



Facultad de Ciencias Veterinarias

-UNCPBA-

Mejora de la seguridad alimentaria en embutidos secos mediante el uso de starters.

Cervellini, Antonella; Nario, Flavia; Díaz, Mauricio

**Diciembre
2015**

Tandil

“Mejora de la seguridad alimentaria en embutidos secos mediante el uso de starters”.

Tesina de la Orientación Tecnología de los Alimentos, presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Veterinario del estudiante: Cervellini, Antonella

Tutor: **MV. Nario, Flavia**

Director: **MV. Díaz, Mauricio**

Evaluador: **MV. Elichiribehety Élide**

AGRADECIMIENTOS

Quisiera llegar mis agradecimientos a:

- Mi familia y amigos, por el apoyo que me dieron durante toda la carrera.
- A mi director, Mauricio Díaz, por su dedicación y apoyo brindado en esta experiencia.
- A la empresa elaboradora por la experiencia adquirida.

RESUMEN

La seguridad microbiológica final de un embutido seco, crudo-curado, depende del adecuado desarrollo, o instalación, de las barreras contra el crecimiento de bacterias indeseables. A su vez hoy en día la producción a nivel industrial ha llevado a aplicar nuevas tecnologías para obtener productos seguros y de calidad constante como es la utilización de starters; estos permiten una fermentación dirigida que no sólo contribuye a la estandarización del producto sino también a la seguridad e higiene del mismo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el control sobre bacterias alterantes y patógenas, que ejerce el uso de starters en un embutido seco, en este caso longaniza calabresa. Y evaluar también que influencia tienen sobre la inocuidad del producto final elaborado con starter, los parámetros ambientales durante la etapa de maduración/secado (temperatura y humedad), como así también aquellos cambios ocurridos en los parámetros internos del producto durante el proceso (pH y aW). Se trabajó con 3 lotes de longaniza calabresa, sobre los cuales se hicieron mediciones de pH y aW, se tomaron registros diarios de temperatura y humedad ambiente durante la etapa de maduración y se hicieron controles microbiológicos del proceso, de la etapa de maduración y del producto listo para la venta (6 días de maduración). De los tres lotes analizados, dos de ellos (lote n°1 y lote n°2) resultaron no aptos de acuerdo a los límites microbiológicos establecidos por el CAA. Si bien en todos ellos, se utilizó el mismo starter, esta diferencia en el resultado final, entre los dos primeros lotes y el lote n°3, se debería a los siguientes factores: a) Los dos primeros lotes fueron elaborados con una materia prima de menor calidad microbiológica respecto al lote n°3 b) Las condiciones de temperatura y humedad en los lotes n°1 y 2 se encontraron alejadas de lo ideal para la elaboración de este tipo de producto. Lo cual demostró que si bien los starters contribuyen al control de la fermentación, estandarización y seguridad del producto, de no ser considerados y controlados los factores mencionados anteriormente, no vamos a estar asegurando una adecuada calidad microbiológica del producto final con el sólo uso de un cultivo iniciador.

Palabras clave: embutido seco crudo-curado, starters, seguridad microbiológica

ÍNDICE

I- INTRODUCCIÓN	- 1 -
1.1 Objetivos.....	- 2 -
II- MARCO LEGAL.....	- 3 -
2.1 Carne.....	- 3 -
2.1.1- Carne fresca	- 3 -
2.2- Chacinados	- 5 -
2.3 – Aditivos	- 7 -
2.4 – Tripas	- 10 -
III- MARCO TEORICO	- 12 -
3.1- Tecnología de los embutidos secos	- 12 -
3.1.1- Ingredientes.....	- 12 -
3.1.1.1 Materias primas	- 12 -
3.1.1.2 Aditivos.....	- 18 -
3.1.1.3 Cultivos iniciadores (starters)	- 19 -
3.1.2 Proceso de elaboración de los embutidos secos	- 22 -
3.1.3 Fenómenos madurativos	- 27 -
3.2 Microbiología de los embutidos secos.....	- 29 -
3.2.1 Teoría de los obstáculos.....	- 29 -
3.2.2 Riesgos microbiológicos	- 30 -

IV- MATERIALES Y MÉTODOS	- 32 -
4.1 Medición de pH.....	- 32 -
4.2 Control de temperatura y humedad ambiente	- 32 -
4.3 Medición de la actividad de agua	- 33 -
4.4 Controles microbiológicos.....	- 34 -
4.4.1 Microorganismos controlados en este proyecto	- 34 -
4.5- Línea de producción de la empresa	- 39 -
4.6 Ingredientes de la longaniza calabresa y sus proporciones	- 46 -
4.6.1 Starter utilizado en la mezcla de la Longaniza calabresa	- 47 -
4.6.2 Starter utilizado en la superficie de la Longaniza calabresa ya embutida.....	- 48 -
4.7 Muestreo del producto.....	- 48 -
V- RESULTADOS	- 50 -
5.1 LOTE 1.....	- 50 -
5.2 LOTE 2.....	- 53 -
5.3 LOTE 3.....	- 56 -
VI- DISCUSIÓN.....	- 60 -
VII- CONCLUSIÓN	- 62 -
VIII- BIBLIOGRAFIA.....	- 64 -
IX- ANEXO 1.....	- 68 -
X- ANEXO 2.....	- 71 -

I- INTRODUCCIÓN

La desecación de productos cárnicos representa la forma de conservación de la carne más antigua que se conoce. Los embutidos, de origen antiquísimo, surgieron empíricamente como consecuencia de la necesidad de conservar los alimentos. Su evolución posterior, que ha dado origen a una gran variedad de productos de características bien diferenciadas, fue consecuencia de los distintos procesos de elaboración impuestos por la disponibilidad de materias primas y de las condiciones climáticas existentes (Colmenero y Santaolalla, 1989).

La elaboración de embutidos crudos curados de forma «natural», que tradicionalmente se ha venido realizando y que da lugar a productos muy apreciados por su gran calidad, está sujeta a las variaciones ambientales habituales, lo que determina cierta dificultad para garantizar las características del producto final. Esto resulta problemático, porque la sociedad actual demanda alimentos con una calidad definida y constante. Es por ello por lo que paulatinamente, a nivel industrial, se van desarrollando tecnologías que permiten estandarizar los procesos para evitar posibles defectos. (Colmenero y Santaolalla, 1989). Dentro de estas tecnologías podemos destacar, el uso de starters o cultivos iniciadores y la aplicación de tecnología en cámaras de maduración para controlar que las condiciones ambientales sean las ideales.

La inoculación de microorganismos para dirigir las fermentaciones fue una práctica habitual en otros sectores de la industria alimentaria, como el lácteo, pero en la industria cárnica no se inició hasta la década de los 40.

Las ventajas que reportó esta técnica fueron: períodos de maduración más cortos, uniformidad de la producción reduciendo la presencia de piezas defectuosas y mejora de las características sensoriales de los productos. Otro aspecto de gran importancia en la utilización tecnológica de cultivos iniciadores es su contribución a la seguridad e higiene de los alimentos. Es bien conocido que las bacterias ácido lácticas producen una serie de sustancias antagonistas de otros grupos microbianos (Anguiano, 1999).

1.1 Objetivos

- 1- Evaluar el control sobre bacterias alterantes y patógenas, que ejerce el uso de starters en un embutido seco, en este caso longaniza calabresa.

- 2- Evaluar que influencia tienen sobre la inocuidad del producto final elaborado con starters los siguientes factores:
 - Los parámetros ambientales durante la etapa de maduración/secado (temperatura y humedad).
 - Aquellos cambios ocurridos en los parámetros internos del producto durante el proceso (pH y aW).

II- MARCO LEGAL

El código alimentario argentino (CAA), en su capítulo VI define:

2.1 Carne

Art. 247.- “Con la denominación genérica de Carne, se entiende la parte comestible de los músculos de los bovinos, ovinos, porcinos y caprinos declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena.

La carne será limpia, sana, debidamente preparada, y comprende a todos los tejidos blandos que rodean al esqueleto, incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos, nervios, aponeurosis y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de la faena.

Por extensión se considera carne al diafragma y los músculos de la lengua, no así los músculos de sostén del aparato hioideo, el corazón y el esófago.

Con la misma definición se incluyen la de los animales de corral, caza, pescados, crustáceos, moluscos y otras especies comestibles.”

2.1.1- Carne fresca

Art. 248- Se considera como Carne fresca, la proveniente del faenamiento de animales y oreada posteriormente, que no ha sufrido ninguna modificación esencial en sus características principales y presenta color, olor y consistencia característicos.

La carne de ganado fresca que se expenda después de 24 horas de haber sido sacrificada la res, debe mantenerse a una temperatura no mayor de 5°C en cámaras frigoríficas.

Las carnes estarán limpias, exentas de piel y vísceras. Selladas por la inspección sanitaria, salvo en animales pequeños o en las especies y casos debidamente autorizados en que esté permitida.

Es obligatorio reservar las partes selladas de las reses que tengan el sello de la inspección sanitaria que certifica su buena aptitud para el consumo, a los efectos de su presentación cada vez que sea requerida por los funcionarios fiscalizadores. La no observancia de esta regla hace que las reses se consideren como de sacrificio clandestino y quien las expenda o exponga se hará pasible de las penalidades correspondientes.

Art. 255- (Resolución Conjunta SPRyRS N° 79/04 y SAGPyA N°500/04)

Con la designación de Carne triturada o picada, se entiende la carne apta para el consumo dividida finamente por procedimientos mecánicos y sin aditivo alguno.

Debe prepararse en presencia del interesado, salvo aquellos casos en que por la naturaleza de los establecimientos o volumen de las operaciones sean autorizados expresamente por la autoridad competente.

La carne picada fresca deberá responder a las siguientes especificaciones microbiológicas:

Criterios complementarios:

Determinación	Resultados	Métodos de análisis
Recuento de Aerobios Mesófilos /g	n=5 c=3 m=10 ⁶ M= 10 ⁷	ICMSF o equivalente Microorganismos de los Alimentos -Vol I-Técnicas de análisis microbiológicos –Partell- Enumeracion de microorganismos aeróbios mesófilos – Métodos de Recuento en Placa
Recuento de Escherichia coli/g	n=5 c=2 m=100 M=500	ICMSF o equivalente Microorganismos de los Alimentos-Vol I- Técnicas de análisis microbiológicos –Partell- Bacterias Coliformes

Recuento de Staphylococcus aureus coagulasa positiva/g	n=5 c=2 m=100 M=1000	CMSF o equivalente Microorganismos de los Alimentos - Vol I -Técnicas de análisis microbiológicos –Partell -S. aureus- Recuento de estafilococos coagulasa positiva
--	----------------------------	--

Criterio obligatorio:

Determinación	Resultados	Métodos de análisis
Escherichia coli O157:H7/NM	n=5 c=0 Ausencia/65g	USDA – FSIS Guía de Laboratorio de Microbiología - capítulo5- Detección, aislamiento e identificación de E. coli O157:H7/NM en productos cárnicos o equivalente
Salmonella spp.	n= 5 c=0 Ausencia/ 10 g	Manual de Bacteriología Analítica de FDA (BAM) Capítulo 5 Salmonella o equivalente

Podrán investigarse otros microorganismos cuando las circunstancias lo hicieran necesario.

2.2- Chacinados

Art. 302- (Resolución Conjunta SPReI N° 179/2012 y SAGyP N° 715/2012)

Se entiende por Chacinados, los productos preparados sobre la base de carne y/o sangre, vísceras u otros subproductos animales que hayan sido autorizados para el consumo humano, adicionados o no con sustancias aprobadas a tal fin.

Los chacinados clasificados en embutidos (frescos, secos y cocidos) y no embutidos (frescos y cocidos) deberán cumplir con las siguientes especificaciones microbiológicas de acuerdo a su clasificación según las siguientes tablas (en esta tesina solo se muestra la tabla correspondiente a chacinados embutidos secos)

Tabla1: Criterios microbiológicos de chacinados embutidos secos

Parámetro	Criterio de aceptación	Metodología
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)	No considerar	
Recuento de E. coli (NMP/g) (2)	n=5, c=0, m<3	ISO 16649-3:2005 ICMSF (método1) BAM-FDA:2002 (método 1) (2)
Recuento de Estafilococos coagulasa positiva (UFC/g)	n=5, c=1, m=10 ² , M=10 ³	ISO 6888-1:1999 ICMSF
Recuento de hongos y levaduras (UFC/g)	No considerar	
Recuento de anaerobios sulfito reductores (UFC/g)	n=5, c=1, m=10 ² , M=10 ³	ISO 15213:2003
E. coli O157:H7/NM	n=5, c=0 ausencia en 65 g	USDA-FSIS:2010 ISO 16654:2001 BAM-FDA:2011
Salmonella spp.	n=5, c=0 ausencia en 25 g	ISO 6579:2002; Co: 2004 BAM-FDA: 2011 USDA-FSIS: 2011
Listeria monocytogenes	n= 5, c=0, ausencia en 25 g	SO:11290-1:1996 Amd: 2004 BAM-FDA:2 011 USDA-FSIS:2009

(1) o su versión más actualizada

(2) para chacinados frescos, embutidos y no embutidos, se puede utilizar técnica de recuento en placa según ISO 16649-2, expresando el resultado UFC/g.

Ref.: **n** = número de muestras examinadas de un lote, **c** = número máximo permitido de unidades de muestra defectuosas (plan de dos clases) o marginalmente aceptables (plan de tres clases). **m** = límite microbiológico que, en un plan de dos clases, separa la calidad aceptable de la rechazable y en un plan de tres clases separa la calidad aceptable de la marginalmente aceptable. **M** = límite microbiológico que en un plan de tres clases separa la calidad marginalmente aceptable de la rechazable.

Art. 303- Se entiende por Embutidos, los chacinados en cualquier estado y forma admitida que se elaboren, que hayan sido introducidos a presión en fracciones de intestino u otras membranas naturales o artificiales aprobadas a tal fin, aunque en el momento del expendio y/o consumo carezcan del continente.

Art. 304- Los embutidos pueden ser: embutidos frescos, embutidos secos y embutidos cocidos.

Art. 306- Se entiende por Embutidos secos, aquellos embutidos crudos que han sido sometidos a un proceso de deshidratación parcial para favorecer su conservación por un lapso prolongado.

Art. 331- Son embutidos secos de acuerdo con la definición los siguientes chacinados:

Cervelat

Chorizo a la española

Longaniza

Longaniza a la española

Longaniza napolitana

Lomo embuchado a la española

Salame

Salamines

Sopresatta a la italiana.

2.3 – Aditivos

Art. 323bis (Resolución Conjunta SPyRS N° 056/2000 y SAGP y A N° 250/2000) - Se permitirá en: Chacinados: frescos embutidos o no secos, curados y/o madurados o no; cocidos embutidos o no embutidos el uso de los siguientes aditivos alimentarios en las condiciones que se detallan.

(En esta tesina solo se especifican aquellos permitidos para chacinados secos madurados o no, tabla 2)

Respecto a aditivos el Reglamento de Inspección de Productos, subproductos y Derivados de Origen animal (denominado en esta tesina de ahora en más como Decreto N° 4238), en su capítulo XVIII define:

18. 1 - Se entiende por aditivos alimentarios, en adelante aditivos, a aquellas sustancias que carentes de valor nutritivo o agregadas sin intención nutricia, se incorporan a los alimentos para mejorar su presentación, sus caracteres organolépticos, su sabor o sus condiciones de conservación.

18. 2. 1 - Los productos comestibles de origen animal podrán contener o no aditivos de uso permitido, siempre que su agregado o supresión no cambie las características propias del producto declarado en el rótulo.

