



## **UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

### **FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

---

#### **ESTUDIO DEL EFECTO COMBINADO DE NISINA Y ÁCIDO LÁCTICO EN LA VIDA ÚTIL DE CARNE DE POLLO**

---

Informe del trabajo de investigación. Modalidad: Trabajo estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

**Por:** Christian Paul Moreno Rocha.

**Tutor:** Ing. César A. German T.

**Ambato – Ecuador**

**2012**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En mi calidad de tutor del trabajo estructurado de manera independiente (TEMI) sobre el tema: “Estudio del Efecto Combinado de Nisina y Ácido Láctico en la Vida Útil de Carne de Pollo” desarrollado por el Egado. Christian Paul Moreno Rocha, alumno de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos contempla las orientaciones metodológicas de la investigación científica y reúne los requisitos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador que el H. Consejo designe.

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación ante los organismos competentes para la sustentación del mismo.

Ambato, Junio del 2012

---

Ing. César A. German T.  
Tutor del Proyecto

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO  
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación, de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Noviembre del 2012

Para constancia, firman.

---

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## **DECLARACIÓN, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD**

Yo, Christian Paul Moreno Rocha declaro que:

El presente trabajo de investigación: “Estudio del Efecto Combinado de Nisina y Ácido Láctico en la Vida Útil de Carne de Pollo” es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido y efectos académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, 2012

---

Christian P. Moreno R.

171840937-6

## DEDICATORIA

*A Dios por nunca abandonarme y brindarme nuevas oportunidades de superación y darme siempre la fuerza necesaria para seguir adelante.....*

*A mis padres Avelino y Martha que me supieron apoyar para seguir la carrera en Ambato*

*A mis hermanos que fueron mi apoyo incondicional en los buenos y malos momentos y saber comprender mi ausencia.*

*A Ligia, por su amor y comprensión a lo largo del camino en la universidad y por darme una hermosa nena Micaela.*

*A todos mis amigos de la universidad y compañeras de curso con quienes pude compartir un sinnúmero de experiencias y por jugársela conmigo un sinfín de situaciones. Para ustedes.*

## AGRADECIMIENTO

*Quiero agradecer sobre todo a Dios que me iluminó con su fe y me ha permitido culminar una meta más en mi vida*

*A mis padres por su apoyo, paciencia y soporte incondicional y por confiar en mí y ser la luz que me iluminó en momentos de dudas.*

*A los Docentes de la Facultad que me guiaron durante el camino de formación profesional; a mi tutor Ing. César A German T. quien me supo guiar con su experiencia y sobre todo con su excelente calidad humana el proyecto de investigación, de igual manera el laboratorio de la UOITA y a sus colaboradores por haberme brindado la oportunidad de desarrollar el proyecto de investigación en sus instalaciones , a Dany, Ely, Jessy, por entregarme su ayuda oportuna e incondicional muchas gracias a todos.*

## ÍNDICE

HOJAS PRELIMINARES

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

### Cuadros

<b>Cuadro N° 1:</b> Consumo per cápita de pollo en el mundo (kilos/persona/año2008), sin importaciones y exportaciones.....	2
<b>Cuadro N° 2:</b> Abastecimiento de carne de aves en Norte y Sur América, comparado al promedio mundial sin importaciones y exportaciones.....	4
<b>Cuadro N° 3:</b> Número de Aves y porcentaje por existencia según tipo de crianza y especie.....	5
<b>Cuadro N° 4:</b> Número de aves criadas en planteles avícolas y en el campo por provincia.....	6
<b>Cuadro N° 5:</b> Composición de la Carne de Pollo.....	18
<b>Cuadro N° 6:</b> Normas de aplicación en el estudio.....	23
<b>Cuadro N° 7:</b> Propiedades físicas y químicas del Ácido Láctico.....	28
<b>Cuadro N° 8:</b> Propiedades de la nisina.....	29
<b>Cuadro N° 9:</b> Factores y niveles del diseño experimental.....	44
<b>Cuadro N° 10:</b> Combinaciones de los factores y niveles del diseño experimental.....	45
<b>Cuadro N° 11:</b> Valores económicos de la propuesta.....	71
<b>Cuadro N° 12:</b> Composición de la Carne de Pollo.....	72
<b>Cuadro N° 13:</b> Modelo Operativo (Plan de Acción).....	77
<b>Cuadro N° 14:</b> Administración de la Propuesta.....	78
<b>Cuadro N° 15:</b> Previsión de la Evaluación.....	79

### Figuras

<b>Figura N° 1:</b> Relación Causa Efecto.....	8
<b>Figura N° 2:</b> Red Lógica de Inclusiones.....	23
<b>Figura N° 3:</b> Relación entre variables dependiente.....	24
<b>Figura N° 4:</b> Relación entre variables independiente.....	25
<b>Figura N° 5:</b> Fórmula desarrollada del Ácido Láctico.....	28
<b>Figura N° 6:</b> Fórmula desarrollada de la Nisina.....	30

## ÍNDICE DE ANEXOS



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**TEMA: ESTUDIO DEL EFECTO COMBINADO DE NISINA Y ÁCIDO**  
**LÁCTICO EN LA VIDA ÚTIL DE CARNE DE POLLO**

**Autor:** Christian Moreno.  
**Tutor:** César German.

**RESUMEN EJECUTIVO**

La presente investigación tuvo como objetivo la reducción de carga microbiana en la carne de pollo mediante el uso de bactericidas orgánicos, se seleccionó dos agentes antimicrobianos para atacar grupos generales de microorganismos los cuales son el ácido láctico que afecta principalmente a microorganismos Gram (-) y la Nisina que afecta a microorganismos Gram (+), para lo cual se elaboró varias soluciones con ácido láctico al 1% y 2% y nisina con 300 y 500 ppm, en combinación con el tiempo de inmersión de 5 y 10 minutos, con una temperatura de almacenamiento de 4 y 18 °C para lo cual se aplicó un diseño experimental 2<sup>4</sup>, obteniéndose 16 tratamientos con una réplica. Se realizó siembras microbiológicas de las muestras de carne de pollo antes y después de la inmersión en el tratamiento y se determinó la tasa de supervivencia de tres tipos de microorganismos característicos Aerobios Totales, Coliformes Totales y la presencia de E.coli en el mejor tratamiento en placas petrifilms, se trabajó con pechugas de pollo que fueron obtenidas de manera inmediata después del sacrificio del animal.

El análisis estadístico determinó que el mejor tratamiento es el BC que implica utilizar 1% de ácido láctico, 500 ppm de nisina por un tiempo de inmersión de 10 minutos a un temperatura de refrigeración de 4°C, tratamiento que extiende el tiempo de vida útil del producto a 14 días, reduciendo el 99.25% de microorganismos aerobios y el 99.30% de coliformes totales, retardando el crecimiento de E.coli. Se estableció el tiempo de reducción decimal (D), el cual fue de 4.32 minutos equivalente a 1.15 D. Se evaluó sensorialmente los tratamientos donde se determinó que si afecta a tres parámetros el uso de nisina y ácido láctico los cuales son la textura, sabor y aceptabilidad mientras que el color y olor no tienen diferencia significativa.

# **CAPÍTULO I**

## **EL PROBLEMA**

### **1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN**

“Estudio del efecto combinado de nisina y ácido láctico en la vida útil de carne de pollo”

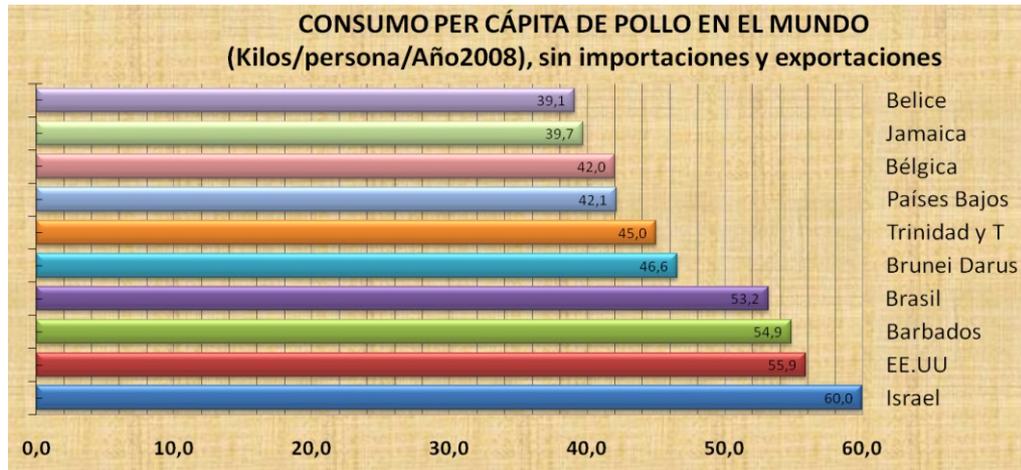
### **1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.2.1. Contextualización**

##### **1.2.1.1. Contextualización Macro**

El proceso de industrialización del sector avícola a nivel mundial ha permitido llegar a un grado de automatización en este sector a un excelente nivel. Estas mejoras técnicas no se tradujeron en una mejora de la calidad microbiológica de la carne. Más bien, contribuyeron a aumentar aún más la carga microbiana de las canales de ave, ya de por sí importante al tratarse de animales que no se desuellan. La aglomeración de los animales en los sistemas intensivos de la cría y la implantación de grandes plantas de sacrificio y procesado facilitan la difusión de los microorganismos, especialmente de las bacterias enteras patógenas, de unos animales a otros y de unas canales a otras, lo que influye negativamente en la calidad microbiológica final de la carne de ave. (Escobar J. 2009)

El consumo per capital a nivel mundial de carne de pollo (Kg/persona/año 2008), ha sido relevante donde, países con más densidad poblacional y mayor industrialización tiene un consumo entre 30 y 60 (Kg/persona/año 2008)



**Cuadro N° 1:** Consumo per cápita de pollo en el mundo (kilos/persona/año2008), sin importaciones y exportaciones.  
Fuente: INEC - Producción FAO

Existe una cantidad significativa de investigaciones que actualmente se están llevando a cabo en todo el mundo para encontrar nuevos y mejores antimicrobianos para uso en conservación de alimentos, así como para tratar enfermedades.

A nivel mundial la buena sanitización de plantas de producción de aves y el control de parámetros durante su faena miento son las principales herramientas para disminuir la carga microbiana de las canales de aves, al mismo tiempo, con las nuevas tendencias del mercado al uso de bactericidas alimenticios más amigables con el medio ambiente permiten el incremento de la producción de este tipo productos. (Escobar J. 2009)

La producción y uso de ácido láctico se inició hace más de 100 años y tiene un amplio rango de aplicaciones en la industria alimenticia, química, farmacéutica, y cosmética, entre otras. En la industria alimenticia se usa como acidulante y conservante. (Pérez G. 2005)

La nisina está evaluada y aprobada como conservador de alimentos, para el control de bacterias. Es un agente antimicrobiano que se utiliza a nivel mundial desde 1953 para controlar el deterioro bacteriano tanto en los alimentos termo elaborados como en los que tienen un pH bajo, resulta eficaz contra una amplia gama de bacterias Gram-positivas, como células vegetativas y esporas. (Fernández L. 2009)

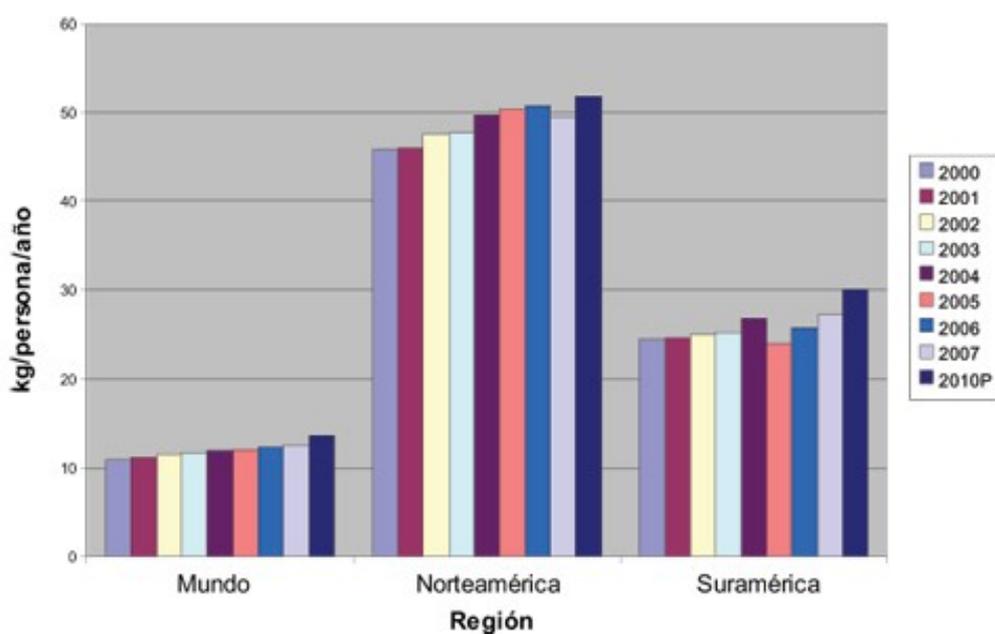
La nisina es un antibiótico originado por cepas de la bacteria que normalmente corta la leche, el streptococcus lactis este producto es empleado principalmente para prevenir la putrefacción de productos alimenticios procesados térmicamente y empacados. La inocuidad de la nisina para organismos vivos y su rápida destrucción por enzimas del tracto gástrico e intestinal, donde las razones que estimularon su amplio uso en muchos países, incluyendo los más estrictos en materia de regulaciones para aditivos alimenticios como los países de la unión Europea y los EUA. Actualmente se elabora nisina en China, Rusia, Polonia y Reino Unido y su empleo está permitido en unos 20 países. (Calderón G. 2009)

#### **1.2.1.2 Contextualización Meso**

El crecimiento de la industria avícola en Sudamérica, en general, ha sido explosivo en los últimos años. El consumo de carne de ave ha ido creciendo a una tasa excepcional, debido a mercados altamente expansivos, competitivos, y a la alta productividad. Hasta hace poco, sólo los países más desarrollados, dominaban dicho mercado, en la actualidad la oferta y demanda está muy compartida sobre todo con los países latinoamericanos. (Eduardo F. Montiel 2010.)

Los países con mayor éxito en la exportación de carnes y productos avícolas son Brasil, Chile y Perú que están entre los que actualmente colocan a Sudamérica como una de las más importantes regiones

productoras de carne de ave y huevo. El aporte al sector mundial en el 2009 fue del 20% por parte de la región Americana, mientras que el aporte en el año 2000 fue de 14%, sin duda un crecimiento importante. El crecimiento ha sido atribuido a las inversiones en innovaciones tecnológicas y a la competitividad en el precio a pesar de costos más elevados de materia prima, nuevas regulaciones y problemas de abasto energético. (Garduño A 2010)



**Cuadro N° 2:** Abastecimiento de carne de aves en Norte y Sur América, comparado al promedio mundial sin importaciones y exportaciones.

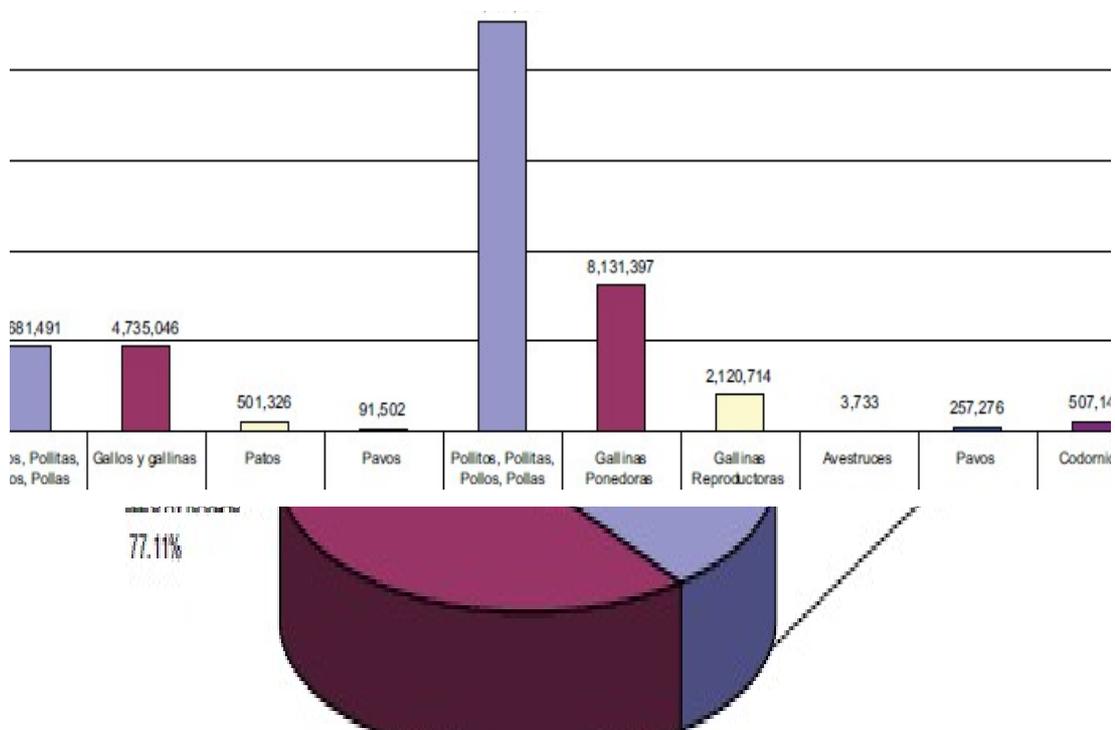
**Fuente:** Sweet J, FAO 2010

En los últimos años los estudios se han inclinado hacia ingredientes naturales que se han usado por muchos años con éxito en el procesamiento de la carne. El consumidor de hoy que hace conciencia sobre la salud, y que quiere productos convenientes que conserven su frescura y que no contengan ingredientes percibidos como poco saludables, considerandos como "no naturales" muchos de estos ingredientes usados por años. (Yvonne Vizzier Thaxton, 2008)

Los microorganismos, como toda cosa viviente, necesitan una fuente de energía y el ambiente adecuado para florecer. Las características del alimento que directamente afectan el crecimiento de los microorganismos incluyen: pH, humedad, contenido de nutrientes y potencial de oxidación/reducción. Además, algunos alimentos tienen barreras naturales contra la penetración de microorganismos y otros tienen propiedades antimicrobianas. Todos estos factores tienen que ser considerados para extender la vida de anaquel de los alimentos. (Yvonne Vizzier Thaxton, 2008)

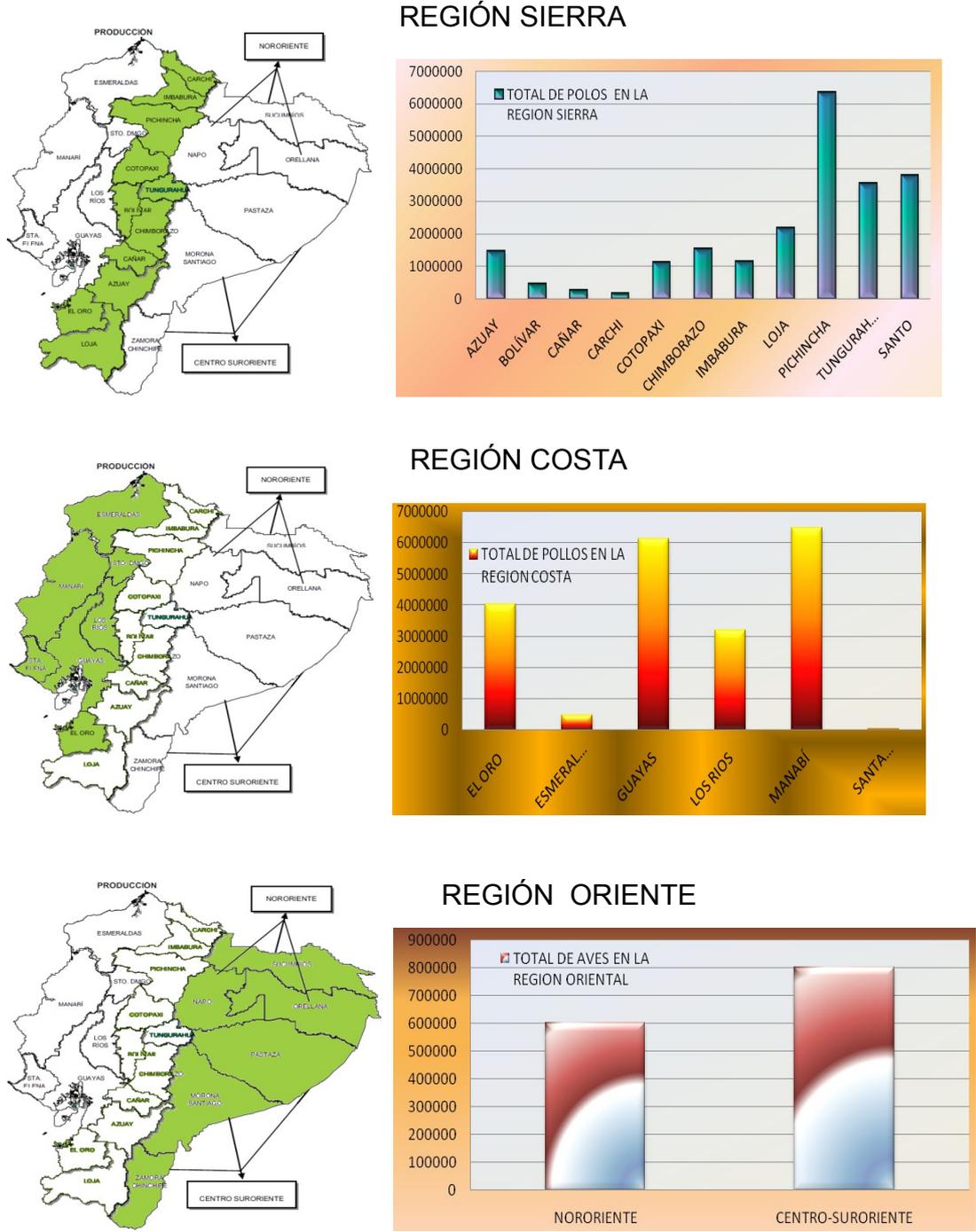
### 1.2.1.3 Contextualización Micro

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador, a través del Sistema Estadístico Agropecuario Nacional en el 2009, señala que se tiene una producción de pollos de consumo superior a todos los demás tipos de ave y la mayor producción de estos se da en planteles avícolas. Figura N° 1



**Cuadro N° 3:** Número de Aves y porcentaje por existencia según tipo de crianza y especie  
**Fuente:** INEC- Base de datos de la ESPAC – 2009

En Ecuador a nivel nacional las provincias con mayor producción avícola son Pichincha, Manabí, Guayas, El Oro y Snto. Domingo de los Tsachilas (INEC 2009)



**Cuadro N° 4:** Número de aves criadas en planteles avícolas y en el campo por provincia  
**Fuente:** INEC- Base de datos de la ESPAC – 2009

Cada una de las regiones del territorio Ecuatoriano, experimenta beneficios y desventajas para la actividad avícola, en donde la zona más utilizada con este fin es la región sierra gracias a sus favorables condiciones meteorológicas que facilitan la crianza del pollo de carne.

Los ácidos orgánicos funcionan como antimicrobianos principalmente a través del ajuste de pH del producto. No obstante, algunos pueden funcionar dañando la membrana celular de los microorganismos. El principal problema al usar ácidos como antimicrobianos es su efecto en el sabor y color del producto terminado. Son más efectivos cuando se usan de tal manera que los ácidos agregados complementen el ácido natural del alimento. Las bacteriocinas son proteínas antibacterianas producidas por bacterias que matan o inhiben el crecimiento de otras bacterias. Las bacteriocinas son producidas por bacterias lácticas (que producen ácido láctico), las cuales son comunes en una variedad de alimentos. La nisina es actualmente la única bacteriocina ampliamente usada como un conservador natural.

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh, 2000).

La cantidad de bactericidas orgánicos que se pueden agregar a los tratamientos de conservación de la carne está limitada por regulaciones de la FAO y del CODEX, y depende de qué tipo ácido orgánico está siendo usado. Por consiguiente, la elección de un determinado desinfectante orgánico depende, no sólo de las características inherentes al mismo, sino también de las condiciones micro ambientales y de almacenamiento del alimento. (Alzamora, S 1983)

## 1.2.2 Árbol de Problemas

### EFFECTOS

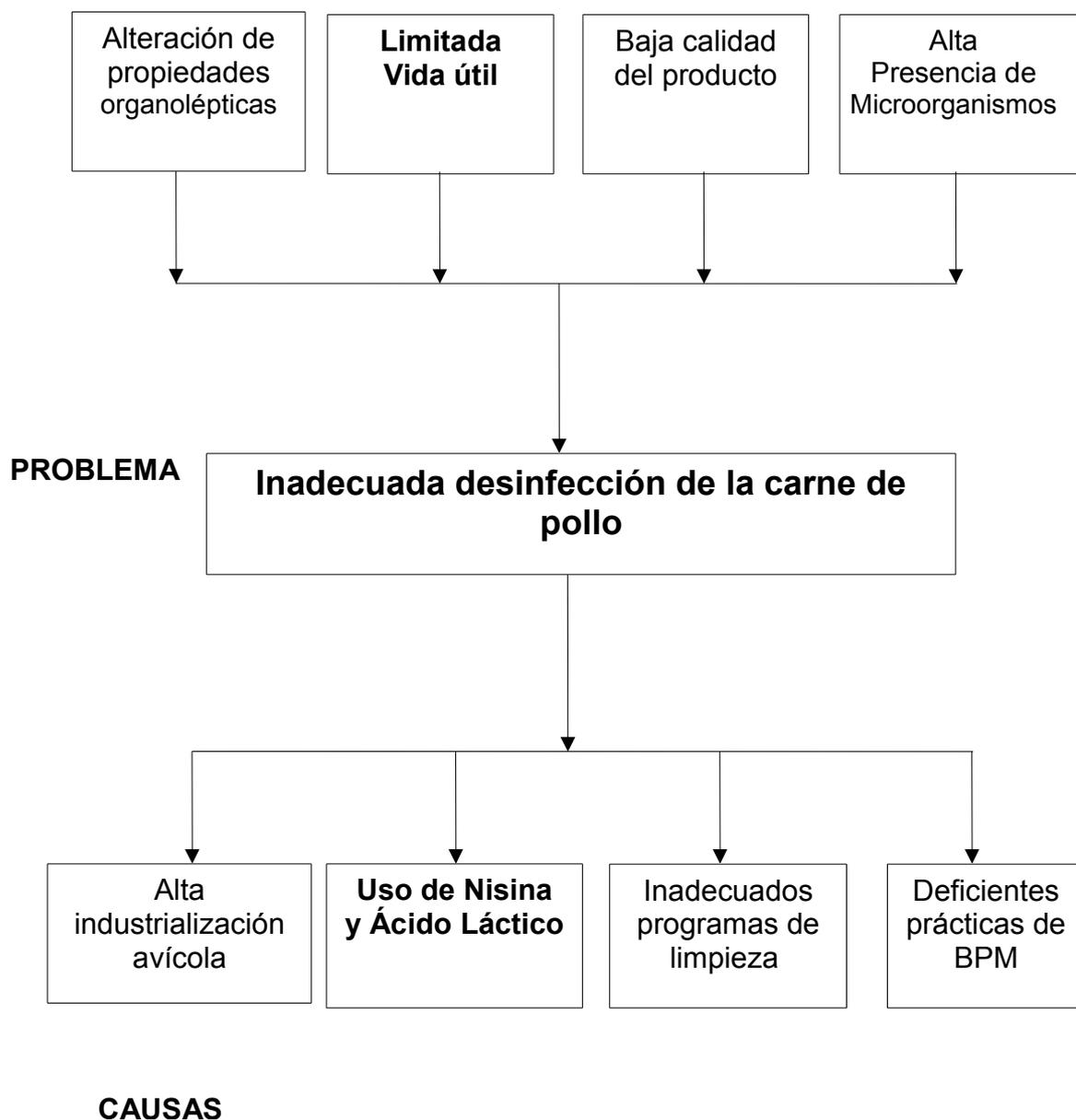


Figura N° 1: Relación Causa Efecto  
Elaborado por: Christian Moreno

### **1.2.2.1 Análisis Crítico**

La alta industrialización del sector avícola y programas intensivos de producción han inducido que se utilice métodos tradicionales de reducción de carga microbiana y ha originado un limitado uso de alternativas biológicas de desinfección de la carne de pollo, ocasionando que tales métodos no sean utilizados como una primera alternativa.

En el presente trabajo se propone el uso de un método alternativo de higiene para las canales de ave con el uso de Ácido Láctico y de Nisina, que sirven como agentes antimicrobianos naturales que influyen directamente en tasa de supervivencia de microorganismos afectando las propiedades donde se desarrollan y un efecto directo sobre el tiempo de vida útil del producto.

En plantas procesadoras avícolas la inadecuada desinfección de la carne de pollo viene a ser un problema de mal ejecución de los programas de limpieza lo cual ocasiona una baja calidad del producto final afectando directamente a los consumidores.

La mala aplicación de las buenas prácticas de manufactura no constituye el factor que asegura que el producto se obtenga en forma uniforme y controlada de acuerdo con las normas de calidad conforme a las condiciones exigidas para su comercialización.

### **1.2.3 Prognosis**

Se deberá tomar en cuenta que al no realizar el estudio de desinfección biológica de carne de pollo en la industria avícola no se mejorará los procesos de saneamiento, y se seguirá utilizando métodos tradicionales de desinfección y al mismo tiempo no se optimizará la tecnología al ofrecer el producto con los mismos procesos.

Imparcialmente si no se utiliza métodos orgánicos de desinfección se tendrá una eventual pérdida de mercado, por no poseer procesos de desinfección biológicos, debido a que las nuevas tendencias de consumidores del producto indican que se prefieren comprar alimentos orgánicos los cuales ayuden al cuidado principalmente de la salud y que se cuide el medio ambiente, además se perderá competitividad frente a productos importados que tengan procesos similares a los propuestos, lo cual ocasionará menos oportunidades a nuestro país por falta de investigación.

De igual forma no se logrará estudiar el efecto que causa la nisina y el ácido láctico como conservantes, además no se podrá saber si este tipo de procedimiento afecta sensorialmente al producto y si ejerce algún tipo de cambio en las propiedades sensoriales de la carne de ave.

#### **1.2.4 Formulación del objeto de Investigación**

¿El uso de Nisina y Ácido Láctico influyen en la Vida Útil de la Carne de Pollo?

#### **1.2.5 Preguntas Directrices**

- ¿Cómo afecta la cantidad de nisina y ácido láctico en la carga microbiana de la carne de pollo?
- ¿Cómo afecta la alta industrialización avícola la carga microbiana de la carne de pollo?
- ¿Cómo incide los inadecuados programas de limpieza en la vida útil de la carne de pollo?
- Existe alguna alternativa de solución a la inadecuada desinfección de la carne de pollo

### **1.2.6 Delimitación del objeto de investigación**

**Delimitación científica** : Investigación y desarrollo.

**Área** : Tecnología de Cárnicos

**Delimitación Espacial** : La investigación de se realizó en los laboratorios de la UOITA de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

**Delimitación Temporal** : El estudio se lo realizó en un periodo comprendido entre Febrero del 2012 al noviembre del 2012.

### **1.3 JUSTIFICACIÓN.**

La importancia de este estudio radica en la aplicación de bactericidas orgánicos como alternativa al uso de desinfectantes artificiales en la carne de pollo debido a que este es un alimento de alta demanda en la dieta alimenticia del ser humano por a su alto contenido nutritivo.

El empleo de una bacteriocina (Nisina) y el uso de un ácido orgánico (Ácido Láctico) a más de impedir el deterioro, tiene un costo asequible y son de fácil aplicación, al mismo tiempo respetan la calidad nutricional y organoléptica y no implican un riesgo sanitario para los manipuladores y consumidores del producto ya que según la FAO y la FDA son productos reconocidos generalmente como seguros o (GRAS).

El estudio beneficiará a plantas avícolas, en el aspecto técnico debido a que se tendrá una alternativa diferente de desinfección de carne de pollo, alargando el tiempo de vida útil del producto reduciendo microorganismos Gram (+) y Gram (-) de una manera orgánica, simultáneamente, favorecerá a los consumidores porque el producto final tendrá mejor calidad, manteniendo las propiedades nutricionales, y mejorara

la salud de los consumidores ya que la Nisina y el Ácido Láctico se descomponen en sustancias no tóxicas, y este método puede ser utilizado como un método alternativo al uso de bactericidas sintéticos que son muy cuestionados.

Las nuevas tendencias a consumir alimentos orgánicos cuidando principalmente la salud del consumidor, el impacto ambiental y el crecimiento poblacional, junto al mejoramiento del nivel económico y social de la población, motivan el incremento de la producción de alimentos, en este caso de la carne de pollo con métodos de desinfección biológicos que permitirán satisfacer estos requerimientos para los consumidores. Es así, que los la Nisina y el Ácido Láctico por ser sustancias GRAS son una alternativa viable, económica e inocua en la reducción de la población bacteriana causante de la disminución de vida útil de la carne de pollo.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1 General**

- Estudiar el efecto combinado de la Nisina y Ácido Láctico, en la vida útil de la carne de pollo

### **1.4.2 Específicos**

- Evaluar la capacidad de reducción microbiana de la Nisina y del Ácido Láctico combinados en la carne de pollo con diferentes concentraciones
- Estimar el tiempo de vida útil en el mejor tratamiento en base al recuento de Unidades Formadoras de Colonia UFC.
- Plantear una alternativa de solución a la inadecuada desinfección de la carne de pollo.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS**

Al realizar una revisión bibliográfica en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se encontraron varias tesis, relacionadas al tema las cuales mencionan que:

Quispe, J en 1990 en el trabajo “Efecto de uso de Empaques Plásticos y Conservante Químicos en el Almacenamiento de Carne Refrigerada (carne de Bobino Adulto)” menciona que el objetivo fue estudiar el efecto en la vida útil de la carne mediante la utilización de frío, un conservante y una película plástica como recubrimiento. Para el estudio se calibró equipos de refrigeración y congelación además de equipos de laboratorio, se tomó muestras de 100 gramos que se obtuvieron de varias piernas de bovinos sacrificados en el camal de Ambato, las cuales se sumergieron en una solución con sorbato de potasio durante 20 segundos, posteriormente se colocó las muestras en fundas plásticas, donde se analizó: Pérdida de peso, extracto exudado, pH y recuento de aerobios totales, Salmonela, E.coli, Yersenia, donde se llegó a la conclusión que bajo las condiciones aerobias de almacenamiento de la carne se retarda el crecimiento de E.coli durante el tiempo de almacenamiento y se recomienda el consumo del producto antes de los 21 días, además se determinó que el

sorbato incide sobre el color de la carne a mayores concentraciones, y las películas plásticas deben tener una densidad de 0.910 g/cc de baja densidad.

Salazar J. en el 2003 con el trabajo “Influencia del Kilol L-20 y del Ácido L(+) Láctico en Conservación de la Carne de Bovino, Pierna(Bicepsfemoris y Cuadricepsfemoris) Fresca.” menciona que el objetivo fue estudiar el efecto del Kilol L-20 y del Ácido L(+) Láctico en la conservación de la carne de bovino, para lo cual se analizó los Bicepsfemoris y Cuadricepsfemoris directamente en las canales, el pH y conteo microbiológico de aerobios mesófilos, coliformes totales, y E.coli, para lo cual se aplicó una soluciones de kilol al 0.1% y 0.5% con ácido láctico al 0.4% y 0.6%, a temperaturas de conservación de 4°C y 20°C por 24 horas, el conteo de microorganismos se lo hizo en placas petrifilms, donde se determinó que el efecto es positivo en la reducción de microorganismos e incrementó el tiempo de vida útil, el mejor tratamiento tuvo como resultado usar: 0.2% de kilol y 0.6% de ácido láctico ya que produce un efecto de descenso de pH de la carne a una temperatura de 4°C. Los dos conservantes tienen un efecto sinérgico en la reducción de microorganismos y no se obtuvo una variación en las propiedades organolépticas.

Ortiz M. en el 2004, con el trabajo “Efecto de la aplicación de Ácido Ascórbico, y cloruro de Sodio en la calidad microbiológica de las canales de Cuy (*Cavia porcellus*)” menciona que el objetivo del trabajo fue desarrollar una tecnología que permita alargar el tiempo de vida útil de la canal de cuy (*Cavia porcellus*) mediante el uso de una solución de ácido ascórbico y cloruro de sodio, con el propósito de reducir su carga microbiana, para lo cual se utilizó ácido ascórbico al 1%, 1.2% y 1.4%, cloruro de sodio al 0.6% y 1%, durante un tiempo de inmersión de 10 y 20 minutos donde la respuesta experimental fue el conteo de aerobios mesófilos, coliformes totales y E.coli. Los cuyes fueron obtenidos de la parroquia Santa Rosa en la provincia de

Tungurahua con un peso aproximado de 850 gramos. Se utilizó un equipo de aturdimiento, un agitador eléctrico y material de laboratorio para la obtención de las muestras, las siembras microbiológicas se las realizó en medios PCA (Aerobios) y CCA (coliformes totales y E.coli), donde se determinó que fue positivo el tratamiento en la reducción de la carga microbiana obteniendo el mejor tratamiento con el uso de 1.4% de ácido ascórbico y cloruro de sodio al 1% con un tiempo de inmersión de 20 minutos donde el tiempo de vida útil fue de 23.37 días a 4°C, en todos los tratamientos se registró una reducción microbiana entre el 85.00% y 99.83%, el análisis sensorial indica que afecta principalmente a los atributos de olor y apariencia.

### **Efecto sinérgico del ácido láctico y nisina en la conservación de la carne de pollo**

En los últimos años ha existido un creciente esfuerzo destinado a encontrar nuevos miembros para proteger los productos alimenticios de la contaminación microbiana.

López y colaboradores (2001) mencionan que la principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque de diferentes tipos de microorganismos. Para evitar su proliferación se ha usado tradicionalmente conservadores químicos, pero existen otras alternativas, para satisfacer las exigencias de consumidores que demanda alimentos mas naturales como el uso de bacteriocinas, que son muy estables en condiciones desfavorables y actúan con gran eficiencia, en combinación con ácidos orgánicos, es una de las mejores opciones orgánicas para la reducción de microorganismos.

