

**Determinación de largo de vida útil y elaboración de un producto nuevo
utilizando pechugas de pollo deshuesadas mediante la aplicación de
láminas comestibles a base de metilcelulosa con sabor a: limón, papaya,
romero y ajo con pimienta negra**

Por:

Luis Steven Ramírez Rivera

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO – RECINTO DE MAYAGUEZ

2013

Aprobada por:

Lynette E. Orellana, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Ernesto Riquelme, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Aixa Rivera, MS
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Carmen Figueroa, Ph.D.
Representante Escuela Graduada

Fecha

Edna Negrón, Ph.D.
Coordinador del Programa

Fecha

Derechos de Autor Reservados ©
Luis Steven Ramírez Rivera
2013

Resumen

El objetivo principal de este estudio fue añadirle valor a las pechugas deshuesadas de pollo sin piel mediante el desarrollo y la aplicación de cuatro láminas comestibles diferentes. Se desarrollaron un total de cuatro láminas comestibles de los siguientes sabores: de limón, de papaya, de ajo con pimienta negra y con sabor a romero. El efecto del pH y la presencia de agentes antimicrobiales en las láminas comestibles desarrolladas podrían afectar el crecimiento de microorganismos en las mismas, por lo que se procedió a determinar el largo de vida útil de pechugas deshuesadas sin piel una vez aplicada las láminas comestibles a las mismas. La aplicación de la lámina comestible se logró sumergiendo las pechugas en la lámina líquida y luego almacenándolas en temperatura de refrigeración de manera que se formara y adhiriera por completo la lámina a las pechugas. El largo de vida útil se determinó por los recuentos de bacterias aerobias y *Salmonella spp.* en las mismas. Además de los análisis microbiológicos, se realizaron pruebas de pH y actividad de agua (a_w). El largo de vida útil fue evaluado por un periodo de diez días y los análisis de a_w y pH se realizaron durante los días 0, 5 y 10 de almacenamiento refrigerado. De las láminas comestibles evaluadas, la de sabor a limón fue la única que bajó considerablemente el pH del producto. Los valores de actividad agua obtenidos estuvieron en el rango de 0.970 – 0.999 para todas las muestras analizadas. La lámina de limón mostró ser la mejor reduciendo el conteo de aerobios e inhibiendo *Salmonella spp.*

Abstract

The principal objective of this study was to give added value to boneless and skinless chicken breast by developing and applying to them four different edible films. A total of four edible films were developed all of them with different flavors: lemon, papaya, garlic with black pepper and rosemary. The effect of the pH and the presence of antimicrobial agents on this films could affect the growth of microorganisms in the breasts, so as part of this study, the shelf-life of the boneless chicken breast with the applied edible films were determined. The films were applied by submerging the chicken breasts in the liquid film and then storing at refrigeration temperature so that the film can finally be formed and attached to the chicken breasts. The shelf-life was determine by plate count and *Salmonella spp.* analysis in the breasts. In addition of microbial analysis, pH and water activity (a_w) were determined. The shelf-life of the chicken breasts was evaluated during a 10 day time period, a_w and pH were analyzed on days 0, 5 and 10 of refrigeration storage. The edible film with lemon flavor was the only film that lowered considerably the pH values of the product. The water activities values obtained were between 0.970 – 0.999 for all analyzed sample. The lemon edible film showed the best results reducing aerobic counts and inhibiting *Salmonella spp.*

A Dios por permitirme ser siempre barro en sus manos.

A mis padres por inculcar valores de vida en mí.

A mis hermanos y amigos por una vida llena de emociones y alegrías.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Justificación	1
1.2	Objetivos.....	6
2	REVISIÓN DE LITERATURA	10
2.1	Pechugas de pollo	10
2.1.1	Valor nutricional.....	10
2.1.2	Consumo de carne de pollo	12
2.1.3	Riesgos microbiológicos	14
2.2	Salmonella	16
2.3	Limón.....	18
2.3.1	Producción mundial.....	19
2.3.2	Valor nutricional.....	19
2.4	Papaya.....	23
2.4.1	Valor nutricional.....	23
2.4.2	Papaína; suavizador comercial	25
2.4.3	Producción mundial.....	25
2.5	Espicias.....	27
2.6	Ajo.....	28
2.6.1	Propiedades medicinales.....	28
2.6.2	Alicina.....	29
2.6.3	Producción mundial.....	30
2.7	Pimienta negra	31
2.8	Romero.....	32
3	MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1	Obtención de la materia prima	34
3.2	Preparación de la materia prima.....	34
3.2.1	Preparación de las pechugas	34
3.2.2	Preparación de jugos	34
3.2.3	Preparación de la lámina.....	35
3.2.4	Aplicación de la lámina a las pechugas.....	36
3.3	Análisis químicos.....	36
3.3.1	Determinación de pH.....	36
3.3.2	Determinación de a_w	37
3.4	Análisis Microbiológicos	37
3.4.1	Conteo de aerobios	37
3.4.2	Salmonella	38