Aditivo: número o INS	Aditivo: Función /nombre	Aditivo: concentración máxima g/100g
ACIDULANTES		
270	Ácido láctico	q.s
330	Ácido cítrico	q.s
575	Glucono delta lactona	q.s
REGULADOR DE ACIDEZ		
325	Sodio lactato	q.s
327	Calcio lactato	q.s
331 iii	Sodio, -(tri) citrato, citrato de	q.s
332 i	Potasio, -(tri) citrato de, citrato de	q.s
333	Calcio, -(tri) citrato de, citrato de	q.s
ANTIOXIDANTES		
300	Ácido ascórbico (1-)	q.s
301	Sodio ascorbato	q.s
302	Calcio ascorbato	q.s
303	Potasio ascorbato	q.s
310	Galato de propilo	0,01 (1) (5)
315	Ácido Isoascórbico	q.s
316	Sodio Isoascorbato	q.s
320	Butilhidroxianisol, BHA	0,01 (1) (5)
321	Butilhidroxitolueno, BHT	0,01 (1) (5)
COLORANTE		
200	Ácido sórbico	0,02 (6)
201	Sodio sorbato de	0,02 (6)
202	Potasio sorbato de	0,02 (6)
203	Calcio sorbato de	0,02 (6)
249	Potasio nitrito de	0,015 (3) (12)
250	Sodio nitrito de	0,015 (3) (12)
251	Sodio nitrato de	0,03 (3) (12)
252	Potasio nitrato de	0,03 (3) (12)
ESTABILIZANTE		
339i	Sodio, -(mono) fosfato de, -(mono) ortofosfato de	0,5 (9) (11)
339ii	Sodio, -(di) fosfato de, -(di) orto o mono fosfato de	0,5 (9) (11)
339iii	Sodio, -(tri) fosfato de, -(tri) orto (o mono) fosfato de	0,5 (9) (11)
340i	Potasio, -(mono) fosfato, fosfato ácido, -(mono) ortofosfato de	0,5 (9) (11)
340ii	Potasio, -(di) fosfato, -(di) monofosfato, -(di) ortofosfato	0,5 (9) (11)
450i	Sodio, -(di) difosfato de	0,5 (9) (11)
450ii	Sodio, -(tri) difosfato de	0,5 (9) (11)
450iii	Sodio, -(tetra) difosfato de, piro fosfato de	0,5 (9) (11)
450v	Potasio, -(tetra) difosfato de, pirofosfato neutro de,	0,5 (9) (11)
451ii	Potasio, -(penta) trifosfato de, tripolifosfato de	0,5 (9) (11)
452i	Sodio hexametáfosfato, polifosfato	0,5 (9) (11)
452ii	Potasio polifosfato de, potasio metafosfato de	0,5 (9) (11)
EXALTADOR DEL SABOR		
620	Ácido glutámico	q.s
621	Sodio -(mono) glutamato de, monoglutamato de	q.s
622	Potasio -(mono) glutamato de	q.s
627	Sodio, -(di) guanilato de, -(di) guanilato de	q.s
630	Ácido inosínico	q.s
631	Sodio, -(di) inosinato de, -(di) 5'inosinato de	q.s

Tabla 2: aditivos permitidos para chacinados secos, madurados o no.

18. 2. 2 - Consideráanse aditivos de uso permitido, los consignados en este Reglamento o los que en el futuro autorice el SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD ANIMAL (SENASA).

2.4 – Tripas

Art. 312 - Las tripas naturales utilizadas como continentes, podrán ser tratadas por inmersión en jugo de ananá fresco o extracto de papaína, de bromelina, ficina o jugo pancreático, para permitir que las enzimas actúen sobre las tripas, logrando su tiernización, debiéndose en todos los casos después de este tratamiento, ser sometidas a un prolijo lavado para eliminar todo resto de la sustancia empleada.

Art. 313 - Está prohibido el uso de envolturas animales (intestino o esófago) infestadas con nódulos parasitarios, excepto en los casos en que la infestación no exceda de 5 nódulos por metro y los mismos hayan sido extirpados.

En el Decreto 4238 se establecen dos calidades de tripas naturales:

Esofagostomosis

12. 1. 32 Las tripas, de acuerdo a su infestación o no por esofagostomas, se clasificarán en dos (2) calidades:

Sin nódulos

a)

Cuando no presenten nódulos de esofagostomas, se denominarán de primera calidad o tipo exportación.

Con nódulos

b)

Si presentan nódulos de esofagostomas extirpados, se denominarán de segunda calidad o tipo doméstico, pudiendo ser exportadas únicamente a los países que las acepten.

2.5 – Secaderos

El Decreto 4238 define en su capítulo XVI (chacinados):

Secadero 16. 2. 34 (Res. ex-SENASA N° 116 del 31/01/92).

Las paredes de los secaderos, en sus caras interiores, serán de materiales de superficies lisas, impermeables, de fácil lavado, resistentes a la corrosión, de colores claros y autorizados por SENASA.

III- MARCO TEORICO

3.1- Tecnología de los embutidos secos

3.1.1- Ingredientes

Los ingredientes que constituyen los embutidos secos crudos curados son, por un lado, las materias primas y, por otro, los aditivos.

3.1.1.1 Materias primas

Las características de las materias primas son de gran importancia en cuanto a que condicionan los procesos de elaboración y la calidad del producto final (Colmenero y Santaolalla, 1989).

La carne a emplear en la fabricación de estos alimentos puede proceder de una o varias especies, fundamentalmente cerdo y vacuno (Colmenero y Santaolalla, 1989).

A diferencia de la elaboración de los productos lácteos, en el caso de los productos cárnicos no se puede eliminar la flora asociada a la carne por métodos tradicionales (por ejemplo, tratamiento térmico) sin alterar sus características organolépticas. Por lo tanto, si se desea fabricar un embutido fermentado seco, es necesario llevar a cabo las operaciones de matanza y desposte con un adecuado control de higiene; de esta manera se evita una alta carga inicial de microorganismos (Hernández et al, 2003).

Los animales deben estar sanos y bien nutridos; antes del sacrificio, no deben haber sido sometidos a actividades tensas ni cansadas, ya que esto afecta la calidad del producto final. Una vez sacrificado el animal, el glucógeno (material de reserva de energía) presente en la carne, se desdobra principalmente por vía enzimática para convertirse en ácido láctico, lo que provoca una disminución del pH. El grado de acidificación que se alcance depende de la cantidad de glucógeno que tiene el animal al momento del sacrificio y de la temperatura a la que se almacene la carne; sin embargo, en un proceso normal el pH desciende a valores cercanos a 5.8. Si el animal ha sido sometido a fuertes períodos de estrés o ejercicio antes de la matanza, no habrá mucho

glucógeno para ser transformado, cuando el animal muere y, por lo tanto, el pH de la carne no disminuye en gran medida (Hernández et al, 2003).

Tabla 3: Composición porcentual de la carne vacuna *

Componente	Valor medio (%)
Agua	75,5
Proteínas	18
Grasa	3
Hidratos de carbono	1
Compuestos inorgánicos	1

*para un animal maduro a la faena

Fuente: V. Cañeque; C. Sañudo, 2000.

Tabla 4: Composición porcentual de la carne de cerdo

Componente	Valor medio (%)
Agua	75-80
Proteína Bruta	15-20
Lípidos	3-5
Hidratos de carbono	1
Minerales	1
Vitaminas	1

Fuente: Amo Visier, 1980.

El agua es el componente más abundante de la carne, la mayor parte de la misma se encuentra en el interior de las células.

En la carne existen tres tipos de proteínas, el más valioso para el procesador cárnico son las proteínas contráctiles (actina y miosina); el más abundante son las proteínas del tejido conectivo; y el tercer tipo es el de las proteínas sarcoplasmáticas. La calidad de las proteínas de cualquier fuente alimenticia se mide por la cantidad y disponibilidad de los aminoácidos que contiene, constituyendo un importante factor en la alimentación del hombre; aportando

elementos plásticos, indispensables para la generación de tejidos orgánicos y funciones vitales; tanto la carne de cerdo como la vacuna poseen un alto porcentaje de aminoácidos esenciales (Eusse Gómez, 2000).

La grasa es el componente más variable de la carne, la composición y el contenido en grasas de los animales depende de su localización en el organismo, la raza, edad, sistema de alimentación, tipo de explotación y sexo. Los lípidos presentes en el tejido muscular proporcionan características de jugosidad, ternura y buen sabor, además de ser indispensables en la fabricación de productos cárnicos porque aportan palatabilidad y textura (Eusse Gómez, 2000).

Los carbohidratos, básicamente glicolípidos, están presentes en muy bajo porcentaje. El glucógeno, es el azúcar más importante, tiene una función fundamental en el proceso de maduración de la carne (Eusse Gómez, 2000).

Los minerales están presentes en un 1% siendo los más importantes para el organismo humano, hierro, manganeso y fósforo; pues intervienen en la formación de huesos y dientes (Eusse Gómez, 2000).

Uno de los principales factores que determina la aptitud de la carne para ser transformada en este tipo de productos es el pH, es decir, el grado de acidez, que influye en las propiedades funcionales de la carne, tales como capacidad de retención de agua, solubilización de proteínas, etc.; en el color, y la susceptibilidad de la carne al ataque microbiano (Hernández et al, 2003).

La carne con un pH inferior a 5,6 (Carne PSE: pale, soft, exudative) tendrá menor capacidad de retención de agua, lo cual la hace más apta para productos como ser las salazones que para productos cocidos a los cuales se les agrega agua en forma de salmuera. Esta menor capacidad de retención de agua está relacionada al punto isoeléctrico de las proteínas (5.2 aprox.), es decir el punto en el cual precipitan las proteínas miofibrilares, perdiéndose con este fenómeno agua y mioglobina; como su denominación (PSE) lo indica, es una carne pálida, blanda y acuosa o exudativa (ver imagen 2).

La carne con un pH superior a 6.3 (DFD: dark, firm, dry) tendrá una mayor capacidad de retención de agua, lo cual hace que podría ser utilizada para productos cocidos, pero es más susceptible a la contaminación y presenta coloraciones demasiado oscuras; como su denominación (DFD) lo indica es una carne oscura, firme o consistente, debido a la fibra muscular, que se encuentra turgente por la retención de agua, y seca, ya que el agua retenida es intracelular (ver imagen 1).

En general, el ganado porcino tiene carnes más exudativas al ser más sensible al estrés, en los bovinos existe una tendencia a producir carnes DFD.

La condición PSE en los cerdos es causada por un estrés severo, inmediatamente antes de su sacrificio - por ejemplo, al descargar a los animales, al manejarlos, al encerrarlos en los corrales o al inmovilizarlos y aturdirlos. En esas circunstancias, los animales están sujetos a una fuerte ansiedad y miedo por el manejo que le proporciona el hombre, por las peleas en los corrales o por las malas técnicas de aturdimiento. Todo ello resulta en una serie de procesos bioquímicos en el músculo - en especial, la rápida descomposición del glucógeno. La carne entonces se vuelve muy pálida y adquiere una acidez muy pronunciada. Si se permite que los cerdos descansen una hora antes de su sacrificio, y se les da un buen manejo, se reduce considerablemente el riesgo de PSE (Chambers y Grandin, 2001).

En bovinos, cuando glucógeno muscular se consume durante el transporte y el manejo en el período anterior al sacrificio, hay poca generación de ácido láctico luego del mismo, produciéndose así una carne DFD. Esta tiene una menor vida útil por sus niveles de pH anormalmente altos (6,4 - 6,8). La carne con la condición DFD implica que la canal procedió de un animal estresado lesionado o enfermo antes de su sacrificio (Chambers y Grandin, 2001).

Imagen 1: Carne DFD



Fuente: Chambers y Grandin, 2001

Imagen 2: Carne PSE



Fuente: Chambers y Grandin, 2001

Imagen 3: Carne Normal



Fuente: Chambers y Grandin, 2001

Cuando se utilizan cultivos iniciadores en la elaboración del producto fermentado, se puede emplear carne fresca, cuyo pH promedio es 6.2. Si no se van a emplear cultivos iniciadores, es recomendable utilizar carne cuyo pH haya descendido hasta un valor aproximado de 5.8 (Hernández et al, 2003). Sin embargo, otros autores, sostienen que el pH adecuado de la carne para la

elaboración de estos productos debe ser, en todos los casos, menor o igual a 5.8 (Juan Luís Vidal Lago, 1997; Colmenero y Santaolalla, 1989)

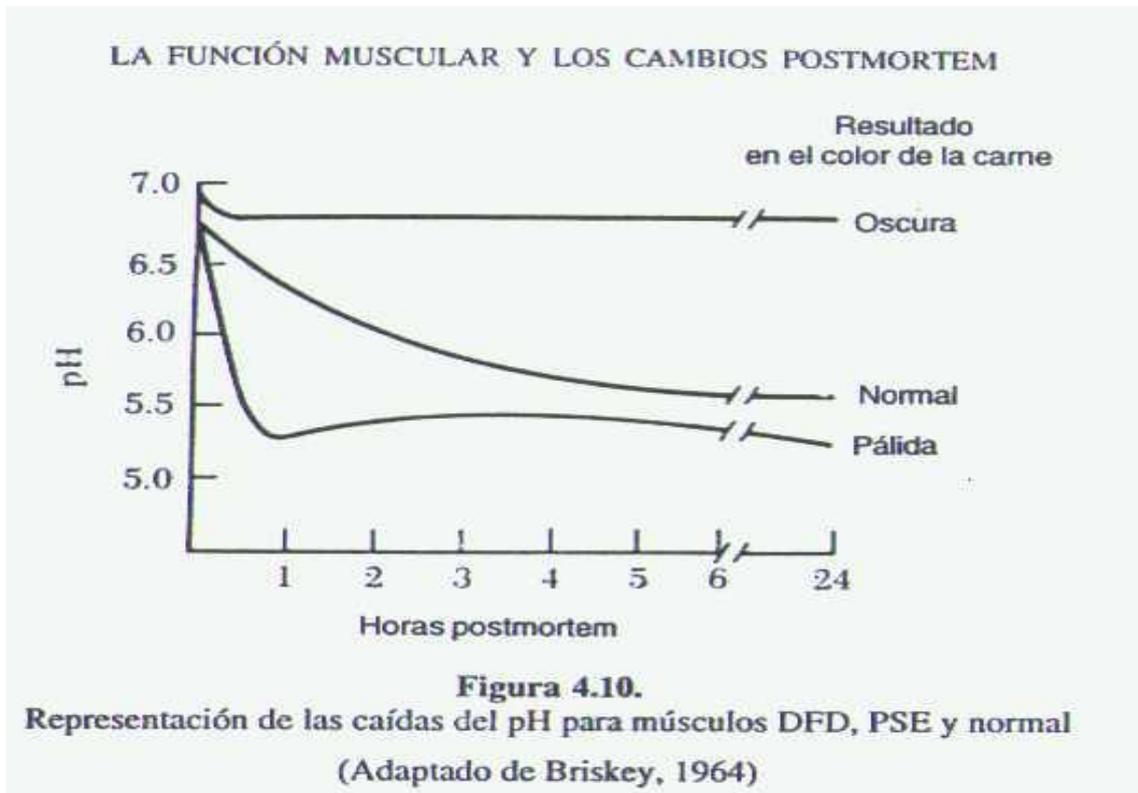


Imagen 4: Representación de las caídas del pH para músculos DFD, PSE y normal

Fuente: Briskey, 1964

La grasa es otra materia prima fundamental, ya que influye sobre determinadas características que afectan de forma decisiva a la calidad sensorial del embutido, como son: facilidad al corte, jugosidad y untuosidad. Además participa en el aroma y sabor del embutido y aporta ligazón, puesto que favorece la formación de la emulsión de los componentes de la masa. Generalmente suele utilizarse grasa animal y preferentemente de cerdo, es conveniente seleccionar grasa con alto grado de saturación para prevenir los defectos de enranciamiento, por lo que es recomendable emplear grasas de depósito dorsal o de panceta (Anguiano, 1999).

3.1.1.2 Aditivos

El tipo de aditivos que se añaden en la elaboración de embutidos varía mucho entre países y es otra de las causas que explican la amplia variedad de estos productos.

Los productos crudos curados requieren condimentos específicos del curado donde se incluyen la sal, los nitratos y nitritos y los azúcares.

- **Sal:** proporciona cierto efecto antimicrobiano, al provocar un descenso inmediato de la actividad de agua hasta valores de 0,96-0,97 (Nychas y Arkoudelos, 1990). El cloruro sódico, añadido en un 2,2-3%, ejerce un papel muy importante desde el punto de vista tecnológico, como potenciador del sabor y por inducir la solubilización de las proteínas miofibrilares del músculo, favoreciendo la formación de la textura de gel (Lücke, 1998). Esta última función es tecnológicamente importante ya que gracias a estas proteínas, se obtiene la cohesión (también llamada liga) de los trozos de carne a embutir. Es importante igualmente, destacar que, el agregado antes de tiempo de la sal potenciará la extracción de proteína, pudiendo llevar a los clásicos e indeseables “empastes”.
- **Azúcares:** se agregan como fuente carbonada para las bacterias ácido lácticas (BAL). Pueden usarse glucosa, lactosa, y sacarosa, originándose posteriormente según como se den las condiciones de fermentación en ácido láctico (deseada), ácido acético, ácido pirúvico y alcohol etílico, entre otros. La cantidad de hidratos de carbono recomendada es de un 0,5-2% (Lücke, 1998).
- **Nitritos y Nitratos:** es conocido el efecto antimicrobiano de los nitritos (NO₂), particularmente ante microorganismos indeseables patógenos, como el *Clostridium botulinum*. En general, en embutidos secos, se emplean nitratos (NO₃), que además de ser reducidos a NO₂ por las bacterias que se desarrollan en el producto (ejerciendo su efecto antimicrobiano), participan en las reacciones de curado, involucradas con la formación de color rojo característico en estos tipos de productos. Los NO₃ reducidos a NO₂- por las bacterias, y debido al pH que se logra dentro del mismo producto (acidez producida por la fermentación) forman óxido nítrico (NO); este compuesto reacciona con la mioglobina del músculo y se forma la

nitrosomioglobina, compuesto de color rojo característico a producto curado. Las cantidades a emplear están legisladas y se establece como límite máximo en producto terminado 150 ppm para NO₂ y 300 ppm para NO₃. Por lo tanto se debe tener especial control en el agregado de nitritos, nunca deben superar los 15 gramos cada 100 kilos de pasta.