La bacteriocina (nisina) es producida por el *Lactococcus lactis* subespecie *lactis*, es una proteína o compuesto proteico con actividad antagonica que varia su modo de acción, espectro de actividad, peso molecular, propiedades bioquímicas, y origen genético. Es un antibiótico termoestable que cumple las condiciones de aditivo alimentario, este es

poco utilizado ya que tiene un espectro de acción muy reducido (Gram +). La nisina es utilizada como conservante, alimenticio porque inhibe las primeras fases de la germinación de las esporas. En general su actividad se debe a que forman poros en la membrana plasmática, de forma que se rompe su integridad (mecanismo tipo anfifílico e hidrófilo), se destruyen los gradientes de iones que son necesarios para la obtención de energía y se produce la pérdida de solutos celulares. (López 2001)

La influencia del pH sobre la acción de nisina incide a tal punto que el enlace nisina-bacterias se lleva a cabo por interacción electrostática con la carga negativa de los fosfolípidos de membrana, seguido por una reorientación que depende del potencial de la membrana del microorganismo. Los estudios con marcadores fluorescentes han demostrado que el grado de interacción de nisina con la bicapa lipídica depende de la concentración de la bacteriocina. El grado de esta unión determina el flujo de salida de Adenosin Trifosfato (ATP) intracelular que conduce a la muerte celular (Antonio G 2003)

El ácido láctico es un ácido orgánico de cadena corta es muy tóxico para los microorganismos porque atraviesan la membrana bacteriana en la forma no ionizada y se acumulan en la forma ionizada en el interior (Carrera J 2003).

Las moléculas de ácido láctico pueden ejercer dos efectos: por un lado interfieren con funciones celulares, como puede ser la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, por otro lado, la disociación del ácido láctico provoca el incremento de protones en el interior celular. Cuando la concentración de protones excede la capacidad tampón del citoplasma se transportan hacia el exterior mediante bomba de protones, reduciendo de esta manera las reservas energéticas de la célula. Cuando estas reservas se agotan, la bomba de protones se detiene y se provoca el descenso del pH interno, lo cual causa a su vez desnaturalización de las proteínas y

desestabilización de otros componentes estructurales y funcionales de las células, interfiriendo así con la viabilidad. (Milena Sandra y colaboradores 2009).

Además el ácido láctico es el responsable de la disminución del valor del pH en su medio ambiente y, por tanto, un modo de antagonismo para muchos otros microorganismos. Al mismo tiempo la disminución del pH, la cadena no disociada del ácido ejerce un efecto antimicrobiano por colapsar el gradiente electroquímico de transporte de protones causando efectos bacteriostáticos y muerte de las bacterias más susceptibles. (Ignacio Ricci 2008).

## **2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA**

La presente investigación se basa en el paradigma positivista que según Reichart y Cook (1986) tiene como escenario de investigación el laboratorio a través de un diseño pre estructurado y esquematizado; su lógica de análisis está orientado a lo confirmatorio, reduccionista, verificación, inferencial e hipotético deductivo mediante el respectivo análisis de resultados. Además la realidad única y fragmentable en tres partes que se pueden manipular independientemente. La relación sujeto- objeto es independiente, para este enfoque la realidad es algo exterior, ajeno, objetivo y debe ser estudiada, por tanto conocida.

## **2.3 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

En Ambato y en general en todo el país, los alimentos para consumo rápido especialmente la carne fresca, padece de falta de higiene en su manejo y expendio causando su deterioro temprano, representando pérdidas para el productor y transformándose en un peligro potencial para la salud del consumidor, todo lo mencionado genera la búsqueda constante de métodos para mejorar su calidad y prolongar su vida útil. Para validez de cualquier

esfuerzo es necesario el cambio de mentalidad en el productor y exigencia del consumidor en el manejo extremadamente higiénico que requiere el alimento para brindarnos su mejor calidad. (Salazar G. 2003)

La carne de pollo es la parte comestible de las aves sacrificadas, sangradas y faenadas en condiciones higiénicas. Se incluyen en este concepto las porciones de grasa, hueso, cartílago, piel, tendones, aponeurosis, nervios y vasos linfáticos y sanguíneos, que normalmente acompañan al tejido muscular y no se separan de este en los procesos de manipulación, preparación, y transformación de la carne. (Bourgeois, C.M., 1994)

La carne de pollo contiene muchas sustancias nutritivas que son necesarias para la alimentación humana.

**Cuadro N° 5:** Composición de la Carne de Pollo.

<b>Composición</b>	<b>Cantidad %</b>
Carbohidratos	---
Proteínas	20.2
Grasa	12.6
Ceniza	1.0
Agua	66.0

Fuente: Bourgeois, C. 1994

La composición química de la carne de pollo influye notablemente en el crecimiento de toda clase de bacterias y muy especialmente de las productoras de alteración, es una buena fuente de proteínas, (20-24 por 10) vitaminas (tiamina niacina, riboflavina) y sales minerales, lo que, unido a que posee una actividad de agua (aw) de 0.98-0.99 y un pH comprendido entre 6.2 a 6.4 y hace un medio inmejorable para el crecimiento microbiano. Por su riqueza en proteínas, la flora de alteración de esta carne es, sobre todo, proteolítica; los gérmenes obtienen el carbono y el nitrógeno de las proteínas presentes en el sustrato. Esta flora, aunque pueden degradar o sintetizar

grasa, nos necesita para su desarrollo. El glucógeno del músculo se convierte en Ácido láctico después del sacrificio, por lo que desciende el pH de 6.2-6.4, valor que permite un buen crecimiento de la flora microbiana. (Bourgeois, C. 1994)

Muchas veces por falta de información adecuada, se les considera a los aditivos como sustancias puramente químicas sospechosas, potencialmente peligrosas y nocivas por completo olvidándose que los alimentos están conformados por una multitud de sustancias químicas naturales complejas que se sintetizan en las células vegetales animales y que pueden ser compuestos anti nutricionales e incluso tóxicos (Quispe J. 1990)

La carne de ave fresca presenta una micro flora natural, afortunadamente, muchos de esos microorganismos no son patógenos para los humanos, la importancia radica en su eliminación durante el procesamiento de aves, así como el prevenir la contaminación cruzada con microorganismos patógenos potenciales que podrían estar presentes. La estabilidad y la contaminación microbiana son los principales parámetros para la determinación del tiempo de vida útil de los productos cárnicos refrigerados. El desarrollo de la contaminación superficial también ha sido verificado en los alimentos de humedad intermedia cuando son expuestos a fluctuaciones de temperatura. El desarrollo de estos sistemas de preservación de los alimentos constituye un gran esfuerzo por buscar nuevas alternativas en la conservación de alimentos y de la misma forma la búsqueda de nuevas tecnologías industriales, (Pacheco N. 1999)

Los métodos de conservación resultan fundamentales, para prevenir microorganismos alterantes que pueden crecer fácilmente, la necesidad actual de conservar la carne ha permitido desarrollar numerosos métodos eficaces, sin embargo, en nuestro medio es válido tomar en cuenta el uso de preservantes de origen natural que a mas de impedir su deterioro respetan la

calidad nutricional y organoléptica, no implican riesgo sanitario para los manipuladores y consumidores, y son de aplicación comercial fácil y económica. La Aplicación de cualquier método de conservación es válida solo si se atiende a la importancia de cumplir con las normas de higiene que requiere la producción y manejo de la carne. (Salazar G. 2003)

La temperatura de almacenamiento ejerce un efecto significativo en la conservación de la carne de pollo almacenada. Este medio es efectivo para su preservación pues previene o disminuye los cambios químicos indeseables y mantiene las principales cualidades de la carne fresca. Sin embargo hay que advertir que durante el almacenamiento por un largo periodo de tiempo la carne de pollo puede sufrir deterioros en menor o mayor grado. La temperatura de almacenamiento de 4°C, permite lograr mayores tiempos de vida útil en la carne de pollo. (Pacheco N. 1999)

Es posible generalizar considerando la influencia del pH sobre la tasa de crecimiento microorganismos, para bacterias generalmente debe haber un pH mínimo para su crecimiento alrededor del 4.0 a 4.5 y un óptimo entre 6.8 y 7.2, esto es más o menos neutro, y un máximo entre 8.0 y 9.0 aunque algunas bacterias son excepciones a esta generalización. El pH interno de las células microbianas es cerca del pH 7.0 (este puede ser más bajo en algunos microorganismos como en el caso de las levaduras en las cuales el pH se encuentra en 5.8) y este es el pH en el cual el trabajo metabólico de las células es el mejor. Los ácidos orgánicos débiles se pueden presentar en su forma disociada, cuyo grado de disociación depende del pH del entorno. En una solución ácida en la cual hay un exceso de iones  $H^+$ , el equilibrio cambia hacia la forma no disociada. La descomposición de una canal de un animal, no se limita a una sola presencia de microorganismos, sino también a procesos químicos y enzimáticos propios del producto, los cuales también generan daños en su calidad. (Ortiz M. 2003)

## **Estándares Y Grados De Calidad**

La calidad bacteriológica de la carne de ave depende de distintos factores ligados al sacrificio del animal y a su comercialización sin olvidar su crianza en vida. (Bourgeois, C.M., 1994). La carne de pollo es uno de los alimentos con más cantidad de nutrientes para la nutrición, del hombre desde el punto de vista biológico, esta también es uno de los productos más perecedero.

Dicho esto, se deduce que es muy importante controlar la temperatura, y la higiene durante la preparación, de este producto, mediante las buenas prácticas de higiene y de conservación. (Bourgeois, C.M., 1994)

Según James M (2000) las principales fuentes de contaminación y vías de acceso de microorganismos a las carnes de aves son;

- **El cuchillo del degüello.-** Después de ser aturdidos y colgados por las extremidades. Si el cuchillo no está estéril, los microorganismos son arrastrados hacia la corriente sanguínea, donde pueden ser depositados en toda la canal.
- **Piel del Animal.-** los microorganismos de la piel se encuentran entre los que penetran en la canal por medio del cuchillo de degüello. Otros organismos de la piel pueden ser depositados en la canal desprovista de plumas o en superficies recién cortadas. Parte de la flora y fauna de la piel es diseminada por el aire
- **Tracto intestinal.-** Por medio de punciones, el contenido intestinal junto con la habitual carga microorganismos puede ser depositada en la superficie de las canales recién preparadas.
- **Manos de los manipuladores.-** Esta es la fuente de patógenos humanos para las carnes de los animales recién sacrificados. Aunque se lleven guantes los organismos de una canal pueden ser transferidos a otra canal.

- **Recipientes.-** Las canales que se depositan en los recipientes no estériles se contaminan con los organismos del recipiente. Este tiende a ser una fuente primaria de microorganismos para canales cortadas.
- **Ambiente de manipulación y almacenaje.-** El aire circulante no constituye una fuente importante de organismos para las superficies de todos los animales sacrificados.

Pacheco (1999) indica que la calidad de la carne de pollo se refiere a las propiedades inherentes del producto que determinan su excelencia o valor. Para tal propósito, se han identificado ciertas características que son deseadas por el productor, el procesador y el consumidor. Estas propiedades son: buena proporción de carne y hueso, cubierta de piel adecuada, ausencia de plumas pilosas y decoloraciones. Los estándares de calidad enumeran los factores que afectan a estas propiedades, y pueden aplicarse a las aves, sus canales, partes y productos. Los factores de las canales y de las partes son: conformación, musculatura, cubierta de grasa piel expuesta, y decoloraciones.

### **Alteraciones De La Carne**

La carne de pollo tienen una abundancia de todos los nutrientes necesarios para el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos y una cantidad adecuada de estos constituyentes existe en la carne de pollo fresca en forma disponible (James M, 2000). La carne de ave y sus derribados en estado crudo están generalmente contaminados por microorganismos capaces de producir enfermedades alimentarias (por ej., Salmonella, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Campylobacter fetus subsp. Jejuni y Yersinia enterocolitica) (ICMSF, 1980)

## **2.4 FUNDAMENTACIÓN LEGAL**

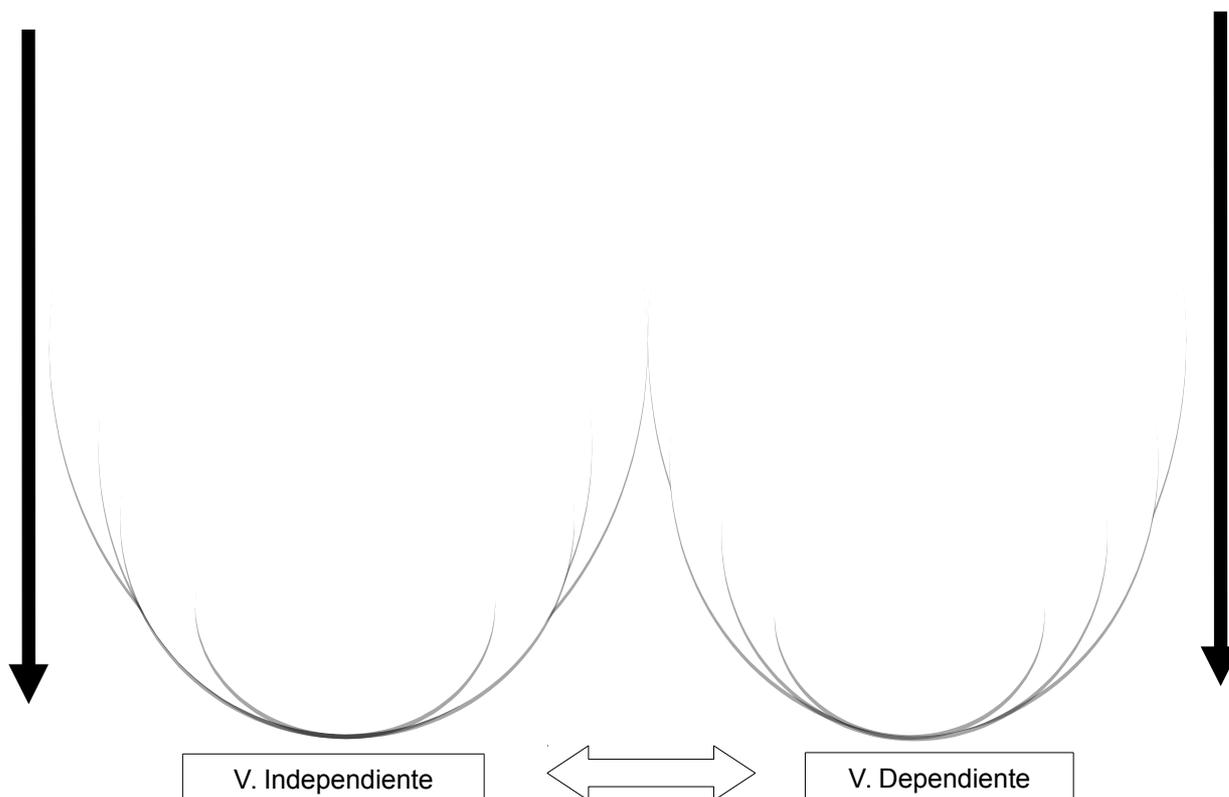
El estudio se fundamenta en el cumplimiento de las normas INEN pertenecientes a la carne de pollo y a sus análisis respectivos para determinar la calidad microbiológica de cada tratamiento realizado y se detallan en la Cuadro N° 6.

**Cuadro N° 6:** Normas de aplicación en el estudio

<b>MÉTODO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
NTE INEN 1217:06 1R	Carne y productos cárnicos. Definiciones
NTE INEN 0783:85	Carne y productos cárnicos. Determinación del pH * 4
NTE INEN 0766:85	Carne y productos cárnicos. Determinación de bacterias aeróbias (activas) * 4
NTE INEN 0765:85	Carne y productos cárnicos. Bacterias coliformes y escherichia coli * 4
Método Oficial de la AOAC (986.33, 989.10 y 991.14)	Recuento de microorganismos en placas petrifilms
NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS 192	Norma de uso de Nisina
	Norma de uso del Ácido Láctico

Elaborado por: Christian Moreno

## 2.5 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES



**Figura N° 2:** Red lógica de inclusiones.  
**Elaborado por:** Christian Moreno

### 2.5.1 CONSTELACIÓN DE IDEAS CONCEPTUALES DE LA VARIABLE DEPENDIENTE

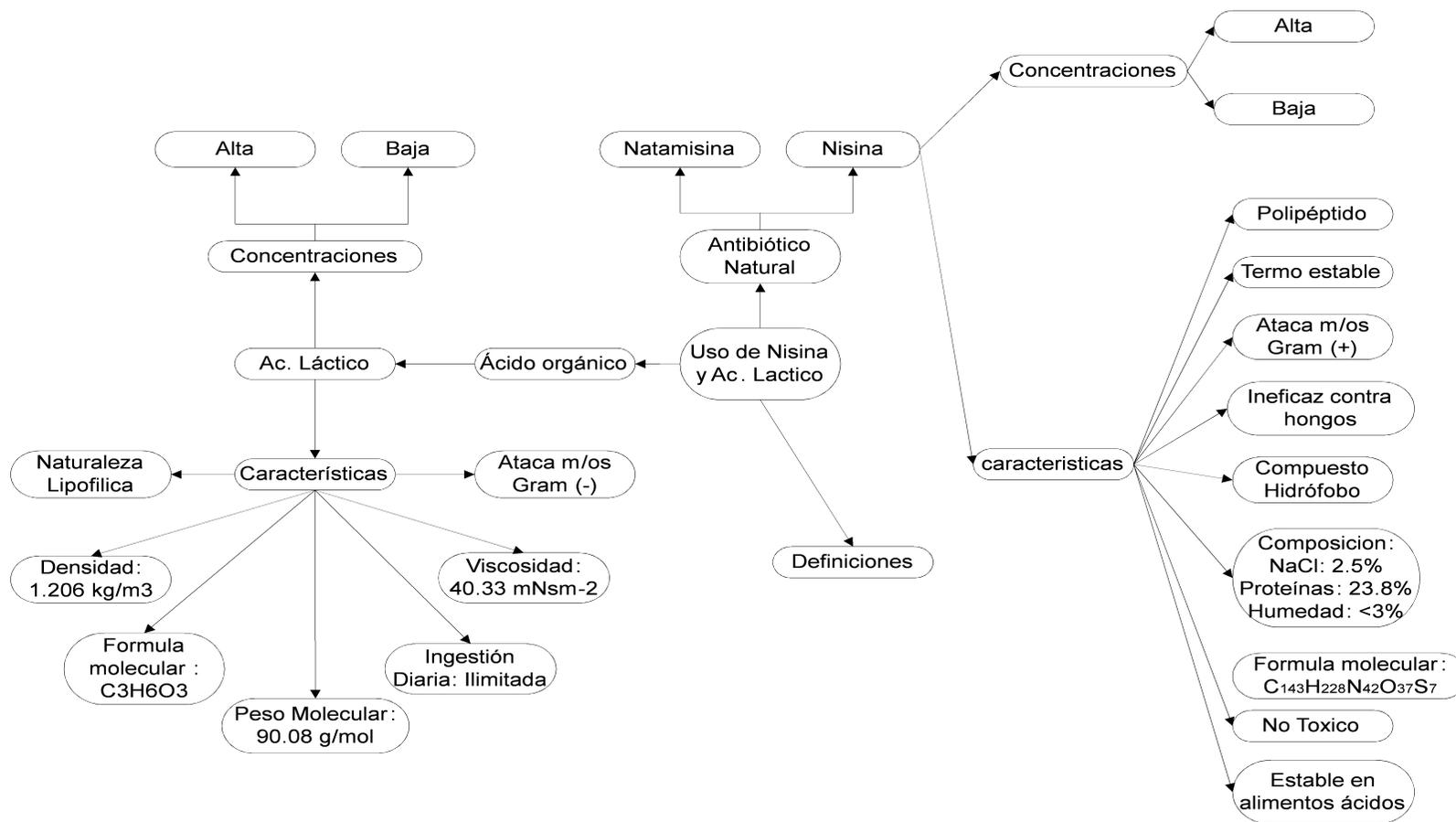
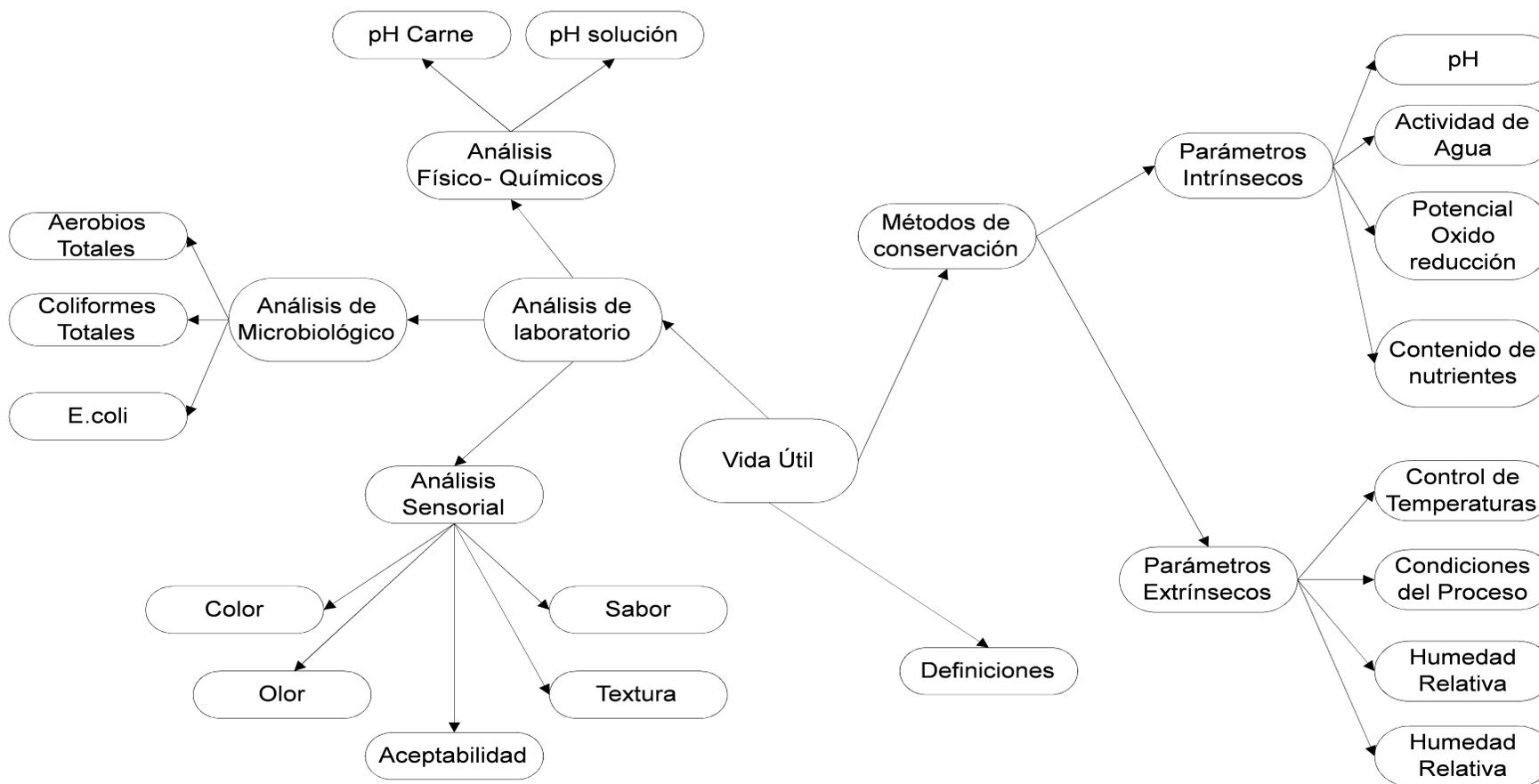


Figura N° 3: Relación entre variables  
Elaborado por: Christian Moreno

## 2.5.2 CONSTELACIÓN DE IDEAS CONCEPTUALES DE LA VARIABLE INDEPENDIENTE



**Figura N° 4:** Relación entre variables  
**Elaborado por:** Christian Moreno

## **2.5.3 Marco Conceptual de la Variable Independiente**

### **2.5.3.1 Desinfección**

Proceso que mata o inactiva agentes patógenos tales como bacterias, virus y protozoos impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentran en organismos vivos mediante agentes químicos, métodos físicos o ambos. (Orozco N. 2007)

### **2.5.3.2 Técnicas de Saneamiento**

Son los mecanismos íntimos a través de los cuales mueren o se inhiben los microorganismos por agentes o procesos antimicrobianos. Los métodos prácticos o destinados a la destrucción o eliminación de microorganismos son evidentemente de importancia para diferentes casos, ya que difieren considerablemente por su susceptibilidad en varios agentes microbianos. (Kenneth L. Bordon)

### **2.5.3.3 Antimicrobianos**

Sustancias químicas sintetizadas parcial o totalmente en laboratorio que son capaces de inhibir el crecimiento y/o destruir microorganismos. Los antimicrobianos de uso sistémico deben reunir las siguientes características:

- Deben ser más bactericidas que bacterioestáticos.
- Es deseable que sean efectivos frente a un amplio espectro de microorganismos.
- No deben ser tóxicos y los efectos colaterales adversos tienen que ser mínimos para el huésped.
- La concentración activa frente a los microorganismos se debe alcanzar con celeridad y mantenerse durante un tiempo prolongado.
- Deben ser hidro y liposolubles

### **2.5.3.4 Ácido Láctico**

El ácido láctico es el compuesto orgánico obtenido principalmente por la fermentación de microorganismos. Este es un compuesto químico que juega un papel importante en varios procesos bioquímicos y es un caso especial, ya que su uso es relativamente bajo como aditivo alimentario. Tiene actividad conservante solamente a concentraciones relativamente elevadas, por encima del 0,5%, especialmente contra bacterias anaerobias. (Miguel Calvo 2000).

#### **2.5.3.4.1 Antecedentes**

El ácido láctico fue descubrimiento por el químico sueco Scheele, en 1780, se originó cuando aisló la leche agria, fue reconocido como producto de la fermentación por Blonodeaur en 1847, y tan solo en 1881, Littlelon inicia la fermentación a escala industrial. Es un compuesto muy versátil utilizado en la industria química, farmacéutica y de los de alimentos. (Oswaldo N. 2006)

#### **2.5.3.4.2 Funciones Atribuidas al Ácido Láctico**

Contribuye con la estabilidad de los alimentos, dando un efecto antimicrobiano atribuido a la disminución del pH por debajo del intervalo de crecimiento de microorganismos, como la inhibición metabólica por las moléculas del ácido no disociado debido a su naturaleza lipofílica, ya que pueden atravesar la membrana celular y disociarse en el citoplasma. (James M. 2000)

#### **2.5.3.4.3 Propiedades Químicas y Físicas**

El ICMSF, 1980 menciona que las propiedades físicas y químicas del Ácido láctico son:

**Cuadro N° 7: Propiedades físicas y químicas del Ácido Láctico**

<b>Propiedades Físicas</b>	<b>Propiedades Químicas</b>
----------------------------	-----------------------------

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Índice de refracción: 1,4414</li> <li>• Punto de fusión L(+) y D(-): 52,8 a 54 °C</li> <li>• Punto de ebullición: 125-140 °C</li> <li>• Gravedad específica: 1206</li> <li>• Calor de combustión: 3616 cal/g</li> <li>• Viscosidad: 40,33 mNsm-2</li> <li>• Constante dieléctrica: 22ε</li> <li>• pKa: 3.1</li> <li>• Punto de ebullición: (198 °C)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peso molecular : 90,08 g/mol</li> <li>• Solubilidad en agua (grs. /100 grs.): Muy soluble</li> <li>• Ingestión Diaria Aceptable (ADI) (mgrs. / kg de peso corporal.): Ilimitada</li> <li>• Concentración máxima normal (mgrs. / kgs): Ilimitada</li> <li>• Densidad: 1.206 kg/m3; 1.206g/cm3</li> <li>• Fórmula molecular: C3H6O3</li> </ul>
---	---

Fuente: James M (2000)

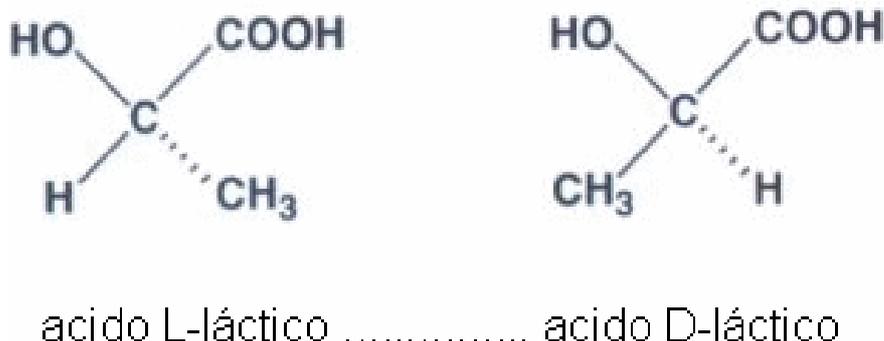


Figura N°5: Formula desarrollada del L y D Ácido Láctico  
Fuente: Totocol C. 2004 (en línea).

#### 2.5.3.4.4 Riesgos para la salud

Es químicamente estable, pero puede causar problemas de salud al entrar en contacto directo con la piel, ojos o por ingestión o inhalación directa, al manejarlo sin los implementos de protección personal.

#### 2.5.3.5 Nisina

La nisina es un polipéptido (proteína de cadena corta) que actúa como antibiótico y es producido por la bacteria Lactococcus lactis. La Nisina es

efectiva en una gran variedad de productos alimenticios, a través de un amplio rango de niveles de pH (3.5 - 6.0), (Bionils, 2010).

**Cuadro N° 8: Propiedades de la nisina**

<b>PROPIEDAD</b>	<b>NISINA</b>
Muy usado en los alimentos	Si
Primer uso en los alimentos	1951
Naturaleza química	Polipéptido
Usado como adyuvante del color	Si
Termo estabilidad	Estable
Espectro microbiano	G <sup>+</sup>
Usado medicamento	No
Usado en piensos	No

Fuente: James M (2000)

#### **2.5.3.5.1 Antecedentes**

El primer uso alimentario de la nisina lo hizo Hurs para impedir la alteración del queso suizo con *Clostridium butyricum*. Evidentemente es el más usado de estos compuestos en la conservación de alimentos, con alrededor de 50 países que permiten su uso en los alimentos en proporciones variables. Fue autorizado en 1988 para el uso alimentario en los Estados Unidos. El compuesto es eficaz contra bacterias Gram – positivas especialmente las esporógenas y es ineficaz contra hongos y bacterias Gram – negativas James M (2000)

#### **2.5.3.5.2 Funciones atribuidas a la Nisina**

La nisina se muestra como un "conservante natural" en los diccionarios químicos. En la mayoría de sus aplicaciones, la nisina es una parte de un sistema inhibidor de la barrera múltiple. La nisina puede ser útil junto con el almacenamiento en atmósferas modificadas. Prolonga la vida útil y retrasa la producción de toxinas por cepas botulínicas.

#### **2.5.3.5.3 Propiedades Químicas Y Físicas**

James M. (2000) menciona que la nisina entre algunas de sus propiedades deseables como conservador de alimentos está los siguientes:

### Propiedades Químicas

Este es un agente polipeptídico que está emparentado estructuralmente con la subtilina con un peso molecular: 3348. Es un compuesto hidrófobo, y puede ser degradado por el meta bisulfito, por el oxido de titanio y por determinadas enzimas proteolíticas.

La composición típica resultante de la nisina es (2,5%), cloruro de sodio (superior al 50%), proteínas (23,8%), y la humedad (menos del 3%). La molécula de nisina posee una treintena de aminoácidos, algunos de ellos poco comunes como son: la lantionina, la metilantionina, la dehidroalanina y el ácido dehidroaminobutírico.

**Fórmula molecular:** C<sub>143</sub> H<sub>228</sub> N<sub>42</sub> O<sub>37</sub> S<sub>7</sub>

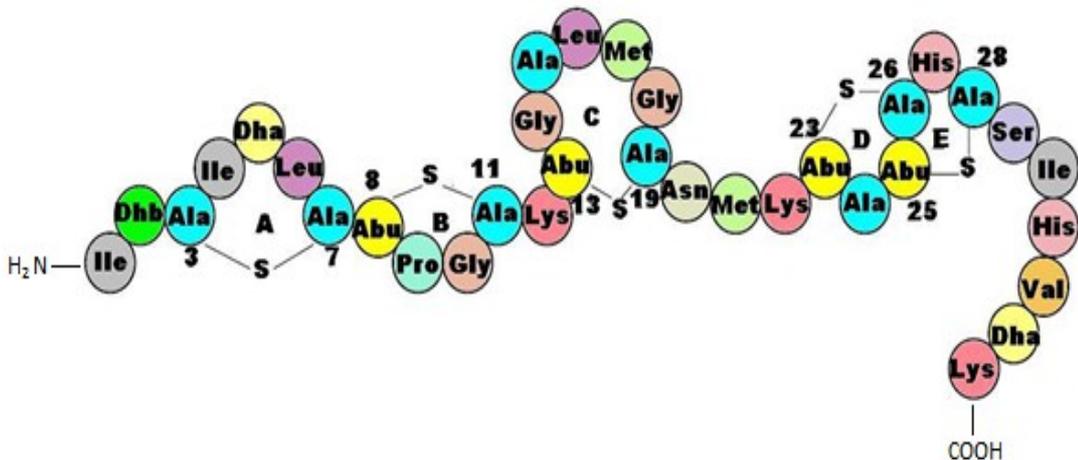


Figura N° 6: Fórmula desarrollada de la Nisina  
Fuente: Cacattila I 2007

### Propiedades Físicas

- No es tóxico.
- Es producido de modo natural por cepas de Lactococcus lactis.
- Es termoestable y tiene una excelente estabilidad de almacenaje.
- Es destruido por las enzimas digestivas.
- No contribuye en los sabores y olores desagradables.

- Tiene un espectro reducido de actividad antimicrobiana.
- Más estable en alimentos ácidos.
- Posible sustituto del nitrito

#### **2.5.3.5.4 Riesgos para la salud**

La nisina fue evaluado y aprobado como conservante de alimentos para el control bacteriano (FAO / OMS 1969a), y se identifica con el número E 234. La nisina está actualmente incluida en la categoría de GRAS (Generally Recognized As Safe = generalmente reconocidos como seguros) por la FDA (Food and Drug Administration, EE.UU.). Las concentraciones de uso son: LFE-1000: 0.1-0.5% para la conservación de alimentos. (González B. 2003).

### **2.5.4 Marco Conceptual de la Variable Dependiente**

#### **2.5.4.1 Métodos de conservación**

Son numerosas y a veces complejas técnicas empleadas para la conservación de alimentos especialmente a escala industrial, se utiliza diversos factores que inhiben el crecimiento de los microorganismos. La carne de pollo puede tener microorganismos creciendo sobre ella, cuya presencia puede indicar una menor y mayor calidad de esta. Si proliferan los microorganismos perjudicarán la calidad del producto y para reducir la carga microbiana existen una serie de factores que intervienen en el crecimiento de los microorganismos donde se tiene dos factores intrínsecos y extrínsecos.

##### **2.5.4.1.1 Parámetros intrínsecos**

Son las características físicas, químicas y biológicas del alimento los cuales están sujetos a cambiar, las cuales pueden afectar directamente en la calidad del producto.

#### **a) Efectos del pH**

El pH es el factor más importante que influye eficientemente en la mayoría de los agentes antimicrobianos de los alimentos. (Doyle Michael P. 2001). El pH desfavorable afecta por lo menos a dos aspectos de una célula microbiana: el funcionamiento de sus enzimas y el transporte de nutrientes al interior de la célula. La membrana citoplasmática de los microorganismos es relativamente impermeable a los iones  $H^+$  y  $OH^-$ . Por esta razón probablemente su concentración en el citoplasma permanece constante pesar de las importantes variaciones que se puedan dar en el medio circundante. (James M. 2000)

Según Garbutt J 1997, el potencial hidrogeno (pH) es uno de los factores principales que afecten el crecimiento y supervivencia de microorganismos tanto en medios de cultivo como en alimentos. El término pH en su explicación más simple resulta ser una medida de si una solución es o no acida, alcalina o neutra dentro de un sistema o reacción.

El pH proporciona un indicio de la actividad de estos iones sobre los componentes del medio, influye sobre las reacciones químicas y bioquímicas y en consecuencia sobre los microorganismos (Bourgeois, C.M. 1994)

#### **b) Actividad de Agua**

La carne de ave fresca por su contenido nutricional y su alto valor de actividad de agua ( $A_w$ : ) está considerada dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos, al igual que la mayoría de los productos elaborados

con ella; sin embargo, de acuerdo a sus características particulares, el tipo de microorganismos presentes puede variar. A pesar de que el músculo como tal, es prácticamente estéril, los alimentos preparados con base en carne son muy susceptibles a la contaminación y ofrecen las condiciones necesarias para el crecimiento de microorganismos involucrados en daños y enfermedades de origen alimentario. (Arango C. 1999)

### **c) Potencial de oxido reducción**

Durante muchos años se ha sabido que los organismos manifiestan varios grados de sensibilidad al potencial de oxido-reducción (Eh) de su medio de crecimiento. Los microorganismos afectan el Eh de su medio de durante el crecimiento del mismo modo afectan el pH. Cuando los microorganismos aerobios crecen el oxígeno se agota, lo que da como resultado la disminución del Eh. (James M. 2000)

Inmediatamente después de la muerte del animal, el músculo todavía contiene en profundidad reservas de oxígeno, que hacen que el Eh sea positivo y elevado, lo que favorece el crecimiento de gérmenes aeróbicos (requieren de la presencia de oxígeno para desarrollarse). Luego las reservas de O<sub>2</sub> se agotan por falta de renovación por la sangre, el Eh profundo disminuye rápidamente y se hace negativo. Las condiciones reductoras que se crean, son propicias para el desarrollo de gérmenes anaerobios de la putrefacción. (Arango C, Restrepo D 1999)

### **d) Contenido de nutrientes**

Con el fin de crecer y actuar normalmente, los microorganismos en los alimentos necesitan: agua, fuente de energía, fuente de nitrógeno, vitaminas y factores de crecimiento afines. (James M. 2000). Después de haber

transcurrido en el músculo los procesos bioquímicos posteriores a sub-obtención, este aporta los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de la mayoría de los microorganismos. Satisface desde las necesidades tan simples hasta los más complejos de los microorganismos. (Arango C. 1999)

#### **2.5.4.1.2 Parámetros extrínsecos**

Son aquellas propiedades externas del medio de conservación que afectan tanto a los alimentos como a sus microorganismos, entre ellos se encuentran:

##### **a) Control de temperaturas de conservación**

Este es uno de los factores más importantes que actúan sobre el crecimiento de los microorganismos y que tienen una aplicación casi generalizada en la conservación de los alimentos. (Bourgeois, C.M., 1994)

La temperatura de la carne inmediatamente después del sacrificio es relativamente alta (aproximadamente 37 °C), temperatura ideal para el desarrollo de las bacterias mesófilas (entre 25 y 40 °C, sin embargo es posible encontrarlas hasta 10 °C). El control de la temperatura de almacenamiento siempre será un factor a tener en cuenta para la conservación de los alimentos. (Arango C, Restrepo D 1999)

##### **b) Condiciones del proceso**

Son condiciones apropiadas para el procesamiento de los alimentos que reducen las posibilidades de contaminación y crecimiento de microorganismos evitando la contaminación cruzada que es el proceso por

el cual los alimentos entran en contacto con sustancias ajenas, generalmente nocivas para la salud.