3.5 Pruebas de terniza.....	39
3.6 Panel Sensorial.....	40
3.6.1 Parte #1 Evaluación de terniza.....	40
3.6.2 Parte #2 Evaluación de sabor.....	40
3.7 Análisis estadístico.....	42
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 Actividad de agua (a_w).....	44
4.2 pH.....	46
4.3 Conteo de aerobios.....	49
4.4 <i>Salmonella spp</i>	54
4.5 Terniza.....	61
4.6 Panel sensorial.....	62
5 CONCLUSIONES	65
6 RECOMENDACIONES	66
7 REFERENCIAS.....	68
8 APÉNDICES	73
8.1 Resultados estadísticos	
a_w	73
8.2 Resultados estadísticos	
pH.....	74
8.3 Resultados estadísticos	
PCA.....	75
8.4 Resultados estadísticos	
Terniza.....	76

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Componentes principales de la carne de pollo.....	10
Tabla 2. Valor nutricional de pechugas de pollo deshuesada.....	11
Tabla 3. Vitaminas presentes en la carne de pollo.....	11
Tabla 4. Producción mundial de carne de pollo (millones de toneladas).....	13
Tabla 5. Posición por país de producción de carne de pollo en el 2010.....	14
Tabla 6. Principales productores de limón en el mundo.....	19
Tabla 7. Valor nutricional de limón.....	20
Tabla 8. Concentración de flavonoides (mg/100g) en distintas partes de la planta de limón.....	21
Tabla 9. Valor nutricional de la papaya.....	24
Tabla 10. Producción de Papaya (2005 al 2010).....	26
Tabla 11. Principales países productores de papaya en el 2010.....	26
Tabla 12. Principales productores de ajo en el 2010.....	31
Tabla 13. Componentes para la elaboración de las láminas base.....	36
Tabla 14. Descripción de colonias para <i>Salmonella spp.</i>	38
Tabla 15. Medidas de fuerza requerida para corte de pechugas cocidas.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reacción oxidación – reducción.....	15
Figura 2. Reacción de oxidación.....	15
Figura 3. Fórmula de actividad de agua (a_w).....	44

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Relación entre a_w y tiempo de almacenamiento en pechugas de pollo deshuesadas con distintos tratamientos.....	45
Gráfica 2. Relación entre pH y tiempo de almacenamiento en pechugas de pollo deshuesadas con distintos tratamientos.....	47
Gráfica 3. . Recuento de aerobios durante tiempo de almacenamiento en pechugas de pollo tratadas (Escala Logarítmica).....	51

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación

La principal causa de deterioro de los alimentos es debido al crecimiento de microorganismos. Se calcula que más del 20% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos. Este problema tiene consecuencias económicas evidentes, tanto para los fabricantes, como para los distribuidores y los consumidores. Por lo tanto, el control microbiológico es esencial para la preservación de alimentos. Existen los métodos tradicionales de preservación de alimentos, estos son: congelación, esterilización, pasteurización, deshidratación, entre otros. Estos son muy útiles y eficientes en la industria de alimentos. Hoy día, se busca la combinación de dos o más métodos de preservación que interactúen a la par controlando la proliferación de la población microbiana; esto para evitar la aplicación de un solo método de preservación de forma severa, evitando que se afecte negativamente la calidad sensorial y nutricional del alimento [43]. A esta combinación de métodos se le ha denominado métodos combinados o tecnologías de barrera. Una alternativa o método de preservación en crecimiento y que se puede utilizar como complemento de otros métodos de preservación más tradicionales son las láminas comestibles.

¿Qué es una lámina comestible? Cualquier tipo de material que se utilice para cubrir algún alimento, con el propósito de alargarle su vida útil y que se pueda comer junto con el alimento es considerado una lámina comestible [1]. Esta tecnología es utilizada para extender el largo de vida útil al alimento que le sea aplicado, a un costo mínimo y un campo de gran crecimiento en la industria de alimento. Para el año 1960 las láminas comestibles

tenían poco auge comercial y prácticamente su uso se limitaba a frutas. Hoy día estas láminas tienen unas aplicaciones más amplias y no se limitan solo a frutas, teniendo así un ingreso anual de más de 100 millones de dólares [1]. Además de frutas esta técnica se puede aplicar en alimentos como: vegetales, dulces y carnes (pollo, res, cerdo).