- **Espicias:** se utilizan en la mayoría de embutidos para potenciar el sabor, por su actividad antioxidante y antimicrobiana (Lueck, 1980); su empleo varía según el tipo de producto pero, en general, las más utilizadas son: pimentón, ajo, clavo, nuez moscada, cilantro, cebolla, orégano, pimienta y tomillo. La calidad final es debida, en gran parte, a la calidad de las especias y condimentos utilizados, aunque a veces, pueden afectar negativamente al producto ya que aportan una carga microbiana que puede modificar el curso de las transformaciones microbiológicas que se producen durante la maduración del embutido (Anguiano, 1999).
- **Antioxidantes:** el más conocido es el ácido ascórbico, aunque en la industria cárnica se utiliza el ácido eritórbico (su isómero) debido a que presenta un menor costo que el primero.
- **Agentes ligantes:** pueden usarse polifosfatos y almidón, cuyo límite para embutidos cárnicos secos es del 3%.
- **Extendedores:** se emplean para aumentar el rendimiento, como las proteínas de soja.

3.1.1.3 Cultivos iniciadores (starters)

En la industria cárnica se utilizan en embutidos secos dos tipos de cultivos iniciadores:

- **Cultivos iniciadores (starters) en mezcla a embutir:** Son microorganismos que se añaden a la carne con el fin de controlar adecuadamente el proceso de fermentación y maduración de los embutidos crudos curados de forma que se consiga estandarizar el proceso y la calidad de los productos elaborados. Los microorganismos añadidos se instauran como flora predominante dirigiendo la fermentación y excluyendo a la flora indeseable, así se reducen los riesgos higiénicos y de fabricación

por deficiencias de origen microbiano. Es importante destacar que los cultivos iniciadores son considerados un ingrediente más de los embutidos, por lo que las cepas utilizadas deben de ser reconocidas como GRAS, (Generally Recognized as Safe) (Caplice y Fitzgerald, 1999).

Los cultivos iniciadores más utilizados se componen de una mezcla de bacterias ácido lácticas y cocos Gram positivos catalasa positivos:

- Bacterias ácido lácticas (BAL)

Las especies más comunes son *Lactobacillus sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *Pediococcus acidilactici* y *P. pentasaceus* (Geisen y col., 1992). Las BAL son microorganismos típicamente fermentativos que pueden seguir dos rutas metabólicas para hidrolizar los hidratos de carbono: homofermentativa y heterofermentativa. La primera es la que, prácticamente de manera exclusiva, produce ácido láctico, responsable del descenso de pH durante la fermentación. La acidificación implica diversos efectos beneficiosos (Bacus y Brown, 1982; Geisen et al, 1992):

- Reducción de la capacidad de retención de agua de las proteínas cárnicas, acelerando el proceso de secado.
- Inducción de las reacciones de reducción de nitratos y nitritos a óxido nítrico.
- Modulación de las reacciones enzimáticas que contribuyen al desarrollo del aroma y flavor (complejo de propiedades olfativas y gustativas percibidas durante la degustación).
- Inhibición del crecimiento de microorganismos indeseables y patógenos, facilitando la conservación.
- Coagulación proteica, a un pH próximo al punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas, que permite el desarrollo de la textura y cohesión características de este tipo de producto.

- Cocos Gram-positivos catalasa-positivos

Dentro de este grupo los más utilizados son los estafilococos coagulasa-negativos (*S. xylosum*, *S. carnosus*). La acidificación del medio inhibe su crecimiento a medida que avanza la maduración de los embutidos (Leistner, 1995). El papel de estos microorganismos en los procesos de fermentación

de la carne se centra principalmente en (Nychas y Arkoudelos, 1990; Leistner, 1995; Ordóñez y de la Hoz, 2001):

- Actividad nitrato y nitrito reductasa: convierten los nitratos a nitritos y, éstos a óxido nítrico que contribuye a la formación del color de curado.
 - Actividad catalasa, degrada los peróxidos, evitando posibles alteraciones de color por oxidación de pigmentos, así como las reacciones de oxidación lipídica que podría provocar defectos organolépticos en el producto final.
 - Actividad proteolítica y lipolítica, que generan una amplia variedad de precursores de sustancias aromáticas y compuestos volátiles que contribuyen a la obtención de las propiedades organolépticas características.
 - Se han descrito especies de *Staphylococcus* capaces fermentar azúcares y producir ácido láctico. Sin embargo, la contribución de los cocos Gram positivos (CGC+) a la degradación de los hidratos de carbono es mínima (Talon y col., 2002).
- **Cultivos iniciadores (starters) en la superficie del producto embutido:** son hongos seleccionados con capacidad competitiva (evitan especies indeseables), inoculados en la superficie de los embutidos posteriormente al atado. Se conocen como cultivos de “emplume”, dan aspecto deseado permitiendo normalizar el producto (generalmente de color blanco, algodonoso), provocan actividad proteolítica y lipolítica a partir de la producción de enzimas extracelulares desarrollando compuestos del aroma y sabor. No deben ser productores de micotoxinas ni de antibióticos, ni poseer capacidad patogénica. Ejemplos de los usados en la industria son *Penicillium nalgiovense*, *P. chrysogenum*, *P. camemberti*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida famata*. Además de las funciones mencionadas, una vez que colonizan la superficie de las piezas producidas, presentan un efecto antioxidante (ya que disminuyen el O₂ de la superficie, degradan peróxidos, y protegen de la acción de la luz por efecto barrera), e impiden la formación de un borde seco y/o untuoso (ya que se forma un “microclima” en la superficie).

3.1.2 Proceso de elaboración de los embutidos secos

La elaboración de los productos cárnicos fermentados no es un proceso único, pues depende del tipo de producto que se quiera fabricar; sin embargo, a continuación en la tabla 5 se expone el proceso general:

Tabla 5: Proceso general de elaboración

Etapa del proceso	Aditivos	Condiciones del proceso
1- Selección de materia prima		Materias primas de calidad. Tocino congelado Carne refrigerada o congelada. pH de la carne = 5.8 / 6.2
2- Picado		Controlar el buen funcionamiento de la cutter y evitar el aumento de la temperatura.
3- Mezclado	Sal Nitratos y nitritos Azúcares Especias Antioxidantes Ligantes Extendedores Cultivo iniciador (añadir al final del proceso cuando el resto de los ingredientes forman ya	

	una masa uniforme)	
4- Embutido y atado o clipeado	Luego de ser embutido y atado o clipeado, se aplica el cultivo iniciador de mohos (certificado)	Limpieza y preparación de las tripas a utilizar. Control de la limpieza de la embutidora y la T° de la pasta, la cual deberá ser de 2° C para picado grueso y de -1 a -3° C para picado fino.
5- Estacionado		Condiciones de humedad y temperatura controladas.
6- Rotulado y expedición		Los productos elaborados deben salir del establecimiento con la temperatura reglamentaria según indicación del rotulo para cada producto; una certificación sanitaria con indicación del destino y se deberán transportar en vehículos habilitados para tal fin.

1) Selección de la carne y grasa: es importante que la carne y la grasa adicionada estén muy frías durante el proceso; la grasa es adicionada como tocino fresco y congelado, para evitar alteraciones provocadas en el producto por el enranciamiento (Hernández et al, 2003). Respecto a la calidad de estas materias primas, ya fue detallada previamente en el apartado 3.1.1.1 *Materias primas*.

- 2) Picado:** El picado de la carne y el tocino se lleva a cabo en una máquina cortadora, comúnmente denominada cutter. La carne se pica hasta que tenga la consistencia necesaria para elaborar el embutido deseado (Hernández et al, 2003). Según el grado de picado se pueden distinguir embutidos groseramente picados, medianamente picados y finamente picados. Este proceso se debe llevar a cabo con la materia prima refrigerada o congelada, temperaturas inferiores a 7°C y vigilando que las cuchillas tengan un filo adecuado. De no ser así se produce un sobrecalentamiento de la masa, ocasionando un picado deficiente, con desgarramientos de la carne, que ocasiona excesivas pérdidas de exudado. Esto conlleva a defectos en la posterior maduración y desecación del producto, dando lugar a superficies de corte poco definidas (Colmenero y Santaolalla, 1989).
- 3) Mezclado:** Puede realizarse en la misma cutter o picadora, o en una mezcladora-amasadora (este proceso se realiza en máquinas mezcladoras-amasadoras provistas con paletas giratorias, a fin de conseguir una masa uniforme). Ha de realizarse al vacío, eliminando el aire ocluido en la masa para evitar alteraciones posteriores en el producto como decoloraciones, mayor desarrollo de microorganismos, etc. y manteniendo la temperatura de la masa por debajo de 4° C (Colmenero y Santaolalla, 1989).
- 4) Embutido:** Una vez mezclados todos los ingredientes, la pasta se coloca en una máquina embutidora con boquillas de diferente diámetro, según el producto que se desea obtener. La introducción de la pasta en la tripa debe realizarse a una presión regulada: lo suficientemente alta para que no queden espacios sin rellenar, pero que el exceso de presión no la ropa. Las tripas utilizadas pueden ser naturales provenientes del intestino, vejiga o esófago de bovinos, cerdos u ovinos; o bien pueden ser artificiales como son las de celulosa o colágeno (Colmenero y Santaolalla, 1989).

Tabla 6: Diferencias entre tripas naturales y artificiales

NATURALES	ARTIFICIALES
Permeables al agua y al humo	Elección entre permeables e impermeables
Embutido discontinuo	Embutido continuo
Condiciones espaciales de almacenamiento	Almacenamiento sencillo
Características higiénicas desfavorables	Características higiénicas favorables
Superficie untuosa	Sin untuosidad superficial
Calibre desigual	Calibre homogéneo
Peor manejo mecánico	Buen manejo mecánico
Comestible	Comestible o no comestible
Aspecto decorativo	Imagen de artificial
Fácil rotura	Firmes en el embutido
Embutido difícil de automatizar	Embutido fácilmente automatizable

Fuente: Cabrera López, 2011

5) Estacionamiento: éste consta de tres fases conocidas como estufado (i), secado (ii) y estacionado (iii). A continuación se detalla cada una de estas fases:

- i) Estufado: el fin de esta etapa es que las BAL se instalen en el producto, para lo cual se dan las condiciones ambientales aptas para su desarrollo, especialmente de temperatura. Una vez que la mezcla ha sido embutida, los productos se cuelgan en soportes especiales y se colocan en cámaras (secaderos) que tienen la temperatura y humedad controladas. La temperatura de las cámaras se selecciona con base en los requerimientos de crecimiento de las bacterias inoculadas (Hernández et al, 2003).

La fermentación depende del tipo y de la cantidad de microorganismos que se utilicen y de la temperatura a la cual se ejecute: cuando ocurre a una temperatura menor a los 15°C, se conoce como fermentación lenta; si la temperatura del proceso fluctúa entre los 15 y 20°C, se tiene una fermentación media y si se

realiza a 25°C o más, se denomina fermentación rápida (Hernández et al, 2003)

En una fermentación lenta, hay un desarrollo del aroma y un enrojecimiento lentos, y la consistencia del embutido se genera muy despacio; sin embargo, se adquiere una coloración más intensa y de mayor estabilidad, así como un mejor sabor (Hernández et al, 2003).

Por medio de la fermentación rápida, los embutidos están disponibles para ser vendidos en un menor tiempo, lo que económicamente le resulta beneficioso al elaborador; pero, este tipo de fermentación presenta los siguientes inconvenientes: el color del producto es menos estable, el sabor es más fuerte y los microorganismos que deterioran el producto se desarrollan mejor a las temperaturas altas que se emplean en este proceso (Hernández et al, 2003)

La humedad relativa debe ser cercana al 95% inicialmente; luego, se puede disminuir a un valor entre el 85 y 90 %. El control de la humedad durante el proceso es muy importante: si la cámara tiene una humedad relativa muy baja, el producto perderá parte del agua que tiene incorporada, necesaria para que los nutrientes de los microorganismos se mantengan en disolución; si, por el contrario, la humedad del cuarto es demasiado alta, pueden crecer microorganismos indeseables (Hernández et al, 2003)

Los eventos que ocurren durante la fermentación se exponen con más detalles en la sección *Fenómenos madurativos*.

- ii) Secado: el fin principal de esta etapa es la pérdida de agua por parte del producto. Durante esta etapa se mantiene una temperatura de 16 a 22°C, una humedad relativa del 75 a 80% y velocidad del aire de 0.1/0.5 mt/seg. (Hernández, et al).

Es importante verificar la velocidad del aire, porque si es muy alta, se pueden producir defectos por secado excesivo, como la formación de capas superficiales por la rápida pérdida de humedad; si, por el contrario, durante el secado, la velocidad del aire es lenta o los embutidos colgados se encuentran muy juntos, la humedad se puede quedar en la superficie y generar el crecimiento de microorganismos indeseables (Hernández et al, 2003).

- iii) Estacionado: El fin principal de esta etapa es lograr aromas, sabores y flavor característicos dados por las proteínas y grasa del producto. La temperatura debe estar entre los 10 y 15 °C, la humedad relativa entre el 65 y 80 % y la velocidad del aire de 0,05 / 0.1 mt./seg. (Hernández et al, 2003)

Conociendo ya las distintas fases del estacionamiento, podemos clasificar a los embutidos secos de la siguiente manera:

- De corto estacionamiento o acidificación rápida: para su elaboración se utilizan starters o cultivos iniciadores. La fase de estufado es a una temperatura de 25 °C y una humedad relativa del 90%. El pH sufre una caída rápida en 2 a 5 días, dependiendo el tipo de producto elaborado y el starter utilizado, llegando a un valor final de 4.8 – 5. Respecto a la actividad de agua (aW) de estos productos, es generalmente alta, encontrándose en un valor de entre 0.9 y 0.92. El ligado en estos embutidos de corto estacionamiento es rápido, lográndose en 7 u 8 días y la consistencia lograda es más bien gomosa.
- De largo estacionamiento o acidificación lenta: La fase de estufado es a temperaturas bajas, como máximo 18 a 20°C. El producto tiene un pH de 5.3 – 5.6 a los 15-21 días y un aW de 0.9 – 0.89 a las 3 semanas; el ligado se logra también a las 3 semanas. El embutido seco obtenido es de consistencia firme y color rojo firme.

3.1.3 Fenómenos madurativos

La fermentación de los hidratos de carbono por parte de las bacterias ácido lácticas (BAL) se produce de forma más intensa durante los primeros días del proceso. La producción de ácido láctico como consecuencia de la fermentación provoca un descenso del pH. Este descenso del pH tiene varios efectos beneficiosos:

- Reduce la capacidad de retención de agua (deja salir agua de la fibra muscular) favoreciendo la deshidratación del producto.
- Inhibe el desarrollo de microorganismos patógenos y alterantes que pueden entorpecer el proceso de maduración del embutido, por competencia con nutrientes y alteración del medio.
- Interviene en el proceso de enrojecimiento favoreciendo la reducción del nitrito a óxido nítrico. Esta intervención es de tipo indirecta, es decir, la disminución del pH que producen las BAL da el medio adecuado a los Micrococos para que lleven a cabo reacción de reducción, mediante la producción y acción de nitrato y nitrito reductasas.
- Facilita la gelificación de las proteínas cárnicas, ya que con el descenso del pH las proteínas solubilizadas se acercan a su punto isoeléctrico y coagulan (Lücke y Hechelmann, 1987), garantizando la correcta ligazón y consistencia del embutido.
- Y por último, la presencia de ácidos orgánicos contribuye al aroma del producto final.

Otro fenómeno importante durante la maduración de los embutidos es la estabilización del color. La aparición del color típico de curado se produce, básicamente, por la unión del óxido nítrico (NO) con el grupo hemo de la mioglobina (Mb) dando lugar a la nitrosomioglobina (NOMb). Por lo tanto es necesario que previamente se produzca la reducción del nitrito a NO, que se puede producir por acción de las nitrito reductasas, aunque normalmente se produce de manera espontánea en medio ácido (Nychas y Arkoudelos, 1990). En la industria pueden utilizarse ácidos como el ácido ascórbico o el Eritorbato los cuales además de poseer propiedades antioxidantes, junto con el descenso del pH, brindan el medio reductor necesario para la formación de la nitrosomioglobina, disminuyendo también de esta forma las cantidades residuales de nitritos en el producto. Otra vía de formación de la NOMb es a partir de la metamioglobina (MetMb). La MetMb proviene, a su vez, de la oxidación directa de la mioglobina o de la oximioglobina, forma oxigenada de la Mb (Bard y Townsend, 1976).