### **Descripción del proceso de obtención las canales de ave**

- **Recepción de la materia prima.-** Los pollos son preparados 24 horas antes de su sacrificio lo cual contribuye a la limpieza de la operación.
- **Sacrificio del animal.-** Consiste en un corte en el cuello para su desangrado, este depende de la eficiencia de la incisión, el tipo de ave, y si se ha ejecutado algún tipo de insensibilización antes del sacrificio puede durar de 1 a 3 minutos y esto evita que llegue demasiada sangre al agua de escaldado.
- **Escaldadura:** Proceso en el cual se someten las aves a un escaldado, para facilitar la eliminación de plumas, el proceso de inmersión no debe durar mucho tiempo y no superar los 52 -54°C porque dañara la piel del ave. Este proceso es de riesgo higiénico considerable, porque el escaldado no reduce con eficacia el número de bacterias en general por tanto la contaminación aumenta durante el sacrificio.
- **Desplumado.-** Las plumas del ave son retiradas manualmente o mecánicamente de la piel.
- **Destripado.-** Se abre la cavidad abdominal y se extrae el paquete intestinal, y con este el hígado, molleja y corazón, después se quitan las patas y la cabeza. Este proceso es bastante crítico porque se debe tener mucho cuidado de no causar heridas al intestino y la contaminación superficial de la canal, durante este proceso las personas que intervienen deben lavarse y desinfectarse las manos varias veces durante la jornada de trabajo.
- **Lavado.-** Las canales luego son lavadas para eliminar partículas adheridas de sangre, grasa y tejidos, así como heces que pudieron

adherirse durante la evisceración, la limpieza debe realizarse tanto por fuera como por dentro.

- **Cortado.-** Se lo realiza inmediatamente después del lavado primero en cuartos y luego en piezas para su posterior transporte a ventas.
- **Enfriamiento.-** Las canales de las aves deben ser inmediatamente enfriadas a temperatura de refrigeración para prevenir la contaminación bacteriana, una vez enfriadas las canales se deben escurrir para eliminar el exceso de agua y se clasifican por tamaño y calidad.
- **Inmersión en tratamientos (Ac. Láctico-Nisina):** Según el diseño experimental que se muestra en el Cuadro N° 7
- **Toma de muestras:** Las muestras se colocaron asépticamente en fundas de polietileno previamente identificadas, se separó los tratamientos que necesitaban refrigeración en un caja térmica aislante conteniendo envases de hielo para mantener las muestras refrigeradas, y las muestras a temperatura ambiente fueron colocadas en otro recipiente no acondicionado y se transportó inmediatamente al laboratorio de la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato hasta el momento de su respectivo análisis microbiológico o sensorial.
- **Inoculación e Incubación:** Se realizan las correspondientes siembras para el conteo de UFC según cada placa petrifilm, las siembras se mantienen a la temperatura establecida de los medios.
- **Resultados:** Se analizan estadísticamente los resultados de los análisis microbiológicos y sensoriales. Ver diagrama de flujo Anexo E-1

### c) Humedad relativa del medio

La humedad relativa del medio se equilibrará con el agua del alimento, o como mínimo tiende a ello, uno de los parámetros para controlar esto es el uso de humidificadores o desecadores para regular el contenido de agua del medio. (James M. 2000)

#### **d) Aditivo Alimentario**

Se entiende por aditivo alimentario cualquier sustancia que como tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento es con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características. (Codex alimentarius 1995)

#### **e) Conservante**

Un conservante es una sustancia utilizada como aditivo alimentario, que añadida a los alimentos (bien sea de origen natural o de origen artificial) detiene o minimiza el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). (Marchese P. 2003)

### **2.5.4.2 Condiciones de almacenamiento**

Sarroca G. y colaboradores (2006) mencionan que el primer almacén en la historia fue para conservar alimentos, por lo tanto es de vital importancia el almacenamiento correcto de los mismos. Con el almacenamiento de alimentos se debe tener desde la obtención de los

mismos, un riguroso cuidado de conservación de sus cualidades para evitar el deterioro de estos, que puede ocurrir por diversas causas.

Para el almacenamiento de los alimentos en general se deben tener en cuenta un grupo de requisitos, a continuación se mencionan algunos de ellos:

- Deben estar sobre medios de almacenamiento, nunca directos al piso.
- No deben mezclarse con productos biodegradables y sustancias químicas.
- También debe prestársele atención a la compatibilidad organoléptica de los productos alimenticios, pues el hecho de que algunos productos no sean compatibles puede traer por consecuencia alteraciones en sus propiedades gustativas.
- Se debe velar por la correcta rotación de los productos, de forma tal que ningún producto permanezca almacenado por más tiempo del establecido en sus normas de conservación, además de tener un control de las fechas de vencimiento de los mismos que permita que salga primero el producto, que primero venza.
- Se prohíbe el almacenamiento de productos que no sean alimentos, que puedan provocar la transferencia de olores, sabores y el deterioro de las características propias de los mismos.
- Los equipos y medios de almacenamiento y de medición en los almacenes de alimentos no deben representar riesgos de contaminación. La administración de los almacenes debe elaborar un plan de limpieza y desinfección para estos equipos y medios, así como para los pisos, paredes y columnas de la instalación.

#### **2.5.4.3 Unidades Formadoras de Colonia (UFC)**

Se denomina unidad formadora de colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas produce una colonia en un breve lapso de tiempo. (Antonio G 2003)

Además las Unidades Formadoras de Colonias es un valor que indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente o muestra. UFC es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes. (Trevlean Alex 2010)

### **Bacterias Gram positivas**

Bacterias Gram positivas son a aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram: de aquí el nombre de "Gram- (+)" o también "gran positivas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias.

#### **Características presentes en una bacteria Gram-positiva:**

- Membrana citoplasmática.
- Capa gruesa de péptido glicano.
- Ácidos teicoicos y lipoteicoicos, que sirven como agentes quelantes y en ciertos tipos de adherencia.
- Polisacáridos de la cápsula.

### **Bacterias Gram negativas**

Bacterias Gram negativas a aquellas bacterias que no se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram: de ahí el nombre de "Gram (-)" o también "gram negativas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias.

#### **Características:**

La envoltura celular de las bacterias Gram-negativas está compuesta por una membrana citoplasmática (membrana interna), una pared celular delgada de péptido glicano, que rodea a la anterior, y una membrana externa que recubre la pared celular de estas bacterias. Entre la membrana citoplasmática interna y la membrana externa se localiza el espacio periplásmico relleno de una sustancia denominada periplasma, la cual contiene enzimas importantes para la nutrición en estas bacterias.

#### **Diferencias entre Gram Positiva y Gram Negativa:**

Tanto las bacterias Gram-positivas como las Gram-negativas pueden presentar una capa superficial cristalina denominada capa S. En las bacterias Gram-negativas, la capa S está unida directamente a la membrana externa. En las bacterias Gram-positivas, la capa S está unida a la capa de péptidoglicano. Los microorganismos Gram positivos, como el *Staphylococcus aureus*, adquieren un color violeta después de la coloración de Gram debido a que contienen una pared celular estructuralmente muy diferente a la de los microorganismos Gram negativos, como la *Escherichia coli*, que adquieren un color rosado.

#### **2.5.4.4 Vida Útil.**

La vida de anaquel se describe como la determinada cantidad de tiempo en el que un producto alimenticio puede ser almacenado sin que se manifiesten cambios apreciables en su calidad o inocuidad. Los pasos iniciales en determinar la vida de anaquel son la identificación de los parámetros del Fin de la Vida de Anaquel (FVA). Por ejemplo, la mayoría de los productos cocidos de carne de ave se hacen inaceptables debido al crecimiento microbiano, la oxidación de lípidos, y/o la decadencia en la calidad sensorial. (Wes Schilling, y colaboradores 2012).

Trinidad M. y colaboradores 2006, indican que la pérdida de calidad en carne de pollo puede resultar de la redistribución de la carga más alta

microbiana inicial a las zonas más expuestas y mayor disponibilidad de nutrientes, provenientes de la rotura de las células, que favorecen el crecimiento de microorganismos.

## **2.6 HIPÓTESIS**

El uso de Ácido Láctico y Nisina incide en la vida útil de la carne de pollo

## **2.7 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES**

### **2.7.1 Variable independiente:**

Uso de Ácido Láctico y Nisina

### **2.7.2 Variable dependiente:**

Vida Útil

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1 ENFOQUE**

El enfoque bajo el cual se estableció la presente investigación es de carácter cuantitativo porque se midió la efectividad de los compuestos orgánicos usados como desinfectantes mediante el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) y a su vez es de carácter cualitativo, porque se evaluó mediante un análisis sensorial las propiedades organolépticas a los tratamientos.

#### **3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN**

El presente trabajo investigativo se fundamenta en las siguientes modalidades:

**Bibliográfica documental:** Debido a que se necesita conocer, comparar, ampliar, profundizar y deducir diferentes enfoques, teorías, conceptualización y criterios de diversos autores sobre el tema basándose en documentos, libros, revistas, periódicos, normas y otras publicaciones.

**Investigación experimental:** O de laboratorio porque el tema que se estudia se manipula ciertas variables independientes para observar los efectos de las respectivas variables dependientes con el propósito de

precisar la relación causa – efecto y también se realiza un control riguroso de las variables sometidas a experimentación por medio de procedimientos estadístico.

### **3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN**

**Descriptivo:** El objetivo de la investigación descriptiva consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, objetos, procesos y personas. Su meta no se limita a la recolección de datos, sino a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables. Los investigadores no son meros tabuladores, sino que recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento.

**Correlacional:** El método que se utilizó en la evaluación del estudio es de tipo correlacional que tiene como propósito medir el grado de relación que existe entre dos o más conceptos o variables: es así que, en el presente trabajo de investigación se midió el porcentaje de reducción de microorganismos en que los bactericidas orgánicos actúan como desinfectantes y en que rango modifican la carga microbiana durante el tiempo de vida útil en la carne de pollo.

### **3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA**

Se aplicó un diseño experimental  $2^4$  (cuadro N°10) con una réplica obteniendo un total de 32 tratamientos, se utilizó pechugas de pollo obtenidas de un frigorífico comercial en el mercado central del cantón Ambato, y los factores de estudio se encuentran en el (cuadro N°9), las respuestas experimentales fueron:

- recuentos microbianos expresados en UFC/g
- pH
- Para el mejor tratamiento análisis de vida útil basada en el recuento de UFC

Además se aplicó un análisis sensorial a todos los tratamientos mediante un diseño de bloques completos de 15 catadores, los cuales evaluaron 16 tratamientos y un blanco, dando un total de 17 muestras, donde cada catador evaluó en diferentes días diferentes muestras los atributos de color, olor, sabor, textura y aceptabilidad cada uno subdividido en una escala hedónica de 5 niveles siendo el 1 el de valoración más baja y 5 el de valoración más alta. Anexo E-2.

### 3.4.1 Diseño Experimental para Tratamientos de Carne de Pollo

**Cuadro N° 9:** Factores y niveles del diseño experimental de aplicación.

Factores	Nivel Bajo (-)	Nivel Alto (+)
Concentración de Ácido Láctico	1%	2%
Concentración de Nisina	300 ppm	500 ppm
Tiempo de inmersión	3 min	10 min
Temperatura de conservación	4 °C	Ambiente(18°C)

Elaborado por: Christian Moreno

La ecuación que rige para el diseño experimental del estudio es:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (AD)_{il} + (BC)_{jk} + (BD)_{jl} +$$

$$(CD)_{kl} + (ABC)_{ijk} + (ABD)_{ijl} + (BCD)_{jkl} + (ACD)_{ikl} + (ABCD)_{ijkl} + R_m + \varepsilon_{ijklm}$$

**Cuadro N° 10:** Combinaciones de los factores y niveles del diseño experimental de aplicación.

Combinación estándar	COMBINACIONES DE LOS TRATAMIENTOS DEL ESTUDIO			
	FACTOR A	FACTOR B	FACTOR C	FACTOR D
	Concentración de Ac. Láctico	Concentración de Nisina	Tiempo de Inmersión	Temperatura de Almacenamiento.
1	1%	300 ppm	3 min	4 °C
a	2%	300 ppm	3 min	4 °C
b	1%	500 ppm	3 min	4 °C
ab	2%	500 ppm	3 min	4 °C
c	1%	300 ppm	10 min	4 °C
ac	2%	300 ppm	10 min	4 °C
bc	1%	500 ppm	10 min	4 °C
abc	2%	500 ppm	10 min	4 °C
d	1%	300 ppm	3 min	Ambiente
ad	2%	300 ppm	3 min	Ambiente
bd	1%	500 ppm	3 min	Ambiente
abd	2%	500 ppm	3 min	Ambiente
cd	1%	300 ppm	10 min	Ambiente
acd	2%	300 ppm	10 min	Ambiente
bcd	1%	500 ppm	10 min	Ambiente
abcd	2%	500 ppm	10 min	Ambiente

Elaborado por: Christian Moreno

### 3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.5.1 Variable Independiente: (Ácido láctico y Nisina)

Contextualización	Categorías	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas e Instrumentos
El ácido láctico y Nisina se conceptualiza como bactericidas que son sustancias capaces de preservar de un modo óptimo los alimentos, especialmente aquellos que presentan muy poca durabilidad, eliminando microorganismos desfavorables.	Bactericidas	Ac. Láctico $a_0 = 1 \%$ $a_1 = 2 \%$	¿Cuál es la concentración adecuada de Ac. Láctico y Nisina?	Normas técnicas (Codex)
		Nisina  $b_0 = 300 \text{ ppm}$ $b_1 = 500 \text{ ppm}$		
	Temperatura de almacenamiento	Refrigeración $d_0 = 4 \text{ }^\circ\text{C}$	¿Cuál es la forma adecuada de almacenamiento?	Normas técnicas (Codex)
		Ambiente $d_1 = 18 \text{ }^\circ\text{C}$		
	Tiempo de Inmersión	$c_0 = 3 \text{ min}$	¿Cuál es el tiempo adecuado de inmersión?	Normas técnicas (Codex)  Artículos Técnicos.
		$c_1 = 10 \text{ min}$		

Elaborado por: Christian Moreno

### 3.5.2 Variable Dependiente: (Vida Útil)

Contextualización	Categorías	Indicadores	Ítems básicos	Técnicas e instrumentos
<p>Vida útil se conceptualiza como un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad.</p>	Parámetros	Físicos  pH	¿Por qué hacer la medición del pH?	NTE INEN 0783:85
		Sensorial  Hoja de Catación	¿Por qué analizar sensorialmente el mejor tratamiento?	Hoja de catación Ver anexo 1
	Calidad	Sensorial	¿Por qué analizar sensorialmente el mejor tratamiento?	Hoja de catación Ver anexo 1
		UFC	¿Por qué hacer el análisis de recuento de UFC?	Método de laboratorio.  Alvarado J

Elaborado por: Christian Moreno

### **3.6 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

Se trabajó con pechugas de pollo en los laboratorios de la UOITA (Unidad Operativa de Investigación de Tecnológica en Alimentos)

El procesamiento se realizó de la siguiente manera:

- Análisis microbiológicos con recuentos UFC
- Análisis físico químico medición de pH
- Análisis sensorial de los tratamientos.
- La tabulación de respuestas, elaboración de gráficos y la interpretación de los mismos, mediante la utilización de paquetes estadístico.
- Finalmente se comprobará la hipótesis para establecer conclusiones y recomendaciones.

### **3.7 PLAN DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS**

#### **Procedimiento**

- Revisión crítica de la información recogida; es decir una limpieza de información defectuosa, contradictoria no pertinente.
- Repetición de la recolección en ciertos casos especiales.
- Tabulación de datos.
- Representaciones gráficas.
- Una vez obtenidos los datos, se utilizará el paquete informático Excel y Statgraphics 5.1 para analizar e interpretar los resultados.
- En el análisis de los resultados estadísticos y comprobación de hipótesis se procede a establecer las respectivas conclusiones y recomendaciones.

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

#### **4.1 Factores del estudio.**

Los factores analizados son la combinación de diferentes variables intrínsecas y extrínsecas que afectan directamente el crecimiento de microorganismos en la carne de pollo y ayudan a alargar el tiempo de vida útil del producto, las variables estudiadas son la concentración de ácido láctico y nisina en combinación con el tiempo de inmersión y la temperatura de almacenamiento, se aplicó el diseño experimental  $2^4$  (Cuadro 6). Alvarado J 1996 menciona que los métodos comunes para controlar el ataque de los microorganismos son: disminuir la temperatura para retardar el crecimiento, elevar la temperatura para destruirlos, regular o bajar el pH por adición de compuestos, o manipular la composición del alimento.

El uso de la solución de ácido láctico y nisina (Anexo H-1) que se utilizó como medio de inmersión de la carne de la pollo, contribuyó a reducir la carga microbiana y tardar el tiempo de desarrollo de los microorganismos, debido a la función del ácido láctico que es un agente regulador del pH lo cual afecta directamente en la carga microbiana inicial Gram (-) donde Milena Sandra y colaboradores en el 2009 menciona que las moléculas de ácido láctico pueden ejercer dos efectos: por un lado interfieren con funciones celulares, como puede ser la translocación de sustrato y la

fosforilación oxidativa, por otro lado, la disociación del ácido láctico provoca el incremento de protones en el interior celular.

La nisina es un antibiótico que actuó principalmente contra microorganismos Gram (+) donde Antonio G en el 2003 menciona que estudios con marcadores fluorescentes han demostrado que el grado de interacción de nisina con la bicapa lipídica depende de la concentración de la bacteriocina. El grado de esta unión determina el flujo de salida de Adenosin Trifosfato (ATP) intracelular que conduce a la muerte celular de los microorganismos, dando como resultado el efecto positivo manifestando la sinergia entre los dos agentes de estudio.

El ácido láctico y la temperatura de almacenamiento son los factores con más significancia en la respuesta experimental puesto que al variar drásticamente el pH externo de la muestra, afecta directamente a la carga de microorganismos y al disminuir la temperatura a 4°C retarda el crecimiento de los mismos, ocasionando un entorno desfavorable para el desarrollo de los mismos.

El tiempo de inmersión afectó directamente a la carga microbiana de la muestra de tal manera que a mayor tiempo de inmersión, mayor reducción de microorganismos, pero se debe tomar en cuenta que el líquido de inmersión como tal se almacena como parte de los componentes de la muestra, por lo que va a seguir actuando dentro del tiempo de almacenamiento, lo que ocasionara, la variación de las condiciones extrínsecas e intrínsecas de la muestra.

La (Tabla A-3) muestra como varia el pH en las diferentes etapas del proceso de elaboración de la solución de inmersión donde se comprobó que el uso de nisina en cualquiera de sus concentraciones (300 ppm y 500 ppm) no afecta el pH de la solución y el ácido láctico al 1% y 2% ocasionó la variación de pH en la solución de básico (  $\dot{x}=6,9$  ) a ácido (  $\dot{x}=2,5$  )

Los factores extrínsecos que afectaron directamente a la tasa de supervivencia de los microorganismos fueron la temperatura de almacenamiento de las muestras (4°C y 18°C) y el tiempo de inmersión (5 y 10 minutos) donde los mejores tratamientos fueron los que se encontraban en refrigeración y a mayor tiempo de inmersión a diferencia de los que se encontraban a temperatura ambiente y menor tiempo de inmersión.

## **4.2 Evaluación Microbiológica**

La reducción de la carga microbiana representa un efecto positivo en la seguridad alimentaria de los consumidores de carne de pollo, la cual por ser un alimento altamente perecedero y un medio óptimo para el desarrollo de microorganismos, mejora las condiciones para su conservación y consecuentemente alarga el tiempo de vida útil del producto, mediante el uso de agentes naturales. Alvarado 1996 menciona que los microorganismos constituyen la principal causa de deterioro de los alimentos, si existe la cantidad suficiente de nutrientes a partir de un microorganismos que se divida cada diez minutos en cinco horas puede existir mas de mil millones de microorganismos lo cual afecta directamente al producto.

Los microorganismos analizados bajo el método del Anexo H-2, (bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y E. coli) son indicadores de calidad sanitaria q muestran el grado de calidad de la carne, con la variación de factores intrínsecos en la solución como el pH con el uso de ácido láctico y el uso de un antibiótico natural como la nisina y combinados con factores extrínsecos como la temperatura de almacenamiento y el tiempo de inmersión, ocasiona la reducción de la carga microbiana en la carne de pollo para los microorganismos estudiados.

#### 4.2.1 Recuento de Aerobios Totales

Al variar condiciones extrínsecas del tratamiento de la solución específicamente pH con ácido láctico y temperatura de almacenamiento con la presencia de nisina en la carne de pollo incrementó la inactivación de microorganismos y afectó directamente a los resultados de recuento de aerobios mesófilos (Tabla A-1) logrando así disminuir la carga microbiana de  $1.5 * 10^5$  UFC a  $2.4 * 10^3$  UFC, con un porcentaje de eficiencia promedio del 98.14% (Gráfico D-2) y una reducción logarítmica promedio de 1.76. (Gráfico D-1)

El análisis de varianza para microorganismos aerobios en carne de pollo (Tabla B-1) muestra que los tratamientos A, C, BC, D, tienen la probabilidad inferior a 0,05%, indicando que son significativamente diferentes de cero al 95,0% de nivel de confianza. Los cuales indican que el uso del ácido láctico en menores cantidades en combinación con la nisina en sus mayores concentraciones tuvo un mejor efecto en la reducción de carga microbiana.

Se utilizó el método estadístico de Tukey (HSD) para analizar los factores de estudio y determinar el mejor tratamiento para poder establecer cuales factores eliminaron eficientemente el mayor porcentaje de microorganismos en las muestras.

Se obtuvo una respuesta optimizada (Tabla B-2) donde se muestra que el mejor tratamiento es el BC que indica que se debe utilizar ácido láctico al 1%, 500 ppm de nisina, un tiempo de inmersión de 10 minutos y a una temperatura de almacenamiento de 4 °C, factores que maximizan la eficiencia en la reducción de microorganismos Aerobios.

El análisis estadístico de Tukey (Tabla B-4) determinó el mejor tratamiento (BC) el cual alcanzó un porcentaje de reducción del 99,25% y una reducción logarítmica del 2,12 log de aerobios mesófilos, es decir se

utilizó ácido láctico al 1%, 500 ppm de nisina, un tiempo de inmersión de 10 minutos y a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

Se obtuvo el coeficiente de regresión para el recuento de Aerobios Totales (Tabla B-3) con un  $R^2$  del 80,02%, donde la ecuación muestra los valores que relacionan las 4 variables de estudio, y sus interacciones la cual muestra cómo afectan al crecimiento de los microorganismos Aerobios Totales para poder estimar la cantidad de UFC.

El gráfico de pareto con la norma 20-80 evidenció que la temperatura de almacenamiento (Factor D) influyó en el desarrollo de microorganismos aerobios (Gráfico D-6). El gráfico de pareto evidencia que se debe controlar también el tiempo de inmersión (Factor C), la concentración del ácido láctico (Factor A) y los factores del tratamiento (BC), los cuatro tratamientos corresponden a efectos que son estadísticamente significativos al 95,0% de nivel de confianza.

Tres efectos o variables principales (A,B,C) disminuyen la carga inicial de microorganismos si se utilizan en mayor cantidad, a diferencia del factor (D) donde se observa que al aumentar la temperatura de almacenamiento disminuye la eficiencia en la reducción de microorganismos (Gráfico D-7).

La interacción entre las variables (Gráfico D-8) muestra que los tratamientos AB y BC interaccionan de mejor manera, donde tiene en común el uso de 500 ppm. Los demás tratamientos muestran una ausencia de interacción. Las líneas resultantes son paralelas o coincidentes lo cual indica que cada factor afecta de diferente manera en la disminución de la carga microbiana.

#### 4.2.2 Recuento de Coliformes Totales

La reducción de Coliformes Totales en la carne de pollo con el uso de la solución de nisina y ácido láctico, tuvo un efecto positivo debido a las condiciones del medio a las cuales fueron sometidas las muestras, específicamente por la variación del pH efecto provocado por el uso de ácido láctico y temperatura de almacenamiento con la presencia de nisina (Tabla A-2) logrando así disminuir la carga microbiana de  $2.55 \times 10^4$  UFC a  $1.30 \times 10^{-3}$  UFC, con un porcentaje de eficiencia promedio del 95,43% (Gráfico D-4) y una reducción logarítmica promedio de 1,394 (Gráfico D-3)

El análisis de varianza para el recuento de coliformes totales en carne de pollo (Tabla B-5) muestra que los tratamientos: a, ab, c, ac, bc, abc, d, ad, bd, abd, cd, bcd, tienen la probabilidad inferior a 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero al 95,0% de nivel de confianza. Se tiene más tratamientos significativos debido a que el análisis de Coliformes Totales es más específico, y se tiene mayor sensibilidad en la respuesta.

El análisis de Tukey (HSD) (Tabla B-8) muestra el mejor tratamiento BC el cual alcanzó un porcentaje de reducción del 99,34% y una reducción logarítmica del 2.18, las variables del tratamiento BC fueron: ácido láctico al 1%, 500 ppm de nisina, un tiempo de inmersión de 10 minutos y a una temperatura de almacenamiento de 4 °C.

La respuesta optimizada (Tabla B-6) indica que el mejor tratamiento fue el BC el cual utiliza ácido láctico al 1%, 500 ppm de nisina, un tiempo de inmersión de 10 minutos y almacenar a temperatura de 4 °C, factores que maximizaran la eficiencia en la reducción de coliformes totales valores que son equivalentes a la respuesta optimizada de los microorganismos aerobios (mejor tratamiento BC).

Se obtuvo el coeficiente de regresión para el recuento de Coliformes Totales (Tabla B-7) con un  $R^2$  del 80,02%, donde la ecuación muestra los valores que relacionan las 4 variables de estudio, y sus interacciones la cual muestra cómo afectan al crecimiento de los microorganismos para poder estimar la cantidad de UFC.

Para coliformes totales el gráfico de Pareto con la regla 20-80 muestra que los tratamientos en los que se debe tener más control son: c, d, ab, cd, bd, abc, bc, ad, abd, a, bcd, ac (Gráfico D-9) tratamientos que corresponden a efectos que son estadísticamente significativos a un nivel de confianza del 95,0%.

Los efectos principales para disminuir la carga de coliformes totales son el porcentaje de ácido láctico, el tiempo de inmersión y la temperatura de almacenamiento, los cuales afectan directamente la respuesta de microorganismos presentes, al mismo tiempo se obtuvo que la nisina no influyó en respuesta experimental inmediata (Gráfico D-10)

La Interacción entre las variables (Gráfico D-11), indica que los tratamientos AB, BC, y BD tienen una mejor respuesta en la eficiencia de la reducción de coliformes, teniendo en común el uso de 500 ppm de nisina, lo cual indica que el efecto de la nisina es positivo en la reducción de carga microbiana.

#### **4.2.3 Recuento de E. coli**

El análisis microbiológico de E. coli se lo realizó en el mejor tratamiento y en una muestra en blanco para evaluar la calidad sanitaria bajo la cual se obtuvo la carne de pollo, para descartar el mal manejo después del sacrificio de las aves. (Tabla A-9). El uso del ácido láctico fue positivo en la reducción de E.coli, microorganismos Gram (-), donde se evidenció que

disminuye y retarda el crecimiento de este tipo de microorganismos durante un periodo de 7 días, tiempo en el cual no se observó crecimiento positivo.

En la muestra en blanco se detectó la presencia de E.coli desde el día 0 y posteriormente en todos los análisis durante su tiempo de almacenamiento tiempo en el cual la carne fue perdiendo calidad organoléptica sensorial, y al mismo tiempo calidad de consumo a diferencia del mejor tratamiento.

### **4.3 pH**

El pH de la carne de pollo se estudió en dos etapas diferentes, antes y después de la inmersión en el tratamiento con ácido láctico y nisina (Anexo H-3). Se encontró que un valor promedio de pH inicial de la carne de pollo antes de la inmersión fue de 6.56, y posteriormente el pH promedio entre los tratamiento fue de 4.91 valores que indican la reducción del valor de pH en la carne donde según Milena Sandra y colaboradores en el 2009 menciona que las moléculas de ácido láctico pueden ejercer dos efectos en la carne y en los microorganismos: por un lado interfieren con funciones celulares, como puede ser la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, y por otro lado, la disociación del ácido láctico que provoca el incremento de protones en el interior celular reduciendo de esta manera las reservas energéticas de la misma.

El factor que afectó directamente y provocó un cambio brusco de pH en la solución de básico (6.99) a ácido (2.55) fue la adición de ácido láctico en cualquiera de sus dos concentraciones (1% y 2%). Esto provocó condiciones por debajo del intervalo de crecimiento de microorganismos (Aerobios, Coliformes Totales y E. coli) afectando directamente a la tasa de supervivencia de los mismos donde según Ignacio Ricci (2008) el efecto antimicrobiano del ácido láctico termina por colapsar el gradiente

electroquímico de transporte de protones causando efectos bacteriostáticos y muerte de las bacterias más susceptibles.

El factor nisina no incidió en el pH de la solución en cualquiera de sus dos concentraciones (300 ppm y 500 ppm), el valor del pH promedio del agua estéril con la que se trabajó fue de 6.99 similar al valor de nisina + agua 6.99 (Tabla A-3). Según Antonio G 2005 la influencia del pH sobre la acción de nisina incide a tal punto que el enlace nisina-bacterias se lleva a cabo por interacción electrostática con la carga negativa de los fosfolípidos de membrana, seguido por una reorientación que depende del potencial de la membrana del microorganismo.

#### **4.4 Determinación del Mejor Tratamiento**

Se estableció utilizar el recuento de UFC de microorganismos aerobios y coliformes totales aplicando el método indicado en el Anexo H-2, debido a que son los principales causantes del deterioro de la carne de pollo los cuales ocasionan sabores y olores desagradables que inciden directamente sobre el tiempo vida útil.

Para la selección del mejor tratamiento se lo realizó por la prueba estadística de diferenciación TUKEY (HSD) entre los 16 tratamientos para los microorganismos analizados Aerobios mesófilas (Tabla B-4) y Coliformes Totales (Tabla B-8). Donde se determinó que el mejor tratamiento en la reducción de los dos microorganismos fue el (BC), el cual indica que se debe utilizar ácido láctico al 1%, con 500 ppm de nisina en un tiempo de inmersión de 10 minutos almacenando las muestras a 4°C.

Se obtuvo una respuesta equivalente en la reducción de microorganismos con el uso los tratamientos con nisina y ácido láctico en cualquiera de sus dos concentraciones porque se detectó que el pH de la

solución de inmersión de los tratamientos disminuye en promedio a 2.55, lo cual afecta directamente a la carga microbiana de la carne, además el uso de la solución ácida ocasionó que la carne cambie a tipo pálida blanda y exudativa (PSE).

#### **4.5 Determinación del tiempo de Vida Útil**

Según la metodología del anexo H-5 se estableció que la carne de pollo tiene un orden de reacción de 1 mediante el seguimiento de la tasa de supervivencia de microorganismos aerobios totales en el tiempo (Gráfico D-13).

Para el estudio del tiempo de vida útil se evaluó la carne de pollo sometida al tratamiento (BC) y un blanco, para poder comparar el efecto bactericida del tratamiento y el blanco, para el análisis de la muestra de carne en blanco solo se almacenó después del sacrificio en refrigeración obteniendo así una vida útil de 6.83 días, tiempo en el cual ya se tiene parámetros organolépticos de descomposición y olores desagradables, evidenciando que la tasa de microorganismos afecta directamente al tiempo de vida útil del producto. Según el ICMSF, (1980) menciona que la carne de pollo almacenada naturalmente tiene un tiempo de vida útil de 7 días en refrigeración.

La carne de pollo con el mejor tratamiento que es ácido láctico (1%), con nisina (500 ppm) durante un tiempo de inmersión de 10 minutos a una temperatura de almacenamiento de 4 °C, parámetros que permitió extender el tiempo de vida útil a 14.39 días con una reducción logarítmica de 2.30 (anexo D-14). El crecimiento microbiano en el mejor tratamiento encontró dificultad de reconstituirse (Gráfico D-12), las condiciones en las cuales se sometió la carne obtuvo un efecto positivo complicando el desarrollo de los microorganismos y en consecuencia alargando su tiempo de vida útil.

Al final del tiempo de almacenamiento de las muestras de la carne de pollo se pudo observar cambios organolépticos como: el color que paso ser pálido y exudativo, y la presencia de un olor levemente rancio, por lo que se aconseja consumir antes de los 14 días, contrariamente a las muestras almacenada en blanco.

#### **4.6 Determinación del valor D o tiempo de reducción decimal**

La reducción de microorganismos con el uso de una solución de ácido láctico y nisina es un concepto similar a el tiempo de reducción decimal (D) el cual se determina en procesos térmicos, donde el propósito del cálculo es determinar un grafico logarítmico de muerte de microorganismos en el tiempo y cada ciclo logarítmico que atraviese la recta es equivalente destruir el 90% de los organismos. Toledo (1981) citado por Alvarado (1996) menciona que cuando una suspensión de microorganismos se mantiene a una temperatura constante la razón de disminución de organismos viables es directamente proporcional al número de organismos viables presentes, Anexo –H-6.

El tiempo de reducción decima (D) calculado fue de 4.32 minutos equivalente a 1.15 D (Gráfico D-15), indicando que al someter la carne de pollo al mejor tratamiento por 4.32 minutos se elimina el 90% de su carga microbiana.

#### **4.7 Análisis sensorial**

El presente estudio determinó que existe diferencia sensorial según el método del Anexo H-4 en la Textura (Tabla **A-7**), Sabor (Tabla **A-6**) y la Aceptabilidad (Tabla **A-8**) y no se encontró diferencia significativa entre el color (Tabla **A-4**), olor (Tabla **A-5**) y entre las 17 muestras analizadas para lo cual se trabajó con 15 catadores con una escala hedónica de 5 niveles.

El análisis de varianza para la evaluación sensorial (Tabla B-9) muestra que no se encuentra diferencia significativa entre catadores para los cinco atributos evaluados lo cual indica que no se tiene variabilidad de respuesta entre catadores.

El análisis de varianza para los tratamientos (Tabla A-9) muestra que si existe diferencias significativas para los atributos de color, olor, sabor, textura y aceptabilidad lo cual indica que las muestras evaluadas tienen diferencias significativas por lo cual aplicó el análisis de Tukey para determinar los tratamientos mejor puntuados y saber si se logro detectar a la muestra patrón (blanco) como mejor o peor tratamiento.

### **Color**

Según el análisis de diferenciación Tukey (HSD) (Tabla B-10), indica q las muestras tienen una similitud entre ellas ya que las muestras fueron valoradas entre 3.53 (Ni agrada ni desagrada) tratamiento (a) y 4.33 (agradable) tratamiento (abcd) e indica que no existe una diferenciación significativa entre las muestras y evidencia que los tratamientos son elocuentemente iguales.

### **Olor**

El análisis estadístico para olor (Tabla B-11) muestra que los tratamientos no son iguales, con una diferenciación de dos niveles donde la calificación más baja fue de 3.068 (Ni agrada ni desagrada) tratamiento (ad) y la mejor calificación fue de 4.13 (agradable) tratamiento (d), no existe clara diferencia entre todos los tratamientos lo que indica que este atributo es poco perceptible.

## **Sabor**

Tukey indica que los tratamientos tiene una diferenciación (Tabla B-12) siendo la calificación más baja es 2.6 (desagradable) tratamiento (a) y la mejor calificación fue de 4.133 (agradable) tratamiento (abcd). Lo cual indica que afectó el sabor de la carne de pollo el uso de nisina y ácido láctico.

## **Textura**

La textura para el análisis estadístico muestra que 12 de los 17 tratamientos fueron determinados como iguales y la calificación más baja es 2.4 (dura) tratamiento (ac) y la mejor calificación fue de 4.66 (suave) tratamiento (bd), (Tabla B-13), lo cual indica que existe diferencia entre los tratamientos afectando la suavidad de los tratamientos.

## **Aceptabilidad**

El análisis estadístico para aceptabilidad muestra que los tratamientos no son iguales, donde la calificación más baja es 2.8 (desagrada poco) tratamiento (a) y la mejor calificación fue de 4.2 (agradable) tratamiento (bcd), (Tabla B-14).

El análisis sensorial determinó que los mejores puntuados fueron los tratamientos que se sometieron a temperatura ambiente a diferencia de los tratamientos en refrigeración lo que indica que durante dos días de almacenamiento afecta sensorialmente a los atributos de sabor textura y aceptabilidad. Se observó que la muestra en blanco no se la detectó como mejor o peor tratamiento, lo cual indica que no se diferencia las muestras con tratamiento y sin tratamiento

## **4.8 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS**

### **2.8.1 Hipótesis nula**

Ho: ¿El uso de Ácido Láctico y Nisina no incide en la vida útil de la carne de pollo?

### **2.8.2 Hipótesis alternativa**

H1: ¿El uso de Ácido Láctico y Nisina incide en la vida útil de la carne de pollo?

El análisis estadístico permitió la verificación de la hipótesis para la respuesta experimental de tiempo de vida útil, donde se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa la cual menciona que el uso de ácido láctico y nisina incide en el tiempo de vida útil en la carne de pollo.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1 CONCLUSIONES**

- Se comprobó que la aplicación del ácido láctico y nisina afecta las condiciones intrínsecas y extrínsecas en la carne de pollo, condiciones que contribuyen a prolongar el tiempo de vida útil disminuyendo la carga microbiana inicial, logrando una eficiencia promedio del 98.14% y una reducción log de 1.76 (Anexo A-1) y del 95.00% y una reducción log de 1.39 (Anexo A-2) para microorganismos aerobios mesófilos y para coliformes totales respectivamente.
- Se analizó mediante un análisis físico químico de pH las diferentes etapas del proceso de elaboración de la solución de inmersión, donde se encontró que el factor causante del efecto letal en la disminución de carga microbiana es el ácido láctico que baja el pH de la solución en promedio a 2.55 (Anexo A-3). La carne de pollo tuvo una variación de pH causada por el efecto del ácido láctico la cual llega un promedio de 4.91, obtenido así un cambio de condiciones, desfavorables para el crecimiento de microorganismos. El uso de nisina no ocasionó ningún tipo de cambio de pH durante la elaboración de la solución, la nisina al ser un antibiótico ayudó a la

conservación de la carne de pollo mediante la reducción de microorganismos.

