua destilada, ajustar el pH a 6.8 ± 0.1, distribuir y esterilizar a 113 C - 115 C por 20 minutos.

Medio para Mesófilos aerobios

Extracto de carne	5.0	g
Dextrosa	1.0	g
Peptona de caseina	5.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000	ml

Disolver todos los componentes en agua, hervir hasta total disolución. Ajustar el pH a 7.0 = 2
Esterilizar a 121 C durante 15 minutos.

Medio para Coliformes

Agar de rojo violeta bilis

Extracto de levadura	3.0	g
Peptona	7.0	g
Sales biliares	1.5	g
Lactosa	10.0	g
Cloruro de sodio	5.0	g
Rojo neutro	0.03	g
Cristal violeta	0.002	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000	ml

pH final 7.4 = 0.2

Medio selectivo para el recuento de gérmenes coliformes, los gérmenes gram (+) son inhibidos por las sales biliares y el cristal violeta que contiene.
Las colonias de coliformes son de color rosa porque fermentan la lactosa cambiando el pH a ácido, con lo que el indicador vira a rojo, con un halo dse precipitación de sales biliares.

Medio para cuenta de bacterias lácticas

APN

Peptona de caseína	10.0	g
Leche peptonizada	10.0	g
Extracto de levadura	10.0	g
Glucosa	7.5	g
Extacto de carne	2.5	g
MgSO4.7H2O	0.575	g
MnSo4.4H2O	0.05	g
Tween 80	1.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	600.0	ml

pH final: 5.5

Preparacion:
Disolver los ingredientes excepto la leche peptonizada en 482 ml de agua destilada calentando a ebullición, enfriar a 50 C, ajustar el pH a 5.5 y esterilizar en autoclave a 121 C durante 15 minutos.
Dejar enfriar a unos 50 C, adicionar 6 ml de cada una de las siguientes soluciones: nitrito de sodio al 6% recien preparada y esterilizada por filtración, actidiona al 1% y sulfato de polimixina al 0.3%; por último agregar la leche peptonizada disuelta en 100 ml de agua y esterilizada a 121 C por 15 minutos. Mezclar y utilizar.
La actidiona inhibe el desarrollo de hongos y el sulfato de polimixina inhibe el desarrollo de gérmenes gram (-).

C. Procedimiento

Preparar los medios y distribuirlos en las cajas petri estériles. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes.

Para la preparación y dilución de la muestra de carne fresca cortar el empaque con las tijeras estériles, con un hisópo estéril frotar un área conocida de la superficie de la carne y practicar las diluciones decimales que se estimen pertinentes.

Para Salchicha y Salami cortar la anvoltura con tijeras estériles, pesar 10 g y practicar las diluciones decimales que se estimen convenientes.

Transferir 0.1 ml de cada una de las diluciones a las placas de agar y extenderla con una varilla de vidrio en toda la superficie del medio; usando una varilla para cada dilución.

Incubar las cajas en posición invertida durante 24 horas a 35 C .

Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 30 y 300 colonias, contar todas las colonias características con el auxilio de un contador de colonias.

Multiplicar por el inverso de la dilución para obtener el número de colonias por cm2 o gramo de muestra.

Sacar el logaritmo décimal y reportar como log de número de microorganismos por cm2 o gramo de muestra.

(APHA,1976).