Entonces, ¿por qué será útil utilizar o aplicar láminas comestibles a algunos alimentos? La realidad es que la mayoría de los alimentos que consumimos han pasado por varias etapas desde que fueron producidos o cosechados en el caso de frutas o vegetales; por ejemplo: cosecha (manejo), almacenamiento, transporte, entre otros. Esto implica que probablemente han pasado días o semanas desde que el alimento fue producido o cosechado antes de que lleguen a nuestras manos. En carnes se pasa por el proceso de matanza, el cual incluye un sin número de etapas que pueden representar un alto riesgo de contaminación; por ejemplo: la remoción de piel, evisceración, entre otros. Durante este tiempo los alimentos están propensos a deterioro, deshidratación y pérdida de sabor, apariencia y valor nutricional. Por tal razón la aplicación de láminas comestibles a alimentos junto con otros métodos de preservación como la refrigeración o la congelación son una solución viable para tratar de reducir o minimizar el daño que pueda ocurrir al alimento hasta el momento en que se van a consumir. Las láminas comestibles pueden evitar o disminuir daños de tipo microbiológico, daños de oxidación o daños por pérdida de calidad en el producto. Además, esta tecnología puede reducir el uso de empaques sintéticos, se pueden consumir junto con el alimento y se le pueden añadir un sin número de preservativos los cuales puede mejorar grandemente la calidad de los productos a los que se le aplique la tecnología. Además de que estas láminas pueden mejorar las

características organolépticas de los alimentos [22]. Por ejemplo, se le pueden añadir a las láminas especias, jugos frutales y hasta colorantes, con el fin de hacer el producto final uno más atractivo al consumidor. Es muy importante que las láminas estén compuestas de sustancias que sean seguras y que no vayan a afectar las cualidades del producto, ni las personas que consumirán el producto.

Básicamente las láminas comestibles pueden estar hechas de tres compuestos básicos estos son: polisacáridos, lípidos y proteínas. Los polisacáridos son el compuesto mayormente utilizado para la formulación de láminas comestibles. Entre los polisacáridos más utilizados se encuentran el almidón y sus derivados, la celulosa y sus derivados, chitosan y algunas gomas (arabic, guar, xanthan). La ventaja principal de estas láminas es que tienen la habilidad de disminuir la transmisión de gases como oxígeno y dióxido de carbono. Teniendo esto en cuenta, láminas hechas a base de polisacáridos se pueden utilizar para evitar que ocurra oxidación en los alimentos. Algo muy interesante es que la naturaleza hidrofílica de estas láminas se puede utilizar para que el producto absorba agua intencionalmente, de esta manera evitamos que el producto pierda humedad.

Las primeras láminas comestibles que fueron creadas fueron hechas a base de lípidos. Estas láminas a diferencia de las preparadas con polisacáridos son excelentes en contra de la transmisión de agua, esto básicamente debido a la naturaleza hidrofóbica de las grasas, por lo que son ideales para aplicarle a alimentos que no queremos que pierdan agua o humedad [1]. Por otro lado, estas láminas afectan la transmisión de oxígeno y dióxido de carbono en algunos alimentos, ocasionando respiración anaeróbica en los mismos, esto a su vez puede causar cambios en sabor, ablandamiento del tejido estructural

y proliferación de microorganismos en el alimento. Algunos compuestos utilizados para la formulación de estas laminas son: “shellac”, “beeswax”, “carnauba wax” y ácidos grasos [2].

En general, el valor de las láminas elaboradas a base de proteínas, es bajo en cuanto a barrera contra la humedad [1]. Sin embargo, estas láminas cuando son aplicadas a alimentos proveen protección contra daños químicos y microbiológicos. Adicional a esto la mayoría de las láminas elaboradas a base de proteínas son excelentes barreras contra el oxígeno inhibiendo así que ocurra oxidación. Su mayor ventaja es que poseen una buena estabilidad física o estructural; esto hace posible que puedan obtener una forma deseada, por ejemplo, se utilizan para embutido de salchichas. En la formulación de estas láminas se utiliza mucho la caseína, suero de proteínas, colágeno, keratina, albúmina de huevo, proteínas de maíz, proteínas de soya, entre otros [2]. Hoy día estas láminas son muy atractivas debido a que tienen un alto valor nutricional y protegen el alimento del ambiente que lo rodea.