- Se encontró que existe una relación directamente proporcional entre la reducción de unidades formadoras de colonias (UFC) y la utilización de 3 factores de los estudio (ácido láctico, nisina y tiempo de inmersión), factores que ayudan a mantener los estándares de calidad en la carne de pollo a medida que aumentan proporcionalmente. La temperatura de almacenamiento provoca un efecto indirectamente proporcional a la reducción de unidades formadoras de colonia UFC, debido a que si aumenta la temperatura de almacenamiento (18°C) aumenta la cantidad de unidades formadoras de colonia y análogamente si disminuye la temperatura (4°C) retarda el crecimiento de microorganismos y contribuye a mantener características y grados de calidad de la carne obteniendo un mayor tiempo de vida útil del producto. El análisis de Pareto (Anexo D-6 y D-9) indican que la temperatura de almacenamiento es el factor que más influyó en el desarrollo de microorganismos aerobios y coliformes seguido de la concentración del ácido láctico y del tiempo de inmersión.
- Para la selección del mejor tratamiento, se tomó en cuenta tres factores importantes los cuales son el correspondiente análisis de varianza (Anexo B-1) de los datos obtenidos para los microorganismos, la respuesta optimizada (Anexo B-1), y los efectos de la solución ácida sobre la carne. No se considero los tratamientos que contiene el 2% de ácido láctico porque ocasionan cambios desfavorables y efectos adversos en la calidad de la carne ocasionando que pase de normal a carne pálida, blanda y exudativa (PSE). El análisis de tukey para los tratamientos analizados de los dos tipos de microorganismos (Aerobios y Coliformes Totales) indican que el tratamiento BC es el mejor, por ser considerado como la

respuesta óptima y su capacidad de reducción de microorganismos, lo que significa utilizar ácido láctico al 1%, 500 ppm de nisina, un tiempo de inmersión de 10 minutos y a una temperatura de almacenamiento de 4 °C, factores que maximizan la eficiencia en la reducción de microorganismos manteniendo características de la carne.

- El tiempo de vida útil calculado para la carne de pollo con tratamiento es de 14.39 días (Anexo D-14) y sin la aplicación del tratamiento (blanco) fue de 6.83 días tiempo en el cual la carne alcanzó su valor máximo de crecimiento de microorganismos según la norma microbiológica del ISQMF. Se recomienda consumir antes de los 14 días, debido a que durante el análisis se pudo detectar la presencia de un olor tenuemente rancio. La evaluación sensorial de color olor sabor textura y aceptabilidad realizado a todo los tratamientos incluido un blanco (sin tratamiento), se determinó que no se detecta la muestra en blanco entre todas los tratamientos evaluadas pero si tiene diferencias significativas para el caso de sabor textura y aceptabilidad, donde los mejores puntuados fueron los tratamientos que se sometieron a temperatura ambiente a diferencia de os tratamientos en refrigeración que obtuvieron menores calificaciones.

## 5.2 RECOMENDACIONES

- La carne de pollo en nuestro medio se vende en fundas plásticas las cuales no representan una garantía de salubridad e inocuidad por lo que se recomienda dar cursos de capacitación sobre el uso de bactericidas orgánicos y el buen manejo de carnes para mejorar la alimentación de nuestra sociedad
- El uso de la nisina en la solución es muy bueno por su efecto bactericida contra microorganismos Gram +, pero se recomienda el uso de la nisina directamente sobre la carne para evaluar el efecto bacteriostático directo de la nisina sobre el producto
- Se recomienda hacer un seguimiento microbiológico y de mediciones de parámetros que determinen el periodo de efectividad bactericida que tiene la solución de inmersión y así determinar el tiempo adecuado para poder cambiar el tratamiento.
- La medición del pH de la solución es un indicador bueno de comportamiento de la solución, al mismo tiempo se recomienda hacer mediciones de acidez para saber el porcentaje de disociación del ácido en la solución con nisina.
- Se recomienda ensayar menores concentraciones de ácido láctico con la finalidad de elevar el pH de la solución obtenida, debido a que la carne de pollo presenta síntomas de ser una carne tipo PSE
- Aplicar el tratamiento por el método de aspersion en la carne de pollo para poder disminuir el tiempo de procesamiento.

## **CAPÍTULO VI**

### **PROPUESTA**

#### **6.1 DATOS INFORMATIVOS**

**Título:** “Utilización de sales y fosfatos en la marinación por inyección en pechugas de pollo tratadas con nisina y ácido láctico”

**Institución ejecutora:** Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

**Beneficiarios:** Industrias Cárnicas  
Procesadoras de aves

**Ubicación:** Cantón Ambato – Provincia de Tungurahua.

**Tiempo estimado para la ejecución:** 6 meses

**Equipo técnico responsable:** Egdo. Christian P Moreno R  
Ing. César A. German T.

**Costo:** \$ 1500

#### **6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA**

Al realizar una revisión bibliográfica se encontró que: El uso de nuevas alternativas biológicas de conservación de alimentos ha dado origen a que los consumidores busquen nuevas alternativas de consumo para cuidar principalmente su salud y el bienestar de su familia.

La marinación de la carne fresca es cada vez una práctica más común para comercializar cortes convencionales con nuevos sabores, mejores cualidades sensoriales y una vida de anaquel más prolongada. "Marinar" es una palabra derivada de la palabra en latín "marine", que se refiere a remojar en salmuera. Sin embargo, el término se usa hoy de manera mucho más amplia, para describir la adición a la carne de una mezcla que puede incluir sal, azúcar, especias, mejoradores de sabor, ligadores, agentes antimicrobianos y ácidos orgánicos. El uso de un marinado puede tener uno o más objetivos, incluyendo el dar suavidad, mejorar el sabor, reducir los sabores indeseables, mejorar el color, aumentar la inocuidad del alimento y darle una mejor vida de anaquel. Un cambio clave que se logra a través de un marinado es la modificación del pH de la carne, el cual se puede lograr a través de un marinado ácido o un marinado alcalino. (Sebranek Joseph 2008)

La marinación es comúnmente utilizada en la industria para asegurar que la carne sea suave y jugosa. Los tres ingredientes principales en los marinados son el agua, la sal y los fosfatos. Todos ellos son incorporados en solución líquida a la carne de pollo mediante la inyección o masajeo al vacío a razón de 10 a 15% del peso final del producto. (Wes Schilling 2008)

Los fosfatos son ingredientes regulados y no pueden ser agregados a razón de más de 0.5% en el producto final. Sin embargo, éstos y la sal son ingredientes críticos para asegurar de que habrá cargas disponibles para ligar agua. Los fosfatos brindan más capacidad de retención de agua que la sal, pero ambos son críticos. Existe una tendencia en el consumo de productos libres de fosfatos, bajos en sal y "naturales", lo que realmente

dificulta elaborar productos si se van a usar marinados ácidos. Otra preocupación cuando se usan marinados ácidos es la pobre rebanabilidad del producto final. Una buena rebanabilidad viene de un gel fuerte que es desarrollado cuando la carne y los ingredientes pueden fuertemente retener el agua durante y después del proceso de cocción. Con los marinados ácidos, una solución al problema de pobre rebanabilidad es la adición de almidones (alrededor de 2%) y/o carrageninas (0.5%). (Alvarado Christine, 2011).

### **6.3 JUSTIFICACIÓN**

El mercado actual de carne de pollo es cada vez más competitivo por lo cual se debe mejorar la tecnología ofreciendo nuevas y novedosas formas de consumo, para poder satisfacer las necesidades y requerimientos de los consumidores.

En vista de esto la previa aplicación de Ácido Láctico y Nisina como agentes antimicrobianos y la aplicación del método de marinación con fosfato sódico y cloruro, de sodio, será una nueva forma de presentación del producto, además impedirá el deterioro del mismo y se brindara nuevas características organolépticas lo cual significa un valor agregado al producto final.

El uso de cloruro, de sodio como mejorador de sabor y del fosfato sódico, como agente de retención de líquidos por el método de inyección en pechugas de pollo, beneficiara principalmente a plantas procesadoras avícolas las cuales podrán extender el tiempo de vida útil de producto en perchas con mejores rendimientos y mejor calidad organoléptica.

### **6.4 OBJETIVOS**

#### **6.4.1 Objetivo General**

- Elaborar pechugas marinadas de pollo tratados previamente con nisina y ácido láctico con la aplicación de un proceso de inyección de fosfato sódico y cloruro de sodio.

#### **6.4.2 Objetivos Específicos**

- Obtener la mejor formulación para la preparación de la solución de inyección de fosfato sódico y cloruro de sodio mediante la evaluación sensorial.
- Realizar un análisis microbiológico de las pechugas de pollo tratadas con fosfato sódico y cloruro de sodio.
- Calcular el porcentaje de retención de líquidos vs el porcentaje de exudamiento del mejor tratamiento
- Determinar el tiempo de vida útil del mejor tratamiento
- Establecer el efecto de la solución de marinación en la calidad sensorial, y fisicoquímica de los tratamientos.

#### **6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

El desarrollo del proyecto pretende el uso de una novedosa tecnología de conservación de carnes, de fácil acceso a los consumidores, que cuida la salud de los mismos, y es nutritivo.

Por esta razón la propuesta es factible por que se evidencia un mercado que aun no está siendo explotado, sin mencionar que los, equipos necesarios lo tiene la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

#### **Cuadro N° 11: Valores económicos de la propuesta**



Grasa	12.6
Ceniza	1.0
Agua	66.0

Fuente: Bourgeois, C. 1994

La composición química de la carne de pollo influye notablemente en el crecimiento de toda clase de bacterias y muy especialmente de las productoras de alteración, es una buena fuente de proteínas, (20-24 por 10) vitaminas (tiamina niacina, riboflavina) y sales minerales, lo que, unido a que posee una actividad de agua (aw) de 0.98-0.99 y un pH comprendido entre 6.2 a 6.4 y hace un medio inmejorable para el crecimiento microbiano. Por su riqueza en proteínas, la flora de alteración de esta carne es, sobre todo, proteolítica; los gérmenes obtienen el carbono y el nitrógeno de las proteínas presentes en el sustrato. Esta flora, aunque pueden degradar o sintetizar grasa, nos necesita para su desarrollo. (Bourgeois, C.M., 1994)

### **Cloruro de sodio**

El cloruro de sodio, más conocido como sal de mesa, es un compuesto químico con la fórmula NaCl. El cloruro de sodio es una de las sales responsable de la salinidad del océano y del fluido extracelular de muchos organismos. También es el mayor componente de la sal comestible, es comúnmente usada como condimento y conservante de comida.

El cloruro de sodio es un compuesto iónico formado por un catión sodio (Na<sup>+</sup>) y un anión cloruro (Cl<sup>-</sup>), y como tal, puede reaccionar para obtener cualquiera de estos dos iones. Como cualquier otro cloruro iónico soluble (Feldman S., 2005)

### **Fosfato Sódico**

Los fosfatos de sodio (denominados también ortofosfatos sódicos) es una forma genérica de definir las tres diferentes sales del sodio y del ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ). En la industria alimentaria se denominan como: E 339. Y corresponden a: Fosfato monosódico ( $NaH_2PO_4$ ), Fosfato disódico ( $Na_2HPO_4$ ), Fosfato trisódico ( $Na_3PO_4$ )

Los fosfatos se emplean como aditivos alimentarios principalmente como estabilizantes. Una de sus principales aplicaciones como aditivo es en productos cárnicos, al interaccionar con las proteínas disminuye la pérdida del agua y aumentan la jugosidad del producto. En algunas ocasiones es empleado como un regulador de la acidez y como agente quelante de algunos minerales. (Raines Bell, H. H. Draper, 1977)

## **pH**

El pH es el factor más importante que influye eficientemente en la mayoría de los agentes antimicrobianos de los alimentos (Doyle Michael P. 2001). El pH desfavorable afecta por lo menos a dos aspectos de una célula microbiana: el funcionamiento de sus enzimas y el transporte de nutrientes al interior de la célula. La membrana citoplasmática de los microorganismos es relativamente impermeable a los iones  $H^+$  y  $OH^-$ . Por esta razón probablemente su concentración en el citoplasma permanece constante pesar de las importantes variaciones que se puedan dar en el medio circundante. (James M. 2000)

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh, 2000).

## Descripción del proceso

- **Recepción de la materia prima.-** Los pollos son preparados 24 horas antes de su sacrificio lo cual contribuye a la limpieza de la operación.
- **Sacrificio del animal.-** Consiste en un corte en el cuello para su desangrado, este depende de la eficiencia de la incisión, el tipo de ave, y si se ha ejecutado algún tipo de insensibilización antes del sacrificio puede durar de 1 a 3 minutos y esto evita que llegue demasiada sangre al agua de escaldado.
- **Escaldadura:** Proceso en el cual se someten las aves a un escaldado, para facilitar la eliminación de plumas, el proceso de inmersión no debe durar mucho tiempo y no superar los 52 -54°C porque dañara la piel del ave. Este proceso es de riesgo higiénico considerable, porque el escaldado no reduce con eficacia el número de bacterias en general por tanto la contaminación aumenta durante el sacrificio.
- **Desplumado.-** Las plumas del ave son retiradas manualmente o mecánicamente de la piel.
- **Destripado.-** Se abre la cavidad abdominal y se extrae el paquete intestinal, y con este el hígado, molleja y corazón, después se quitan las patas y la cabeza. Este proceso es bastante crítico porque se debe tener mucho cuidado de no causar heridas al intestino y la contaminación superficial de la canal, durante este proceso las personas que intervienen deben lavarse y desinfectarse las manos varias veces durante la jornada de trabajo.
- **Lavado.-** Las canales luego son lavadas para eliminar partículas adheridas de sangre, grasa y tejidos, así como heces que pudieron adherirse durante la evisceración, la limpieza debe realizarse tanto por fuera como por dentro.

- **Enfriamiento.-** Las aves deben ser inmediatamente enfriadas a temperatura de refrigeración para prevenir la contaminación bacteriana, una vez enfriadas las canales se deben escurrir para eliminar el exceso de agua y se clasifican por tamaño y calidad.
- **Inyección de los tratamientos (Fosfato Sódico – Cloruro de sodio):** Se preparará una salmuera con los aditivos de acuerdo a las dosificaciones que se necesite para carne de pollo.
- **Análisis**

Los análisis que se efectúan son los siguientes:

**Físico-químicos:**

- pH
- Acidez de la salmuera

**Microbiológicos:**

- Recuento total (Mesófilos aerobios)
- *Coliformes Totales*

- (*E. coli*)

**Sensoriales**

- Color
- Olor
- Sabor
- Aceptabilidad
- Textura

**Vida útil**

Se realiza un conteo total de los microorganismos aerobios mesófilos por un determinado lapso de tiempo y con dichos datos se aplica la siguiente ecuación:

$$\ln (C) = kt + \ln C_0$$

- **Refrigerado 4°C:** Se almacenan las muestras en fundas a temperatura de 4°C refrigeración hasta el momento de su respectivo análisis microbiológico o sensorial.



## 6.7 METODOLOGÍA

**Cuadro N° 13: “Modelo Operativo (Plan de Acción)”**

Fases	Metas	Actividades	Responsable	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Elaborar la formulación de la solución de inyección para la marinación en las pechugas de pollo y determinar análisis	Consulta bibliográfica	Investigador	Humanos Tecnológicos Económicos.	100	2 meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cumplir con lo estipulado en la propuesta.	Elaboración del producto	Investigador	Humanos Tecnológicos Económicos.	400	2 meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecutar la propuesta al 100%	Análisis fisicoquímicos y microbiológicos	Investigador	Humanos Tecnológicos Económicos.	600	2 meses
4. Evaluación de la propuesta	Análisis microbiológicos y evaluación sensorial	Evaluación sensorial	Investigador	Humanos Tecnológicos Económicos.	400	2 meses

Elaborado por: Christian Moreno

## 6.8 ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la investigación estará coordinada por los responsables de la misma, Ing. César German y el Egdo. Christian Moreno

**Cuadro N° 14:** “Administración de la Propuesta”

<b>Indicadores a mejorar</b>	<b>Situación actual</b>	<b>Resultados esperados</b>	<b>Actividades</b>	<b>Responsables</b>
Tecnología para la marinación de pechugas de pollo con adición de sales y fosfatos.	La marinación debe hacerse en un medio ácido para aprovechar las condiciones del pre tratamiento de nisina con ácido láctico.	Mejorara la capacidad de retención de agua del producto final y disminuir al máximo la carga microbiana para alargar el tiempo de vida útil del producto.	Elaborara la solución de inyección para las pechugas de pollo  Realizar los respectivos análisis al producto.  Determinar la vida útil del producto	Investigador: Christian Moreno

Elaborado por: Christian Moreno

## 6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

**Cuadro N° 15: “Previsión de la Evaluación”**

<b>Preguntas básicas</b>	<b>Explicación</b>
¿Quiénes solicitan evaluar?	Empresa y consumidor final.
¿Por qué evaluar?	Porque se necesita establecer parámetros de fabricación y garantizar un producto de calidad. Corregir errores durante la elaboración
¿Para qué evaluar?	Para determinar parámetros de fabricación. Optimizar recursos durante el proceso de elaboración.
¿Qué evaluar?	Tecnología utilizada Materias primas Resultados obtenidos Producto terminado.
¿Quién evalúa?	Investigador
¿Cuándo evaluar?	Durante el proceso de pruebas preliminares hasta el producto final.
¿Cómo evaluar?	Mediante instrumentos de evaluación y análisis.
¿Con qué evaluar?	Experimentación Normas Nacionales e internacionales.

Elaborado por: Christian Moreno

## MATERIALES DE REFERENCIA

### 7.1 Bibliografía

1. Acela Cruz Trujillo, 1989, "Microbiología de los Alimentos", editorial Pueblo y Educación, Habana – Cuba
2. Alvarado J.D 1996 "Principios de Ingeniería Aplicado a los Alimentos", Impreso por Radio Comunicaciones Ambato- Ecuador
3. Alzamora, S 1983. "Bases para el análisis y Control Microbiológico de carnes y productos cárnicos" Editorial Universitaria. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador p:80
4. Bremer As. 1997 "Higiene e inspección de la Carne de Aves" editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
5. Bourgeois, C.M., J.F. Mescle, J. Zucca. 1994 "Microbiología Alimentaria 1 (Aspectos Microbiológicos de la Seguridad y Calidad Alimentaria)", Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
6. Doyle Michael P., Larry R. Beuchat, Thomas J. Montville. 2001 "Microbiología De Los Alimentos (Fundamentos y Fronteras)" Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
7. FRAZIER, W. C. 2000. "Microbiología de los alimentos"., Editorial Acribia, S.A. Zaragoza - España.
8. Forrest C. John 1979, "Fundamentos de la Ciencia de la Carne" Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
9. Garbutt J 1997. Essentials of Food Microbiology. Arnold Group.London-UK. Pages 72-78

10. Girad J.P. 1991. "Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos" Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
11. Grau R. 1971 "La Investigación de la Ciencia de la Carne" Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
12. ICMSF, 1980 "Ecología Microbiana de los Alimentos 1", editorial Acribia Zaragoza – España
13. ICMSF 1990 B. Moreno, V. Diez, Ma. L. Garcia, I. Menes, L. M. Gutiérrez, y J.J. Francisco Polledo. 1988 "Microorganismos de los alimentos" (Técnicas de Análisis Microbiológico, Editorial Acribia Zaragoza – España
14. James M. Jay, 2002, "Microbiología Moderna de los Alimentos", editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
15. Kraft A.; Reddy V. 1982 "Microbiological quality of Vacuum Packaged Poultry With or Without Chlorine Treatment " Journal Of Food Science pp:380-385
16. Kenneth L. Bordon; Roberth P. Williams. 1974 "MICROBIOLOGIA" Mexico
17. Leveau J.Y. M.Bouix, 2000 "Microbiología Industrial" Alimentos", Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
18. Lima Teresa; Lira Krystyna 2005 "Action of nisin and high pH on Growth of Staphylococcus aureus and Salmonella ssp. In pure culture and in the meat of land crab (Ucides cordatus)" Revista SCIELO "Journal of Microbiology" Sao Paulo Brasil.
19. López María; Ruiz Pilar 2006. "Combined effects of nisin, lactic acid and modified atmosphere packaging on the survival of listeria monocytogenes in raw ground pork" International Journal of Food Science" Valencia-España. pp; 562-568
20. Ortiz M. 2004 "Efecto de la aplicación de Ácido Ascórbico, y cloruro de Sodio en la calidad microbiológica de las canales de Cuy (Cavia porcellus)" Tesis de Grado de la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. 27 pp
21. Pacheco Nancy. 1999 "Almacenamiento Refrigerado de cuartos de canal posterior de pollo, empleando revestimientos con películas

comestibles” Tesis de Grado de la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. 3,9pp

22. Quispe, J 1990. “Efecto de uso de Empaques Plásticos y Conservante Químicos en el Almacenamiento de Carne Refrigerada (carne de Bobino Adulto). Tesis de Grado de la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador p:90
23. Ramos R. 2007 “Aislamiento e Identificación de bacterias Patogénicas de Productos Cárnicos y Marinos” CIVIA (VI), Universidad Técnica de Ambato Ambato- Ecuador.
24. Salazar Gicela J. 2003 Influencia del Kilol L-20 y del Ácido L(+) Láctico en Conservación de la Carne de Bovino, Pierna(Bicepsfemoris y Cuadricepsfemoris) Fresca. Tesis de Grado de la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador
25. Swatland H. 2003. “Evaluación de la Carne en la Cadena de Producción”. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España
26. Trinidad Marco Antonio; Contreras Carmen Josefina; (2006) “Mortadella sausage formulations with mechanically separated layer hen meat preblended with antioxidants International Journal of Food Science” Valencia-España.Pág. 240-241

## 7.2 Webgrafia

1. Alvarado Christine, Ph.D. 2011, “Uso efectivo de marinados ácidos” (en línea), Fecha de consulta: 23/05/2012, Disponible en: <http://www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/19455>
2. Antonio G. Plsabarro de Lucas, 2003, “Concepto y alcance de la Microbiología” (en línea), Fecha de consulta: 05/03/2012, Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2003.-%20Eliminacion%20y%20conservacion.pdf>
3. Arango Mejía Claudia María, Restrepo Molina Diego Alonso, 1999 “MICROBIOLOGÍA DE LA CARNE”(en línea), Fecha de consulta: 19/01/2012, Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/8717475/Cap-1-Microbiologla-de-La-Carne>

4. Bionils, 2010, "ALIMENTACIÓN HUMANA-NISINA" (en línea), Fecha de consulta: 06/07/2011, Disponible en: <http://www.bionils.com/productos/fichanisina.html>
5. Cacattila I 2007, "2d Structura nisina amino" (en línea), Fecha de consulta: 08/03/2012, Disponible en: [http://it.wikipedia.org/wiki/File:Nisin\\_2d\\_amino\\_structure.JPG](http://it.wikipedia.org/wiki/File:Nisin_2d_amino_structure.JPG)
6. Calderón Getty 2009 "La nisina como conservador alimenticio" (en línea), Fecha de consulta: 27/11/2012, Disponible en: <http://www.quiminet.com/articulos/la-nisina-como-conservador-alimenticio-5120.htm>
7. Carrera J, Torres C 2003 "BACTERIAS GRAM-POSITIVAS FERMENTADORAS" Fecha de consulta: 15/06/2011, Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/20-bacterias%20lacticas.htm>
8. Codexalimentarius, 1995, "Norma General para los Aditivos Alimentarios " (en línea), Fecha de consulta: 06/07/2011, Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/4/CXS\\_192s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/4/CXS_192s.pdf)
9. EDUARDO F. MONTIEL 2010, "Mercado Mundial Y La Inserción De América Del Sur"(en línea), Fecha de consulta: 15/06/2011, Disponible en: [http://www.produccion.com.ar/96abr\\_10.htm](http://www.produccion.com.ar/96abr_10.htm)
10. Escobar J. 2009 "Acerca del Pollo, seguridad alimenticia"(en línea), Fecha de consulta: 16/05/2011, Disponible en: <http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/pollo2.htm>
11. Escudero Abarca I, Hernández Armador J 2009, "uso de Nisina para inhibición de patógenos alimenticios" (en línea), Fecha de consulta: 08/03/2012, Disponible en: [http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA\\_V/CV-15.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_V/CV-15.pdf)
12. Feldman Susan R. 2005, "Cloruro de sodio" (en línea), Fecha de consulta: 15/06/2011, Disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro\\_de\\_sodio](http://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro_de_sodio)
13. Fernández López Aisa 2009 "Uso de nisina en alimentos" (en línea), Fecha de consulta: 27/11/2012, Disponible en: <http://www.oocities.org/grupoindustrialaisa/nisina.html>

14. Garduño Laguna A 2010 “La Avicultura Sudamericana Crece a Pesar de la Economía” (en línea), Fecha de consulta: 27/11/2012, Disponible en: [http://www.delcampoalamesa.com/desplegar\\_notas.asp?did=8332](http://www.delcampoalamesa.com/desplegar_notas.asp?did=8332)
15. González Blanca, Gómez Marivel, Jiménez Zacarias. Facultad de Salud Pública y Nutrición, 2003 “BACTERIOCINAS DE PROBIÓTICOS” (en línea), Fecha de consulta: 29/04/2012, Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/iv/2/ensayos/bacteriocinas.htm>
16. Hector Massaguer 2009 “Factores que afectan a los alimentos” (en línea), Fecha de consulta: 19/01/2012, Disponible en: [http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt4e70d2aa0885c\\_factor\\_es\\_alimentos.pdf](http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt4e70d2aa0885c_factor_es_alimentos.pdf)
17. Ignacio Ricci. 2008 “Conservadores biológicos III”. En línea, Fecha de consulta: 08/03/2012, Disponible en: <http://tecnoyalimentos.wordpress.com/2008/05/13/conservadores-biologicos-iii/>
18. INEC -ESPAC. 2009 “Producciones Pecuarias: Bases de datos 2009”, (en línea), Fecha de consulta: 12/06/2011, Disponible en: [http://www.inec.gob.ec/web/guest/publicaciones/anuarios/inv\\_eco/espac](http://www.inec.gob.ec/web/guest/publicaciones/anuarios/inv_eco/espac)
19. López Itzel L., I. Escudero Blanca, Patricia Mendoza, 2001, “Efecto de la Combinación de Bacteriocinas, Ac. Láctico y EDTA Sobre patógenos Alimenticios” Disponible en: [http://www.smbb.com.mx/congresos/%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA\\_V/CV-19.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos/%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_V/CV-19.pdf)
20. Marchese P. 2003, “Conservantes” Fecha de consulta: 30/04/2012, Disponible en: <http://www.pasqualinonet.com.ar/Conservantes.htm>
21. Microbiología, 2010, “Antimicrobianos” , Fecha de consulta: 06/07/2011, Disponible en: <http://www.microbiologia.com.ar/antimicrobianos/general.php>
22. Miguel Calvo, 2000 “Bioquímica de los Alimentos” , Fecha de consulta: 06/07/2011, Disponible en: [.http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/conservantes.html](http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/conservantes.html)
23. Milena Vásquez Sandra M., Suárez M Héctor. Zapata B Sandra. 2009 “Utilización De Sustancias Antimicrobianas Producidas Por Bacterias Ácido Lácticas En La Conservación De La Carne” (en línea), Fecha de

consulta: 08/03/2012, Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182009000100007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182009000100007&script=sci_arttext)

24. Mucher, 1995, "Conservante" (en línea), Fecha de consulta: 06/07/2011, Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Conservante>
25. Oñate C. 2007 "Soluciones y Concentraciones" (en línea), Fecha de consulta: 24/11/2011, Disponible en: <http://www.videosdematematicas.com/Formularios%20pdf/Quimica/Soluciones%20y%20Concentraciones.pdf>
26. Orozco N. Zambrano K. 2007, "Guia De Buenas Prácticas Para La Producción De Pollos A La Brasa" Disponible en: <http://www.swisscontact.org.pe/PRAL/GuiaBuenasVariableAmbiental.pdf>
27. Oswaldo N. (2006). "Microbiología Industrial" Fecha de consulta: 29/04/2012, Disponible en: [http://www.maestrakena.com/res\\_files/libro/unidad6\\_libro.pdf](http://www.maestrakena.com/res_files/libro/unidad6_libro.pdf)
28. Pérez García Rafael 2005 "Ácido Láctico" (en línea), Fecha de consulta: 27/11/2012, Disponible en: [http://www.eis.uva.es/~biopolimeros/alberto/acido\\_lactico.htm](http://www.eis.uva.es/~biopolimeros/alberto/acido_lactico.htm)
29. Pérez Marcelo 2003, "Control de Microorganismos" (en línea), Fecha de consulta: 08/03/2011, Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/microclinica/tema08.pdf>
30. Raines Bell, H. H. Draper, 1977 "Fosfato sódico" Fecha de consulta: 12/07/2012, Disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Fosfato\\_s%C3%B3dico](http://es.wikipedia.org/wiki/Fosfato_s%C3%B3dico)
31. Reichart y Cook (1986) "PARADIGMAS" Fecha de consulta: 12/06/2011, Disponible en: <http://vhabril.wikispaces.com/file/view/3.+Paradigmas.pdf>
27. Sarroca G Raúl ; Torres G Manuel 2006 "Manipulación y Almacenamiento de Alimentos" Fecha de consulta: 30/04/2012, Disponible en: <http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/archives/HASH3a17.dir/doc.pdf>
28. Sebranek Joseph Ph.D 2008 "Marinados de bajo pH para inhibir el crecimiento microbiano en carne fresca" Fecha de consulta:

30/07/2012, Disponible en:  
<http://www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/1652>

29. SINGH, R.P. 2000. Scientific Principles of Shelf-Life Evaluation in MAN, C.M.D.; JONES, A.A. 2000. Shelf-life Evaluation of Foods. Springer. Disponible en: <http://books.google.co.cr/books?id=ovoNjpn6aLUC&printsec=frontcover>
30. Sweet J. 2010 “Tendencias en el consumo de carne de pollo en las Américas: 2010” (en línea), Fecha de consulta: 27/11/2012, Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/articulos/1879/tendencias-en-el-consumo-de-carne-de-pollo-en-las-amaricas-2010>
31. Trevlean Alex 2010. “Unidades formadoras de colonia”. Shelf-life Evaluation of Foods. Springer. Disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad\\_formadora\\_de\\_colonias](http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad_formadora_de_colonias)
32. Totocol C. 2004 “Ácido Láctico” (en línea), Fecha de consulta: 27/02/2012, Disponible en: <http://www.todomonografias.com/quimica/acido-lactico/>
33. Wes Schilling 2008 “Maximización de la suavidad con la marinación” (en línea), Fecha de consulta: 27/07/2012, Disponible en: <http://www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/1490>
34. Wes Schilling, Poulson Joseph, J. y Byron Williams 2012, revista Carnetec “Determinación de vida de anaquel en productos cocidos de ave” (en línea), Fecha de consulta: 09/03/2012, Disponible en: <http://www.carnetec.com/MembersOnly/technology/details.aspx?item=29746>
35. Yvonne Vizzier Thaxton, Ph.D 2008, “Usando antimicrobianos naturales en el procesamiento de aves” (en línea), Fecha de consulta: 15/06/2011, Disponible en: [http://www.produccion.com.ar/96abr\\_10.htm](http://www.produccion.com.ar/96abr_10.htm)

# **ANEXOS**

# **ANEXO A**

## **DATOS EXPERIMENTALES**

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

**Tabla A-1: Resultados del conteo en placa petrifilm de microorganismos Aerobios Totales en carne de pollo (UFC/gr)**

TRAT	ANTES 10 <sup>-3</sup>			DESPUES 10 <sup>-1</sup>			log R prom	log R prom	% DE RED	% DE RED
	R1	R2	R Prom An	R1	R2	R Prom Dsp	Antes	Después	R1	R2
1	1,20E+05	1,40E+05	1,30E+05	2,60E+03	2,40E+03	2,50E+03	5,114	3,398	97,83	98,29
a	1,40E+05	1,40E+05	1,40E+05	1,80E+03	1,80E+03	1,80E+03	5,146	3,255	98,71	98,71
b	1,20E+05	1,60E+05	1,40E+05	2,00E+03	1,80E+03	1,90E+03	5,146	3,279	98,33	98,88
ab	1,40E+05	1,20E+05	1,30E+05	1,60E+03	1,80E+03	1,70E+03	5,114	3,230	98,86	98,50
c	1,40E+05	1,20E+05	1,30E+05	2,20E+03	2,00E+03	2,10E+03	5,114	3,322	98,43	98,33
ac	1,20E+05	1,20E+05	1,20E+05	1,40E+03	1,40E+03	1,40E+03	5,079	3,146	98,83	98,83
bc	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	1,20E+03	1,20E+03	1,20E+03	5,204	3,079	99,25	99,25
abc	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	1,80E+03	2,00E+03	1,90E+03	5,204	3,279	98,88	98,75
d	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	3,80E+03	4,00E+03	3,90E+03	5,204	3,591	97,63	97,50
ad	1,40E+05	1,20E+05	1,30E+05	2,60E+03	3,00E+03	2,80E+03	5,114	3,447	98,14	97,50
bd	1,20E+05	1,60E+05	1,40E+05	4,20E+03	3,80E+03	4,00E+03	5,146	3,602	96,50	97,63
abd	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	4,60E+03	3,60E+03	4,10E+03	5,204	3,613	97,13	97,75
cd	1,40E+05	1,60E+05	1,50E+05	4,00E+03	3,80E+03	3,90E+03	5,176	3,591	97,14	97,63
acd	1,40E+05	1,60E+05	1,50E+05	3,60E+03	3,40E+03	3,50E+03	5,176	3,544	97,43	97,88
bcd	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	4,00E+03	3,40E+03	3,70E+03	5,204	3,568	97,50	97,88
abcd	1,60E+05	1,40E+05	1,50E+05	3,00E+03	2,60E+03	2,80E+03	5,176	3,447	98,13	98,14

Elaborado por: Christian Moreno

Antes: Sin tratamiento

Después: Con tratamiento

Tabla A-2: Resultados del conteo en placa petrifilm para microorganismos Coliformes Totales en carne de pollo. (UFC/gr)

TRAT	ANTES 10 <sup>-3</sup>			DESPUES 10 <sup>-1</sup>			log r prom Antes	log R Prom Después	% DE RED R1	% DE RED R2
	R1	R2	R Prom An	R1	R2	R Prom Dp				
1	2,60E+04	2,70E+04	2,65E+04	1,20E+03	1,40E+03	1,30E+03	4,423	3,114	95,38	94,81
a	2,80E+04	2,20E+04	2,50E+04	1,40E+03	1,20E+03	1,30E+03	4,398	3,114	95,00	94,55
b	2,60E+04	2,69E+04	2,64E+04	1,60E+03	1,40E+03	1,50E+03	4,422	3,176	93,84	94,79
ab	2,50E+04	2,50E+04	2,50E+04	1,20E+03	1,40E+03	1,30E+03	4,398	3,114	95,20	94,40
c	2,80E+04	2,70E+04	2,75E+04	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03	4,439	3,000	96,43	96,30
ac	4,26E+04	4,73E+04	4,49E+04	1,20E+03	1,20E+03	1,20E+03	4,653	3,079	97,18	97,46
bc	9,90E+04	8,60E+04	9,25E+04	6,00E+02	6,00E+02	6,00E+02	4,966	2,778	99,39	99,30
abc	8,96E+04	8,13E+04	8,54E+04	1,60E+03	1,80E+03	1,70E+03	4,932	3,230	98,21	97,79
d	2,90E+04	2,80E+04	2,85E+04	1,80E+03	2,00E+03	1,90E+03	4,455	3,279	93,79	92,86
ad	3,90E+04	4,90E+04	4,40E+04	1,60E+03	1,80E+03	1,70E+03	4,643	3,230	95,90	96,33
bd	1,90E+04	1,80E+04	1,85E+04	1,20E+03	1,40E+03	1,30E+03	4,267	3,114	93,68	92,22
abd	2,90E+04	2,40E+04	2,65E+04	1,60E+03	1,60E+03	1,60E+03	4,423	3,204	94,48	93,33
cd	2,70E+04	2,40E+04	2,55E+04	1,60E+03	1,40E+03	1,50E+03	4,407	3,176	94,07	94,17
acd	3,20E+04	3,50E+04	3,35E+04	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03	4,525	3,000	96,88	97,14
bcd	2,90E+04	2,50E+04	2,70E+04	1,20E+03	1,20E+03	1,20E+03	4,431	3,079	95,86	95,20
abcd	3,13E+04	3,35E+04	3,24E+04	1,80E+03	2,20E+03	2,00E+03	4,510	3,301	94,24	93,44

Elaborado por: Christian Moreno

Antes: Sin tratamiento

Después: Con tratamiento

### ANÁLISIS DE pH

Tabla A-3: Mediciones de pH de los diferentes tratamientos en diferentes etapas del proceso

Tratamientos	Agua	Agua + Nisina	H2O +Nisina + Ac. Lac (Antes)	H2O + Nisina +Ac. Lac (Después)	Carne Antes	Carne Después
1	6,9	6,9	2,7	3,59	6,5	5,1
a	7	7	2,3	3,74	6,6	5,25
b	7,1	7,1	2,75	3,84	6,5	4,8
ab	6,84	6,84	2,53	3,55	6,4	4,6
c	6,93	6,93	2,68	3,41	6,6	4,83
ac	7,1	7,1	2,45	3,5	6,4	4,83
bc	6,93	6,93	2,72	3,2	6,7	4,82
abc	7,05	7,05	2,34	3,8	6,6	5,06
d	6,95	6,95	2,69	3,41	6,7	5,2
ad	7,06	7,06	2,53	3,81	6,5	4,96
bd	7,1	7,1	2,71	3,41	6,6	4,88
abd	7,05	7,05	2,42	3,25	6,5	4,67
cd	7	7	2,68	3,43	6,7	4,95
acd	6,94	6,94	2,36	3,24	6,6	4,78
bcd	6,89	6,89	2,64	3,58	6,5	4,81
abcd	6,93	6,93	2,25	3,37	6,6	5,01
Promedio	6,99	6,99	2,55	3,51	6,56	4,91

Elaborado por: Christian Moreno

## ANÁLISIS SENSORIAL

**Tabla A-4: Respuesta del Análisis Sensorial para Cataciones de la Carne de Pollo: Atributo Color**

	TRAT 1	TRAT 2	TRAT 3	TRAT 4	TRAT 5	TRAT 6	TRAT 7	TRAT 8	TRAT 9	TRAT 10	TRAT 11	TRAT 12	TRAT 13	TRAT 14	TRAT 15	TRAT 16	TRAT 17	T i.
C 1	4	3	2	4	3	4	5	4	4	4	3	4	4	3	4	5	4	64
C 2	4	3	4	3	4	4	5	4	4	3	3	4	4	4	5	5	4	67
C 3	5	5	4	4	4	4	4	4	5	5	5	4	4	4	4	4	4	73
C 4	4	4	4	4	3	4	3	3	4	4	5	4	4	5	3	3	2	63
C 5	3	4	3	4	4	4	4	3	3	4	2	2	3	4	4	4	4	59
C 6	4	3	4	4	3	3	2	4	5	4	4	3	4	2	5	5	4	63
C 7	4	4	3	2	4	4	4	3	4	4	4	3	4	4	3	5	5	64
C 8	3	4	4	2	3	4	4	4	5	3	5	4	5	4	5	4	4	67
C 9	4	4	3	4	3	3	3	3	4	4	4	5	4	4	4	5	5	66
C 10	5	4	5	4	4	4	4	3	5	5	5	4	4	4	5	4	3	72
C 11	4	4	4	4	4	4	2	4	5	4	5	4	4	3	4	5	3	67
C 12	4	2	3	4	3	4	4	4	4	4	2	2	4	2	4	4	5	59
C 13	4	3	4	4	3	4	4	3	4	4	4	3	5	4	5	3	4	65
C 14	3	3	3	4	4	3	4	4	5	3	4	3	4	3	3	4	5	62
C 15	4	3	4	2	4	4	4	3	4	3	5	4	4	4	5	5	3	65
Y.J	59	53	54	53	53	57	56	53	65	58	60	53	61	54	63	65	59	976