Los fenómenos proteolíticos producidos son el resultado de la acción conjunta de las enzimas tisulares y de los microorganismos (Ordóñez y de

la Hoz, 2001). El papel de los aminoácidos, como precursores del sabor, resulta cada vez más evidente (Talon y col., 2002).

Los lípidos, por su parte, constituyen una fracción importante de los embutidos crudos-curados y son los precursores de numerosos compuestos aromáticos derivados de los fenómenos hidrolíticos y oxidativos producidos durante la maduración. La lipólisis implica la degradación total o parcial de los enlaces éster de los triglicéridos y fosfolípidos. Los lípidos pueden ser hidrolizados por las lipasas microbianas o tisulares. El principal problema de la oxidación se encuentra en la formación de compuestos volátiles que, superadas unas determinadas tasas, proporcionan un aroma y un sabor rancio, desagradables para el consumidor (Ordóñez y col., 1999).

3.2 Microbiología de los embutidos secos

3.2.1 Teoría de los obstáculos

Los embutidos crudos-curados son productos estables desde el punto de vista microbiológico. El secreto de su seguridad e higiene se basa en la secuencia de obstáculos al crecimiento de microorganismos que se suceden durante la fermentación y que permiten la conservación de este tipo de producto.

La microbiota inicial de la masa cárnica es muy heterogénea, variable en función de los ingredientes utilizados y de las condiciones establecidas durante las operaciones previas al embutido. La microbiota inicial puede comprender lactobacilos, micrococos, enterobacterias, enterococos, pediococos, hongos, levaduras y patógenos, tales como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y *S. aureus* (Ordóñez y de la Hoz, 2001).

La actividad de agua del producto se reduce hasta valores en torno a 0,96-0,97 después del embutido, gracias a acción de la sal (Nychas y Arkoudelos, 1990). La presencia de nitrito, por su actividad antimicrobiana, es importante al inicio de la maduración, cuando todavía no se han establecido los demás obstáculos al crecimiento de microorganismos. Los nitratos y nitritos se descomponen durante el proceso de fermentación, por lo que su acción antimicrobiana se va reduciendo a medida que avanza la maduración (Leistner, 1995).). La siguiente barrera en aparecer es la reducción del potencial redox (Eh). Durante

los primeros días de maduración el oxígeno presente en la mezcla cárnica se agota a causa del crecimiento microbiano, creándose así un ambiente desfavorable para bacterias aerobias. Gracias a la reducción del Eh se favorece el dominio de las BAL, constituyéndose así la microbiota competitiva como otro obstáculo importante (Leistner, 1995). La producción de ácido láctico por parte de las BAL provoca un descenso de los valores de pH. El pH es indudablemente un factor clave para la estabilidad de los embutidos. El grado de descenso de pH dependerá principalmente de la cantidad de azúcares añadidos y de la temperatura de maduración. La barrera final al crecimiento microbiano es la reducción de la a_w , el único obstáculo que continua ganando importancia a medida que evoluciona el proceso. El grado de reducción de la a_w de los embutidos depende de la formulación, la temperatura y, sobre todo, de la humedad relativa de la cámara de maduración (Lücke, 1998; Leistner, 1995).

Resumiendo la estabilidad y el bajo riesgo sanitario de este tipo de productos se basa fundamentalmente en: (1) el descenso de los valores de pH por la fermentación microbiana de los hidratos de carbono, (2) la disminución de la actividad de agua a causa de los solutos añadidos y de la deshidratación producida durante la maduración, (3) la adición de nitratos y nitritos que contribuye a prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes y (4) la reducción del Eh.

3.2.2 Riesgos microbiológicos

El riesgo de Salmonella en embutidos fermentados se considera generalmente bajo (CE, 2003). Los embutidos fermentados permiten el control de Salmonella gracias a la reducción de la a_w y al rápido desarrollo de las BAL (bacterias ácido lácticas), que reducen el pH. Sin embargo, a pesar de que se trata de un alimento estable, Salmonella puede sobrevivir en este tipo de productos (Smith y col., 1975; Levine y col., 2001), habiéndose descrito diversos brotes causados por Salmonella en embutidos (Van Netten y col., 1997; Moore, 2004). En cuanto a *L. monocytogenes*, se ha descrito su crecimiento durante la fermentación y supervivencia en el producto acabado (Johnson y col., 1988;

Junttila y col., 1989; Aymerich y col., 2003). Los obstáculos presentes en los embutidos en general son insuficientes para evitar el crecimiento de *L. monocytogenes* (Farber y Peterkin 1991; Farber y col., 1993), así como de *E. coli* O157:H7 (Glass y col., 1992; Nissen y Holck, 1998).

S. aureus puede tolerar las condiciones ambientales de los embutidos, pero resulta un pobre competidor frente a las BAL y cocos gram positivos catalasa positivos (CGC+) utilizados como cultivos iniciadores (Metaxopoulos y col., 1981a; Metaxopoulos y col., 1981b). Por otra parte, el crecimiento de esporas de *Bacillus* y *Clostridium*, procedentes principalmente de las especias utilizadas como ingredientes y, en menor medida, de la carne se puede controlar por acción de los nitritos y valores bajos de pH y *a*_w (Nordal y Gudding, 1975).

Tabla 7: parámetros de crecimiento para *Salmonella*

Parámetro	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	5.2	35-43	46.2
pH	3.8	7-7.5	9.5
AW	0.95	0.99	>0.99

(ELIKA(a), 2013)

Tabla 8: parámetros de crecimiento para *Escherichia coli*

Parámetro	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	7-8	35-40	46
pH	4.4	6-7	10
AW	0.95	0.995	-

(ELIKA (b), 2013)

Tabla 9: condiciones de crecimiento de las toxinas producidas por *Staphylococcus aureus*

Parámetro	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	10	40-45	48
pH	4	7-8	9.6
AW	0.85	0.98	0.99

(ELIKA(c), 2013)

IV- MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado sobre 3 lotes de longaniza calabresa. Sobre los cuales se hicieron mediciones de pH y aW, se tomaron registros diarios de temperatura y humedad ambiente durante la etapa de maduración y se hicieron controles microbiológicos del proceso y de la etapa de secado/maduración.

4.1 Medición de pH

La medición de pH se realizó con un peachimetro de bolsillo electrónico que mide exactamente el pH con una resolución de 0,01 y con un rango de 0.00 a 14.00. El pH fue medido en la materia prima (carne de cerdo y carne vacuna) y una vez al día en el producto en proceso de maduración, durante los días que se mantuvo en el secadero para completar el correspondiente proceso.



*pHmetro utilizado

4.2 Control de temperatura y humedad ambiente

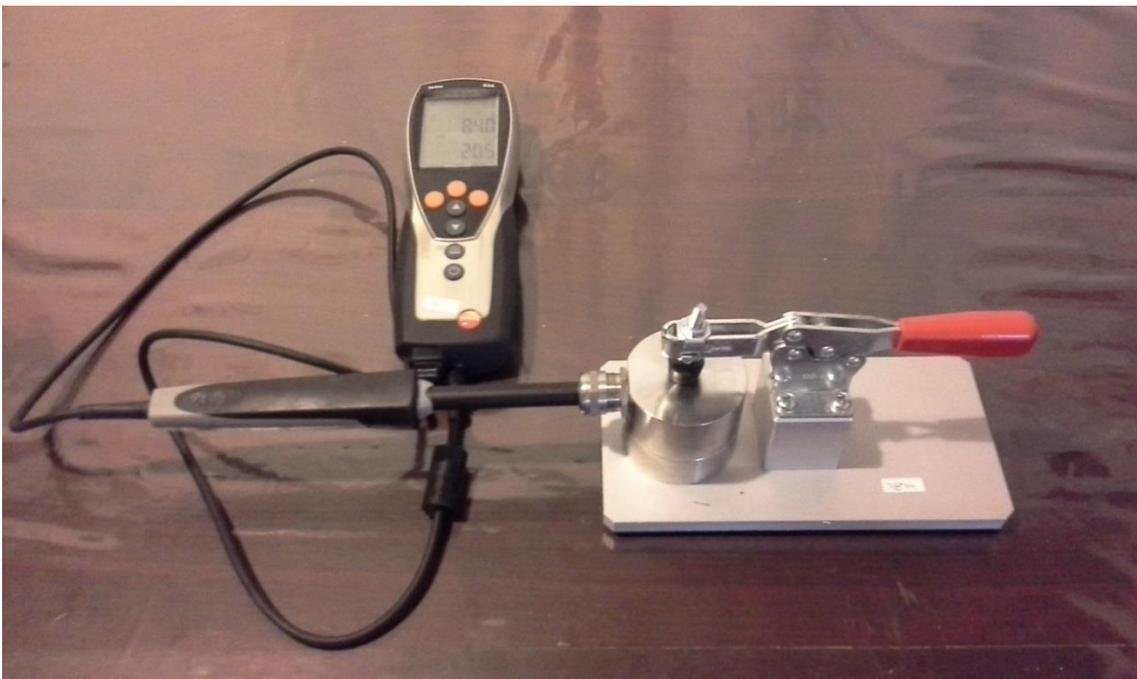
El control diario de temperatura y humedad ambiente del secadero donde se encontraba el producto en proceso de maduración, fue realizado mediante un equipo que consta de un termómetro y un higrómetro. El mismo siempre se encontró ubicado adelante en el secadero.



*equipo instalado en el secadero

4.3 Medición de la actividad de agua

La medición de la actividad de agua (a_w) se realizó diariamente en el producto durante el período de tiempo que se encontró en proceso de maduración en el secadero. Para su realización se procedió al corte del producto en pequeños trozos, seleccionándolos de manera tal que la muestra fuera representativa del mismo (se incluyó centro y periferia en una misma muestra), luego la muestra era colocada en un recipiente pequeño plástico, que se ponía dentro del equipo medidor (el cual se cierra herméticamente). Una vez cerrado, se encendía el equipo y se esperaba el resultado hasta que la medición marcada en la pantalla fuera constante (aproximadamente media hora).



*equipo utilizado para la medición de la actividad de agua (a_w)

4.4 Controles microbiológicos

Respecto al análisis microbiológico se realizó por un lado un control microbiológico del proceso, para poder determinar la calidad de la materia prima utilizada, enviándose muestras de carne de toro, carne de cerdo, tocino, tripa hidratada y especias; también como parte del control del proceso, se envió muestra al laboratorio de la pasta antes de ser embutida y del producto recién embutido.

Por otro lado se realizó un control microbiológico del secado/maduración, enviándose muestras del producto a los 3 y 6 días de permanencia en el secadero (siendo el día 6 cuando salen del mismo, para ser expedidos a la venta). Considerando que el secadero de la empresa no cuenta con un sistema automatizado para regular la temperatura y humedad del ambiente, ni el flujo de aire, y que por lo tanto, las condiciones dentro del mismo no son homogéneas, se enviaron muestras de los sectores “fondo”, “medio” y “adelante” del secadero.

Las muestras a analizar fueron enviadas al laboratorio del departamento de calidad de la empresa.

4.4.1 Microorganismos controlados en este proyecto

Enterobacterias

La familia enterobacteriaceae está formada por bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no formadores de esporos y con necesidades nutricionales sencillas. Se hallan ampliamente distribuidos en el agua, la tierra, las plantas y muy especialmente en el tracto intestinal del hombre y los animales, formando parte de la flora normal del intestino grueso. Su presencia en agua y alimentos es indicativa de una contaminación fecal reciente (días o semanas), siendo indicador de calidad del producto. Nos da un índice del grado de contaminación de la materia prima, fallas en los procesos de elaboración o recontaminaciones posteriores (Blanco et al., 2002).

Las enterobacterias se clasifican en dos categorías atendiendo a su grado de patogenicidad o virulencia: patógenas verdaderas o primarias (Salmonella, Shigella); oportunistas o potenciales (E.coli, Yersinia).

El recuento de enterobacterias en este proyecto formó parte tanto del control microbiológico del proceso como del control del secado/maduración.

Staphylococcus aureus coagulasa positivo

Son cocos Gram positivos, aislados o agrupados en racimos, anaerobios facultativos, no esporulados e inmóviles.

Su hábitat natural es la flora normal de piel y mucosas de animales y del hombre, pueden encontrarse transitoriamente en el tránsito gastrointestinal. En el hombre el principal reservorio es cavidad nasal, desde donde pasan a la piel y a las heridas bien directamente o indirectamente (Jay, 1992).

Staphylococcus aureus es la especie patógena por excelencia, tiene como principales factores de virulencia: toxinas (enterotoxina, exfoliativa, de síndrome de choque tóxico), enzimas extracelulares (hemolisinas, leucocidina), y componentes superficiales (película biológica, proteína A) (de la Fuente y Orden, 2002).

La enterotoxina, responsable de brotes de intoxicación alimentaria, es termoresistente y resistente a enzimas proteolíticas. Los síntomas, que comienzan entre 1 y 6 horas post-ingestión del alimento contaminado, son náuseas, dolores abdominales, vómitos, diarrea, sudoración, abatimiento y, a veces, descenso de la temperatura corporal (Jay, 2002)

El análisis de Staphylococcus aureus en este proyecto formó parte tanto del control microbiológico del proceso como del control del secado/maduración.

Anaerobios sulfito reductores

La presencia de anaerobios sulfito reductores no permite identificar, pero permite suponer, la presencia en una materia prima o alimento de *Clostridium perfringens*, causante de intoxicación alimentaria. La toxiinfección por *C. perfringens* es una de las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) más comunes, aproximadamente el 20% de los casos anuales de intoxicación alimentos (Jay, 1992).

Es un bacilo Gram positivo anaerobio, mesófilo, crece a pH 5-5.8, y a valores de a_w 0.97. Ampliamente distribuido en la naturaleza, frecuente en el suelo tracto gastrointestinal de animales y el hombre (Cerrato y valle, 2002). Forma esporas que persisten en el suelo, agua y sedimentos.

Los síntomas aparecen entre 6 – 24 horas post ingestión y se caracterizan por dolor abdominal agudo, náuseas, fiebre y raramente vómitos.

En este proyecto los análisis para detectar la presencia de anaerobios sulfito reductores fueron realizados en la pasta

Salmonella spp.

Pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos que crecen entre 7 – 48 ° C, pH entre 4-8, y con a_w 0.93.

Su reservorio principal es el intestino de animales homeotermos y poiquilotermos. Tiene viabilidad alta, resiste semanas en agua y años en suelo, los animales infectados pueden permanecer como portadores. Se aísla de la mayoría de los alimentos, del hombre y animales. La vía de transmisión más común es fecal/oral (Goyache y Briones, 2002)

Los síntomas ocurren 12-24 horas post ingestión del alimento contaminado, con náuseas, vómitos, dolor abdominal, cefalgias, escalofríos y diarrea;

acompañados por abatimiento, debilidad muscular, lasitud, fiebre moderada, desasociado y somnolencia; suelen durar 2-3 días (Jay, 1992).

El riesgo en salud pública es significativo porque varias serovariedades, asociadas con varios tipos de alimentos, son muy patógenas para el hombre. La carne puede presentar salmonelas si el animal padecía salmonelosis clínica. También la manipulación con cargas elevadas de salmonelas contamina manos de operarios, superficies, utensilios, que son vehículos para los alimentos. La prevención tiende a evitar la contaminación de los alimentos, limitar su multiplicación y utilizar procesos de inactivación siempre que el alimento lo permita (Goyache y Briones, 2002).

En este proyecto la presencia de Salmonella fue buscada tanto en control microbiológico del proceso como del control del secado/maduración.

Escherichia coli

Pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es la especie tipo por ser la única con significancia clínica, es un patógeno oportunista, ampliamente distribuido en el ambiente, sobrevive en el agua y los alimentos.

Las cepas implicadas en ETA, por su mecanismo de acción patógeno son enteropatógenas (EPEC), enterotocigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC) y enterohemorrágicas (EHEC) (Jay, 1992).

Pueden producir infecciones entéricas (diarrea, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y enfermedad de los edemas o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis e infecciones pulmonares y de heridas).

Las cepas patógenas transmitidas por alimentos se encuentran en heces; su presencia en alimentos en cifras suficientemente elevadas es índice de contaminación fecal, y posible presencia de otros enteropatógenos como salmonelas.

El análisis de E.coli en este proyecto formó parte tanto del control microbiológico del proceso como en el control del secado/maduración.