Es importante conocer que se pueden elaborar láminas integrando los distintos componentes básicos de estas, entiéndase; lípidos, proteínas y polisacáridos [23]. Esto permite utilizar a conveniencia las distintas características de los compuestos básicos de las láminas. Tomando las características particulares de cada lámina, se puede escoger la más conveniente dependiendo del tipo de alimento. Si bien es importante el tipo de lámina a escoger o utilizar hay ciertas características que toda lámina debe poseer:

- No debe tener componentes tóxico o que causen alergias
- Deben poseer buena estabilidad estructural para que no sufra daños por manejo o transportación
- Deben proveer protección contra contaminación, microbios y otros tipos de deterioro.
- Deben mantener las características organolépticas del alimento
- Útiles para añadir sabor, color, nutrientes o agentes antimicrobiales al alimento.

La carne de pollo es un producto mundialmente consumido. En el 2009, la producción mundial de carne de pollo fue de 71.9 millones de toneladas [4]. En el 2011, la producción mundial de carne de pollo aumentó a unas 87 millones de toneladas [24]. Es por esto que es de suma importancia poder conservar éste alimento de la manera más efectiva posible ya que su demanda mundial es muy alta. Entre los problemas que pueda presentar la carne de pollo está el de tipo microbiológico, que puede ser ocasionado por pobres prácticas de manejo, contaminación cruzada y malas prácticas de producción. Otro problema puede ser la oxidación de algunos compuestos de la carne de pollo, por ejemplo las grasas.

Por lo tanto, esta investigación tiene como propósito el poder conocer y brindar una alternativa adicional a la preservación de este tipo de carne. Se desarrollaron láminas comestibles con sabor a limón y papaya. Adicionalmente se prepararon dos láminas utilizando especias: la primera con romero y la segunda utilizando ajo y pimienta negra.

Con estas láminas se buscaba otorgarle sabor a las pechugas y tratar de controlar que ocurra crecimiento bacteriano en las mismas extendiéndole el largo de vida útil; esto debido al pH ácido del limón y papaya o debido a la presencia de agentes antimicrobiales presentes en las especias utilizadas.

Las bacterias por lo general crecen en ambientes neutrales por lo que, si logramos crear un ambiente ácido podemos evitar o minimizar el riesgo de crecimiento microbiano en las pechugas. Todo esto teniendo en cuenta que este alimento será almacenado bajo temperaturas de congelación. Bajo temperaturas de congelación la mayor parte de los microorganismos disminuyen su razón de crecimiento, por lo que esperamos un producto bastante duradero. Con la aplicación de la lámina comestible lo que se busca es simplemente añadir otro obstáculo que haga de la carne un medio difícil para las bacterias poder crecer o proliferar. El problema que pueda presentar la oxidación de las grasas en este producto, debe ser resuelto o por lo menos disminuido dado que en la lámina se utilizaron polisacáridos que evitan el transporte de oxígeno reduciendo el riesgo de oxidación. Además las frutas son importantes fuentes de vitamina C, el cual es un antioxidante que puede ayudar a reducir el riesgo aún más. Vale la pena recalcar que la utilización de limón y papaya para crear las láminas comestibles puede promover la agricultura del país específicamente la producción o siembra de estas frutas.

1.2 Objetivos

El objetivo principal de este estudio fue desarrollar una serie de láminas comestibles: láminas con limón, papaya, ajo y pimienta negra y con romero, para preservar pechugas

deshuesadas. El estudio busca determinar los efectos en el largo de vida útil que tiene los distintos tratamientos de láminas comestibles en pechugas deshuesadas.

Objetivos específicos:

1. Determinar recuento aerobios totales en pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
2. Determinar presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
3. Evaluar el efecto de las láminas comestibles en los factores fisicoquímicos de pH, terneza y a_w en las pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
4. Llevar a cabo un panel sensorial para determinar diferencias en sabor y aceptabilidad de las pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.

En estudios realizados se ha demostrado que el jugo de limón inhibe el crecimiento de *Salmonella thymurium* [20]. Si se logra bajar el pH de la lámina a menos de 3.5 podemos eliminar o reducir grandemente el riesgo de crecimiento de bacterias de importancia patológica en alimentos, como: *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter spp*, entre otras [5]. El extracto de limón ha mostrado tener un efecto antifúngico en alimentos para pollos [7]. La alicina, compuesto que se encuentra en el ajo tiene gran efectividad contra un gran espectro de microorganismos Gram positivos y Gram negativos [12].