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla A-5: Respuesta del Análisis Sensorial para Cataciones de la Carne de Pollo: Atributo Olor**

	TRAT 1	TRAT 2	TRAT 3	TRAT 4	TRAT 5	TRAT 6	TRAT 7	TRAT 8	TRAT 9	TRAT 10	TRAT 11	TRAT 12	TRAT 13	TRAT 14	TRAT 15	TRAT 16	TRAT 17	T i.
C 1	4	5	3	4	2	3	4	5	5	3	4	4	3	2	4	3	4	62
C 2	3	3	3	4	4	3	5	3	4	2	3	4	3	4	3	4	3	58
C 3	5	5	5	4	4	4	4	4	5	5	5	4	4	4	4	4	4	74
C 4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	2	4	4	4	4	4	4	4	61
C 5	3	2	3	4	4	3	4	3	4	3	2	5	3	4	3	4	3	57
C 6	5	4	4	4	3	4	3	4	5	3	4	3	4	3	5	4	4	66
C 7	2	3	2	2	4	4	5	3	4	4	4	3	4	4	4	3	3	58
C 8	4	4	4	3	3	2	3	4	5	3	5	4	4	3	5	3	4	63
C 9	4	5	4	4	3	5	4	3	3	4	4	4	4	3	4	4	5	67
C 10	4	3	4	4	4	3	4	3	4	2	3	4	4	4	4	3	4	61
C 11	4	5	3	3	5	4	5	3	3	3	3	5	3	3	5	4	4	65
C 12	4	4	4	3	3	3	4	3	4	2	4	4	4	4	3	4	5	62
C 13	4	5	3	4	4	4	5	5	3	3	4	5	3	5	4	3	4	68
C 14	3	4	4	5	4	4	3	4	5	3	3	4	3	2	3	4	4	62
C 15	2	3	3	4	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	3	60
Y.J	55	58	52	55	54	53	60	54	62	46	56	61	54	53	58	55	58	944



Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla A-7: Respuesta del Análisis Sensorial para Cataciones de la Carne de Pollo: Atributo Textura.**

	TRAT 1	TRAT 2	TRAT 3	TRAT 4	TRAT 5	TRAT 6	TRAT 7	TRAT 8	TRAT 9	TRAT 10	TRAT 11	TRAT 12	TRAT 13	TRAT 14	TRAT 15	TRAT 16	TRAT 17	Ti.
C 1	3	3	2	3	2	2	3	2	3	1	4	2	3	2	2	4	4	45
C 2	3	4	4	4	5	3	2	4	3	4	4	4	3	4	4	3	3	61
C 3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	4	4	3	4	2	2	3	4	50
C 4	3	2	2	3	2	2	2	3	2	3	4	3	2	1	3	2	5	44
C 5	4	4	3	2	4	3	3	2	4	4	4	4	4	4	4	4	2	59
C 6	3	2	3	4	3	2	3	4	2	3	3	3	2	2	2	3	1	45
C 7	2	4	2	2	3	2	2	3	3	2	4	3	2	3	4	2	4	47
C 8	3	2	3	2	3	3	3	4	4	2	5	4	2	1	2	2	2	47
C 9	4	3	3	4	4	2	3	2	3	2	2	1	3	3	4	4	2	49
C 10	3	2	2	3	2	2	3	2	3	4	4	3	2	2	4	2	3	46
C 11	2	4	2	3	2	4	3	4	2	4	4	3	2	2	2	3	3	49
C 12	4	3	4	2	4	4	2	2	4	3	4	3	2	4	3	2	4	54
C 13	3	2	3	4	3	2	3	3	2	4	3	4	3	2	4	4	3	52
C 14	2	4	3	2	3	2	3	4	3	4	4	1	1	3	3	3	5	50

C 15	2	3	3	4	2	1	2	4	4	2	5	3	4	1	4	3	4	51
Y.J	44	45	42	45	44	36	40	46	44	46	58	44	39	36	47	44	49	749

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla A-8: Respuesta del Análisis Sensorial para Cataciones de la Carne de Pollo: Atributo Aceptabilidad**

	TRAT 1	TRAT 2	TRAT 3	TRAT 4	TRAT 5	TRAT 6	TRAT 7	TRAT 8	TRAT 9	TRAT 10	TRAT 11	TRAT 12	TRAT 13	TRAT 14	TRAT 15	TRAT 16	TRAT 17	Ti.
C 1	4	2	2	4	4	2	4	3	3	1	2	4	3	3	5	5	4	55
C 2	2	4	4	4	3	4	4	2	3	2	2	4	3	4	5	4	3	57
C 3	5	4	4	4	4	5	4	5	3	5	4	4	4	3	5	5	2	70
C 4	4	2	3	2	3	2	2	4	4	4	3	3	4	3	4	4	2	53
C 5	3	1	3	4	4	3	4	3	4	3	1	4	3	3	3	2	3	51
C 6	4	2	3	4	3	3	2	5	5	3	3	2	4	2	5	5	4	59
C 7	3	3	3	2	3	3	4	3	4	3	4	3	4	4	4	3	4	57
C 8	3	3	3	2	3	4	3	4	4	2	4	2	4	3	5	3	4	56
C 9	5	4	4	4	5	3	4	3	4	5	4	4	4	3	4	4	3	67
C 10	4	3	2	3	2	2	4	3	4	4	4	3	2	3	2	3	4	52
C 11	2	1	4	4	4	3	4	4	4	3	3	3	4	2	5	5	4	59
C 12	5	4	3	4	3	3	2	3	5	3	2	2	3	4	4	4	4	58
C 13	4	4	3	2	4	3	4	5	4	3	3	2	4	3	5	2	3	58
C 14	3	2	3	4	3	4	3	3	3	2	4	3	4	2	4	5	4	56
C 15	4	3	4	5	3	3	2	4	3	4	5	2		3	3	4	4	56
Y.J	55	42	48	52	51	47	50	54	57	47	48	45	50	45	63	58	52	864

**Elaborado por: Christian Moreno**

## **VIDA ÚTIL**

**Tabla A-9: Análisis microbiológico del mejor tratamiento (bc) de carne de pollo (UFC/gr)**

		AEROBIOS		COLIFORMES TOTALES		E. COLI	
		antes	despues	antes	despues	antes	despues
Día 0	r1	7,8E+05	3,6E+03	3,0E+04	8,0E+02	1,0E+01	0,0E+00
	r2	7,6E+05	3,9E+03	3,4E+04	6,0E+02	1,0E+01	0,0E+00
Día 3	r1	1,1E+06	5,9E+03	6,9E+04	4,6E+03	1,0E+03	0,0E+00
	r2	1,2E+06	5,8E+03	3,2E+04	4,5E+03	1,0E+03	0,0E+00
Día 7	r1	7,7E+06	4,9E+04	1,7E+05	2,6E+04	4,0E+04	1,0E+01
	r2	6,1E+06	4,7E+04	2,7E+05	3,0E+04	4,0E+04	1,0E+01
Día 10	r1	1,3E+07	3,9E+05	5,3E+06	8,0E+04	6,0E+05	7,0E+02
	r2	1,2E+07	4,2E+05	5,4E+06	9,0E+04	6,0E+05	8,0E+02
Día 14	r1		9,8E+05		4,4E+05		1,5E+04
	r2		1,0E+06		5,0E+05		1,7E+04
Día 17	r1		8,1E+06		7,2E+05		2,3E+04
	r2		7,7E+06		3,3E+05		2,5E+04
Día 20	r1		1,1E+08		7,7E+06		4,0E+05
	r2		1,0E+08		9,6E+06		4,5E+05

Elaborado por: Christian Moreno

**Antes:** Sin tratamiento  
**Después:** Con tratamiento

**Cálculos:** Anexo D-13

# **ANEXO B**

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

### Diseño Experimental: 2<sup>4</sup>

**Tabla B-1: Análisis de varianza para microorganismos aerobios en carne de pollo**

FUENTE	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Razon de Varianza	Probabilidad
Réplicas	0,2312	1	0,2312	2,4378	
a	0,5472	1	0,5472	5,7687	0,0311
b	0,1981	1	0,1981	2,0886	0,1663
ab	0,1728	1	0,1728	1,8212	0,2036
c	0,6014	1	0,6014	6,3402	0,0243
ac	0,0502	1	0,0502	0,5296	0,4867
bc	0,5045	1	0,5045	5,3184	0,0371
abc	0,0076	1	0,0076	0,0804	0,7750
d	9,2284	1	9,2284	97,2889	0,0000
ad	0,0456	1	0,0456	0,4810	0,5005
bd	0,2648	1	0,2648	2,7912	0,1153
abd	0,3894	1	0,3894	4,1047	0,0636
cd	0,0076	1	0,0076	0,0804	0,7836
acd	0,0789	1	0,0789	0,8321	0,3786
bcd	0,2212	1	0,2212	2,3323	0,1513
abcd	0,0173	1	0,0173	0,1824	0,1402
ERROR	1,4228	15	0,0949		
TOTAL	13,9891	31			

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-2: Respuesta Optimizada para recuento de Aerobios**

Meta: minimizar la cantidad de Aerobios

Valor Optimo = 99,25

Factor	Inferior	Mayor	Optimo
Ac Lactico	1,0	2,0	1,0
Nisina	300,0	500,0	500,0
Tiempo	3,0	10,0	10,0
Temperatura	4,0	18,0	4,0

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-3: Coeficiente de regresión para recuento de Aerobios**

Coef. de regresión para AEROBIOS

constante	= 95,0895
A:ac lactico	= 1,76893
B:Nisina	= 0,00679541
C:Tiempo	= -0,0255612
D:Temperatura	= 0,206454
AB	= -0,0029801
AC	= 0,0514286
AD	= -0,0925
BC	= 0,000430102
BD	= -0,000639031
CD	= -0,00905612
ABC	= -0,000295918
ABD	= 0,000192347
ACD	= -0,00339286
BCD	= 0,00000586735
ABCD	= 0,0000186224

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-4: Prueba de diferenciación (Tukey) para recuento de Aerobios de todos los tratamientos**

Contraste Múltiple de Rangos para AEROBIOS según TRATAMIENTOS

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

TRATAMIENTOS	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos H
bd	2	97,065	0,228634	E
cd	2	97,385	0,228634	ED
abd	2	97,44	0,228634	EDC
d	2	97,565	0,228634	EDCB
acd	2	97,655	0,228634	EDCB
bcd	2	97,69	0,228634	EDCB
ad	2	97,82	0,228634	EDCB
1	2	98,06	0,228634	EDCBA
abcd	2	98,135	0,228634	EDCBA
c	2	98,38	0,228634	DCBA
b	2	98,605	0,228634	DCBA
ab	2	98,68	0,228634	CBA
a	2	98,71	0,228634	CBA
abc	2	98,815	0,228634	BA
ac	2	98,83	0,228634	BA
bc	2	99,25	0,228634	A

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-5: Análisis de varianza para coliformes totales en carne de pollo**

FUENTE	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Razon de Varianza	Probabilidad
Réplicas	0,9330	1	0,9330	4,5254	
a	2,7743	1	2,7743	13,4566	0,0022
b	0,2564	1	0,2564	1,2439	0,2788
ab	7,8116	1	7,8116	37,8903	0,0000
c	33,0058	1	33,0058	160,0949	0,0000
ac	1,1973	1	1,1973	5,8076	0,0287
bc	3,4333	1	3,4333	16,6531	0,0010
abc	4,3097	1	4,3097	20,9040	0,0004
d	21,8417	1	21,8417	105,9436	0,0000
ad	3,3357	1	3,3357	16,1798	0,0011
bd	6,5476	1	6,5476	31,7590	0,0000
abd	3,0253	1	3,0253	14,6740	0,0016
cd	7,6972	1	7,6972	37,3352	0,0000
acd	0,4975	1	0,4975	2,4131	0,1413
bcd	1,6265	1	1,6265	7,8893	0,0134
abcd	0,0176	1	0,0176	0,0853	0,7826
ERROR	3,0925	15	0,2062		
TOTAL	101,4028	31			

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-6: Respuesta Optimizada para recuento de Coliformes Totales**

Respuesta Optimizada

Meta: maximizar el % de reduccion de Coliformes T

Valor Optimo = 99,345

Factor	Inferior	Mayor	Optimo
Ac Lactico	1,0	2,0	1,0
Nisina	300,0	500,0	500,0
Tiempo	3,0	10,0	10,0
Temperatura	4,0	18,0	4,0

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-7: Coeficiente de regresión para recuento de Coliformes Totales**

Coef. de regresión para Coliformes

constante	= 105,422
A:Ac Lactico	= -6,3
B:Nisina	= -0,0284153
C:Tiempo	= -1,64332
D:Temperatura	= -0,803469
AB	= 0,0146704
AC	= 0,9175
AD	= 0,5575
BC	= 0,0053801
BD	= 0,0014449
CD	= 0,0428827
ABC	= -0,00229133
ABD	= -0,000997959
ACD	= -0,0175
BCD	= -0,000119133
ABCD	= 0,0000183673

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-8: Prueba de diferenciación (Tukey) para recuento de Coliformes Totales de todos los tratamientos**

Contraste Múltiple de Rangos para COLIFORMES T según TRATAMIENTO.

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

TRATAMIENTOS	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homog
bd	2	92,95	0,353704	I
d	2	93,325	0,353704	IH
abcd	2	93,84	0,353704	IHG
abd	2	93,905	0,353704	IHG
cd	2	94,12	0,353704	IHGF
b	2	94,315	0,353704	IHGF
a	2	94,775	0,353704	IHGFE
ab	2	94,8	0,353704	IHGFE
l	2	95,095	0,353704	HGFED
bcd	2	95,53	0,353704	GFEDC
ad	2	96,115	0,353704	FEDCB
c	2	96,365	0,353704	EDCB
acd	2	97,01	0,353704	DCB
ac	2	97,32	0,353704	CB
abc	2	98,0	0,353704	BA
bc	2	99,345	0,353704	A

Elaborado por: Christian Moreno

## ANÁLISIS SENSORIAL

**Tabla B-9: Análisis De Varianza De La Evaluación Sensorial De Los Tratamientos De Carne De Pollo De Los Atributos:**

**COLOR, OLOR, SABOR, TEXTURA Y ACEPTABILIDAD.**

FV	GL	SC	CM	Rv	Ft
<b>CATADORES</b>					
Color	14	12,76	0,91	1,79	2,37
Olor	14	16,53	1,18	2,26	2,37
Sabor	14	22,33	1,59	2,34	2,37
Textura	14	20,29	1,45	2,01	2,37
Aceptabilidad	14	21,04	1,50	1,88	2,37
<b>TRATAMIENTOS</b>					
Color	16	19,61	1,23	2,41	1,68
Olor	16	15,62	0,98	1,87	1,68
Sabor	16	39,48	2,47	3,62	1,68
Textura	16	27,53	1,72	2,39	1,68
Aceptabilidad	16	30,70	1,92	2,40	1,68
<b>ERROR</b>					
Color	224	114,04	0,51		
Olor	224	117,21	0,52		
Sabor	224	152,87	0,68		
Textura	224	161,18	0,72		
Aceptabilidad	224	178,83	0,80		
<b>TOTAL (Corregido)</b>					
Color	254		146,41		
Olor	254		149,35		
Sabor	254		214,68		
Textura	254		209,00		
Aceptabilidad	254		230,56		

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-10: Contraste Múltiple de Rangos Tukey para Color.**

<b>Contraste Múltiple de Rangos para Color según Tratamiento</b>				
<b>Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
4	15	3,53333	0,184229	A
12	15	3,53333	0,184229	A
5	15	3,53333	0,184229	A
2	15	3,53333	0,184229	A
8	15	3,53333	0,184229	A
3	15	3,6	0,184229	A
14	15	3,6	0,184229	A
7	15	3,73333	0,184229	A
6	15	3,8	0,184229	A
10	15	3,86667	0,184229	A
17	15	3,93333	0,184229	A
1	15	3,93333	0,184229	A
11	15	4	0,184229	A
13	15	4,06667	0,184229	A
15	15	4,2	0,184229	A
9	15	4,33333	0,184229	A
16	15	4,33333	0,184229	A

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-11: Contraste Múltiple de Rangos Tukey para Olor.**

<b>Contraste Múltiple de Rangos para Olor según Tratamiento</b>				
<b>Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
10	15	3,067	0,187	B
3	15	3,467	0,187	BA
6	15	3,533	0,187	BA
14	15	3,533	0,187	BA
13	15	3,600	0,187	BA
5	15	3,600	0,187	BA
8	15	3,600	0,187	BA
16	15	3,667	0,187	BA
4	15	3,667	0,187	BA
1	15	3,667	0,187	BA
11	15	3,733	0,187	BA
15	15	3,867	0,187	BA
17	15	3,867	0,187	BA
2	15	3,867	0,187	BA
7	15	4,000	0,187	A
12	15	4,067	0,187	A
9	15	4,133	0,187	A

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-12: Contraste Múltiple de Rangos Tukey para Sabor.**

<b>Contraste Múltiple de Rangos para Sabor según Tratamiento</b>
<b>Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey</b>

Tratamiento	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	15	2,600	0,213	B
12	15	3,133	0,213	BA
6	15	3,200	0,213	BA
10	15	3,267	0,213	BA
3	15	3,333	0,213	BA
5	15	3,333	0,213	BA
11	15	3,400	0,213	BA
4	15	3,467	0,213	BA
14	15	3,467	0,213	BA
17	15	3,733	0,213	A
13	15	3,867	0,213	A
9	15	3,867	0,213	A
8	15	3,867	0,213	A
7	15	3,933	0,213	A
15	15	4,000	0,213	A
1	15	4,000	0,213	A
16	15	4,133	0,213	A

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-13: Contraste Múltiple de Rangos Tukey para Textura.**

Contraste Múltiple de Rangos para Textura según Tratamiento				
Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey				
Tratamiento	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos

6	15	2,400	0,219	B
14	15	2,400	0,219	B
13	15	2,600	0,219	B
7	15	2,667	0,219	B
3	15	2,800	0,219	BA
1	15	2,933	0,219	BA
12	15	2,933	0,219	BA
5	15	2,933	0,219	BA
9	15	2,933	0,219	BA
16	15	2,933	0,219	BA
2	15	3,000	0,219	BA
4	15	3,000	0,219	BA
10	15	3,067	0,219	BA
8	15	3,067	0,219	BA
15	15	3,133	0,219	BA
17	15	3,267	0,219	BA
11	15	3,867	0,219	A

Elaborado por: Christian Moreno

**Tabla B-14: Contraste Múltiple de Rangos Tukey para Aceptabilidad.**

<b>Contraste Múltiple de Rangos para Aceptabilidad según Tratamiento</b>				
<b>Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Recuento</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
2	15	2,800	0,231	B
12	15	3,000	0,231	B

14	15	3,000	0,231	B
10	15	3,133	0,231	BA
6	15	3,133	0,231	BA
3	15	3,200	0,231	BA
11	15	3,200	0,231	BA
13	15	3,333	0,231	BA
7	15	3,333	0,231	BA
5	15	3,400	0,231	BA
17	15	3,467	0,231	BA
4	15	3,467	0,231	BA
8	15	3,600	0,231	BA
1	15	3,667	0,231	BA
9	15	3,800	0,231	BA
16	15	3,867	0,231	BA
15	15	4,200	0,231	A

Elaborado por: Christian Moreno

# **ANEXO C**

## **ANÁLISIS DE VIDA ÚTIL PARA EL MEJOR TRATAMIENTO**

**Tabla C-1: Datos para el cálculo de orden de reacción y tiempo de vida útil a partir de los datos de microorganismos aerobios totales**

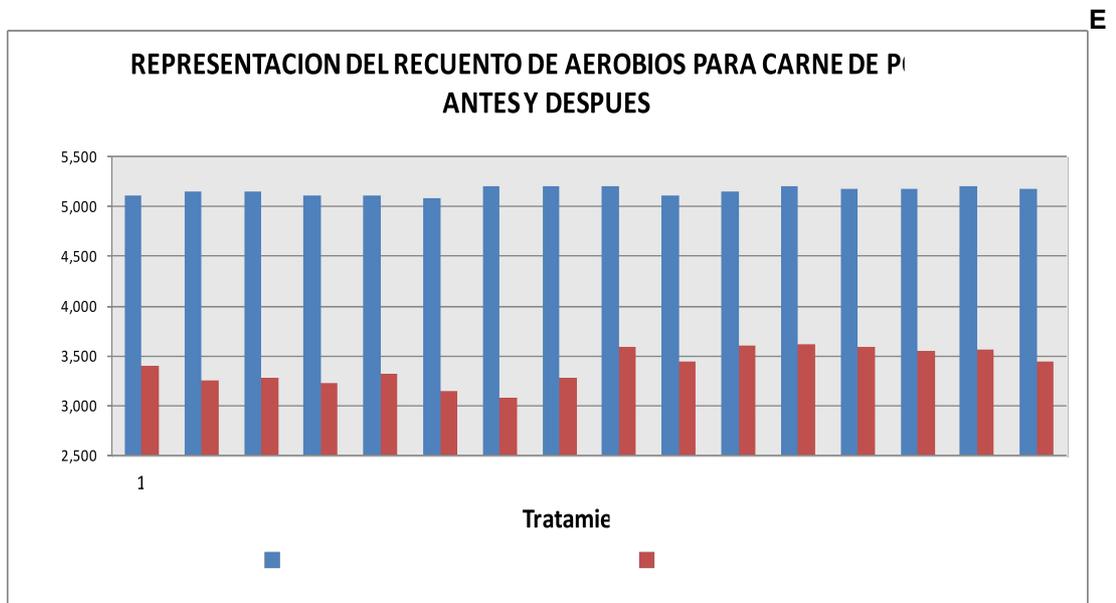
DIAS	TIEMPO HORAS		Antes	Después	Promedio Antes	Promedio Después	Ln Antes	Ln Después	Log Antes	Log Después																																																																												
D 0	0	R1	7,8E+05	3,6E+03	7,70E+05	3,73E+03	13,55	8,23	5,89	3,57																																																																												
		R2	7,6E+05	3,9E+03							D 3	259200	R1	1,1E+06	5,9E+03	1,18E+06	5,88E+03	13,98	8,68	6,07	3,77	R2	1,2E+06	5,8E+03	D 7	604800	R1	7,7E+06	4,9E+04	6,90E+06	4,80E+04	15,75	10,78	6,84	4,68	R2	6,1E+06	4,7E+04	D 10	864000	R1	1,3E+07	3,9E+05	1,26E+07	4,07E+05	16,35	12,92	7,10	5,61	R2	1,2E+07	4,2E+05	D 14	1209600	R1		9,8E+05		9,90E+05		13,81		6,00	R2		1,0E+06	D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90	R2		7,7E+06	D 20	1728000	R1		1,1E+08	
D 3	259200	R1	1,1E+06	5,9E+03	1,18E+06	5,88E+03	13,98	8,68	6,07	3,77																																																																												
		R2	1,2E+06	5,8E+03							D 7	604800	R1	7,7E+06	4,9E+04	6,90E+06	4,80E+04	15,75	10,78	6,84	4,68	R2	6,1E+06	4,7E+04	D 10	864000	R1	1,3E+07	3,9E+05	1,26E+07	4,07E+05	16,35	12,92	7,10	5,61	R2	1,2E+07	4,2E+05	D 14	1209600	R1		9,8E+05		9,90E+05		13,81		6,00	R2		1,0E+06	D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90	R2		7,7E+06	D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03	R2		1,0E+08						
D 7	604800	R1	7,7E+06	4,9E+04	6,90E+06	4,80E+04	15,75	10,78	6,84	4,68																																																																												
		R2	6,1E+06	4,7E+04							D 10	864000	R1	1,3E+07	3,9E+05	1,26E+07	4,07E+05	16,35	12,92	7,10	5,61	R2	1,2E+07	4,2E+05	D 14	1209600	R1		9,8E+05		9,90E+05		13,81		6,00	R2		1,0E+06	D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90	R2		7,7E+06	D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03	R2		1,0E+08																				
D 10	864000	R1	1,3E+07	3,9E+05	1,26E+07	4,07E+05	16,35	12,92	7,10	5,61																																																																												
		R2	1,2E+07	4,2E+05							D 14	1209600	R1		9,8E+05		9,90E+05		13,81		6,00	R2		1,0E+06	D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90	R2		7,7E+06	D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03	R2		1,0E+08																																		
D 14	1209600	R1		9,8E+05		9,90E+05		13,81		6,00																																																																												
		R2		1,0E+06							D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90	R2		7,7E+06	D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03	R2		1,0E+08																																																
D 17	1468800	R1		8,1E+06		7,90E+06		15,88		6,90																																																																												
		R2		7,7E+06							D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03	R2		1,0E+08																																																														
D 20	1728000	R1		1,1E+08		1,07E+08		18,49		8,03																																																																												
		R2		1,0E+08																																																																																		

**Elaborado por: Christian Moreno**

# **ANEXO D**

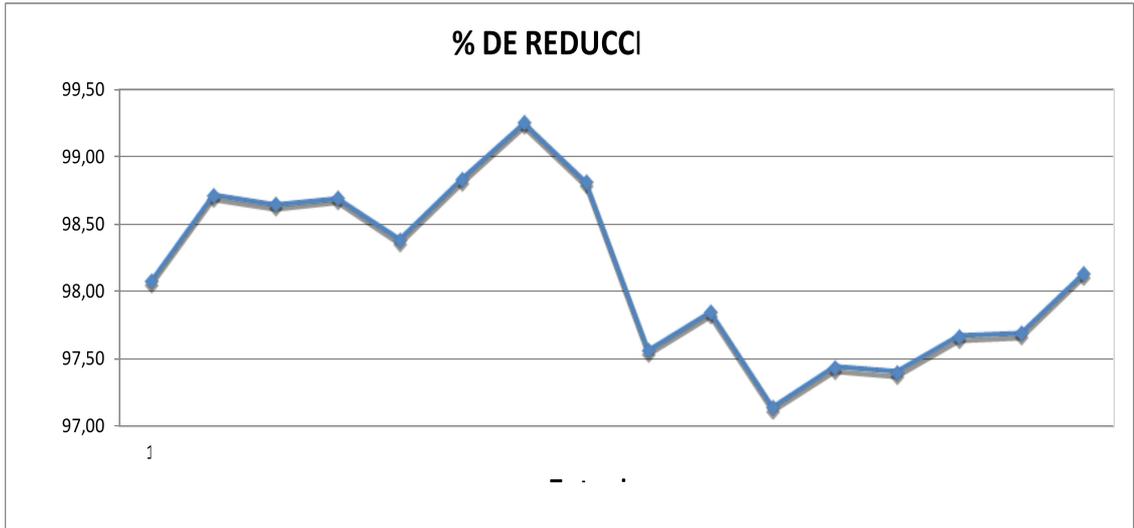
## **GRÁFICOS**

**Gráfico D-1: Logaritmos de contajes de recuento de Aerobios Antes y Después en la carne de pollo**



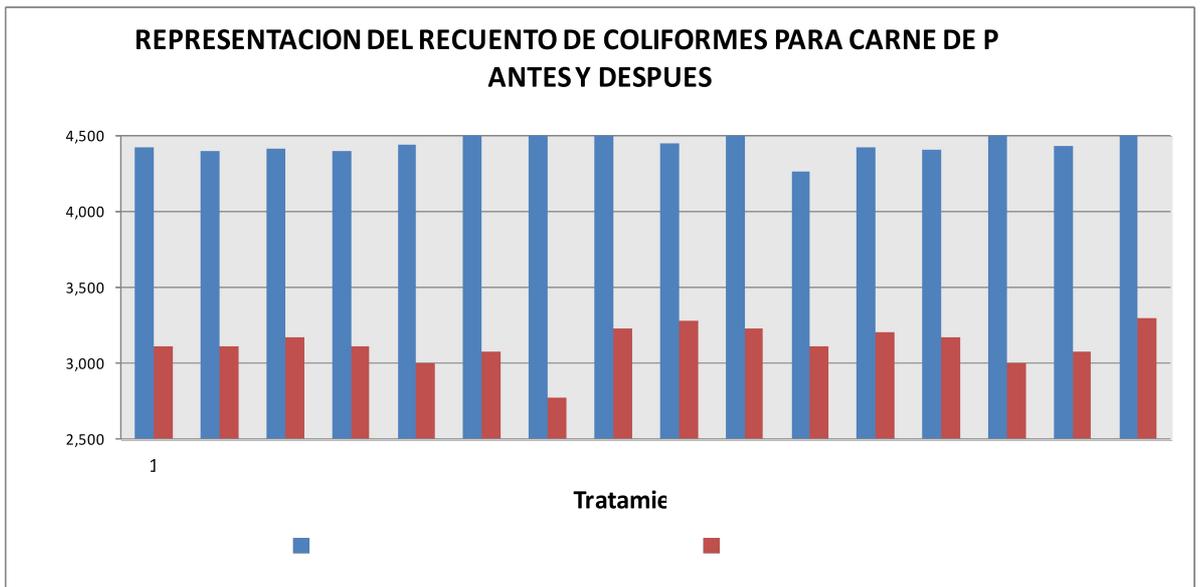
laborado por: Christian Moreno

**Gráfico D-2: Porcentaje de reducción de microorganismos aerobios en carne de pollo después de la inmersión en los tratamientos.**



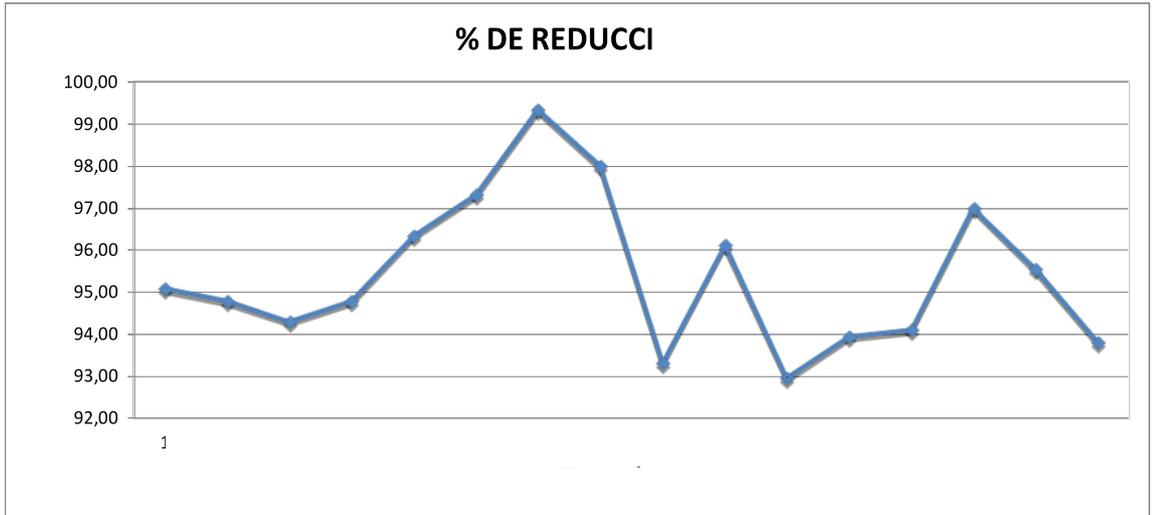
Elaborado por: Christian Moreno

**Gráfico D-3: Logaritmos de contajes de recuento de Coliformes Totales Antes y Después en la carne de pollo**



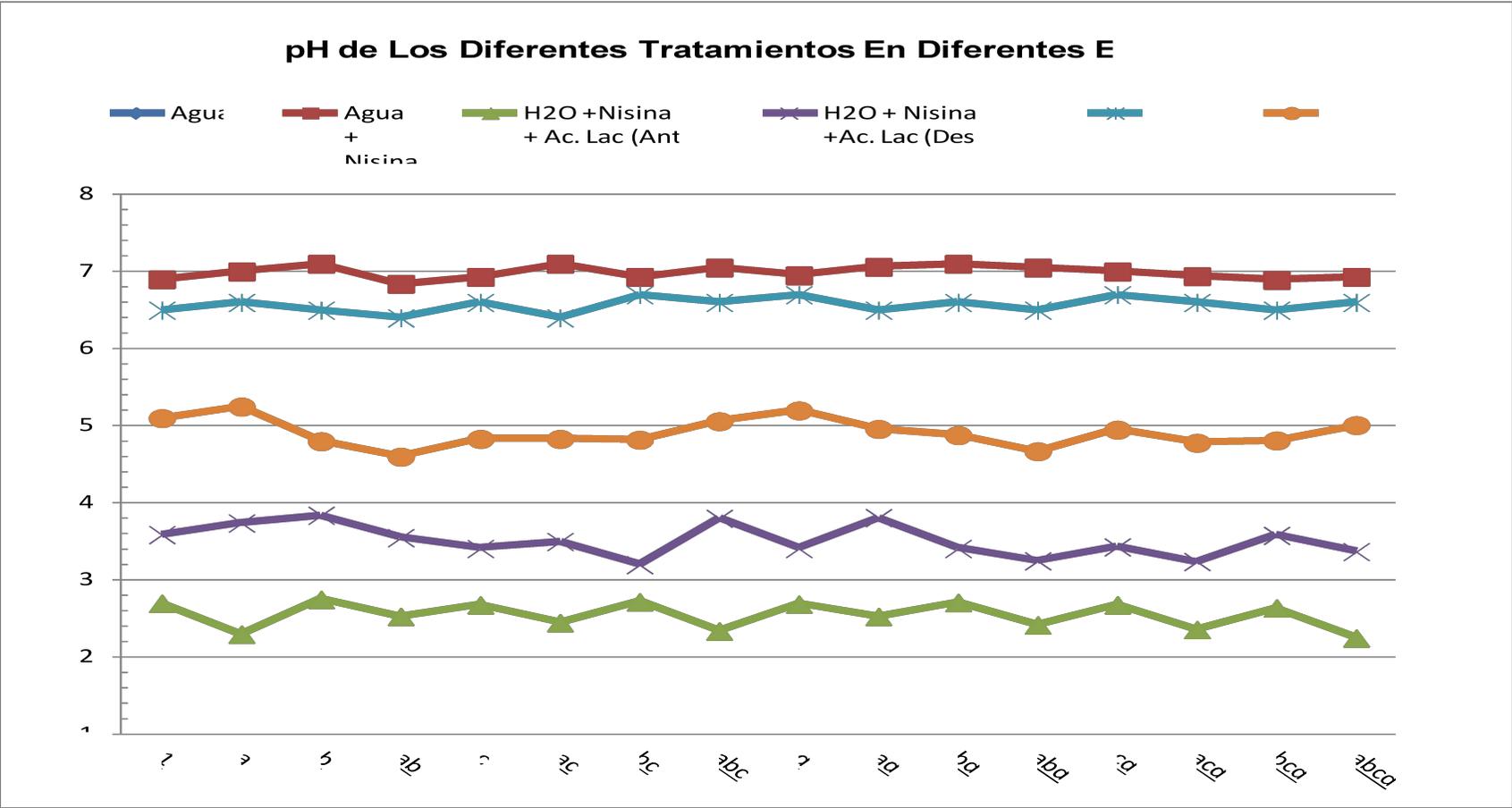
Elaborado por: Christian Moreno

**Gráfico D-4: Porcentaje de reducción del recuento de Coliformes Totales después de la inmersión en los tratamientos**



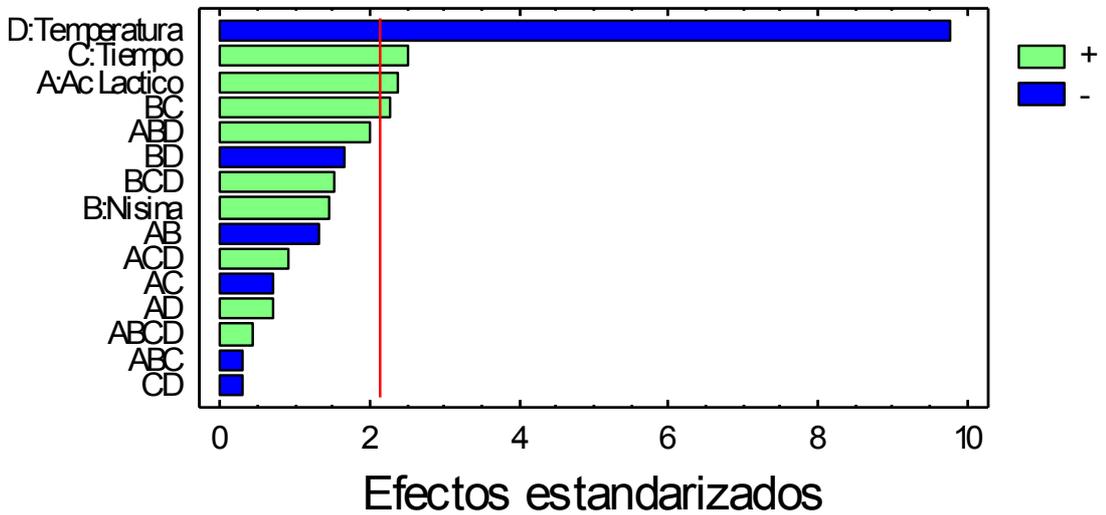
Elaborado por: Christian Moreno

Gráfico D-5: Variación del pH en diferentes etapas de la Inmersión de la Carne de Pollo