Aerobios mesófilos

Es un indicador de calidad, cuya presencia en alimentos concretos en cantidades determinadas puede ser utilizada para evaluar la calidad, predecir la vida útil, verificar si la limpieza y la desinfección fueron correctas, si se respetaron las temperaturas y tiempos a los que fueron sometidos los alimentos, fallas en el mantenimiento y temperatura y probable contaminación durante la elaboración. La utilidad del indicador depende de la historia del producto y el momento de la toma de muestra (ANMAT, 2011).

En este proyecto, sólo se buscó este indicador en la materia prima (carne de toro, carne de cerdo, tripa y especias), en la pasta lista para embutir y en el producto recién embutido. No se utilizó este indicador en los controles durante la maduración, ya que como bien lo indica el CAA, en ese caso no tiene valor. Esto se debe al agregado de cultivos bacteriológicos y el desarrollo y multiplicación de estas bacterias beneficiosas, durante la maduración. Como consecuencia de esto puede dar valores muy elevados, por lo que en el caso de los productos fermentados crudo-curados, no estaría significando una deficiente calidad o algún tipo de falla de higiene, mantenimiento o elaboración.

Muestra 25 gr.	Recuento de enterobacterias ufc/g (log)	Recuento de escherichia coli ufc/g (log)	Recuento de staphylococcus coag. + ufc/g (log)	Salmonella spp. En 25 gr.	Recuento de anaerobios sulfito reductores ufc/g	Recuento de aerobios mesófilos ufc/g (log)
Agua peptonada buferada	Agar violeta rojo bilis con glucosa	Agar Brilliance E.coli/Coliformes Selective Medium	Agar Baird Parker con yema de huevo y telurito de potasio	ISO 6579	Agar diferencial para clostridios	Agar recuento total
Marca Britania	Marca Britania	Marca Britania	Marca Britania	Marca Britania	Marca Britania	Marca Britania

Tabla 10: Medios de cultivo utilizados. Los métodos utilizados en el laboratorio de la empresa se encuentran detallados en Anexo 1 (Instructivo operativo ensayos microbiológicos) y Anexo 2 (Técnica para la detección de Salmonella).

Fuente: Laboratorio del área de calidad de la empresa elaboradora.

4.5- Línea de producción de la empresa

La línea de producción de la empresa, se inicia con el picado de la materia prima cárnica, en el sector de picadas. La carne de toro destinada a la elaboración de secos es congelada en bloque, por lo que se realiza una pre-reducción de ese bloque en trozos, utilizando una maquina especial para este proceso, denominada guillotina o desmenuzadora. La carne de cerdo utilizada se encuentra refrigerada y es previamente picada en una máquina picadora.

A su vez mientras se realiza el pre-picado de la materia prima cárnica, en el sector de aditivos, ubicado en la planta alta del establecimiento, se los prepara según la formulación de la empresa; se realiza el pesado de cada ingrediente y se colocan en bolsas dentro de un carro que es transportado a la planta baja a través de un montacargas. Respecto al manejo de los starters en la sala de aditivos, es importante destacar que la presentación del mismo es de forma liofilizada en sobre de 25 gramos, por lo cual es almacenado a temperatura de congelación en freezer (-18°C); en la fábrica no siempre se utiliza todo el contenido del sobre en una elaboración, debido a los pequeños volúmenes de producción, a saber: los sobres de 25 gramos están indicados para producciones de 200 kilos aproximadamente, según instrucción del proveedor, mientras que en la empresa una partida de longaniza calabresa es de 98-100 kg. Por lo tanto el sobre con el contenido restante debe cerrarse correctamente y ser utilizado en un lapso no mayor a dos meses, de manera tal que no haya contaminación del cultivo con microorganismos indeseables, ni inactivación de las bacterias del mismo por acción de agentes externos.

Una vez picada la materia cárnica y preparados los aditivos, se procede al mezclado y picado final de los ingredientes. Este proceso se lleva a cabo en la Cutter (maquina cortadora y mezcladora), donde se agrega la materia cárnica previamente picada, el tocino congelado y los aditivos. La carga de la materia cárnica y grasa en la cutter se realiza por elevación automática del carro contenedor de la materia prima cárnica y el tocino, cayendo por gravedad al interior de la máquina. Los aditivos son agregados uno a uno mientras la pasta se pica y mezcla, el starter es lo último que se agrega y previo a ser incorporado a la mezcla en la cutter, es diluido con agua tibia (con bajo contenido de cloro para evitar que el mismo afecte la viabilidad bacterias) y

batido dentro de la misma bolsa donde fue preparado, para estimular su activación.

Con el paso de picado y mezclado se logra el grosor del grano que se quiere obtener. Para el caso de la longaniza calabresa es un picado grueso. Y además se mezclan homogéneamente los aditivos en la pasta.

La pasta obtenida es transportada en un carro de acero inoxidable al sector de embutido y atada. La carga de la embutidora se realiza por elevación automática del carro cayendo la pasta por gravedad hacia a embutidora.

Un operario realiza el embutido en tripa natural bovina (N° calibre 40/42) embute varios metros y la deposita en la misma mesa donde se encuentran los operarios encargados de atar el producto recién embutido.

La tripa utilizada es una tripa vacuna salada, que es remojada en agua tibia antes de su uso, para reconstituirla, sacarle restos de sal y que adquiera nuevamente elasticidad. Se encuentran en un recipiente con agua tibia al alcance del operario que embute. A medida que se va embutiendo la pasta, se utilizan las tripas que se encuentran en el mismo.

El producto ya embutido y atado, es sumergido en un carro que contiene agua y diluido en ella el starter utilizado para el emplume. El mismo se presenta liofilizado, por lo que se almacena al igual que el cultivo microbiano, en freezer a temperatura de congelación (-18°C) y está compuesto por el hongo *Penicilium nalgiovense* (características y función en punto 4.6.2). Una vez realizado esto, es transportado en carro de acero inoxidable al secadero correspondiente. En este se cuelgan las longanizas y antes de comenzar a darse las condiciones adecuadas para el proceso de maduración, se deja que el producto gotee, para que el secadero no se cargue de tanta humedad. La temperatura y humedad se controlan manualmente con un dispositivo que cuenta con un mechero a gas que da calor y una fuente metálica encima del mismo, con la cual se puede aumentar la humedad agregándole agua (Imagen 5).

Las paredes del secadero son de un material impermeable, de superficie lisa, color claro y autorizado por SENASA. Las medidas del mismo son: 4 mts de alto, 3 mts de ancho y 12 mts de largo.

Los productos secos elaborados en la fábrica son del tipo “acidificación rápida” o “corto estacionamiento”, por lo que el producto sale del secadero a los 7 días de comenzada la etapa de maduración.

Una vez cumplidos los 6 días el producto es rotulado manualmente por un operario, y expedido para la venta.



Imagen 5: Dispositivo a gas utilizado para controlar la temperatura y humedad del secadero manualmente.

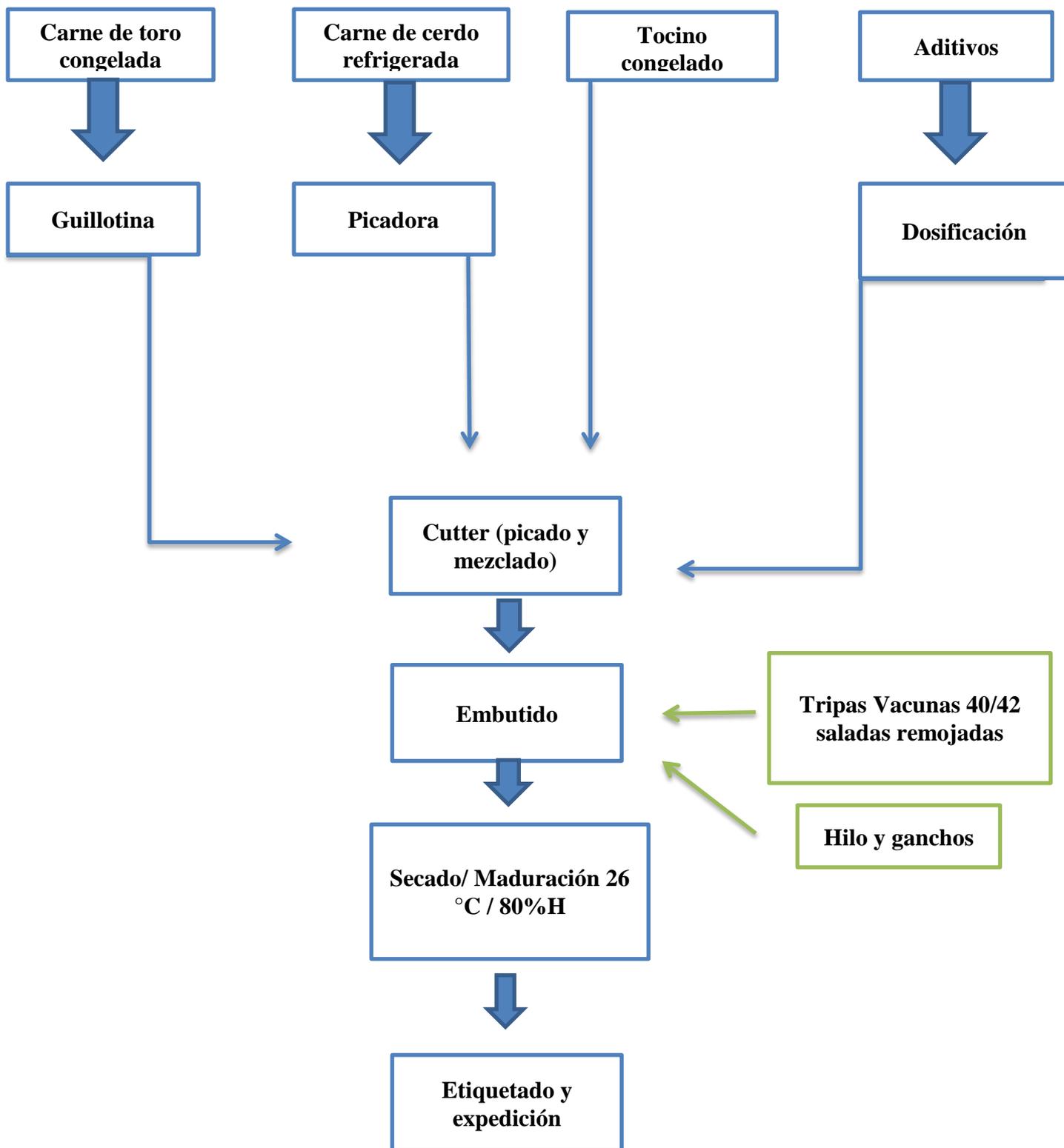


Figura 1: Flujograma de la elaboración de la Longaniza calabresa

.Fuente: empresa elaboradora, 2014

Imágenes de la línea de producción



Imagen 6: Carne de toro congelada en bloque.



Imagen 7: Bloque congelado de carne de toro ingresando a la guillotina.



Imagen 8: Trozos congelados de carne de toro saliendo de la guillotina.



Imagen 9: Cutter. Picado de la materia prima cárnica y tocino.



Imagen 10: Cutter. Incorporación de los aditivos a la pasta.



Imagen 11: Embutido de la pasta.



Imagen 12: Longaniza Calabresa en secadero. Etapa de maduración.

4.6 Ingredientes de la longaniza calabresa y sus proporciones

La fórmula de la longaniza calabresa se compone de la siguiente manera:

Carne de toro.....	38,3%
Carne de cerdo.....	33,5%
Tocino.....	20,1%
Agua.....	2,4%
Starter.....	0.009%
Nitrato.....	0.021%
Nitrito.....	0,011%
Condimentos:	0,95%
Ajo en polvo	
Gluten de trigo	
Hinojo semillas	
Pimienta blanca molida	
Pimienta negra partida	

Sal.....	2.7%
Azúcar.....	0,48%
Fosfatos.....	0,153%
Eritorbato.....	0,086%
Proteínas.....	0,48%
Leche en polvo.....	0,76%

4.6.1 Starter utilizado en la mezcla de la Longaniza calabresa

- Efecto: Actúa en el desarrollo del color y del sabor, y de su estabilización. Colabora en la protección de las grasas presentes. Disminuye sensiblemente los tiempos de producción y permite estandarizar los parámetros del proceso a niveles constantes de temperatura y humedad. Domina la flora natural de la carne evitando el desarrollo de bacterias acidificantes indeseables. Preserva el producto final del desarrollo de estafilococos.
- Características técnicas: compuesto por partes iguales de *Pediococcus pentosaceus* y *Micrococcus varians* I, en una concentración mínima de 10^8 a 10^9 células viables.
 - *P. pentosaceus*: es denominado de alta velocidad de metabolización de hidratos de carbono, produce acidificación del embutido en 18 horas, con bajos niveles de azúcar común.
 - *M. varians*: trabaja a partir de 6°C en la transformación de los nitratos en sus dos etapas, de nitrato a nitrito y de óxido nitroso a nitrosohemocromo, acelerando la reacción de color y su estabilización en el tiempo de vida útil. También actúa en la producción de catalasa y lipasa, ambas enzimas responsables de la descomposición de los peróxidos y de la exaltación del aroma y sabor.
- Manejo: una vez abierto el envase, si no se utiliza la totalidad del contenido, guardarlo cerrado y reutilizarlo dentro de un período no mayor a 2 meses.

4.6.2 Starter utilizado en la superficie de la longaniza calabresa ya embutida

El starter utilizado es un cultivo de mohos para tratamiento en superficie de embutidos secos. Este cultivo es de rápido crecimiento y puede ser utilizado en condiciones de humedad y/o temperatura inferiores a otros cultivos de mohos. Proporciona a los embutidos una capa blanquecina muy uniforme. Controla la flora superficial, suprimiendo el crecimiento de organismos indeseables tales como flora indígena, levaduras y bacterias.

El cultivo impide la formación de un reborde seco y controla el proceso de secado. Más aún, durante la maduración, el hongo descompone el ácido láctico, dando como resultado un incremento del pH y un sabor suave.

4.7 Muestreo del producto

Como se especificó anteriormente, el ensayo fue realizado sobre tres lotes de producción de longaniza calabresa, que a partir de este momento serán denominados como lote 1, lote 2 y lote 3. A continuación se especifica la cantidad y el tipo de muestras utilizadas para cada medición, en cada lote:

Lote 1

Control del proceso: El día de elaboración del producto se muestrearon para envío a laboratorio, materias primas (tocino, carne de toro, carne de cerdo, tripa hidratada y especias) y también de la mezcla con aditivos recién salida de la cutter y del producto recién embutido.

Con respecto a la medición de pH en esta etapa, fue realizada en la carne de toro y la de cerdo.

Control del secado/maduración: Para este lote fueron utilizadas en total 36 unidades de longaniza calabresa. Las cuales fueron utilizadas para realizar las mediciones de pH y aW, y para los controles microbiológicos.

Lote 2

Control del proceso: El día de elaboración del producto se muestrearon para envío a laboratorio, materias primas (tocino, carne de toro, carne de cerdo) y también de la mezcla con aditivos recién salida de la cutter y del producto recién embutido.

En este caso no se envió a laboratorio las especias y la tripa, ya que correspondían a la misma partida utilizada para la elaboración del lote 1.

Con respecto a la medición de pH en esta etapa, fue realizada en la carne de toro y la de cerdo.

Control del secado/maduración: Para este lote fueron suministradas en total 16 unidades de longaniza calabresa. Las cuales fueron utilizadas para realizar las mediciones de pH y aW, y para los controles microbiológicos.

Lote 3

Control del proceso: El día de elaboración del producto se muestrearon para envío a laboratorio, materias primas (tocino, carne de toro, carne de cerdo) y también de la mezcla con aditivos recién salida de la cutter y del producto recién embutido.

En este caso no se envió a laboratorio las especias y la tripa, ya que correspondían a la misma partida utilizada para la elaboración del lote 1.

Con respecto a la medición de pH en esta etapa, fue realizada en la carne de toro y la de cerdo.

Control del secado/maduración: Para este lote fueron suministradas en total 16 unidades de longaniza calabresa. Las cuales fueron utilizadas para realizar las mediciones de pH y aW, y para los controles microbiológicos.

V- RESULTADOS

5.1 LOTE 1

Medición pH, aW, temperatura y humedad ambiente

La materia prima cárnica utilizada presentaba un pH promedio de 6. Una vez que el producto pasó a la etapa de secado/maduración el pH presentó la evolución que se observa en la tabla n°11 y gráfico n°1, observándose que al inicio de esta etapa el pH estaba en un valor de 5.65 y 5.53 los días 1 y 2 respectivamente, luego ya al día 3 se puede ver un notorio descenso del pH (4.63) manteniéndose aproximadamente en ese valor durante el tiempo restante del proceso. La misma fue la esperada de acuerdo al starter utilizado y considerando que es un embutido seco de corto estacionamiento o acidificación rápida, en los cuales el pH normalmente alcanza valores finales entre 4.8 – 5.