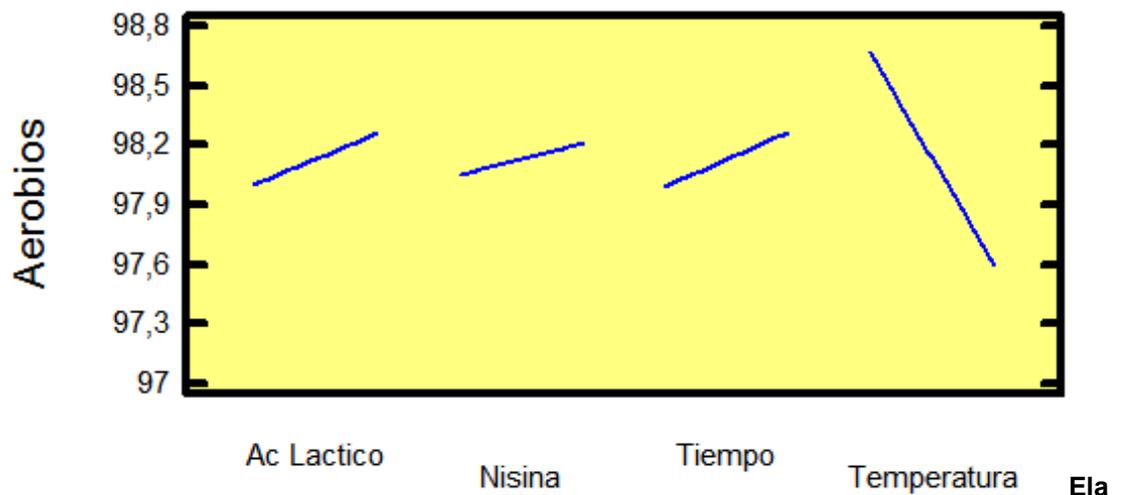
**Elaborado por: Christian Moreno**

**Gráfico D-6: Gráfico De Pareto estandarizado para recuento de Aerobios en la Carne De Pollo**



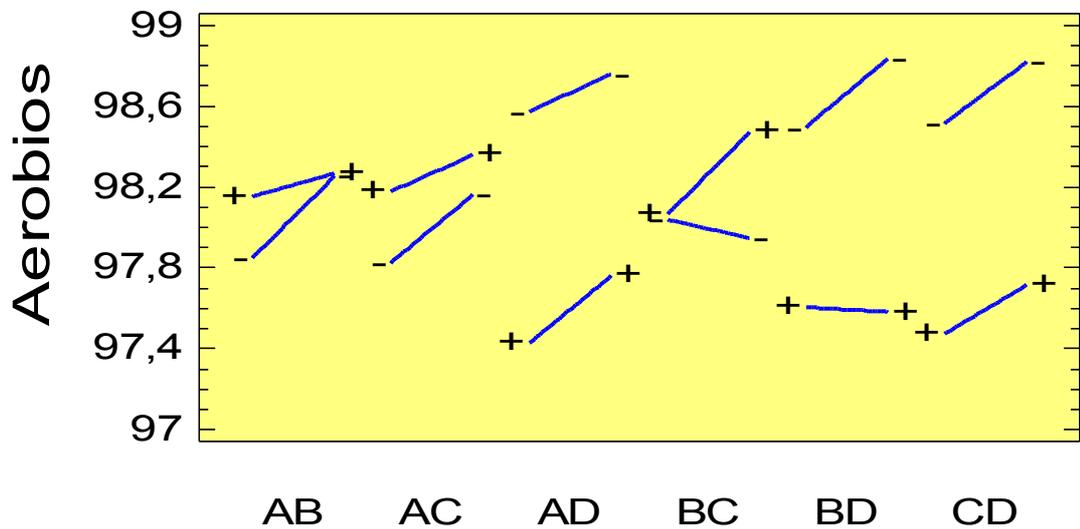
Elaborado por: Christian Moreno

**Gráfico D-7: Gráfico De Efectos Principales para recuento de Aerobios en la Carne de Pollo**



Elaborado por: Christian Moreno

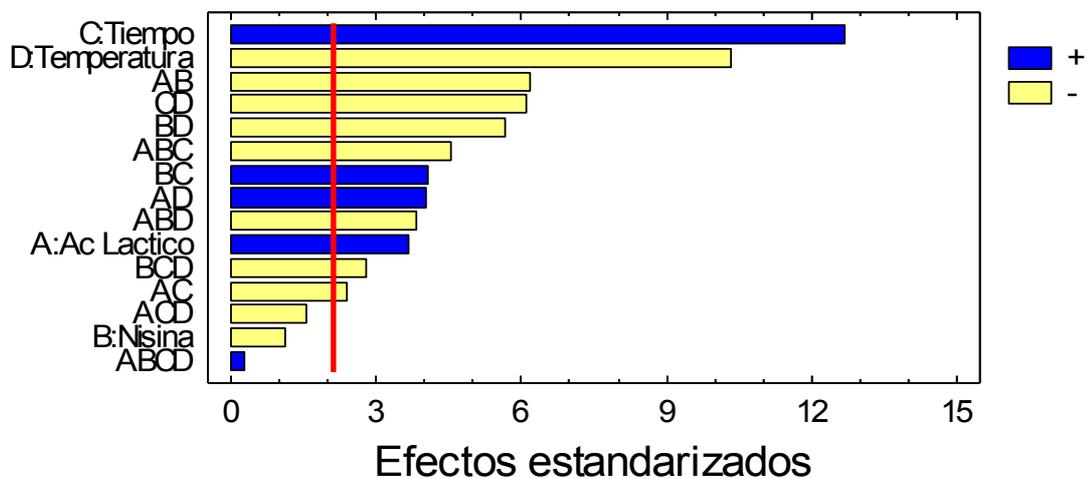
**Gráfico D-8: Gráfico De interacción de factores para recuento de Aerobios en la Carne De pollo**



Elaborado por: Christian Moreno

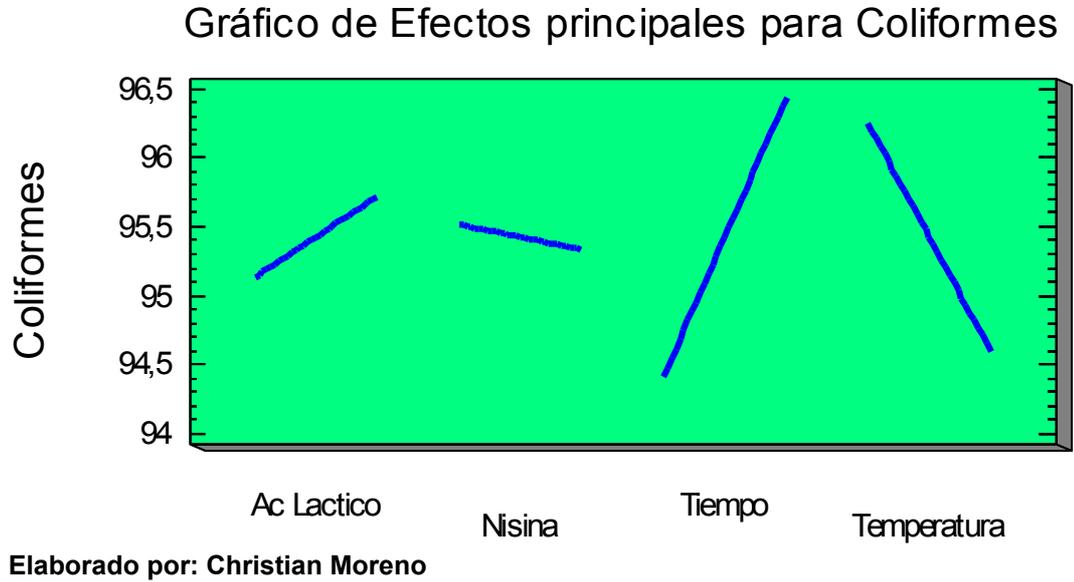
**Gráfico D-9: Gráfico de Pareto estandarizado para recuento de Coliformes Totales en la Carne De Pollo**

**Gráfico de Pareto estandarizado para Coliformes**

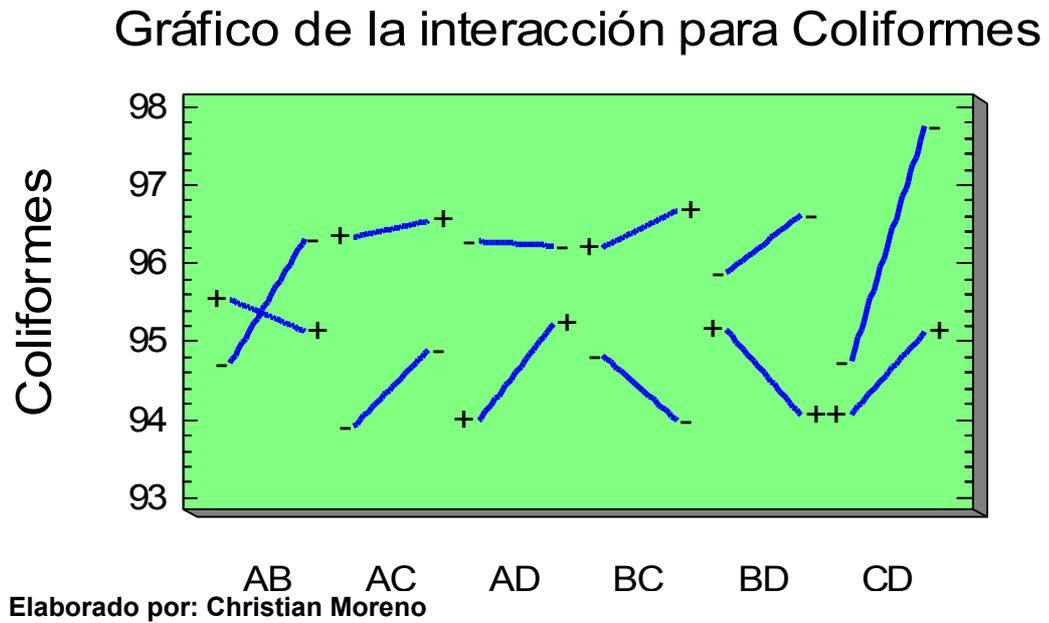


Elaborado por: Christian Moreno

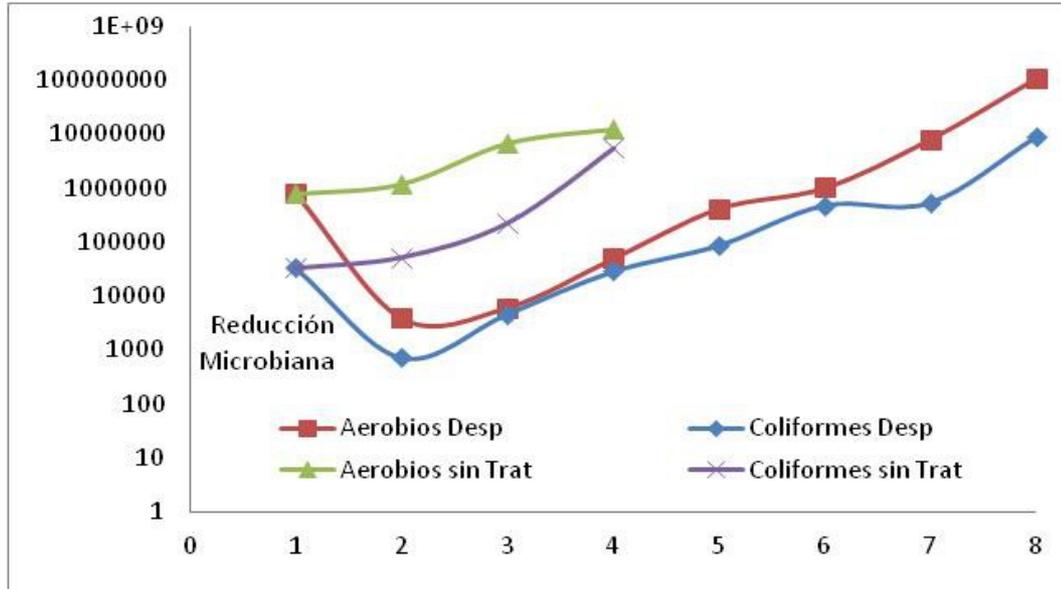
**Gráfico D-10: Gráfico de Efectos Principales para recuento de Coliformes Totales en la Carne De**



**Gráfico D-11: Gráfico de interacción de factores para recuento de Coliformes Totales en la Carne De pollo**



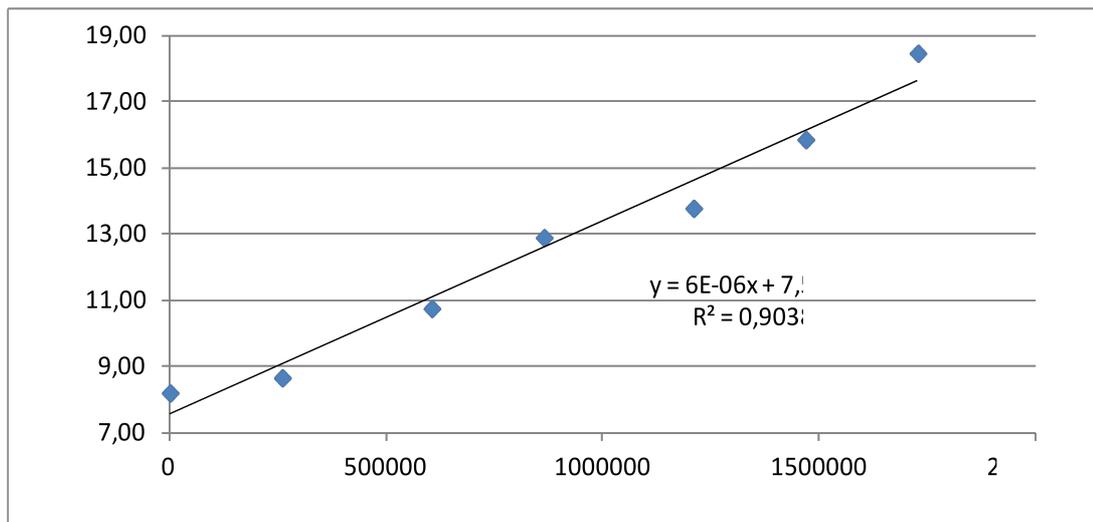
**Gráfico D-12: Representación del crecimiento de microorganismos aerobios y coliformes totales en función del tiempo del mejor tratamiento (BC)**



Elaborado por: Christian Moreno

1: antes del tratamiento, 2: después del tratamiento 3: día 3 de almacenamiento 4: día 7 de almacenamiento, 5: día 10 de almacenamiento 6: día 12 de almacenamiento, 7: día 14 de almacenamiento, 8: día 17 de almacenamiento

**Gráfico D-13: Cálculo del Orden de Reacción en el mejor tratamiento (BC)**



Elaborado por: Christian Moreno

## Cálculos

vida media

**C inicial=** 1908,55177413664      **Tiempo inicial =** 0

1) Valor medio = 954,27589

Tiempo 2 = 115525

2) Valor Medio= 477,1379435      A2= 2,6786

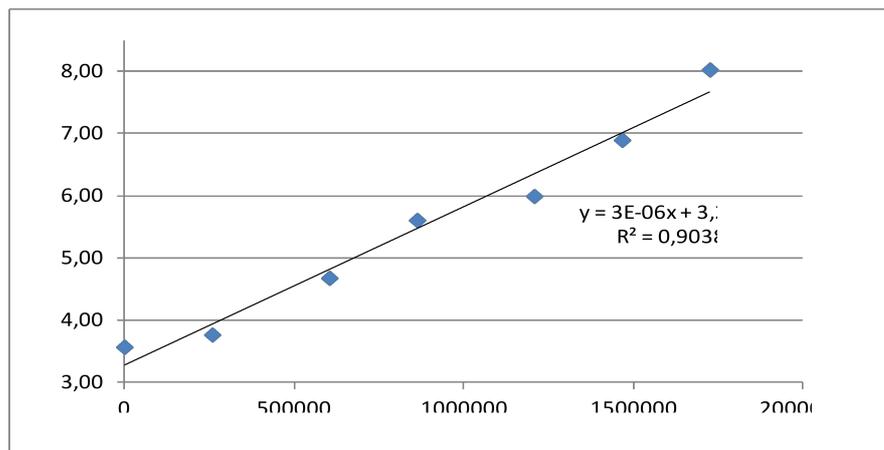
Tiempo 3 = 231049

$$n = \frac{\log(T_3 - T_2) - \log(T_2 - T_1)}{\log A_1 - \log A_2} + 1$$

$$n = 1$$

Valor que corresponde a cinética de primer orden

**Gráfico D-14: Cálculo de tiempo de vida útil en el mejor tratamiento (BC)**



Elaborado por: Christian Moreno

Ecuación de primer orden para vida útil es:  $\ln \frac{C}{C_0} = k t$

Despejando en logaritmos vulgares:  $\log C = \frac{2.303 k t}{2.303} + \log C_0$

Reemplazando valores:  $\log C = (3 * 10^{-6}) * t + 3.2807$

Espejando el tiempo se tiene:  $t = \frac{\log C - A}{B}$

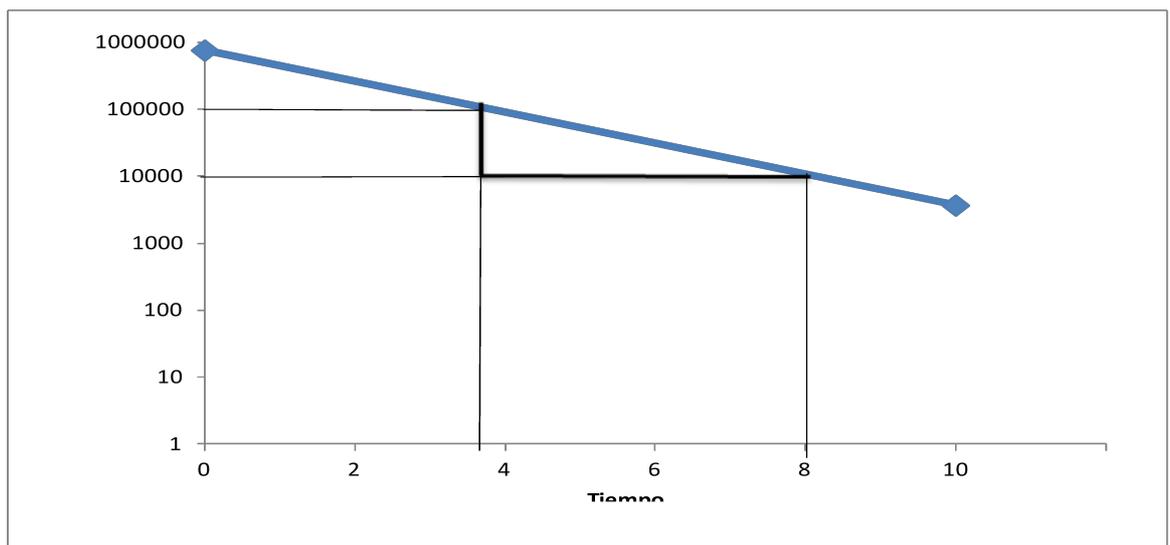
$C = 1 * 10^{-7}$  (Valor máximo de UFC /gr par a Aerobios Mesó filis en carne de pollo) según el Codex Alimentarius del (ICMSF)

$$t = \frac{1 * 10^{-7} - 3.2807}{3 * 10^{-6}}$$

$$t = 1239767 \text{ seg}$$

$$t = 14.35 \text{ dias}$$

**Gráfico D-15: Cálculo del Tiempo de Reducción Decimal**



Elaborado por: Christian Moreno

Calculo del tiempo de de reducción decimal (D) en el mejor tratamiento

$$D = \frac{(t_2 - t_1)}{\log A - \log B}$$

$$D = \frac{(10-0)}{\log 770000 - \log 3733}$$

$$D = 4,32 \text{ min}$$

**ANEXO E**

**DIAGRAMAS**

**Diagrama E-1: Diagrama de flujo del proceso de aplicación de tratamientos en la carne de pollo.**



Elaborado por: Christian Moreno

**Diagrama E-2: Hoja De Cataciones**

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** Deguste las siguientes muestras de pollo. Sea justo, evalúe cada una de las muestras, marque con una (X) la alternativa que mejor describa las características del pollo

		Muestra	Muestra	Muestra	Muestra
Característica	Alternativa				
Color	Muy desagradable				
	Desagradable				
	Ni agrada ni desagrada				
	Agradable				
	Muy Agradable				
Olor	Muy desagradable				
	Desagradable				
	Ni agrada ni desagrada				
	Agradable				
	Muy Agradable				
Sabor	Muy desagradable				
	Desagradable				
	Ni agrada ni desagrada				
	Agradable				
	Muy Agradable				
Textura	Muy dura				
	Dura				
	Ni dura ni suave				
	Suave				
	Muy suave				
Aceptabilidad	Disgusta mucho				
	Disgusta poco				
	Ni gusta ni disgusta				
	Gusta poco				

	Gusta mucho				
--	-------------	--	--	--	--

**Observaciones:**

---

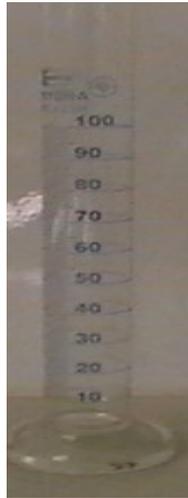
**Gracias por su colaboración**

**Elaborado por: Christian Moreno**

**ANEXO F**

**FOTOGRAFÍAS**

## Materiales de laboratorio



**F- 1** Probeta de Vidrio



**F- 4** Piceta para agua destilada



**F- 2** Matraces con agua destilada.



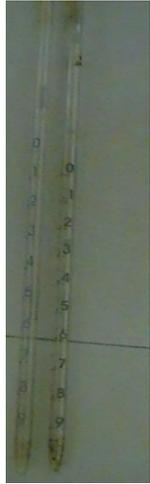
**F- 5** Tubos bacteriológicos



**F- 3** Aplicador 3M para placas  
petrifilm



**F- 6** Vasos de precipitación para  
inmersión del los tratamientos



**F-7** Pipetas graduadas



**F-10** Mesa de acero inoxidable



**F-8** Balanza de precisión



**F-11** Tijeras de acero inoxidable



**F-9** pH- metro



**F-12** Muestras de carne de pollo para análisis microbiológico



**F-13** Placa de recuento de Aerobios totales



**F-16** Des ionizador de agua destilada



**F-14** Incubadora



**F-17** Esterilizador de material de vidrio



**F-15** Autoclave



**F-18** Cámara de flujo laminar



**F-19** Cámara de refrigeración



**F-20** Evaluación Sensorial de la carne de pollo

### Reactivos utilizados



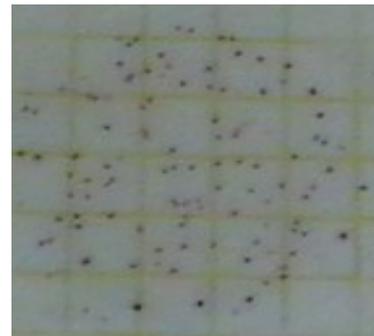
**F-21** Ácido Láctico



**F-22** Nisina



**F-23** Conteo de UFC antes del tratamiento  $10^{-3}$



**F-24** Conteo de UFC después del tratamiento  $10^{-1}$

# **ANEXO G**

# **NORMAS**

Anexo G-1: CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DEFINICIONES



**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

---

**ORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 1 217:200**  
**Primera revisión**

---

**ARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DEFINICIONES.**

**ímera Edición**

AT AND MEAD PRODUCTS. DEFINITIONS.

:tEdición

---

SCRIPTORES: Carne y productos cárnicos, definiciones.

03.02-101  
U: 637.5  
U: 3111  
S: 77.120.10

Norma Técnica  
Ecuatoriana  
Voluntaria

**CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS  
DEFINICIONES**

**NTE INEN  
1 217:2006  
Primera revisi  
2006-01**

**1. OBJETO**

1.1 Esta norma establece las definiciones relacionadas con carnes de los animales de abasto productos cárnicos.

**2. DEFINICIONES**

2.1 **Animales de abasto o para consumo humano.** Son las especies animales destinadas para consumo humano, criados bajo controles veterinarios y/o zootécnicos debidamente comprobado; sacrificados técnicamente en mataderos autorizados; incluye a los bovinos, porcinos, ovino; caprinos y por extensión a las aves de corral, especies menores y otros animales comestible permitidos por la legislación ecuatoriana, a través de los organismos pertinentes.

2.2 **Carne.** Tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor comestible, sano y limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamamiento son declarados aptos para consumo humano.

2.3 **Canal (carcasa).** Es el cuerpo del animal faenado, desangrado, eviscerado, sin genitales y e las hembras sin ubres; de acuerdo a la especie animal con o sin cabeza, piel, patas, diafragma médula espinal.

2.4 **Media canal.** Es cada una de las dos partes resultantes de dividir la canal, lo más próximo posible a la línea media de la columna vertebral, sin médula espinal.

2.5 **Cuartos de canal.** Son las partes, producto del seccionamiento transversal, de las media canales a través del quinto al séptimo espacio intercostal.

2.6 **Cortes primarios.** Los cortes primarios son los brazos, piernas, chuletero y costillar.

2.7 **Cortes secundarios.** Son los cortes con o sin hueso, obtenidos a partir de los cortes primario; tales como: pulpas, salón, lomos, chuleta, etc.

2.8 **Faenamamiento.** Es todo el proceso desde que el animal ingresa al matadero hasta su pesaje e canales.

2.9 **Matadero (Plantas de faenamamiento).** Todo local registrado y aprobado por la autoridad competente, utilizado para el sacrificio de animales destinados al consumo humano.

2.10 **Carne fresca.** Es la definida en 2.2 sometida a refrigeración, entre 0°C y 4°C en el centro d corte, que puede estar envasada en atmósfera modificada o al vacío.

2.11 **Carne congelada.** Es la carne que en el centro del corte alcanza y se mantiene a un temperatura inferior a -10°C.

2.12 **Carne madurada de bovino.** Es la carne que luego del faenamamiento y de alcanzado el rigor mortis, es almacenada entre 0°C y 7°C como mínimo siete días, para permitir la resolución del rigor condición en las que adquiere características especiales de color, aroma, sabor y textura.

---

2.13 Carne no apta para el consumo humano. Es la carne procedente de animales con enfermedades zoonóticas, en estado de descomposición, en las cuales es evidente la alteración de sus características organolépticas (color, olor, consistencia); igualmente, aquellas contaminadas por microorganismos, parásitos, insectos, larvas; también la procedente de nonatos (fetos) o la tratada con colorantes, sustancias antisépticas, hormonas y otras alteraciones verificadas mediante las disposiciones legales vigentes.

2.14 Carne magra. Es aquella proveniente de canales con escaso tejido adiposo.

2.15 Carne grasa (gorda). Es aquella proveniente de canales que contienen abundante tejido adiposo visible.

2.16 Carne PSE (pálida, suave, exudativa). La condición PSE se encuentra más a menudo en la carne de porcino; el pH baja bruscamente y se mantiene por debajo de 5,5 debido a la transformación del glucógeno en ácido láctico; es pálida, suave y exudativa debido a la desnaturalización de las proteínas musculares que pierden su capacidad de retención de agua.

2.17 Carne DFD (oscura, fibrosa y seca). La condición DFD se encuentra más a menudo en la carne de bovino; el pH está entre 5,8 y 6,5 debido a los bajos contenidos de glucógeno al momento del faenamiento; es más oscura por su menor capacidad de reflejar la luz, es dura y más sensible a la contaminación bacteriana.

2.18 Menudencias (despojos). Toda parte comestible o no comestible del animal sano que no sea la canal.

2.19 Menudencias (despojos) comestibles. Todos las menudencias autorizadas por la legislación vigente y certificadas por el control veterinario como aptos para el consumo humano.

2.20 Productos Cárnicos. Son los productos elaborados a base de carne y/o despojos comestibles provenientes de animales de abasto.

2.21 Carne o productos cárnicos ahumados. Es la carne sometida a la acción directa del humo producido por la combustión de madera, aserrín o vegetales leñosos que no sean resinosos, ni coloreados, con o sin la adición de sustancias aromáticas permitidas.

2.22 Carne Molida o picada. Es la carne fresca dividida finamente por procedimientos mecánicos y sin aditivo alguno.

2.23 Hamburguesa. Es el producto preformado, elaborado con carne picada con o sin aditivos permitidos.

2.24 Carne o productos cárnicos salados o curados. Es la carne sometida a la acción de salazones y/o sustancias conservantes permitidas con el fin de aumentar el tiempo de vida útil y protegerla de alteraciones microbiológicas y de putrefacción.

2.25 Cecina o carne seca. Es la carne libre de grasa, cortada en capas, curada y desecada en condiciones higiénicas adecuadas.

2.26 Productos cárnicos crudos. Son los elaborados a partir de carne (2.2) con adición de especias y aditivos alimentarios permitidos, embutidos en tripas naturales o artificiales, y que no ha sido sometido a procesos de cocción, aireación, curado, secado y/o ahumado y que su tiempo de vida útil está entre 1 día y 6 días en condiciones de refrigeración.

2.27 Productos cárnicos cocidos. Son los productos sometidos a tratamiento térmico a la temperatura mínima de ebullición del agua, en la que se asume que el producto está cocido.

2.28 Productos cárnicos escaldados. Son los productos sometidos a tratamiento térmico que alcanzan una temperatura mínima de 72 °C en el interior del producto.

2.29 **Productos cárnicos madurados.** Son los productos, cuya maduración se alcanza por fermentación láctica y que luego de ello, pueden ser cocidos, ahumados y/o secados.

2.30 **Productos cárnicos curados.** Son los productos sometidos a la acción de sales curante (mezcla de cloruro de sodio con nitritos y nitratos).

2.31 **Jamón.** Es el producto elaborado con carnes seleccionadas de animales de abasto, con o sin hueso, curado en seco y/o en salmuera, condimentado, ahumado o no, crudo o cocido.

2.32 **Pasta de carne (paté).** Es el producto de consistencia pastosa elaborado en base a carne y/ hígado y grasa de animales de abasto, condimentos y especias.

2.33 **Tocino.** Es el producto obtenido de la pared costo - abdominal (bacón), o del tejido adiposo subcutáneo de porcinos, curado o no, cocido o no, ahumado o no.

2.34 **Embutidos.** Son los productos elaborados con carne, grasa y despojos comestibles de animales de abasto condimentados, curados o no, cocidos o no, ahumado o no y desecados o no, los que puede adicionarse vegetales; embutidos en envolturas naturales o artificiales de uso permitido.

2.34.1 **Salami.** Es el embutido seco, curado, madurado o cocido elaborado a base de carne de porcino y/o bovino con grasa de porcino, sal, azúcar, especias con o sin la adición de licores.

2.34.2 **Queso de cerdo (queso de chanchito).** Es el producto elaborado por una mezcla de carnes cabezas, orejas, hocico, cachetes de porcino, porciones gelatinosas de la cabeza y patas condimentado, cocido, prensado y/o embutido.

2.34.3 **Chorizo.** Es el producto elaborado con carne de animales de abasto, solas o en mezcla adicionada de condimentos y embutidas en tripas naturales o artificiales; puede ser fresco, madurado, escaldado, ahumado o no.

2.34.4 **Sabichicha.** Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada de animales de abasto, grasa de porcino, condimentos y aditivos alimentario permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

2.34.5 **Morcillas de sangre.** Es el producto cocido elaborado a base de sangre de porcino y/o bovino obtenida en condiciones higiénicas, desfibrinada y filtrada con o sin grasa y carne de porcino embutido en tripas naturales ahumadas o no.

2.34.6 **Mortadela.** Es el producto elaborado a base de una mezcla de carnes de animales de abasto con grasa porcina, cortadas, picadas y emulsionadas, embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

2.34.7 **Untable (spread).** Producto cárnico procesado de consistencia suave que permite untarse elaborado con carne desmenuzada cocida, vegetales, especias y aditivos alimentarios permitidos embutidos o envasados y sometidos a tratamiento térmico.

2.34.8 **Pasta fina.** Masa uniforme de granulometría fina al tacto y bien ligada.

2.34.9 **Pasta gruesa.** Masa uniforme de granulometría gruesa al tacto.

2.35 **No embutidos.** Son los productos que no están comprendidos en el numeral anterior.

2.36 **Envasados.** Son los productos que se comercializan envasados en recipientes de cierre hermético, de material permitido, al vacío o con atmósfera modificada.

2.37 **Conservas de carne.** Es un tipo de producto cárnico, elaborado a base de carne, órganos y tejidos animales comestibles, adicionado o no con aditivos alimentarios permitidos para tal fin; sometido a un proceso tecnológico que garantice su inocuidad y prolongue su conservación; envasado herméticamente en recipientes metálicos o de otros materiales de calidad alimentaria, mantenido bajo condiciones adecuadas de almacenamiento.

2.37.1 *Conservas de carne en trozos.* Es el producto preparado con cortes secundarios o trozos de carne, libres de aponeurosis, cartílagos, intestinos, tendones u otros órganos o tejidos inferiores, en un medio líquido o semi sólido.

2.37.2 *Conserva mixta de carne.* Es la conserva de carne adicionada con productos vegetales (frutas y hortalizas).

2.37.3 *Pastas o patés en conserva.* Son productos de consistencia pastosa, elaborados en base a carne y/o hígado y grasa, con la adición de condimentos y especias.

2.37.4 *Conservas de productos cárnicos procesados.* Son preparados a partir de productos cárnicos embutidos o no, frescos, secos, escaldados o cocidos, en un medio líquido o semi sólido.

2.38 **Extracto de carne.** Es el producto resultante de la filtración y concentración hasta consistencia pastosa, del caldo preparado con tejido muscular libre de grasa, tendones, cartílagos y huesos.

---

(Continúa)

## Anexo G-2: Carne y productos cárnicos determinación de bacterias Aerobias (Activas)

Norma Peruana	<b>CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DETERMINACION DE BACTERIAS AEROBIAS (ACTIVAS).</b>	INEN 71
------------------	---	---------

### 1. OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el número total de bacterias aerobias en carne y productos cárnicos.

### 2. TERMINOLOGIA

**Bacterias aerobias.** Microorganismos que se desarrollan bajo condiciones aerobias (en un medio tivo adecuado).

### 3. DISPOSICIONES GENERALES

1 Deberán cumplirse las disposiciones establecidas en la Norma INEN 17.

2 El conteo deberá realizarse por triplicado sobre la misma muestra preparada.

### 4. FUNDAMENTO

1 Maceración e incubación de la muestra en un medio de cultivo adecuado (agar para recuento en plndar); incubar en condiciones adecuadas y estimar la cantidad de bacterias aerobias en base al número onias que se desarrollen.

### 5. INSTRUMENTAL

1 Área de trabajo. Limpia, bien iluminada, libre de corriente de aire, mesa nivelada, de superficie limpia y porosa, desinfectada antes de cada análisis.

2 Homogenizador (licuadora). Con recipiente resistente a la condición de esterilización. Debe operar a un mínimo de 15 000 r/min, y máximo de 20 000 r/min.

3 Aparato para recuento de colonias. Provisto de un lente de tres aumentos y campo iluminado z blanca difusa.

4 Incubador. Con regulador de temperatura, ajustada a  $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

*(Continúa)*

6.1 Baño de agua. Con regulador de temperatura, ajustada a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

.6 Refrigeradora. Regulada entre  $0^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ , para mantener las muestras..

7 Tubos o frascos de dilución. (de borosilicato con tapa de rosca y empaques que no produzcan restos tóxicos o bactericidas durante la esterilización).

8 Utensilios. Para preparación de los medios de cultivo, de vidrio a base de borosilicato o materiales corrosivos, como acero inoxidable.

9 Pipeta volumétrica. De  $1\text{ cm}^3$ ,  $5\text{ cm}^3$  y  $10\text{ cm}^3$ , con graduaciones de  $0,1\text{ cm}^3$ .

10 Autoclave

.11 Caja Petri, de vidrio o plásticas (de 90 - 100 mm) estériles.

.12 Botellas o matraz Erlenmeyer. Apropriadas, de  $500\text{ cm}^3$  o de  $1\ 000\text{ cm}^3$

.13 Varillas de vidrio. Dobladas en ángulo recto en uno de los extremos.

.14 Balanzas analíticas, sensible al 0,1 mg

.15 Frascos de muestreo de borosilicato. Con capacidad para contener el volumen necesario análisis.

.16 Refrigeradora. Para almacenar medios de cultivo y guardar las muestras que lo requieran.

.17 Cámara aséptica. Provista de lámpara ultra-violeta, azono y/o de ionización.

## 6. MEDIOS DE CULTIVO Y/O REACTIVOS

.1 Medio de cultivo, agar para recuento en placa (ver Anexo A2).

.2 Diluyente (ver Anexo A1).

## 7. PREPARACION DE LA MUESTRA

7.1 Deberán cumplirse las disposiciones establecidas en la Norma INEN 17.

7.2 La preparación de la muestra se realizará de acuerdo con la Norma INEN 776.

.3 La toma y preparación de la muestra, a más de responder a lo indicado en 7.2, se realizará en estéril, con bisturí y pinzas perfectamente esterilizadas.

*(Continúa)*

## 8. PROCEDIMIENTO

1 Pesar 25 g de muestra preparada asépticamente, con aproximación al 0,1 g y colocar en un vaso mezclador, esterilizado; adicionar 225 cm<sup>3</sup> del diluyente; accionar el mezclador por un tiempo máximo de minutos entre 15 000 a 20 000 revoluciones por minuto.

2 Inmediatamente después de la maceración, tomar por duplicado porciones de 1 cm<sup>3</sup> del macerado (ver Anexo A2) con una pipeta estéril, transferir a frascos o tubos de cultivo que contengan 9 cm<sup>3</sup> de diluyente estéril (ver Anexo A1). (evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente), mezclas cuidadosamente aspirando como diez veces con la misma pipeta.

3 Transferir con la misma pipeta 1 cm<sup>3</sup> de esta dilución a un segundo tubo que contenga 9 cm<sup>3</sup> de diluyente estéril (A.1), evitando el contacto entre el diluyente y la pipeta, y mezclar cuidadosamente.

4 Repetir las operaciones (ver 8.3) usando un tercero y un cuarto tubo o más, según el número de diluciones que sean requeridas y mezclar cuidadosamente cada una de las diluciones (ver Nota 1).

5 En condiciones asépticas y por triplicado, tomar de cada dilución preparada 1 cm<sup>3</sup> y colocar dentro de la caja Petri (ver 5.11), identificándolas convenientemente.

6 Agregar a la caja Petri 15 cm<sup>3</sup> del medio de cultivo, ver A.2 (el mismo que antes de usarlo debe esterilizado, para lo cual se coloca en el baño de agua, calentado a 45° ± 1°C).

7 Mezclar la muestra diluida (inóculo) con el medio de cultivo, con el debido cuidado, mediante movimientos rotatorios en direcciones opuestas o por rotación inclinada de la caja. Evitar salpicaduras de muestra.

8 Dejar que las placas se solidifiquen, sobre una superficie nivelada.

9 Colocar las cajas en forma invertida dentro del incubador a una temperatura de 30° ± 2°C por un tiempo de 72 ± 2 h.

10 Con ayuda del contador de colonias, examinar las cajas Petri (correspondientes a las diferentes diluciones), sin tener en cuenta aquellas que presentan más de 300 o menos de 30 colonias. Si varios cultivos correspondientes a diferentes diluciones caen dentro de tal intervalo, debe seleccionarse aquellos que den un mayor conteo o cumplan con lo establecido en el numeral 10. (Error método).

## Anexo G-2: CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES Y ESCHERICHIA COLI.

U 637.5

INEN

AL 03.02-312

Norma  
nacional

CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS.  
BACTERIAS COLIFORMES Y ESCHERICHIA COLI.

INEN 765

### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece el método para la enumeración de bacterias coliformes y *Escherichia coli* en carne y productos cárnicos.

### 2. TERMINOLOGÍA

2.1 Bacterias coliformes. Son microorganismos en forma de bastones, gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a una temperatura de entre 10° a 38° C cuando se realiza el ensayo según lo establecido en esta norma.

2.2 *Escherichia coli*. Son bacterias coliformes (coliformes fecales) que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas en 48h00 y a una temperatura entre 44° - 46° C, y que producen indol a partir de triptófano cuando se realiza el ensayo, según lo establecido en esta norma.

### 3. RESUMEN

3.1 Detectar las bacterias coliformes y *Escherichia coli* (coli-fecal), utilizando medios de cultivo específicos y enumerarlas mediante el uso de una tabla de números más probables.

### 4. INSTRUMENTAL

4.1 Mezclador mecánico, con vasos de metal o vidrio, resistentes a las condiciones de esterilización. Debe operar a no menos de 837 rad/s (8 000 r/min) ni más de 4 710 rad/s (45 000 r/min).

4.2 Equipo para esterilización

4.3 Incubador, con regulador de temperatura (35° ± 1° C - 37° ± 1° C).

4.4 Baño de agua. (46,5° C ± 0,05° C)

4.5 Tubos de cultivo, (de 18 mm x 180 mm) para medios de concentración simple y frascos para esterilización y almacenamiento de medios de cultivo.

4.6 Tubos Durham, (10 mm x 75 mm)

(Continúa)

4.7 Pipetas volumétricas, de 1 cm<sup>3</sup> y 10 cm<sup>3</sup>

4.8 Balanza analítica, sensible a 1 mg

## 5. REACTIVOS

5.1 Medios de cultivo (ver Anexo A)

5.1.1 Caldo Lauryl sulfato triptosa (ver Anexo A.1)

5.1.2 Caldo lactosa verde brillante. (ver Anexo A.2)

5.1.3 Solución Buffer de peptona (ver Anexo A.3)

5.1.4 Reactivo para el indol, (ver Anexo A.4) y medio indol (ver A.5)

5.1.5 Agua destilada

5.1.6 Solución rojo de metilo, (ver A.9)

5.1.7 Koser's citrato. (ver A.10)

5.1.8 Levine's eosin methylene blue agar (ver A.7)

5.1.9 Voges-Proskauer (ver A.8)

5.1.10 Caldo *Escherichia coli* (ver A.6)

5.1.11 Medio del citrato de Koser's (A.10)

## 6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Deberán cumplirse las disposiciones establecidas en la Norma INEN 17.

6.2 La preparación de la muestra se realizará de acuerdo a la Norma INEN 776.

6.3 La toma y preparación de la muestra, a más de responder a lo indicado en 6.2, se realizará en estricta asepsia, con bisturí y pinzas perfectamente esterilizadas.

## 7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2 Pesar 25 g de muestra, con aproximación al 0,1 mg y colocar en un vaso del mezclador esterilizado (ver Anexo B).

7.3 Adicionar 225 cm<sup>3</sup> del diluyente (A.3); accionar al mezclador por un tiempo de dos o tres minutos entre 15 000 a 20 000 revoluciones por minuto (dilución 1:10).

7.4 Utilizando la pipeta, tomar 1 cm<sup>3</sup> del material homogenizado y transferir al tubo que contenga 9 cm<sup>3</sup> de diluyente estéril (ver A.3) evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente. (Se tendrá una dilución 1:100).

7.4.1 Si el pH de la muestra es inferior a 6, debe ajustarse a 7,0 con gotas de solución de ortofosfato tripotásico.

7.5 Mezclar los líquidos cuidadosamente, aspirando diez veces con una pipeta recién esterilizada.

7.6 Transferir 1 cm<sup>3</sup> de la solución 7.4 a otro tubo que contenga 9 cm<sup>3</sup> de diluyente estéril (A.3), evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente; mezclar cuidadosamente, aspirando diez veces con una pipeta recién esterilizada, y se tendrá una dilución 1:1000.

7.7 Si es necesario repetir los pasos que se indican en 7.6 usando un tercero, cuarto o más tubos, según las diluciones que sean requeridas y agitar cuidadosamente todas las diluciones.

7.8 Prueba presuntiva.

7.8.1 De cada una de las diluciones, inocular transfiriendo, mediante pipetas esterilizadas, 1 cm<sup>3</sup> de las mezclas diluidas homogenizadas 7.3; 7.4 y 7.6; y, por triplicado, a tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> del caldo lauryl sulfato triptosa selectivo (ver A.1) además de los tubos Durham (ver Anexo B).

7.8.2 Incubar los tubos preparados en una estufa, durante 24h00 y 48h00, a una temperatura de 37° ± 1° C.

7.8.3 Registrar como tubos positivos aquellos en los que se observe producción de gas después de las 24h00 en un décimo del volumen del tubo Durham. Reincubar los tubos negativos por 24h00 más y anotar los tubos con producción de gas.

7.9 Prueba confirmativa

7.9.1 Transferir mediante una asa platino, de cada uno de los tubos con reacción positiva en el caldo (LST) Lauryl Sulfato triptosa, a cada uno de los tubos que contiene el caldo verde brillante bilis (BGLB) (A2) homogeneizar perfectamente. Incubar los tubos a 37° ± 1° C, por 48h00.

---

(Continúa)

## 8. CÁLCULOS

8.1 La formación de gas confirma la presencia de bacterias coliformes. Anotar el número de tubos positivos de la dilución correspondiente y, de acuerdo con la Tabla del N.M.P., calcular el número promedio de bacterias (Anexo C) a partir de los resultados obtenidos de cada una de las series de dilución.

## 9. ENSAYO PARA COLIFORME FECAL

9.1 Simultáneamente con el procedimiento confirmativo, usando el caldo lactosado verde brillante, realizar la siembra en medio *Escherichia Coli* (EC) (ver A.6), partiendo de los tubos positivos de la prueba presuntiva del caldo Lauryl sulfato triptosa (C.L.S.T.) (A.1).

9.2 Inocular los tubos con medio (EC) (ver A.6), e incubar a 45,5°C por 24h00 y anotar los tubos con formación de gas. La densidad bacteriológica es estimada de la Tabla de NMP (Anexo C).

9.3 Para diferenciar coliformes debe referirse a las reacciones IMVIC (ver numeral 11 de esta norma).

## 10. ENSAYO PARA *ESCHERICHIA COLI*

10.1 Transferir un inóculo (o una azada) de cada tubo con C.L.S.T. (ver A.1) con gas positivo a un tubo separado que contenga caldo E.C (ver A.6).

10.2 Incubar los tubos con E.C (A.6) por 48h00 a 44,5°C; si hay producción de gas es positivo.

10.3 Estriar en cajas Petri que contengan agar L-BMB (ver A.7) un inóculo de cada uno de los tubos los que haya colonias típicas e incubar por 18 y 24h00 a 35°C.

10.4 Transferir dos, tres colonias sospechosas de la caja Petri, que contiene A.7 a una placa de P.C.A (ver A.1.1) inclinada, e incubar a 35°C por un tiempo de 18 a 2400. Al mismo tiempo realizar la coloración de Gram de cada cultivo.

10.5 Realizar la prueba del Indol, (A.5); rojo de metilo (A.9); Voges Proskauer (A.8) y citrato (A.10); pruebas IMVIC Para las reacciones del indol y Voges Proskauer ver numeral 11. Clasificación de coliformes por el medio IMVIC.

10.6 Para el ensayo rojo de metilo (A.9), inocular un tubo con el medio Voges Proskauer (A.8) e incubar por 48h00 a 35°C, agregar cinco gotas de rojo de metilo a cada tubo. Un color rojo indica reacción positiva al rojo de metilo.

10.7 Para la prueba del citrato, inocular un tubo con medio citrato Koser's (A.10) e incubar por 96h00 a 35°C y examinar el crecimiento.

---

(Continúa)

## 11. CLASIFICACION DE COLIFORMES POR EL ENSAYO INVIC

INDOL	R DE M	V.P.	CITRATO	TIPO
+	+	-	-	E. Coli Típico
-	+	-	-	E. Coli atípico
+	+	-	+	Típico intermedio
-	+	-	+	Atípico intermedio
-	-	+	+	E. aeróbica típica
+	-	+	+	E. aeróbica atípica

11.1 El cálculo NMP de E. Coli por g ó cm<sup>3</sup> será considerado como: E. Coli a los bacilos Gram (-) que no forman esporas, que producen gas en lactosa y que dan la reacción IMVIC ++-ó-+-.

## 12. INFORME DE RESULTADOS

12.1 En el informe de resultados debe indicarse el número más probable de bacterias coliformes y escherichia coli por gramo o por cm<sup>3</sup> de muestra.

12.2 Si el número más probable es mayor a 100, debe expresarse el resultado con un número inferior a 10, multiplicando por la potencia 10 que corresponda.

12.3 Si el número más probable es menor a 3, puede reportarse ausencia de tales microorganismos en la muestra.

12.4 En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido; además, debe mencionarse cualquier condición no especificada en esta norma, como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

12.5 Debe incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

## Anexo G-3: GUÍA DE INTERPRETACIÓN PARA RECuento DE AEROBIOS TOTALES

### 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios

### Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

#### Almacenamiento



- 1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



- 2 Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y sellelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



- 3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) y una humedad relativa  $\leq 50\%$ . No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelos en un contenedor sellable (tipo tunda con cierre) y almacénelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes de ser usadas hasta su fecha de caducidad.

#### Preparación de la muestra



- 4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipete la muestra en una tunda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



- 5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF 102510, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua de peptona (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfito o agua destilada.



- 6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

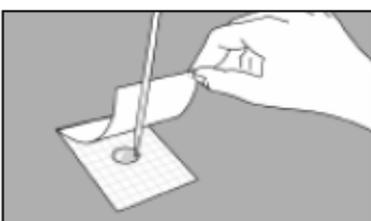
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2. Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH. Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o fosfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

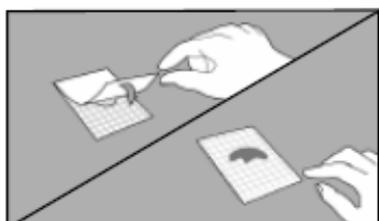
#### Inoculación



- 7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



- 8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada interior.



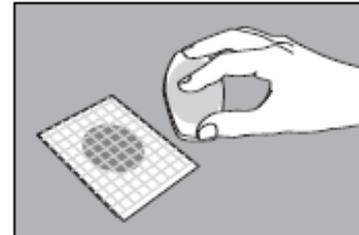
- 9 Libere la película superior, dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.



**10** Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

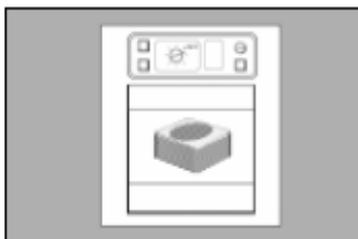


**11** Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.



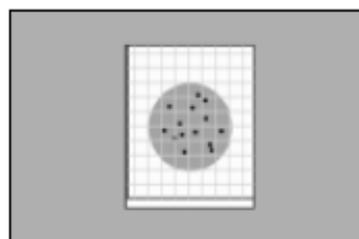
**12** Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

### Incubación



**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humedecer el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



**14** Las Placas PetriFilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- AOAC método oficial 1966.23 (leche y productos lácteos)  
Incubar 48 hrs. ( $\pm 3$  hrs.) a 32 °C ( $\pm 1$  °C).
- AOAC método oficial 1990.12  
Incubar 48 hrs. ( $\pm 3$  hrs.) a 35 °C ( $\pm 1$  °C).
- AFNOR método validado 3M 01/1-09/89  
Incubar 72 hrs. ( $\pm 3$  hrs.) a 30 °C.
- Método MNKL 146.1993  
Incubar 72 hrs. ( $\pm 3$  hrs.) a 30 °C.

### Comentarios adicionales

\* Si tiene dudas o preguntas, llame al 1-651-732-7862 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

**3M**

**Microbiology Products**  
3M Center Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
microbiology@mmm.com

**3M México**  
Av. Santa Fe 55  
Col. Santa Fe, CP 01210  
México, D.F.  
Tel. (55) 5270-0454  
microbiologiamx@mmm.com

**3M Argentina**  
Los Árboles 842  
Hurlingham  
Buenos Aires, Argentina  
Tel. (11) 4469-8200  
microbiologia-ar@mmm.com

PetriFilm es una marca registrada de 3M.  
Impreso en México.  
Revisión: 2004.  
Referencia: 70-2005-1102-0.

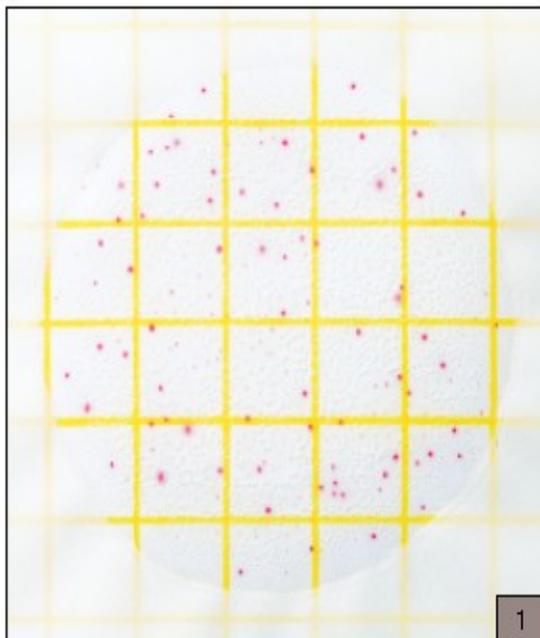


# Petrifilm™

## Placas para el Recuento de Aerobios AC

Esta guía lo familiarizará con las Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios (cuenta total en placa o aerobios mesófilos). Para mayor información, contacte al Representante Autorizado de Productos Microbiológicos de 3M más cercano.

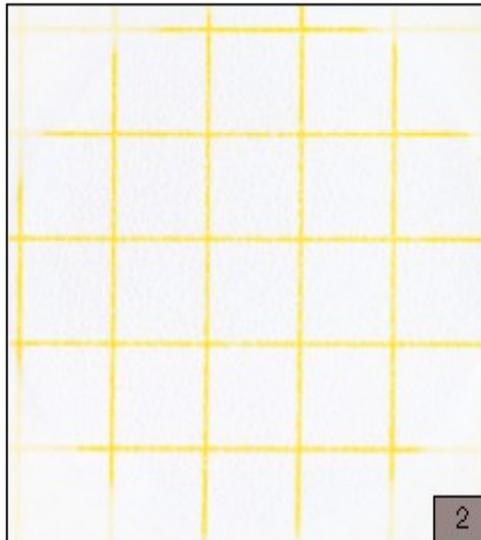
Las Placas Petrifilm™ para Recuento de Aerobios Totales (Aerobic Count AC) son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del *Agar Standard Methods*, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.



Conteo de Bacterias Aerobias =152

El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias para su mejor identificación. Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.

## 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC



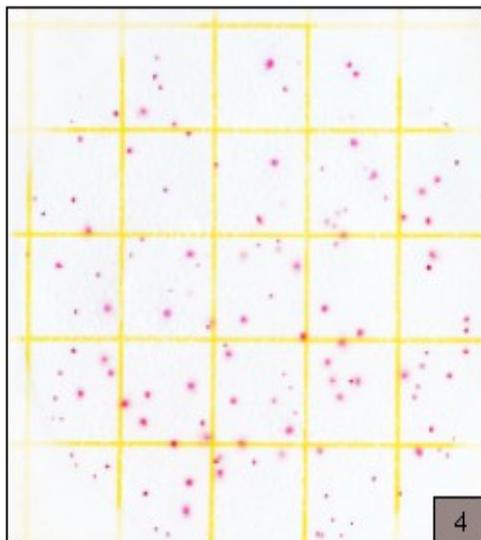
Conteo de Bacterias Aerobias = 0

La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una placa sin crecimiento de colonias.



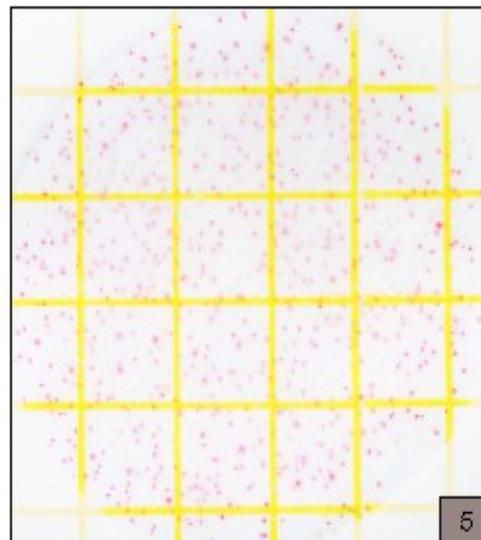
Conteo de Bacterias Aerobias = 16

La figura 3 muestra una Placa Petrifilm AC con crecimiento bajo de colonias.



Conteo de Bacterias Aerobias = 143

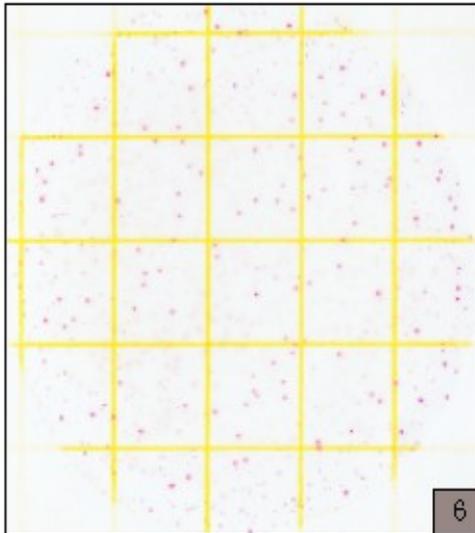
El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm AC está entre 25-250 colonias. Obsérvese la figura 4.



Conteo de Bacterias Aerobias = 560 "estimado"

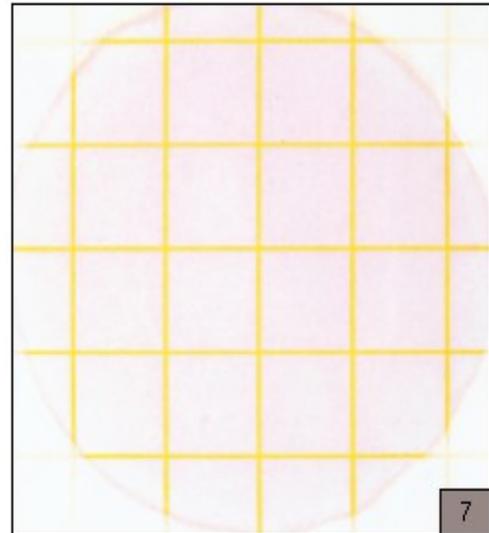
Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplíquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm AC es de 20 cm<sup>2</sup>.

MNPC (muy numeroso para contar): para obtener mejores resultados, diluya su muestra.



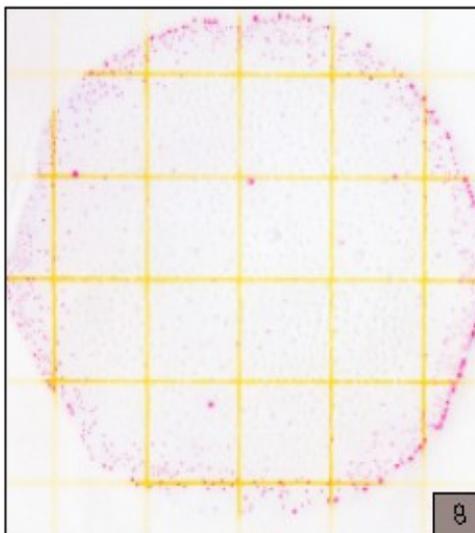
Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC  
Conteo estimado:  $10^8$

La figura 6 muestra una Placa Petrifilm<sup>AC</sup> con colonias muy numerosas para contar.



Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC  
Conteo estimado:  $10^9$

Con conteos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse rosa, como se muestra en la figura 7. Usted podría observar colonias individuales sólo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre este conteo como muy numeroso para contar (MNPC).



Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC  
Conteo estimado:  $10^8$

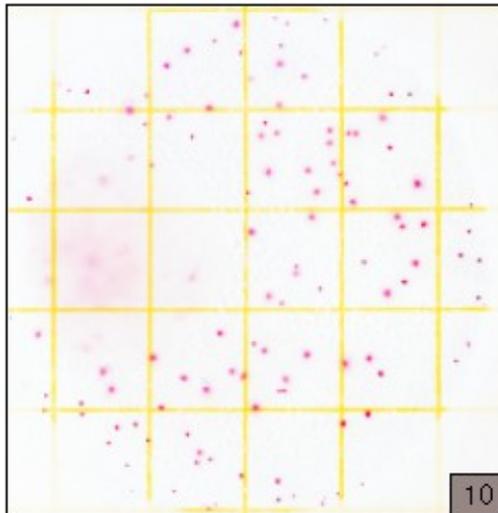
Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.



Conteo de Bacterias Aerobias = MNPC  
Conteo estimado:  $10^7$

Las colonias de la figura 9 podrían confundirse como contables a primera vista. Sin embargo, si usted observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias. Registre este resultado como MNPC.

## Licuefacción del gel y partículas de productos

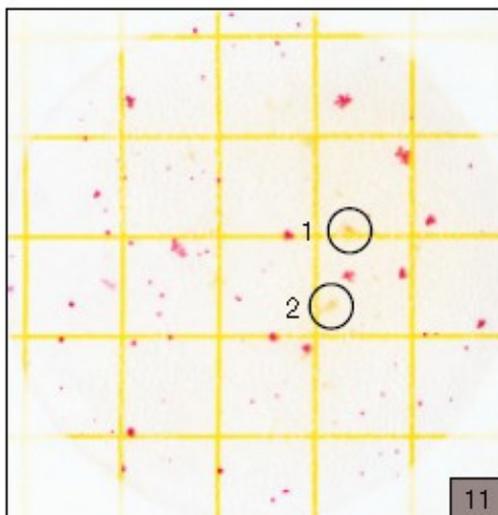


**Conteo de Bacterias Aerobias = 160**

Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petriñm AC.

**Cuando esto ocurra:**

1. Determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.
2. Realice conteos preliminares para verificar el crecimiento; la licuefacción generalmente se presenta de manera tardía.



**Conteo de Bacterias Aerobias = 83**

Debido a que en las Placas Petriñm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

## Anexo G-4: GUÍA DE INTERPRETACIÓN PARA RECuento DE COLIFORMES TOTALES

### 3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Coliformes

Para Advertencias, Precauciones, Responsabilidad del Usuario, Garantía Limitada, Almacenamiento y Eliminación, e Instrucciones de Uso, ver el folleto del producto.

Instrucciones  
de uso



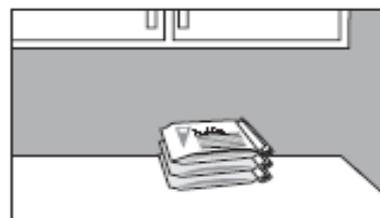
#### Almacenamiento



- 1 Conservar las bolsas cerradas a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa. En zonas con alta humedad donde puede haber condensación, es mejor dejar que las bolsas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas.



- 2 Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.



- 3 Mantener las bolsas una vez cerradas a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ , a HR  $< 50\%$ . No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

#### Preparación de la muestra



- 4 Pesar o pipetear el producto a limenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



- 5 Si es necesario, utilizar diluyentes estériles apropiados: agua peptonada sal (método ISO 6887) (Diluyente de Máxima Recuperación), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF,  $\text{KH}_2\text{P}_2\text{O}_4$  a 0.0425g/l, ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, agua peptonada tamponada (método ISO 6579), solución salina (0.85 - 0.90%), caldo leifteen sin bisulfito, o agua destilada.

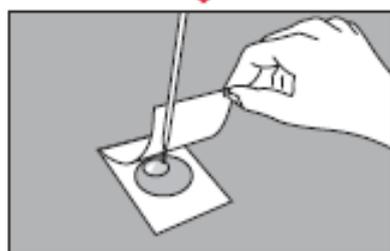
No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o fosfatos, ya que pueden inhibir el crecimiento.



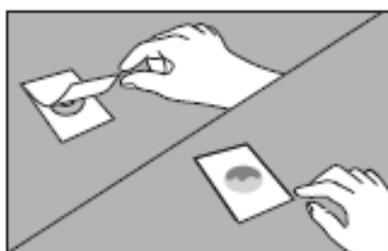
- 6 Mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.

Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2  
\*para productos ácidos, usar NaOH 1N,  
\*para productos alcalinos, usar HCl 1N.

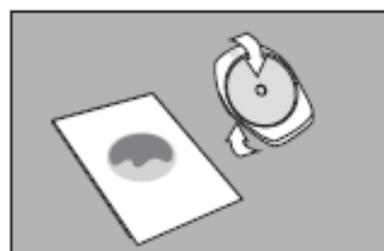
## Inoculación



- 7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.

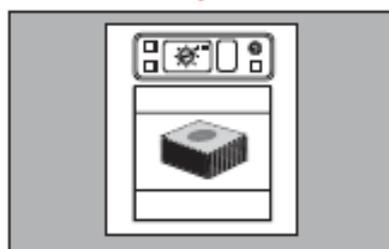


- 8 Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.



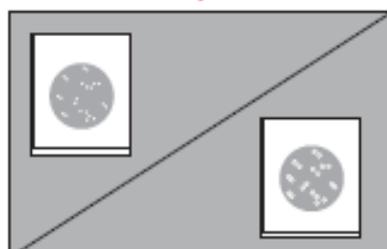
- 9 Con la cara lisa hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo. Con cuidado, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No girar ni destilzar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar al menos un minuto a que solidifique el gel.

## Incubación

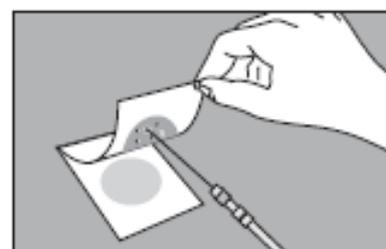


- 10 Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas. El tiempo e incubación varía según el método.

## Interpretación



- 11 Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



- 12 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

### Métodos aprobados más usuales :

#### Coliformes totales

▪ Métodos Oficiales 986.33 y 989.10 (leche, leche cruda, otros productos lácteos):

Incubar 24h ± 2h a 32°C ± 1°C.

▪ Método Oficial AOAC 991.14 (todos los alimentos): Incubar 24h ± 2h a 35°C ± 1°C.

▪ Método NMKL 147.1993:

Incubar 24h ± 2h a 37°C ± 1°C.

▪ Métodos validados AFNOR 3M

01/2-09/89A y B:

Incubar 24h ± 2h a 30°C ± 1°C.

#### Coliformes termotolerantes (fecales)

▪ Método validado AFNOR

3M01/2-09/89C:

Incubar 24h ± 2h a 44°C ± 1°C.

Para esta alta temperatura es necesario



# Petrifilm™

## Placas para Recuento de Coliformes

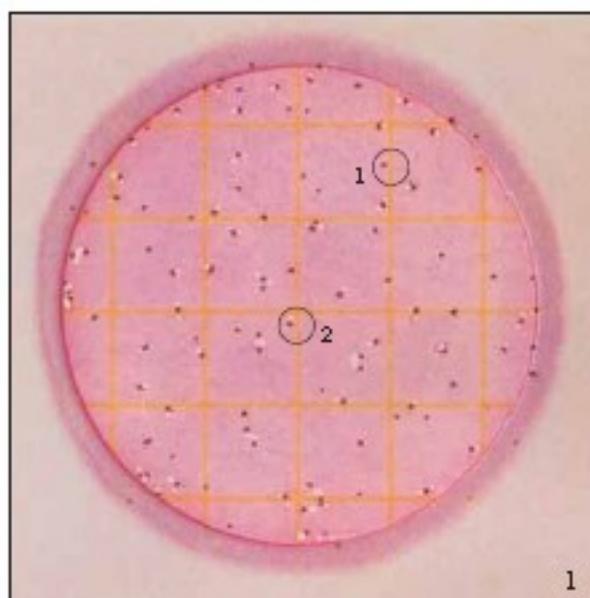
Guía  
de Interpretación



Esta guía sirve para familiarizarse con los resultados obtenidos en las placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de Coliformes (OC). Para más información, contactar con el distribuidor oficial de Productos 3M Microbiology.

Las placas Petrifilm OC contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes.

- La ISO define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos. El método ISO 4832, que enumera los coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm OC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas (ver Círculo 1). El método ISO 4831, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm OC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas (ver Círculo 2).
- La AOAC INTERNATIONAL y la FDA (Food and Drug Administration) / BAM definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm OC producen ácido que provoca que el indicador de pH oscurezca el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias indica coliformes (ver Círculo 2).

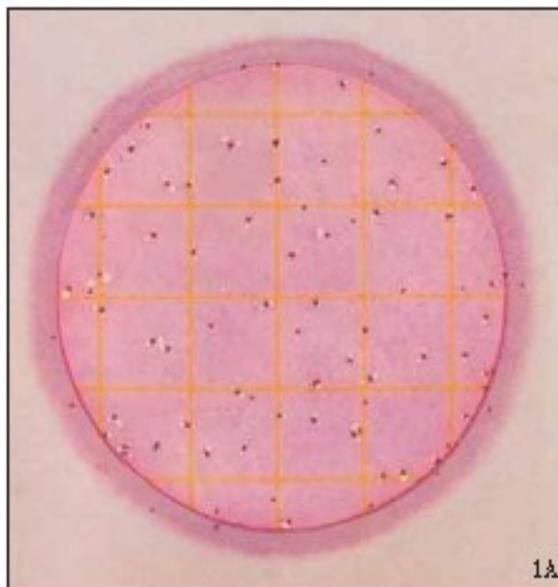


Recuento de colonias productoras de gas : 75  
Recuento de colonias productoras de ácido : 100

El tiempo y temperatura de incubación, así como la interpretación de las placas Petrifilm OC puede variar con el método.

La AOAC, la AFNOR y la NMKL han validado el uso de las placas Petrifilm OC bajo condiciones específicas. Ver páginas 2 y 3 de esta Guía de Interpretación.

Interpretación de las Placas 3M Petrifilm CC según los protocolos descritos por las siguientes organizaciones:  
AOAC®, NMKL y AFNOR



65 coliformes, AOAC® Official Methods

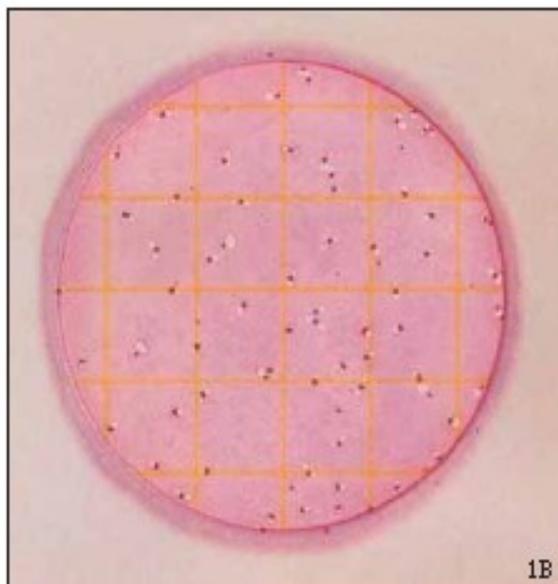
Lectura según los AOAC®, Official Methods®  
(986.33, 989.10 y 991.14)

Incubación :

- *Enumeración de coliformes en leche, leche cruda y productos lácteos (Métodos Oficiales 986.33 y 989.10) :* incubar 24h +/- 2h a 32°C +/- 1°C.
- *Enumeración de coliformes en todos los productos, excepto los arriba mencionados (Método Oficial 991.14) :* incubar 24h +/- 2h a 35°C +/- 1°C.

Interpretación :

- Coliformes : Contar todas las colonias rojas con gas.



67 coliformes, método validado NMKL.

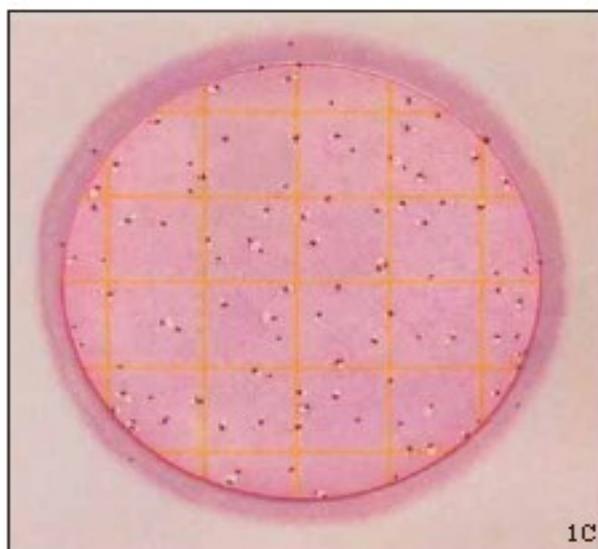
Lectura según el método validado por la NMKL  
(147.1993)

Incubación :

24h +/- 2h a 37°C +/- 1°C

Interpretación :

- Coliformes : Contar todas las colonias rojas con gas.

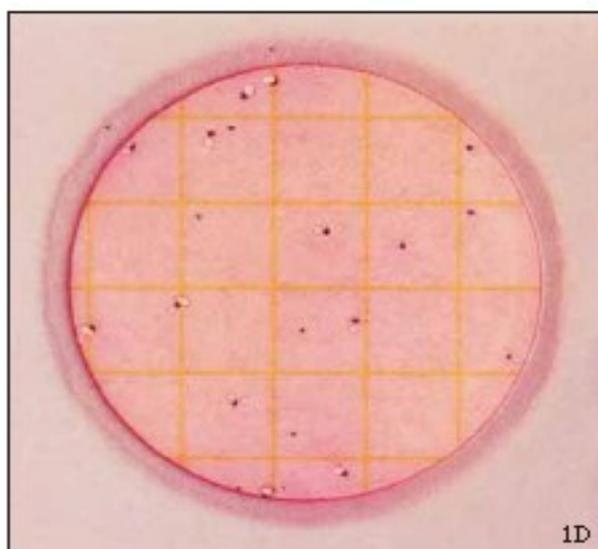


97 coliformes, método aprobado AFNOR comparado con el método ISO 4832  
72 coliformes productores de gas, método aprobado AFNOR comparado con el método ISO 4831.

Lectura según la aprobación AFNOR para coliformes totales  
(certificados número 3M 012-09/89A y 3M 012-09/89B)

Incubación :  
24h +/- 2h a 30°C +/- 1°C

Interpretación :  
- Comparación con el método ISO 4832 (certificado 3M 012-09/89A) :  
Contar todas las colonias rojas con o sin gas  
- Comparación con el método ISO 4831 (certificado 3M 012-09/89B) :  
Contar sólo las colonias rojas con gas.



21 coliformes, método aprobado AFNOR comparado con el método NF V08-017.

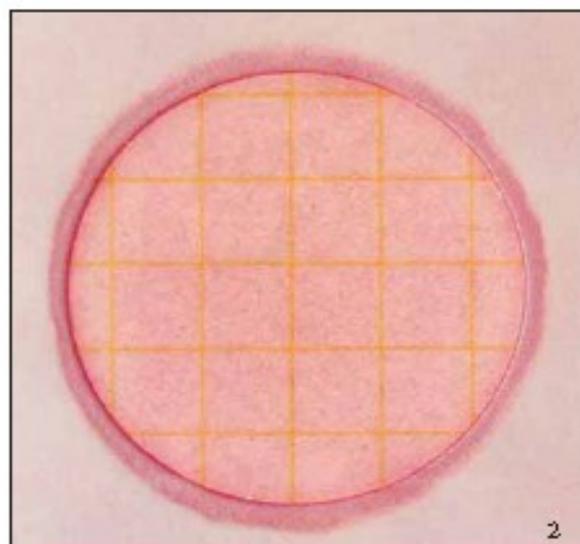
Lectura según la aprobación AFNOR para coliformes termotolerantes  
(certificados número 3M 012-09/89C)

Incubación :  
24h +/- 2 a 44°C +/- 1°C

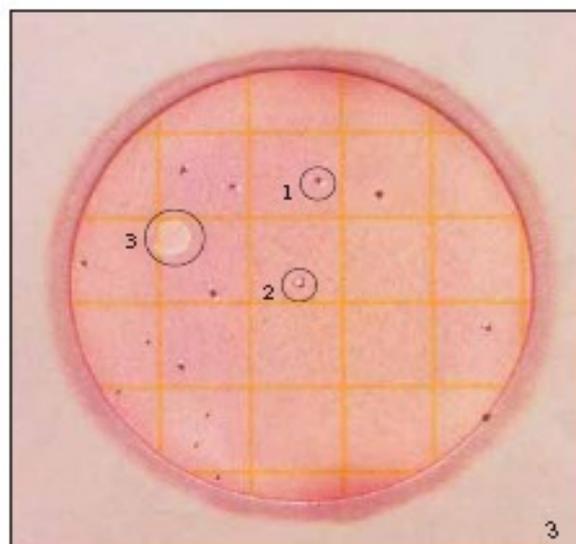
Interpretación :  
- Comparación con el método NFV08-017 :  
Contar todas las colonias rojas con o sin gas.

## Placas 3M™ Petrifilm™ Recuento de Coliformes

Al incrementar el recuento de coliformes, el color del gel se oscurece, como se muestra en las figuras 2 a 6.



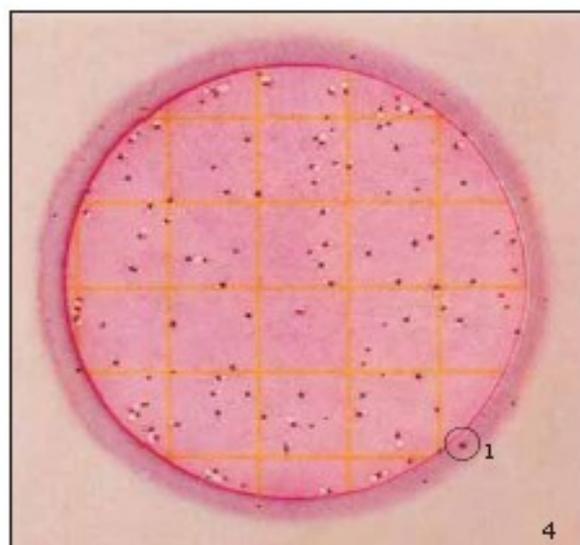
Recuento de colonias = 0  
Las burbujas de fondo son una característica del gel y no resultado del crecimiento de coliformes. Las burbujas de fondo son pequeñas o puntiformes y no tienen una colonia asociada.



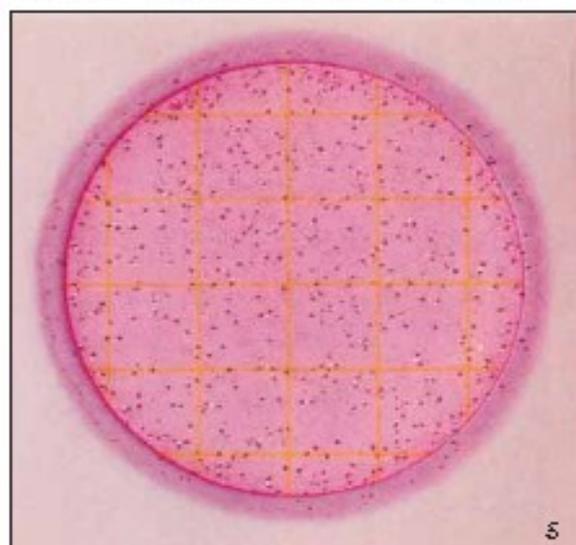
Recuento de colonias no productoras de gas : 7  
Recuento de colonias productoras de gas : 8  
Recuento total : 15

La Figura 3 muestra como la forma de las burbujas puede variar. Algunas veces el gas deforma la colonia y hace que la colonia "perfile" la burbuja (ver Círculos 1 y 2). Estas burbujas de gas tienen aproximadamente el diámetro de una colonia.