La evolución del aW puede apreciarse en la tabla n°11 y el gráfico n°2, inicia con un valor de 0.94 y va disminuyendo hasta llegar a un valor de 0.90. Su evolución y valor final también se encontró dentro de lo esperado para el tipo de producto elaborado.

Respecto a las condiciones de temperatura y humedad del secadero (tabla-) podemos observar que no fueron adecuadas, de acuerdo a lo descrito en la teoría (Hernández et al., 2003). Recordando la misma, los valores de humedad y temperatura ambiente establecidos para cada etapa son:

- Estufado: una temperatura de 24-25 °C, en los casos como este que se busca una fermentación rápida, y 90 % de humedad relativa ambiente.
- Secado: una temperatura entre 16 y 22 °C y 75 – 80 % de humedad relativa ambiente
- Estacionamiento: una temperatura de 10 a 15 °C y 65 – 80 % de humedad relativa ambiente.

Dicho esto podemos observar las diferencias obtenidas. La humedad se mantuvo en niveles muy bajos. Y la temperatura, si bien en un inicio se encontró dentro de lo adecuado para la etapa inicial de estufado, luego siguió manteniéndose a niveles un poco elevados para las etapas siguientes, lo cual puede favorecer la aparición y mantenimiento de bacterias indeseables.

Tabla 11: Recolección de datos del lote 1, en secadero

Día	pH (promedio)	aW (promedio)	Temperatura ambiente (°C)	Humedad relativa ambiente (%)
0	5.65	0.94	23	70
1	5.53	0.94	26	68
2*	-	-	-	-
3	4.63	0.912	26	65
4	4.61	0.91	26.8	57
5	4.69	0.90	25.2	50
6	4.75	0.90	22	50

*el día 2 la fábrica se encontraba cerrada por lo que no fue posible realizar las mediciones.

Gráfico 1: Evolución del pH – lote 1

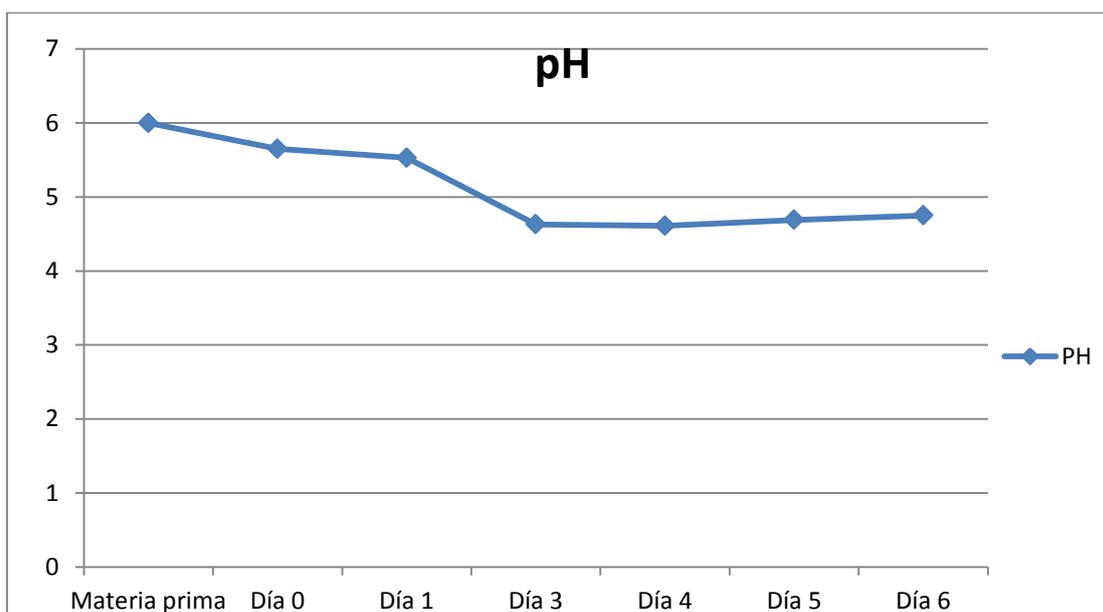
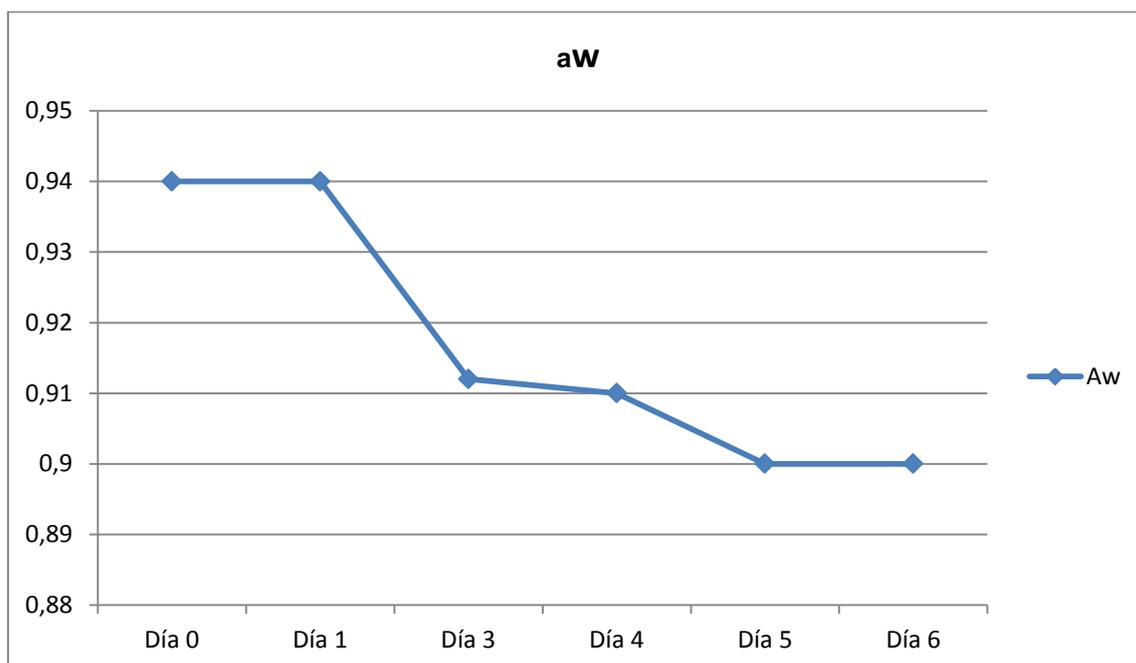


Gráfico 2: Evolución del aW – lote 1



Resultados de los análisis microbiológicos de lote 1

Todos los resultados microbiológicos del control de materia prima y proceso fueron recibidos expresados como elevados o normales y en el caso de Salmonella como presencia o ausencia. No fue así con los resultados del producto final, en ese caso el resultado se recibió expresado en unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/gr) y en el caso de búsqueda de presencia de E.coli y Salmonella como presencia o ausencia.

Respecto a la materia prima analizada se obtuvieron recuentos elevados de enterobacterias en la carne de toro, recorte de cerdo y tocino. Luego una vez realizada la determinación de E.coli, se detectó un elevado recuento en la carne de toro, no así en el recorte de cerdo y tocino. En esta etapa no fue detectada presencia de Salmonella en ninguna de las materias primas utilizadas.

Otro resultado de importancia obtenido en esta etapa fue la presencia de un recuento elevado S. aureus, también detectado en la carne de toro.

Durante el control del proceso, como se explicó anteriormente fueron muestreadas mezcla del producto con aditivos en la mezcladora/cortadora

(cutter) y de la longaniza recién embutida. En este caso ambas muestras dieron recuentos elevados de enterobacterias y de E.coli.

En el producto recién embutido se encontró también un elevado recuento de S.aureus y Anaerobios sulfito reductores.

Todos estos resultados obtenidos durante el control del proceso, permitieron dar una idea de la calidad de la materia prima y ver también a partir de esta base, si se lograba mediante el uso de starters y las condiciones dadas durante la maduración, obtener un producto seguro, es decir sin la presencia de microorganismos indeseables según el CAA.

Durante la etapa de secado/maduración, se realizaron dos análisis microbiológicos a los 3 y 6 días de maduración. En este punto es importante destacar que a los 6 días, momento en que el producto estaba siendo etiquetado y saliendo a la venta, se detectó en una muestra la presencia de E.coli, resultando no apta de acuerdo al límite establecido en el CAA, el cual indica que en embutidos secos debe haber ausencia de E.coli en 65gr.

5.2 LOTE 2

Mediciones pH, aW, temperatura y humedad ambiente

La materia prima cárnica utilizada presentaba un pH promedio de 6.1. Una vez que el producto pasó a la etapa de secado/maduración el pH presentó la evolución que se observa en la tabla n°12 y gráfico n°3, iniciando con un valor de 5.8 y descendiendo gradualmente hasta valores entre 4.8 y 5.0. La misma se encontró dentro del rango esperado, de acuerdo al starter utilizado y considerando que es un embutido seco de corto estacionamiento o acidificación rápida, en los cuales el pH normalmente alcanza valores finales entre 4.8 – 5.

La evolución del aW puede apreciarse en la tabla n°12 y el gráfico n°4, si bien no se ve un descenso marcado, los valores se mantienen entre 0.92 y 0.91, siendo estos valores aceptables para el tipo de producto elaborado.

Respecto a las condiciones de temperatura y humedad del secadero (tabla-) podemos observar que no fueron adecuadas, de acuerdo a lo descrito en la teoría (Hernández et al., 2003). Los valores de humedad y temperatura

ambiente establecidos en la teoría para cada etapa fueron explicados anteriormente (5.1 LOTE 1).

La humedad en la etapa inicial se encontró muy por debajo de los valores ideales, comenzando con un valor del 60% y manteniéndose luego en valores que apenas superaban el 70%. La temperatura, si bien en un inicio se encontró dentro de lo adecuado para la etapa inicial de estufado (24° C), luego continuó manteniéndose a niveles un poco elevados para las etapas siguientes (entre 25 y 24 °C), lo cual puede favorecer la aparición y mantenimiento de bacterias indeseables.

Tabla 12: Recolección de datos del lote 2, en secadero

Día	pH	AW	Temperatura ambiente (°C)	Humedad relativa ambiente (%)
0	5.8	0.922	24	60
1	5.2	0.921	25	65
2*	-	-	-	-
3	4.85	0.92	25.6	73
4	4.88	0.92	25	73
5	4.9	0.92	24.5	62
6	5	0.913	20.9	68

*el día 2 la fábrica se encontraba cerrada por lo que no fue posible realizar las mediciones.

Gráfico 3: evolución del pH – lote 2

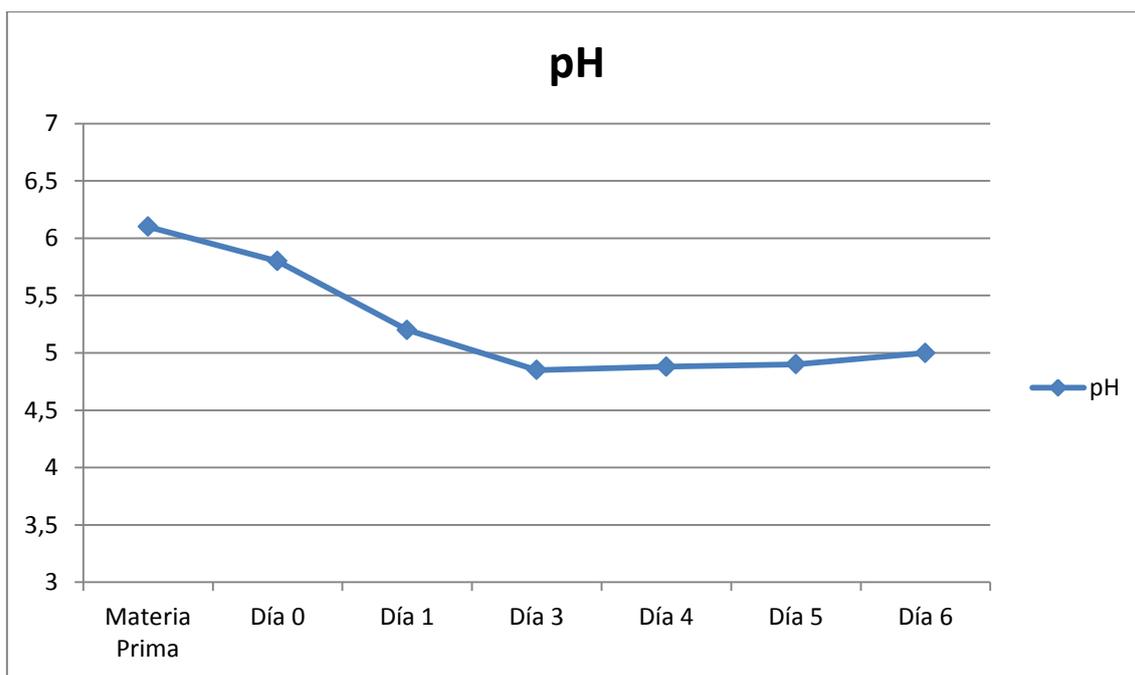


Gráfico 4: evolución del aW – lote 2



Resultados de los análisis microbiológicos del lote 2

Respecto a la materia prima analizada se obtuvieron recuentos elevados de enterobacterias en el recorte de cerdo y el tocino. Pero no hubo, a diferencia

del lote 1, recuentos elevados de E. coli en ninguna de las materias primas. Tampoco fue detectada presencia de Salmonella en ninguna de ellas.

Otro resultado de importancia obtenido en esta etapa fue la presencia de un recuento elevado S. aureus, también detectado en la carne de toro.

Durante el control del proceso, como se explicó anteriormente se tomó muestra de la pasta con aditivos y condimentos, en la mezcladora/cortadora (cutter) y de la longaniza recién embutida. En este caso ambas muestras dieron recuentos elevados de enterobacterias.

Además en la mezcla hubo un alto recuento de E.coli y en el producto recién embutido un alto recuento de Anaerobios sulfitos reductores.

Respecto a los controles realizados durante la etapa de secado/maduración se obtuvo a los 3 días, presencia de E.coli y elevados recuentos de S.aureus, de enterobacterias y anaerobios sulfito reductores, este resultado obtenido en la mitad de la etapa de maduración, nos indica una dificultad en el proceso para disminuir los valores iniciales de bacterias indeseables; relacionándose esto con la calidad de la materia prima y las condiciones ambientales inadecuadas para esta instancia de la maduración. Luego en el segundo control microbiológico a los 6 días, momento en que el producto estaba siendo etiquetado y saliendo a la venta, todos los parámetros anteriores ya se encontraban dentro de lo establecido por el CAA, excepto los anaerobios sulfito reductores, de los cuales aún se observó un recuento elevado, siendo el mismo de $10^{3,6}$ ufc/gr, superando el límite establecido por el código para embutidos secos que es $m= 10^2$, $M= 10^3$.

5.3 LOTE 3

Mediciones pH, aW, temperatura y humedad ambiente

La materia prima cárnica utilizada presentaba un pH promedio de 6. Una vez que el producto pasó a la etapa de secado/maduración el pH presentó la evolución que se observa en la tabla n°13 y gráfico n°5, el valor al inicio de esta etapa fue de 5.68 para luego mediante un descenso gradual alcanzar un valor de 4.75. La evolución se encontró dentro del rango esperado, de acuerdo al starter utilizado y considerando que es un embutido seco de corto

estacionamiento o acidificación rápida, en los cuales el pH normalmente alcanza valores finales entre 4.8 – 5.

La evolución del aw puede apreciarse en la tabla n°13 y el gráfico n°6. Su evolución y valor final también se encontró dentro de lo esperado para el tipo de producto elaborado, partiendo de un valor 0.94 hacia un descenso progresivo con valores cercanos a 0.92. En la muestra del último día (día 6) se encontró incluso un valor más bajo de lo esperado llegando a 0.88.

Respecto a las condiciones de temperatura y humedad del secadero (tabla-) podemos observar que la temperatura inició elevada pero luego a diferencia de los lotes 1 y 2, en vez de mantenerse entre los 24 y 25 °C, disminuyó manteniéndose entre los 22°C y 23°C.

La humedad en la etapa inicial, si bien continúa encontrándose por debajo de lo ideal que es un 85-90% (P. del Monte et al. 1990; Hernández et al. 2003), en este lote fue considerablemente más apropiada que en los lotes anteriores. En los lotes 1 y 2 se comenzó con una humedad del 70 y 60 % respectivamente, mientras que en este tercer lote se inició con una humedad relativa ambiente del 80%. Además la evolución de la humedad dentro del secadero al pasar los días, fue aproximada a lo que se espera en la elaboración de este tipo de productos.

Tabla 13: recolección de datos del lote 3, en secadero.