Pueden aparecer burbujas como artefactos debidas a una inoculación inadecuada de la placa Petrifilm CC o de aire atrapado en la muestra. Las burbujas tienen forma irregular y no están asociadas a una



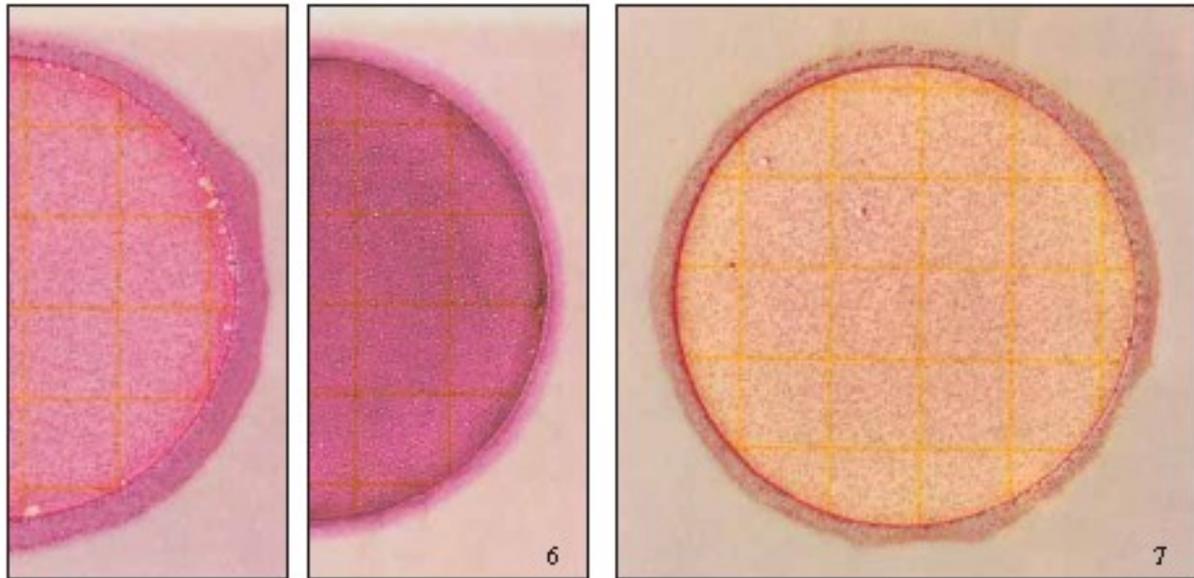
colonia (ver Círculo 3).  
Recuento de colonias productoras de gas : 29  
Recuento de colonias no productoras de gas : 83  
Recuento total : 112  
El intervalo óptimo de recuento (colonias totales) en las placas Petrifilm CC es 15 - 150 colonias.  
No contar las colonias que aparecen sobre la zona blanca ya que



Recuento total estimado : 310  
El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm CC es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento estimado por placa Petrifilm CC.

## Placas TNTC Demasiado Numerosas Para Contar

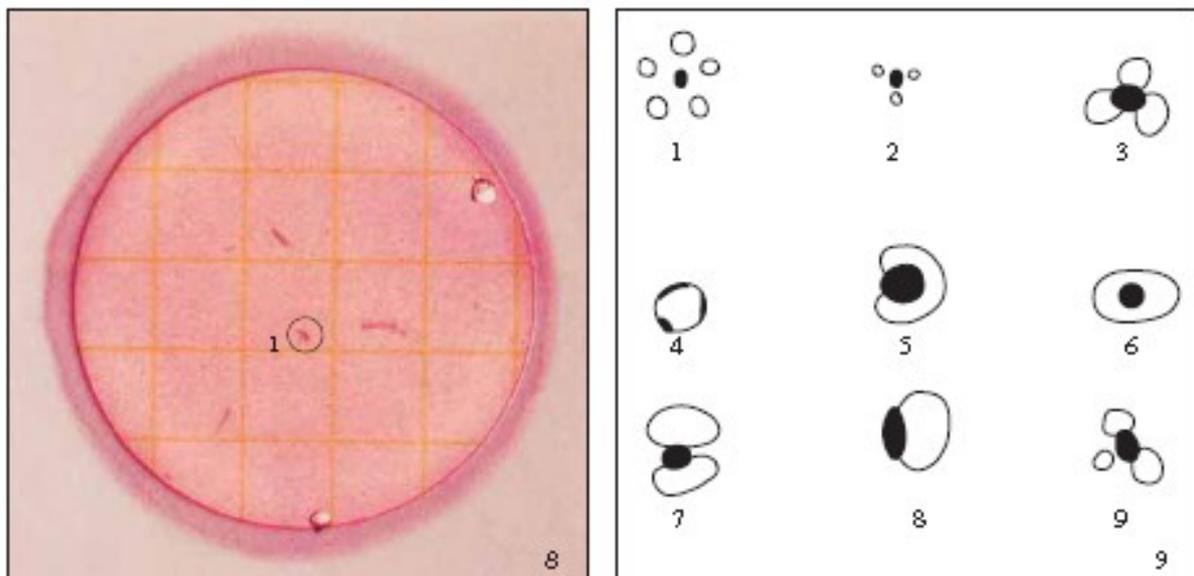
Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.



Placas TNTC (Demasiado Numerosas Para Contar)  
Las placas Petrifilm CC con colonias TNTC tienen una o más de las características siguientes: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y un oscurecimiento del color del gel.

Colonias productoras de gas : 4  
Cuando un alto número de microorganismos no-coliformes, tales como *Pseudomonas*, están presentes en las placas Petrifilm CC, el gel puede virar a amarillo.

## Burbujas



Colonias productoras de gas : 2  
Las partículas alimenticias tienen forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas (ver Círculo 1).

Arriba se muestran varios ejemplos de burbujas asociadas a una colonia. Todos ellos se deben contar.

## Anexo G-5: GUÍA DE INTERPRETACIÓN PARA RECuento DE E. COLI / COLIFORMES

### 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> Placa para el recuento de E. coli/coliformes

#### Instrucciones de Uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, GARANTÍAS/REMEDIOS LIMITADOS, LIMITACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y DESECADO, e INSTRUCCIONES DE USO, ver el instructivo del producto dentro del paquete.

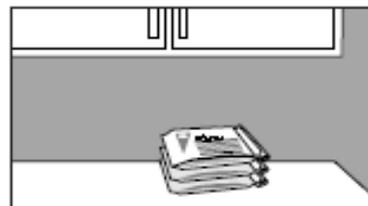
#### Almacenamiento



- 1 Almacene los paquetes sin abrir a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Usar antes de la fecha de expiración en el paquete. En áreas de alta humedad donde la condensación puede ser un problema, es mejor dejar que los paquetes alcancen la temperatura de habitación antes de abrir.



- 2 Para sellar los paquetes abiertos, doble el extremo del mismo y coloque una cinta.



- 3 Mantener cerrados los paquetes a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) y  $\leq 50\%$  de Humedad Relativa. No refrigerar los paquetes abiertos. Usar las placas Petrifilm dentro de un mes después de abiertos.

#### Preparación de la Muestra



- 4 Preparar una dilución 1:10 o mayor del alimento. Pesarlo o pipetear el producto alimenticio en un contenedor apropiado como una bolsa de digestor, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak, u otro contenedor estéril.



- 5 Adicionar la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: Buffer de fosfatos de Butterfield's (buffer fosfatos DF, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ajustado a pH 7.2), agua peptonada al 0.1%, diluyente de peptona sal (método ISO 6887), agua peptonada bufferada (método ISO 6879), solución salina (0.85-0.90%), caldo leifteen libre de bisulfidos, o agua destilada.

No usar buffers que contengan citratos, bisulfidos o fosfatos, pueden inhibir crecimiento.



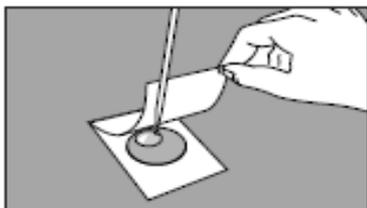
- 6 Mezclar u homogenizar las muestras por el procedimiento normal.

Para productos ácidos ajustar el pH de la muestra diluida a 6.5-7.5 con NaOH 1N. Para productos alcalinos ajustar el pH con HCl 1N.

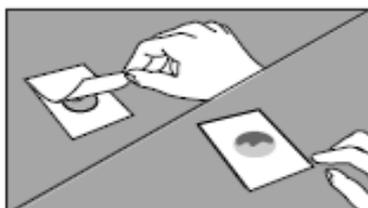
#### Inoculación



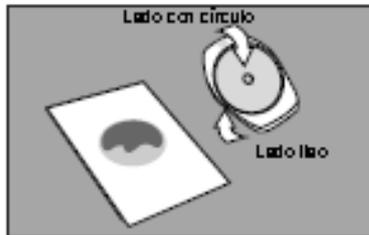
- 7 Colocar la placa Petrifilm sobre una superficie a nivel. Levantar el film superior



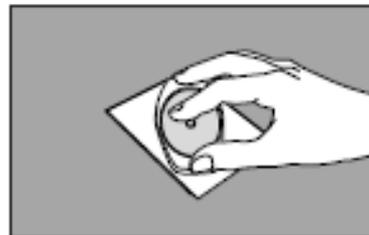
- 8 Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1ml de la muestra en el centro del film inferior.



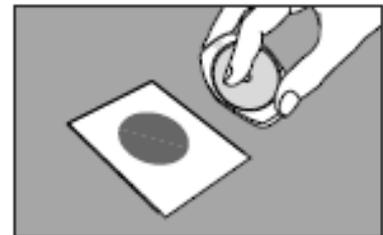
- 9 Desenrollar cuidadosamente el film hacia abajo para evitar atrapamiento de burbujas de aire.



10 Colocar el difusor con el lado plano hacia la placa hacia el film superior sobre el inóculo.



11 Aplicar una ligera presión sobre el difusor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No mover o deslizar el difusor.



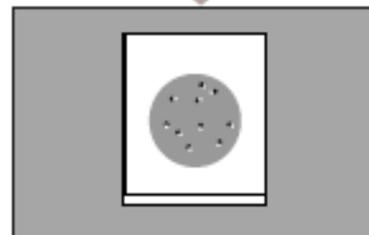
12 Retirar el difusor. Esperar un mínimo de un minuto hasta que solidifique el gel.

### Incubación

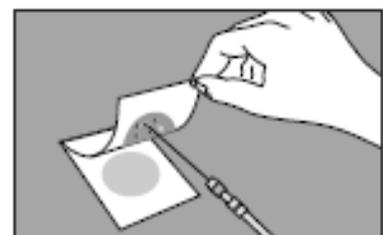


13 Incubar las placas con el lado plano hacia arriba en columnas no mayores a 20. Puede ser necesario humidificar la incubadora para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



14 Las placas Petri film pueden contarse sobre un contador estándar u otro tipo de lupa con luz. Referirse a la Guía de Interpretación cuando se lean los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levantar el film superior y reponer la colonia del gel.

Los tiempos y temperaturas de incubación varían de acuerdo al método.

Los métodos más comúnmente aprobados son:

AOAC Método Oficial 991.04

Para coliformes: Incubar 24h ± 2h @ 35°C ± 1°C

Para E. coli: Incubar 48h ± 2h @ 35°C ± 1°C

AOAC Método Oficial 998.08

Para E. coli (para cárnico, pollo y comida del mar):

Incubar a 24h ± 2h @ 35°C ± 1°C

AFNOR Método Validado 3M 01A-0962

Para E. coli: Incubar 24h ± 2h @ 42°C ± 1°C

NMCL Método (147.1993)

Para coliformes: Incubar 24h ± 2h @ 37°C

Para E. coli: Incubar 48h ± 2h @ 37°C



Productos Microbiológicos  
3M Center Bldg., 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1-800-228-3957  
microbiology@mmm.com

3M México, S.A. de C.V.  
Av. Santa Fe No. 55  
Col. Santa Fe  
Del Abasco Obregón  
C.P. 01210 México D.F.  
(525) 52-70-20-60

PetriFilm® es una marca de 3M.  
PetriFilm® es una marca registrada  
de 3M CO.

© 3M 1998  
70-2060-4574-4 (CM) DPI

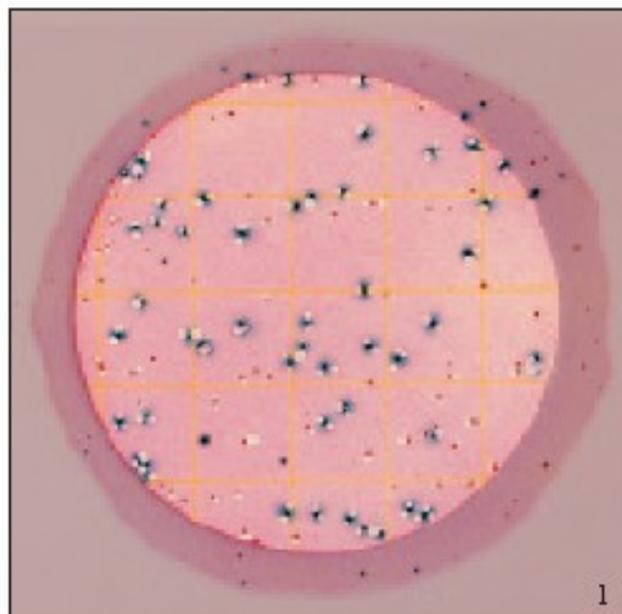


# Placas Petrifilm<sup>MR</sup> E. coli/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm 3M para Recuento de E. coli & Coliformes. Para más información, contactar a su representante oficial más cercano de los Productos de Microbiología.

Las placas Petrifilm para Recuento de E. coli / Coliformes contienen nutrientes de Bilis y Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de la actividad de glucuronidasa, y un indicador que facilita la enumeración colonial. La mayoría de las E. coli (cerca del 97%) producen beta-glucuronidasa la cual produce un precipitado azul asociado con la colonia. El film superior atrapa el gas producido por los coliformes fermentando la lactosa y la E. coli. Cerca del 95% de las E. coli producen gas, indicado por las colonias de color rojo a azul o asociadas con el gas atrapado sobre la placa Petrifilm EC (con el diámetro aproximado de de una colonia).

La ACAC INTERNATIONAL y el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la FDA definen a los coliformes como bacilos gram negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias de coliformes creciendo en la placa Petrifilm EC producen ácido el cual ocasiona que el indicador de pH tiña el gel de color rojo oscuro. El gas atrapado alrededor de las colonias de coliformes indica coliformes confirmados.



La identificación de la E. coli puede variar por país (ver la Sección Instrucciones de Uso para tiempos y temperaturas de incubación):

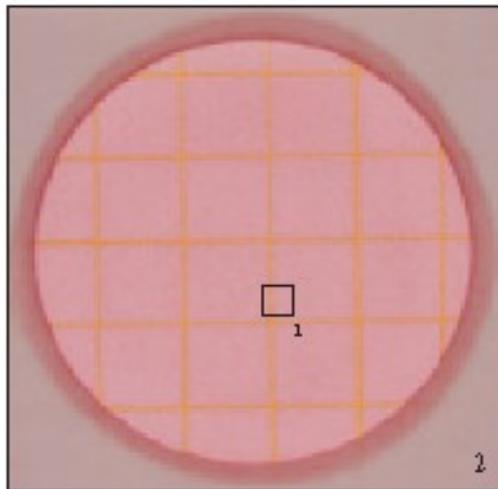
Método Validado ACAC INTERNATIONAL

E. coli = 49 (colonias azules con gas)

Coliformes totales = 87 (rojas y azules con gas)

No usar esta placa solamente para la detección de la E. coli O157. Como otros medios para E. coli/coliformes, esta placa no indicará específicamente si está presente alguna cepa de O157.

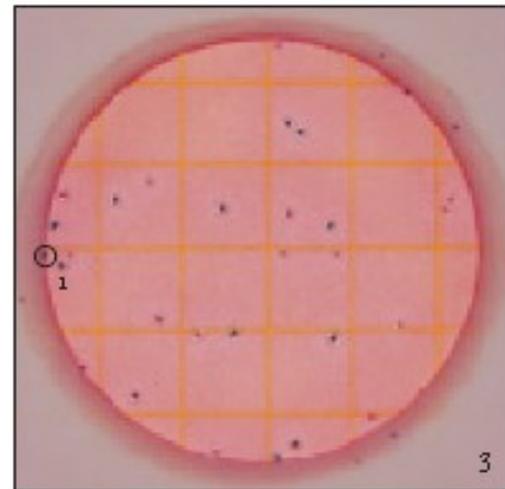
## 3M Placas Petrifilm<sup>®</sup> Placa para el recuento de E. coli/coliformes



No crecimiento = 0

Note los cambios en el color del gel en las figuras 2 a 6. Conforme la cuenta de E. coli y coliformes se incrementa, el color del gel se torna desde rojo oscuro hasta azul púrpura.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de coliformes o E. coli. Ver cuadro 1.

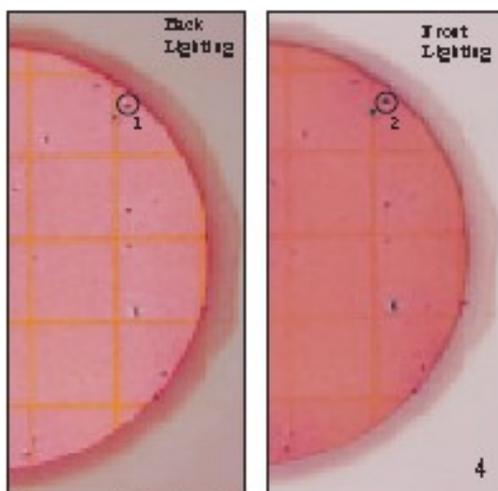


Recuento de E. coli = 13

Recuento de coliformes totales = 28

El rango de conteo para la población total en las placas Petrifilm EC es de 15-150.

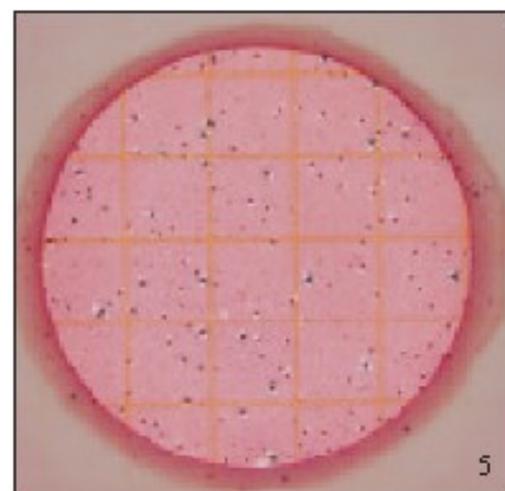
No cuente las colonias que aparecen en la barrera de hule espuma porque están fuera de la influencia selectiva del medio. Ver círculo 1.



Recuento de E. coli = 3

Cualquier coloración azul (azulosa a rojo-azul) indica la presencia de E. coli. La luz frontal aumenta la detección del precipitado azul formado por cualquier colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul usando luz posterior. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz frontal. El precipitado azul es más evidente en el círculo 2.



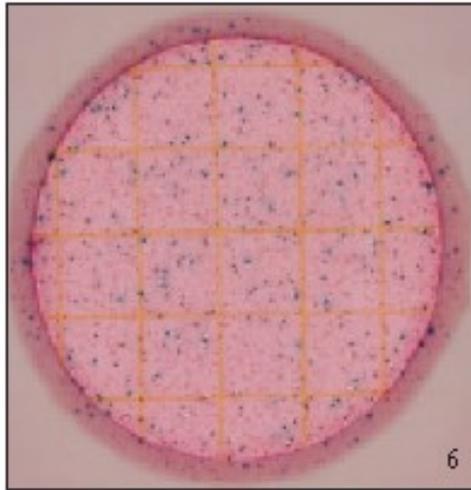
Recuento de E. coli = 17

Recuento de coliformes totales = 150

El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>.

La estimación se puede hacer sobre placas conteniendo más de 150 colonias contando el número de colonias en uno ó más cuadrados representativos y determinando el número promedio por cuadro. Multiplicar el número promedio por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

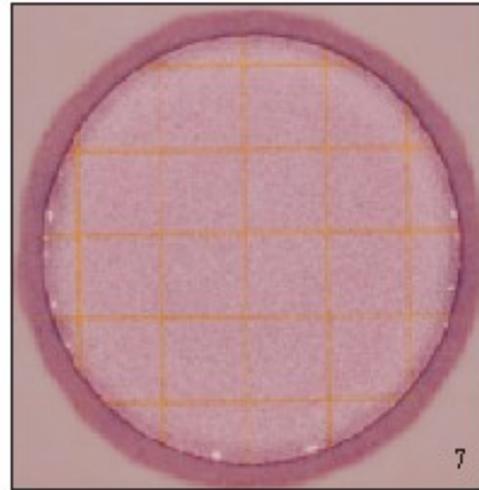
# TNTC Demasiado Numerosas para Contar *Para obtener una cuenta más precisa, diluya más la muestra.*



Recuento real  $\sim 10^6$

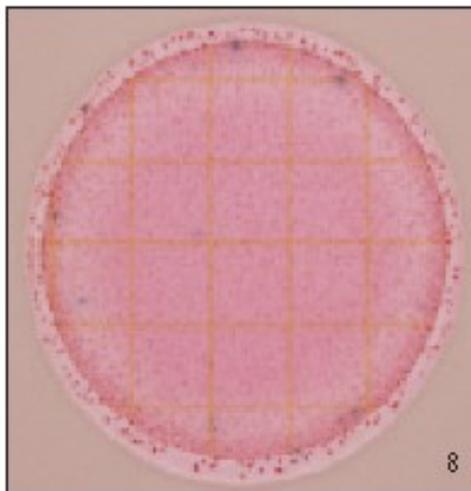
Las placas Petrifilm EC con colonias que son TNTC tienen una ó mas de las siguientes características:

Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y un oscurecimiento del color del gel desde rojo a azul púrpura.



Recuento real  $\sim 10^6$

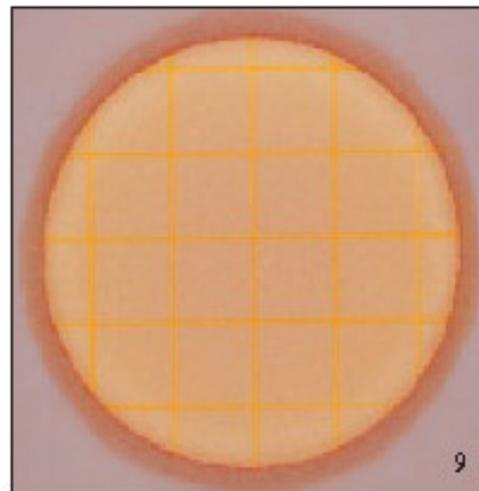
Altas concentraciones de E. coli pueden causar que el área de crecimiento se torne azul púrpura.



Recuento presuntivo de E. coli  $\sim 8$

Recuento de coliformes totales  $\sim 10^6$

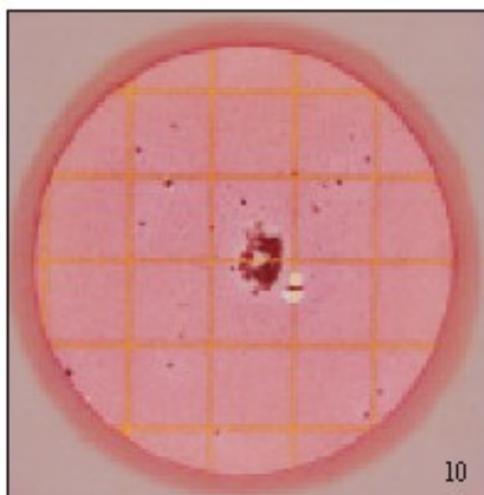
Cuando están presentes altos niveles de coliformes ( $>10^6$ ), algunas cepas de E. coli pueden producir menos gas y las colonias azules pueden estar menos definidas. Cuente todas las colonias azules sin gas y/o colonias azules como E. coli presuntivas. Repique las colonias azules sin gas y confirme si es necesario.



Recuento real  $\sim 10^6$

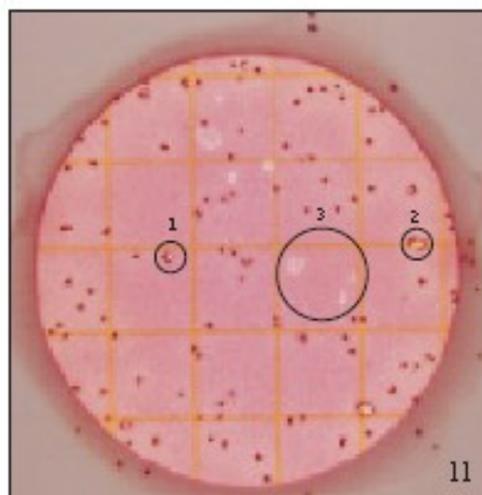
Cuando están presentes altos números de organismos no coliformes como las Pseudomonas en la placa Petrifilm EC, el gel puede cambiar a amarillo.

# Burbujas



Recuento de coliformes totales = 3

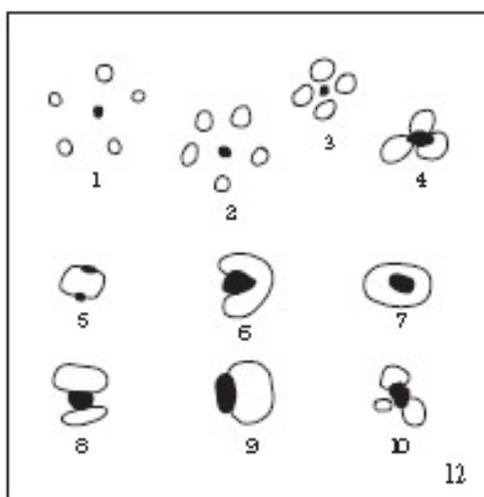
Las partículas de alimento son de forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 76

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede desorganizar a la colonia de tal forma que la colonia queda rodeada por la burbuja. Ver círculos 1 y 2.

Las burbujas de artefacto pueden resultar de inoculación inapropiada o del atrapamiento de aire dentro de la muestra. Son de forma irregular y no están asociadas a colonias. Ver círculo 3.



Los ejemplos mostrados del 1-10 muestran diversos patrones de burbujas asociadas con las colonias productoras de gas. Todas deben ser enumeradas.

## Anexo G-6: Dosis máxima de usos de nisina según el CODEX

<b>NISINA</b>				
SIN 234	Nisina	Clases Funcionales: Sustancias conservadoras		
No. Cat. alim	Categoría de alimento	Dosis máxima	Notas	Año Adoptada
01.4.3	Nata (crema) cuajada (natural)	10	28	2009
01.6.2	Queso madurado	12.5	28	2009
01.6.5	Productos análogos al queso	12.5	28	2010
01.6.6	Queso de proteínas del suero	12.5	28	2006
06.5	Postres a base de cereales y almidón (p. ej., pudines de arroz, pudines de mandioca)	3	28	2010

## Anexo G-7: Dosis máxima de uso del ácido láctico según el CODEX

Cat. alim	Categoría de alimento	Dosis máxima	Notas	Año Adoptada
1.6	Alimentos	BPF		2006

BPF: Ingesta Diaria Admisible no especificada sin límite de uso. No representa, según el Comité, un peligro para la salud.

**ANEXO H**

**MÉTODOS Y TÉCNICAS DE  
INVESTIGACIÓN**

## Anexo H-1: MÉTODO DE LA PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE INMERSIÓN

Una solución (o disolución) es una mezcla de dos o más componentes, perfectamente homogénea ya que cada componente se mezcla íntimamente con el otro, de modo tal que pierden sus características individuales. Esto último significa que los constituyentes son indistinguibles y el conjunto se presenta en una sola fase (sólida, líquida o gas) bien definida.

### Materiales

- Probetas de vidrio
- Picetas
- Matraces de vidrio
- Vasos de precipitación
- Pipetas
- pH- metro

- Balanzas
- Des ionizador de agua destilada

### Reactivos

- Ácido Láctico
- Nisina
- Agua destilada

### Procedimiento:

Se prepara en 800 ml de agua destilada y se calcula el porcentaje de ácido láctico según la ecuación y de igual manera para la nisina

### Fórmulas utilizadas para la desarrollo de las soluciones de inmersión de los tratamientos del diseño experimental.

Ácido Láctico	Nisina
$v$ $v/i$ $i$ $i$ $P_i$	$ppm = \frac{mg \text{ de Solute}}{\text{Litro de Soluci ó n}}$ $mg \text{ de Solute} = \frac{\text{Litro de Soluci ó n}}{ppm}$

$\frac{v}{i}$ $\frac{i}{i}$ $i$ $Vol\ de\ Soluci\ on * P_i$ $Vol.\ de\ Soluto = i$	
--	--

Elaborado por: Christian Moreno  
Fuente: Oñate C. 2007

## Anexo H-2: MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS.

Se evaluó la efectividad de las soluciones con diferentes concentraciones de ácido láctico y de nisina como agentes de reducción de carga microbiana de cada tratamiento, a través de siembras microbiológicas antes de la inmersión de la muestra en el tratamiento y después de someter al proceso de inmersión del mismo, mediante el recuento de Aerobios Totales, Coliformes Totales. En el mejor tratamiento se realizó el análisis microbiológico de *Escherichia coli*. La cuantificación de microorganismos analizados se los determinó según el método de película seca rehidratante (petrifilm)

### Materiales

- Probetas de vidrio
- Picetas
- Matraces de vidrio
- Tubos bacteriológicos
- Vasos de precipitación
- Pipetas
- pH- metro
- Balanzas
- Petrifilms
- Incubadora
- Esterilizador de material de vidrio
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Refrigeradora
- Cuchillos
- Guantes
- Tijeras

### Reactivos

- Agua destilada estéril

## PROCEDIMIENTO

## Preparación de las muestras

Las muestras fueron preparadas en un cuarto aislado, limpio y desinfectado donde se procedió a la inmersión en los tratamientos con nisina y ácido láctico según el diseño experimental y sometidas a un análisis microbiológico dentro de las 7 horas siguientes.

Se preparó en 800 ml de agua estéril la solución de inmersión por tratamiento mediante la aplicación de las formulas del Anexo H-1

Para el análisis microbiológico de Bacterias Aerobias Activas, Coliformes Totales y Escherichia coli, se obtuvo 25 gr de muestra mediante el muestreo diminutivo cuadrático (Lyon 1998 citado por Ramos M. 2007) el mismo que comprendió tomar asépticamente la muestra; identificar 4 áreas opuestas y cortar un pedazo de cada área, cortar cada pedazo en 4 sub pedazos, tomar un sub pedazo de cada uno de los pedazos y mezclar los 4 sub-pedazos, finalmente de la mezcla se pesa 25 gramos del producto. Esta muestra representativa fue colocada en una funda de polietileno estéril y masajeadada durante 2,5 minutos con 225 ml de agua estéril a una temperatura ambiente.

Se realizó a cada muestra un cultivo antes y después del tratamiento, se diluyó las muestras sin tratamiento (antes) hasta ( $10^{-3}$ ) mientras que en las muestras con tratamientos se utilizó en ( $10^{-1}$ ), para su correspondiente siembra.

Se calculó el porcentaje de eficiencia en la reducción de microorganismos mediante la aplicación de la siguiente formula.

$$\%R = \left( 100 - \frac{(Rec. con tratamiento * 100)}{Rec. sin tratamiento} \right)$$

## **Medios de cultivo de Aerobios, Coliformes y E. coli**

### **Aerobios**

La Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales (Aerobic Count AC) es un sistema de medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan en la enumeración de la población total existente de bacterias Aerobias en productos. Según la AOAC el método oficial 990.12 se debe incubar 48 hrs. (+/- 3 hrs) a 32°C (+/- 1°C).

### **Coliformes**

Las placas Petrifilm para coliformes totales contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes. Según el Método Oficial 991.14 de la AOAC para la enumeración de coliformes se debe incubar 24h +/- 2h a 35°C +/- 1°C.

### **E. Coli**

Las placas Petrifilm para Recuento de E. coli / Coliformes contienen nutrientes de Bilis y Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de la actividad de glucuronidasa, y un indicador que facilita la enumeración colonial. La mayoría de las E. coli (cerca del 97%) producen beta-glucuronidasa la cual produce un precipitado azul asociado con la colonia. El film superior atrapa el gas producido por los coliformes fermentando la lactosa y la E. coli. Según el Método Oficial 998.08 de la AOAC para la enumeración de E. coli se debe incubar 24h +/- 2h a 35°C +/- 1°C.

## **PROCEDIMIENTO**

El proceso de siembra inicio con las muestras que fueron homogenizadas, las cuales fueron diluidas hasta  $10^{-3}$  en tubos bacteriológicos estriles ya auto clavados, la muestra inicial se encuentra en una dilución  $10^{-1}$ .

Se sembró las muestras antes y después de someter al tratamiento en diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-1}$  respectivamente, donde se colocó 1 ml de de cada una de las diluciones en una placa para su correspondiente análisis microbiológico. Para la incubación de las placas se siguió los métodos de la AOAC indicados anteriormente

## **ENUMERACIÓN DE COLONIAS**

### **Placa de Aerobios y Placa de Coliformes**

Las placas de aerobios y coliformes totales colorean a las colonias de un tinte indicador rojo para su mejor identificación. Se cuenta todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono. Para las placas de Coliformes Totales, el film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes

### **Placa de E.coli**

Cualquier coloración azul (azulosa a rojo-azul) indica la presencia de E. coli en las placas petrifilm. Las colonias de coliformes creciendo en la placa Petrifilm E.coli producen ácido el cual ocasiona que el indicador de pH tiña el gel de color rojo oscuro. El gas atrapado alrededor de las colonias de coliformes indica coliformes confirmados.

### **Anexo H-3: Método de análisis de pH**

El pH (potencial de hidrógeno) es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El valor del pH se puede medir de forma precisa mediante un potenciómetro, también conocido como pH-metro, un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos: un electrodo de referencia (generalmente de plata/cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ion de hidrógeno.

También se puede medir de forma aproximada el pH de una disolución empleando indicadores, ácidos o bases débiles que presentan diferente color según el pH. Generalmente se emplea papel indicador, que se trata de papel impregnado de una mezcla de indicadores cualitativos para la determinación del pH.

#### **Materiales**

- Picetas
- Matracas de vidrio
- Vasos de precipitación
- pH- metro
- Balanzas
- Refrigeradora
- Cuchillos
- Guantes
- Tijeras

#### **Reactivos**

- Agua destilada estéril
- Alcohol

#### **Procedimiento**

Para la determinación del pH se siguió la norma INEN 783 que es referente a determinación del pH en Carne y Productos Cárnicos para lo cual se utilizó un pH-metro con un electrodo de vidrio, una balanza analítica, vasos de precipitación de 100 y 250 cm<sup>3</sup>, y papel absorbente y como reactivos etanol y agua destilada. La calibración del pH-metro se lo realizó con un una solución buffer de pH 7, donde se realizó una dilución de la muestra (1:1) con agua destilada y un reposo de 1 hora.

## **Anexo H-4: Método de evaluación sensorial**

La Evaluación sensorial se trata del análisis normalizado de los alimentos que se realiza con los sentidos. Se suele denominar "normalizado" con el objeto de disminuir la subjetividad que pueden dar la evaluación mediante los sentidos. La evaluación sensorial se emplea en el control de calidad de ciertos productos alimenticios, en la comparación de un nuevo producto que sale al mercado, en la tecnología alimentaria cuando se intenta evaluar un nuevo producto.

### **Materiales**

- Panel de catación
- Vasos plásticos
- Platos desechables
- Etiquetas de colores
- Hoja de catación

### **Reactivos**

- Agua

### **Procedimiento:**

Para el análisis sensorial se aplicó un diseño de bloques completos con 15 panelistas los cuales evaluaron todos los tratamientos incluyendo un blanco, los atributos de color, olor, sabor, textura y aceptabilidad. Para el correspondiente análisis sensorial se sometió a las muestras a un proceso de cocción con 500 ml de agua y 1 gr de sal después de ser almacenada durante 2 días con el tratamiento.

Los mismos catadores realizaron el análisis organoléptico en diferentes días en la tarde, donde se evaluó a tres tratamientos por día de catación.

## **Anexo H-5: Metodología para la determinación del tiempo de vida útil**

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo en el que, con unas circunstancias definidas, el producto mantiene unos parámetros de calidad específicos. El concepto de calidad engloba aspectos organolépticos o sensoriales, como el sabor o el olor, nutricionales, como el contenido de nutrientes, o higiénico-sanitarios, relacionados de forma directa con el nivel de seguridad alimentaria. Estos aspectos hacen referencia a los distintos procesos de deterioro: físicos, químicos y microbiológicos, de tal manera que en el momento en el que alguno de los parámetros de calidad se considera inaceptable, el producto habrá llegado al fin de su vida útil.

### **Materiales y Reactivos**

- Datos obtenidos de crecimiento microbiano

### **Procedimiento:**

Se comprobó la cinética de reacción mediante los datos obtenidos de crecimiento microbiano de aerobios mesófilos. El tiempo de vida útil se determinó a partir del recuento microbiológico del mejor tratamiento y en muestras en blanco, cada muestra se realizó un seguimiento de la tasa de supervivencia de microorganismos con respecto al tiempo. Se utilizó la ecuación que sigue la cinética de primer orden (Labuza, 1982 citado por Alvarado 1996)

$$\ln C = \ln C_0 + k t$$

### **Donde:**

**C** = Parámetro escogido como parámetro de vida útil

**C<sub>0</sub>** = Concentración inicial

**t** = Tiempo de reacción

**k** = Kte de velocidad de reacción

## **Anexo H-6: Metodología para determinación del tiempo de reducción decimal**

El propósito del cálculo es determinar un grafico logarítmico de muerte de microorganismos en el tiempo y cada ciclo logarítmico que atraviese la recta es equivalente destruir el 90% de los organismos.

### **Materiales y Reactivos**

- Datos obtenidos de crecimiento microbiano

### **Procedimiento:**

Debido a los resultados obtenidos, que revelan un orden de destrucción logarítmica de microorganismos, se aplicó el cálculo para determinar el tiempo de reducción decimal (D) mediante la siguiente ecuación:

$$D = \left( \frac{t_f - t_i}{\log_A - \log_B} \right)$$

Donde

**t<sub>f</sub>** = Tiempo final del tratamiento

**t<sub>i</sub>** = Tiempo inicial del tratamiento

**log<sub>A</sub>** = log de microorganismos iniciales en el tratamiento

**log<sub>B</sub>** = log de microorganismos finales del tratamiento