Día	pH	AW	Temperatura ambiente (°C)	Humedad relativa ambiente (%)
0	5.68	0.94	21	80
1	4.9	0.94	25	71
2	4.68	0.93	23	72
3	4.65	0.92	22	70
4	4.7	0.92	22	60
5*	-	-	-	-
6	4.75	0.88	20	60

*el día 5 la fábrica se encontraba cerrada por lo que no pudieron ser tomadas las mediciones.

Gráfico 5: evolución del pH – lote 3

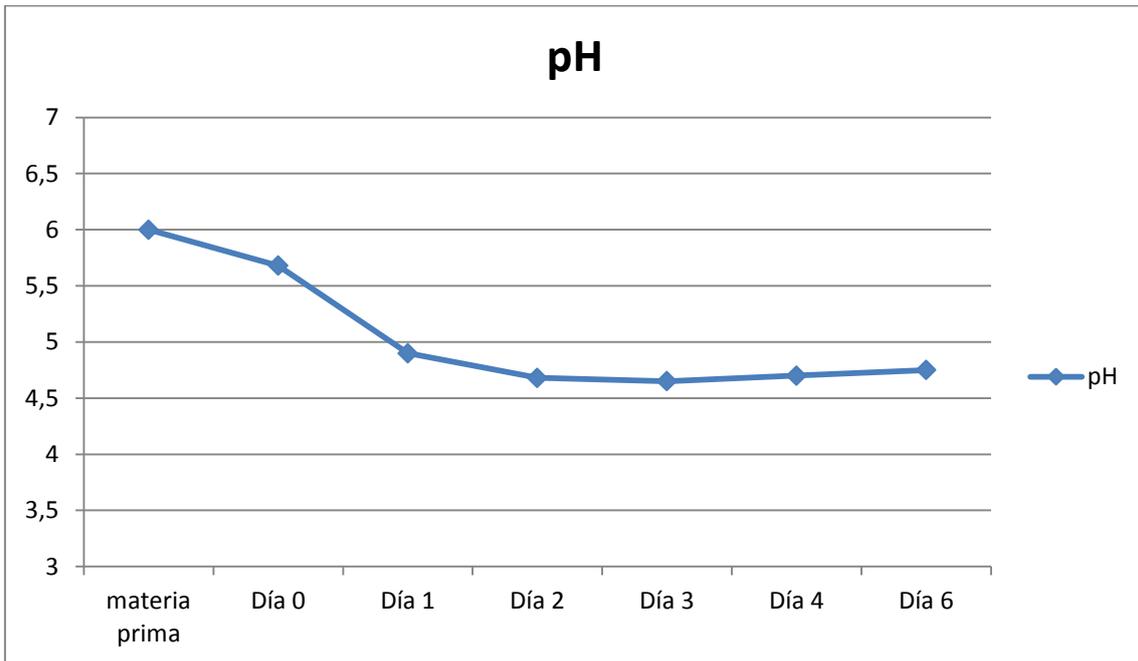
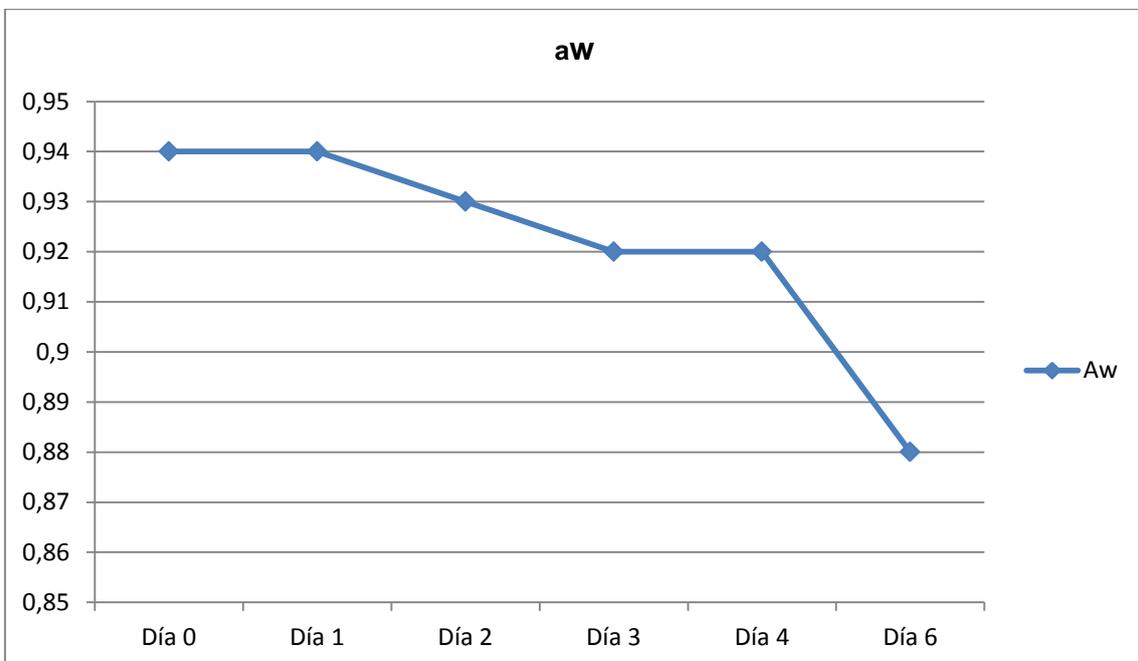


Gráfico 6: evolución del aW – lote 3



Resultados de los análisis microbiológicos del lote 3

Respecto a la materia prima analizada se obtuvieron recuentos elevados de enterobacterias en la carne de toro y el tocino. Pero no hubo recuentos elevados de E. coli en ninguna de las materias primas. Tampoco fue detectada presencia de Salmonella en ninguna de ellas.

Durante el control del proceso, se encontró un recuento elevado de anaerobios sulfito reductores en el producto recién embutido.

Todos estos resultados obtenidos durante el control del proceso, permitieron dar una idea de la calidad de la materia prima. Que en este caso, según los resultados obtenidos, vemos una diferencia de calidad en lo que se refiere a microbiología, con respecto a los lotes anteriores. En este lote no hubo tantos recuentos elevados de bacterias indeseables como en los lotes 1 y 2.

El control microbiológico realizado durante la etapa de secado/maduración, no presento ningún tipo de recuento elevado ni presencia de bacterias indeseables.

VI- DISCUSIÓN

Durante la maduración, los embutidos se vuelven alimentos más estables y seguros como consecuencia de la sucesión de barreras al crecimiento microbiano (Leistner, 1995). Pero para que estas barreras sean eficientes es necesario que: a) la materia prima utilizada sea de buena calidad y b) que las condiciones ambientales durante la maduración sean las adecuadas para el tipo de producto que estamos elaborando

El grado de descenso de pH dependerá principalmente de la temperatura de maduración. El grado de reducción de la a_w de los embutidos depende de la formulación, la temperatura y, sobre todo, de la humedad relativa de la cámara de maduración (Lücke, 1998; Leistner, 1995).

La humedad relativa de la cámara se mantuvo a niveles más bajos de lo ideal, especialmente en los lotes n°1 y n°2, lo cual, junto con la falta de control del flujo de aire de la cámara (dato que desconocemos) y las altas temperaturas registradas durante casi toda la etapa de maduración en la elaboración de estos dos lotes pudo haber causado una pérdida de agua despareja del producto; favoreciendo el mantenimiento de bacterias indeseables. Ya que un secado inadecuado hace que el producto retenga agua que debe evaporarse, esto hace que, junto a una elevada temperatura ambiental, las bacterias no deseables tengan la capacidad de multiplicarse.

En el lote n°3, a diferencia de los otros dos, la temperatura no se mantuvo tan elevada durante toda la etapa de maduración y los valores de humedad relativa ambiente, se acercaron más a lo ideal; mayor en el inicio, bajando gradualmente, a medida que se terminaba el proceso de maduración. Lo cual permite una disminución más gradual y homogénea del agua dentro del producto.

Las mediciones realizadas en esta tesina denotan una falta de control sobre las condiciones ambientales en el secadero.

Si bien estas mediciones pueden no ser del todo certeras, ya que el dispositivo utilizado para medir temperatura y humedad ambiente se encuentra instalado solamente en el sector de adelante del secadero, resultaron de utilidad para comprender lo que estaba ocurriendo. Por este motivo, sabiendo que las

condiciones no eran parejas en todo el secadero, las muestras analizadas, fueron tomadas de distintos sectores del secadero.

Hugas Maurici (1994), explica que el uso de los cultivos iniciadores constituye un instrumento tecnológico del que dispone el fabricante para controlar la fermentación, garantizar la calidad y estandarizar el producto. Por otra parte la calidad microbiológica de las materias primas no es siempre la deseable; los problemas higiénicos y sensoriales que podrían resultar de esto pueden ser limitados aunque no solventados en su totalidad, mediante la adición de cultivos iniciadores adecuados.

En este trabajo, los resultados microbiológicos demuestran que en el lote n° 1 y n° 2, se inició con una materia prima de menor calidad microbiológica respecto al lote n°3. Diferencia que se vio también luego, en el análisis microbiológico del producto listo para la venta, donde en los lotes n° 1 y n° 2 se observó presencia de E.coli y un elevado recuento de anaerobios sulfito reductores respectivamente. Caso que no ocurrió en el lote n°3

VII- CONCLUSIÓN

De los tres lotes de longaniza calabresa con los que se ha trabajado en esta tesina, dos de ellos (lote n°1 y lote n°2) resultaron no aptos de acuerdo a los límites microbiológicos establecidos por el CAA.

Si bien en todos ellos, se utilizó el mismo starter, esta diferencia en el resultado final, entre los dos primeros lotes y el lote n°3, podría deberse a:

- La calidad de la materia prima utilizada: los lotes n°1 y 2 fueron elaborados con una materia prima de menor calidad, en lo que respecta a la microbiología de la misma, es decir, se encontró mayor cantidad de recuentos elevados de bacterias indeseables; estas bacterias al momento de producirse la fermentación del producto compiten con la flora deseable. No fue así en el caso del lote n°3.
- Temperatura en la etapa de maduración y secado: en los lotes n° 1 y 2 se mantuvieron temperaturas elevadas (entre los 24 y 25 °C) durante prácticamente todo el proceso de maduración. Estos valores elevados de temperatura durante esta etapa pueden haber favorecido no sólo el mantenimiento de bacterias indeseables, sino también su crecimiento. En el lote n°3 se inició con una temperatura elevada (25°C), pero luego a medida que el proceso avanzaba en el tiempo, fue disminuyendo manteniéndose entre los 22°C y 23°C, lo cual probablemente haya limitado un poco el crecimiento de bacterias no deseadas.
- Humedad y aW durante la etapa de maduración y secado: en los lotes n°1 y 2 se inició con una humedad ambiente relativa por debajo de lo recomendado, 70% y 60% respectivamente. Y si bien el aW alcanzado se encontró dentro de los límites esperados, esta baja humedad inicial puede haber causado una reducción despareja del agua dentro del producto, es decir que se mantuvo agua dentro del producto que debería haberse evaporado; lo cual junto con las elevadas temperaturas, podría haber favorecido el desarrollo bacterias indeseadas. En caso del tercer lote, la humedad inicial fue mayor que los anteriores (80%). Si bien aún es un valor que se encuentra por debajo de lo citado

en la bibliografía (85-90%), es más cercano, y muy probablemente haya contribuido a una mejor difusión y evaporación del agua en el producto, influyendo así en el aW final obtenido en este lote, el cual fue considerablemente menor (0.88). Reflejándose esto a su vez en el resultado microbiológico final (donde no hubo detección de bacterias indeseables), por ser un producto con menor agua disponible para bacterias no deseadas.

Según la teoría citada en la presente tesina sabemos entonces que la seguridad microbiológica final de un embutido crudo-curado, depende de que el desarrollo de las barreras contra el crecimiento de bacterias indeseables sea adecuado; y a su vez, para que este desarrollo sea adecuado y las barreras actúen efectivamente contra el crecimiento microbiano no deseado, es necesario tener en cuenta otros factores, como son: a) calidad de la materia prima utilizada para su elaboración; b) brindar condiciones ambientales adecuadas en la etapa de maduración y secado, de acuerdo al tipo de producto elaborado y al starter utilizado en su elaboración.

En este trabajo pudimos observar que si bien los starters contribuyen al control de la fermentación, estandarización y seguridad del producto, de no ser considerados y controlados los factores mencionados anteriormente, no vamos a estar asegurando una adecuada calidad microbiológica del producto final con el sólo uso de un cultivo iniciador o starter.

VIII- BIBLIOGRAFIA

- Amo Visier, A. (1980). Cap.1. La carne. En: Antonio Amo Visier. Industria de la carne. Salazones y chacinería. Ed. AEDOS. Barcelona, España.
- Anguiano (1999). “Empleo de fermentos lácticos en la fabricación de productos cárnicos” (tesis doctoral). Facultad de Ciencias Veterinarias de Córdoba (España).
- ANMAT. Administración Nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica. (2011). Guía de Interpretación de resultados microbiológicos en alimentos. Disponible en URL:
http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf
- Bacus, J. y Brown, W. 1982. The use of microbial cultures: meat products
- Bard, J. y Townsend, W.E. 1976. Carnes curadas. En Price, J.F. y Schweigert, B.S. (Ed.), Ciencia de la carne y los productos cárnicos. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Blanco, J; Blanco, M; Blanco, J.E; Mora, A; Alonso, M.P; González, E.A; Bernárdez, M.I (2002). Cap. 21. Enterobacterias: características generales. Género Escherichia. En: Vadillo Machota, Píriz Durán, Mateos Yañez. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. Mc Grawhill Interamericana. Madrid, España.
- CAA, Código Alimentario Argentino. Cap. VI. Alimentos cárneos y afines. Disponible en URL:
http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_VI.pdf
- Cabrera López (2011), Elaboración de curados y salazones cárnicos
- Caplice, E. y Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation.
- Cerrato, R. y Valle, J. (2002). Vap. 34. Género Clostridium. En: Vadillo Machota, Píriz Durán, Mateos Yañez. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- Chambers y Grandin (2001), “Directrices para el Manejo, Transporte y Sacrificio Humanitario del Ganado”. Disponible en URL:
<http://www.fao.org/docrep/005/x6909s/x6909s04.htm> (05/08/15)

- Colmenero y Santaolalla (1989), "Principios básicos de la elaboración de embutidos", núm. 4/89
- De la Fuente, R. y Orden, J.A (2002). Cap. 30. Género Staphylococcus. En: Vadillo Machota, Píriz Durán, Mateos Yañez. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- ELIKA (a), 2013. Disponible en URL:
http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf
(07/09/15)
- ELIKA (b), 2013. Disponible en URL:
http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf
(07/09/15)
- ELIKA (c), 2013. Disponible en URL:
http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf (07/09/15)
- Eusse Gómez (2000). La carne de cerdo, guía práctica para su comercialización. Asosación Americana de Soya. Medellín, Colombia. Disponible en URL:
<http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Materiales/Industrializacion/Calidad%20de%20carne/LA%20CARNE%20DE%20CERDO.pdf> (05/08/15)
- Farber, J.M. y Peterkin, P.I. 1991. Listeria monocytogenes : A Food-borne pathogen. Microbiol. Rev. 55
- Geisen, et al 1992. Starter and protective cultures for meat and meat products.
- Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P. y Doyle, M.P. 1992. Fate of Escherichia coli O157:H7 as affected by pH or sodium chloride in fermented, dry sausage. Appl. Environ. Microbiol. 58
- Goyache, J y Briones, V (2002). Cap. 22. Géneros Salmonella y Shigella. En: Vadillo Machota, Píriz Durán, Mateos Yañez. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- Hernández et al. (2003). Microbiología Industrial. Cap. 5. Ed. EUNED
- Hugas Maurici, 1994. Agricultura: Revista agropecuaria, ISSN 0002-1334, N° 745, págs. 662-663.

- Jay, J.M (1992). Microbiología Moderna de los alimentos. Ed. Acribia S.A Zaragoza, España.
- Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. y Schoeni, J.L. 1988. Fate of *Listeria monocytogenes* in tissues of experimentally infected cattle and in hard salami. *Appl. Environ. Microbiol.*
- Juan Luís Vidal Lago (1997) TECNOLOGÍA DE LOS EMBUTIDOS CURADOS, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1:5, 129-133. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.1080/11358129709487572>
- Junttila, J., Hirn, J., Hill, P. y Nurmi, E. 1989. Effect of different levels of nitrite and nitrate on the survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of fermented sausage. *J. Food Prot*
- Leistner, L. 1995. Stable and safe fermented sausages world-wide. En Campbell-Platt, G. y Cook, P.E. (Ed.), *Fermented meats*.
- Levine, P., Rox, B., Green, S., Ransom, G. y Hill, W.E. 2001. Pathogen testing of ready-to-eat meat and poultry products collected at federally infected establishments in the United States.
- Lücke, F.K. 1998. Fermented sausages. En Wood, B.J.B. (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, Blackie Academic & Professional.
- Lücke, F.K. y Hechelmann, H. 1987. Starter cultures for dry sausages and raw ham.
- Lueck, E. 1980. *Antimicrobial food additives*. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg N.Y., Germany.
- Metaxopoulos, J., Genigeorgis, C., Fanelli, M.J., Franti, C. y Cosma, E. 1981b. Production of italian dry salami II: effect of starter culture and chemical acidulation on staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 42
- Metaxopoulos, J., Genigeorgis, C., Fanelli, M.J., Franti, E. y Cosma, E. 1981a. Production of Italian dry salami. I. Initiation of staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. *J. Food Prot.* 44
- Moore, J.E. 2004. Gastrointestinal outbreaks associated with fermented meats. *Meat Sci.* 67

- Nissen, H. y Holck, A. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella kentucky* in norwegian fermented, dry sausage. *Food Microbiol.* 15
- Nordal, J. y Gudding, R. 1975. The inhibition of *Clostridium botulinum* type B and E in salami sausage. *Acta Vet. Scand.* 16
- Nychas, G.J.E. y Arkoudelos, J.S. 1990. Staphylococci: their role in fermented sausages. *J. Appl. Bacteriol. Symp.*
- Ordóñez, J., Zurera, G., Bosch, A., Otero, A. y Guamis, B. 2004. Opinión del Comité científico de la AESA sobre una cuestión presentada por la Dirección Ejecutiva, en relación con la aplicación de altas presiones en carne y productos cárnicos. Agencia Española de Seguridad Alimentaria.
- Ordóñez, J.A. y de la Hoz, L. 2001. Embutidos crudos curados. Tipos. Fenómenos madurativos. Alteraciones. En Bejarano, M. (Ed.), *Enciclopedia de la carne y los productos cárnicos*. Ediciones Martín & Macías.
- P. del Monte, U. Magnani, M. Monari (1990), *Industria dei salumi*; Ed. Agricole
- Reglamento de Inspección de Productos, subproductos y Derivados de Origen animal (Decreto 4238). Disponible en URL: http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File753-decreto4238_68_2.pdf (13/08/15)
- Smith, J.L., Huhtanen, C.N., Kissinger, J.C. y Palumbo, S.A. 1975. Survival of salmonellae during pepperoni manufacture. *Appl. Microbiol.*
- Talon, R., Leroy-Sétrin, S. y Fadda, S. 2002. Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. En Toldrá, F. (Ed.), *Research advances in the quality of meat and meat products*. Research Signpost, Burjassot, Spain.
- Van Netten, P., Valentijn, A., Mossel, D.D.A. y Huis in't Veld, J.H.J. 1997. Fate of low temperature and acid-adapted *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* that contaminate lactic acid decontaminated meat during chill storage. *J. Appl. Bacteriol.*

IX- ANEXO 1

MANUAL DE CALIDAD: INSTRUCTIVO OPERATIVO ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

1. Objetivo

El presente instructivo tiene por objetivo definir los requisitos para la siembra del muestreo recepcionado en el laboratorio de Supermercados Toledo.

2. Alcance

Este instructivo se aplica a todas las muestras recepcionadas.

3. Responsabilidades

Jefe de Laboratorio de Calidad: Asegurar el cumplimiento de este instructivo por parte del personal a cargo, aprobar documentación.

Personal Técnico Analista y Auxiliar del Laboratorio de Calidad: Cumplir con el procedimiento detallado y confeccionar los registros correspondientes.

4. Materiales

- Estufas de cultivo a 33 y 37°C
- Baño María a 37° y 43°C
- Mechero
- Placas de petri
- Pipetas x 10 ml y 1 ml
- Pipetas automáticas x 1 y 0,1 ml
- Medios de cultivo: Agua peptonada Bufferada -Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa - Recuento Total en placa - Agar Baird Parker - Caldo Mac Conkey - Medio Chromogénico E.coli y Coliformes. Preparación de medios según IO - 001 Preparación de Medios de Cultivo.xls

5. Procedimiento

5.1 Preparación de material para la siembra:
Medios de cultivo que van a ser utilizados para la siembra deben tener T° ambiental.

Las placas con medio de cultivo que requieran secado se colocan en la estufa de cultivo a 33°C con la cara interna hacia abajo y la tapa desplazada durante 30 minutos

5.2 Preparación de mesada:
1° Ordenar las bolsas con el muestreo (20 gr muestra + 180 ml AUPB) según N° protocolo en forma correlativa registrado en cuaderno de análisis por área de la empresa

2° Acomodar y Rotular el material a utilizar para la siembra según lo detallado en: punto 4 (IO-004 Cuad. protocolo de análisis) la rotulación se realiza con un fibron permanente (placas y tubos).

3° Pipetas automática y espátula: colocar las pipetas automáticas y la espátula utilizada para desplazar la siembra en la mesada.

6. Siembra

6.1 Siembra

20 gr. de muestra más 180 ml de AUPB:

- Tomar 1 ml con pipeta y sembrar en profundidad en placa de petri estéril. Enterobacterias (AGVRD), incubación a 33°C durante 24 horas
- Tomar 1 ml con pipeta y sembrar en profundidad en placa de petri estéril. Recuento de Escherichia coli en medio cromogénico, incubación a 33°C durante 48 horas.
- Tomar 1 ml con pipeta y sembrar en profundidad en placa de petri estéril. Aerobios mesófilos (AGPC), incubación a 33°C durante 48 horas.
- Tomar 1ml con pipeta y sembrar en tubo con (CAMC). Coliformes totales, incubación a 37°C durante 48 horas.

- Tomar 0.1 ml con pipeta y sembrar en superficie en placa de (AGBP). *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, incubación a 33°C durante 48 horas.
- Tomar 1 ml con pipeta y sembrar en tubo con medio para sulfito reductores, medio clostridios diferencial, luego de la siembra colocar capa de 2 cm de vaselina para generar anaerobiosis. Incubación a 33°C durante 48 horas.

6.2 Interpretación de resultados – recuentos de colonias de gérmenes

- Enterobacterias (placa): conteo de colonias rojas con halo de precipitación rojiza. El recuento se multiplica por la dilución
- Aerobios mesófilos (placa): conteo de la totalidad de colonias de bacterias desarrolladas. El recuento se multiplica por la dilución.
- *Staphylococcus aureus* (placa): conteo de colonias negras con borde estrecho blanquecino y rodeado por un halo transparente. El recuento se multiplica por la dilución, y si la placa es compartida se multiplica también por dos. Confirmar la coagulasa con plasma de conejo.
- Recuento de *Escherichia coli* (placa): conteo de colonias azules violáceas. El recuento se multiplica por la dilución
- Coliformes totales (tubo): observar tubos positivos (color amarillo con formación de gas en la campana Durham). Sembrar con ansa sobre medio cromogénico de *E.coli*. Confirmación por bioquímicas.
- Tubo con medio para sulfito reductores, medio clostridios diferencial: contar colonias de coloración negra. El recuento se multiplica por la dilución.

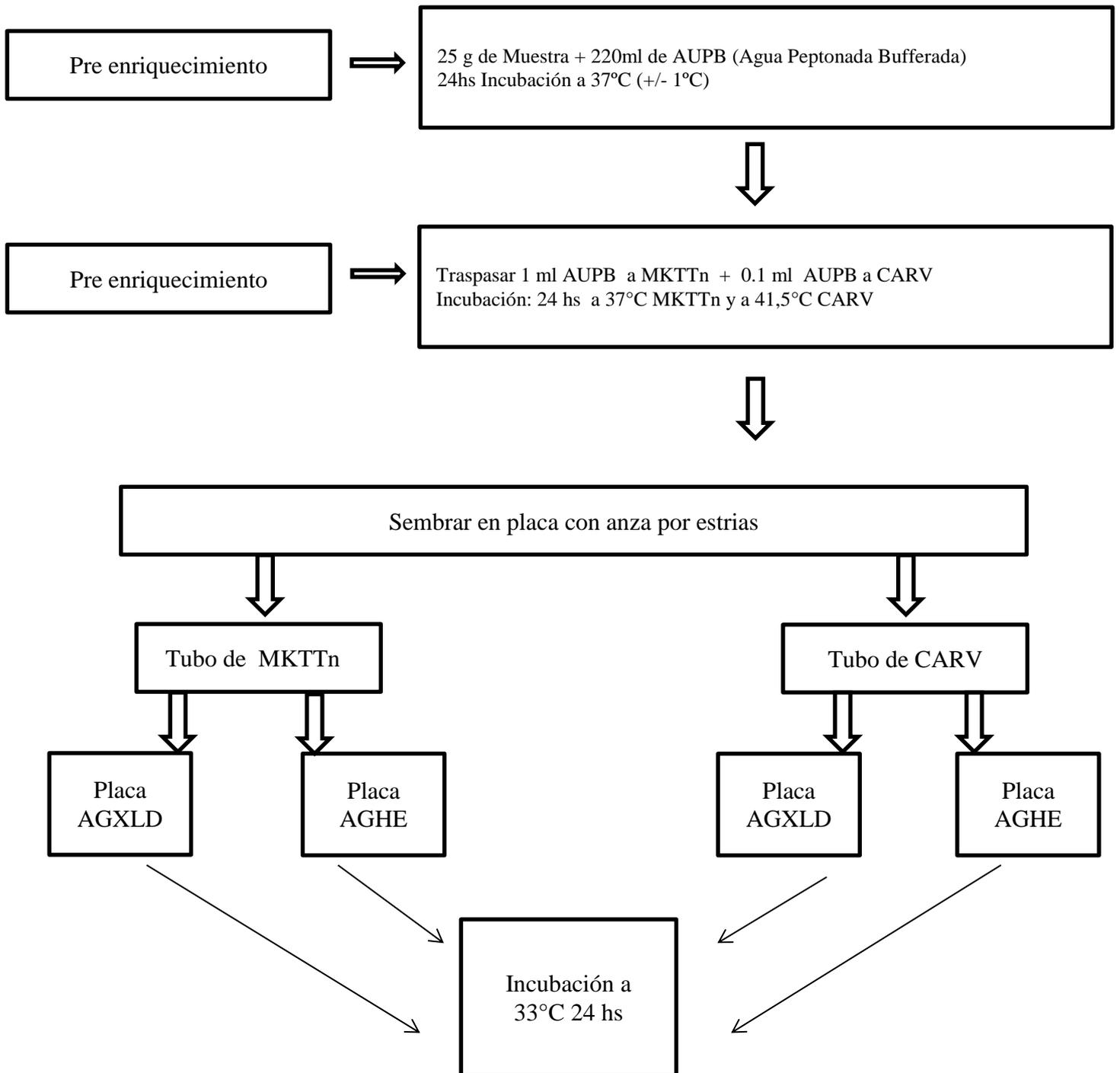
6.3 Técnicas de identificación de gérmenes

6.4 Registros: registrar los conteos y la identificación de gérmenes.

X- ANEXO 2

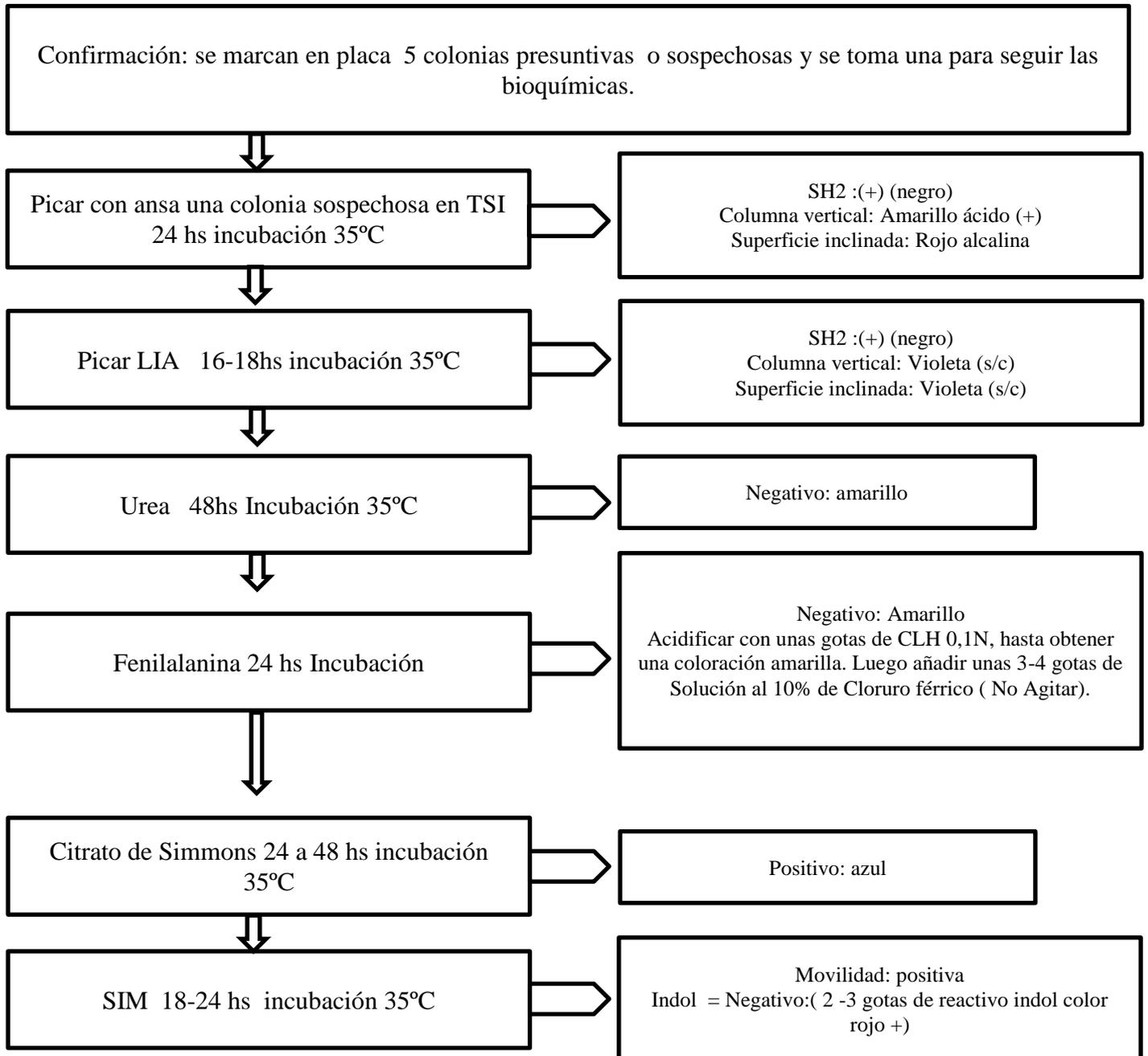
Técnica para la detección Salmonella (ISO 6579)

Diagrama de procedimiento



AGXLD: Colonias Sospechosas colonias rojizas con centro negro o amarillas con centro negro

AGHE: Verdes azuladas con centro negro



Cepa positiva: se siembra por estrías en tubos con Agar Tripteina Soya y se hace otro repique en microtubo con Agar Triptenina Soya el cual se envía para su Tipificación.

Medios de Cultivos y Reactivos

- Pre enriquecimiento no selectivo: Agua peptonada Bufferada (AUPB)
- Primer medio de enriquecimiento selectivo: Medio Rappaport Vassiliadis con Soja (CARV)
- Segundo medio de enriquecimiento selectivo: Caldo Muller Kauffmann Tetracionato novobiocina (MKTTn) , con agregado de novobiocina y solución iodada
- Medios selectivos en placa: Primer medio Agar xilosa lisina desoxicalato (AGXLD)
- Medios selectivos en placa: Segundo medio elegido es Agar Enterico Hektoen (AGHE)
- Confirmación : Agar Triple Azúcar Hierro (AGTSI)
 - Medio para la descarboxilación de la L-lisina (AGLIA)
 - Caldo Ureasa (CAU)
 - Agar Fenilalanina (AGFE)
 - Agar Citrato de Simmons (AGCIT)
 - Medio SIM
- Medio para conservar la cepa y enviar a Tipificar : Agar Tripteina soya (AGTS)

Aparatos y Material de Vidrio

Esterilización húmeda autoclaves identificados A y B

Estufas de incubación N^o1 entre 33 a 35 °C

Estufas de incubación N^o2 entre 36 a 37°C

Baño de agua N^o5 a 41°C

Baño de agua N^o6 a 37°C

Asas estériles

Tubos de ensayo

Pipetas graduadas de 10 y 1 ml

Pipetas automáticas de 1 y 0,1 ml

Placas de petri descartables

Bolsas de muestreo