El efecto que tiene el pH en las bacterias básicamente se puede dividir en dos. El primero es que afecta la actividad enzimática de las bacterias. Las células bacterianas contienen dos compuestos celulares de suma importancia que requieren un medio neutral

para su funcionamiento estos son: DNA y ATP. Por lo que, si logramos afectar estos dos compuestos la función de la célula se altera por completo, impidiendo sus funciones normales y evitando así su proliferación. El segundo es que afecta el transporte de nutrientes hacia la célula. Las bacterias tienen carga negativa, lo que permite que compuestos no ionizados puedan entrar a la célula. A pH ácido los ácidos orgánicos se hacen no ionizados y pueden entrar a la célula, lo que causa que se desnaturalice la membrana y las enzimas de transporte [5]. De manera similar los agentes antimicrobianos en las especias por lo general afectan la actividad enzimática, síntesis de ácidos nucleicos y la integridad de la membrana celular [43].

El componente principal de todas las láminas fue metilcelulosa. La celulosa es el recurso de biomasa más abundante en el planeta. Se encuentra en la pared celular de frutas y vegetales, hojas, troncos de árboles, entre otros. La metilcelulosa es derivada a partir de la celulosa por procesos químicos. Esta se obtiene al añadir metil éter a la cadena principal de la celulosa. La metilcelulosa es completamente soluble en agua fría y forma un gel si es incubada o calentada entre 48 -64° C. Teniendo en cuenta que el mecanismo principal de protección de la lámina es por acidez, es importante saber que la metilcelulosa es estable en pH de 3-11[1].

Por lo general, las láminas que son hechas a partir de celulosa y sus derivados son solubles en agua, fuertes, flexibles y resistentes a lípidos. La realidad es que no se han realizados muchos estudios con láminas comestibles de celulosa en carnes. Fue hasta el 1959, que Ayers reportó que la aplicación de láminas de metilcelulosa a carnes

“beefstakes” previene la desecación de la carne y extiende el largo de vida útil de las mismas [47]. Además puede reducir la absorción de grasa y la pérdida de humedad de las carnes [46], dos características muy importantes y valoradas por los consumidores de hoy día.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Pechugas de pollo

El término carne se define como tejido muscular de los animales utilizado como alimento [25]. La carne de pollo tiene una gran cantidad de beneficios para el consumidor, dada sus características organolépticas y valor nutricional. Además es una carne económica, tierna y fácil de digerir, lo que hace de la carne de pollo sea un alimento muy consumido por todo tipo de persona, entiéndase: bebés, niños, adolescentes, adultos y adultos mayores. Además puede ser preparado y cocido de muchas maneras diferentes.

2.1.1 Valor nutricional

La carne de pollo tiene un papel importante en la dieta y no solo en la dieta de la población general, sino también en algunos grupos específicos como ancianos, adolescentes y mujeres embarazadas. La carne de pollo es una buena fuente de proteínas, minerales y un amplio rango del complejo de vitaminas [26]. Tomando en consideración lo antes mencionado podemos decir que la carne de pollo es un alimento de alto nivel biológico (Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3).

Tabla 1. Componentes principales de la carne de pollo.

Componente	%
Agua	75
Proteínas	22.8
Grasas	0.9
Cenizas	1.2

Fuente: FAO

Tabla 2. Valor nutricional de pechugas de pollo deshuesadas.

Nutriente	Pechugas deshuesada, sin piel
Calorías	114
Carbohidratos	0
Proteínas (g)	21.2
Grasa totales (g)	2.6
Hierro (mg)	0.4
Calcio (mg)	12
Fosforo (mg)	250
Selenio (mg)	28
Potasio (mg)	300
Magnesio (mg)	28

Fuente: USDA National Nutrient Database for Standard References (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>)

Tabla 3. Vitaminas presentes en la carne de pollo.

Vitamina	Pechuga deshuesada
Tiamina (mg)	0.11
Riboflavina (mg)	0.19
Niacina (mg)	11
Vitamina B6 (mg)	0.76
Biotina (µg)	2.1
Vitamina E (mg)	2.2

Fuente: Food & Nutrition Australia, August 2009. <http://www.freerangechicken.com.au/Chicken%20Nutrition%20Report%20LOWRES%20Sep09.pdf>

El pollo provee al consumidor un sin número de nutrientes importantes para el desarrollo saludable de las personas. Las proteínas son esenciales para la formación de células, tejidos, enzimas y músculos en el cuerpo, además son importantes para la creación de anticuerpos. Tiamina (vitamina B1) y riboflavina (vitamina B2) proveen energía ya que, ayudan en el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos. La niacina (vitamina B3) está envuelta en el metabolismo de energía, mientras que la vitamina B6 es importante para el metabolismo de amino ácidos y en reacciones para la formación de eritrocitos. La biotina ayuda a metabolizar grasas y carbohidratos y a regular los niveles de glucosa en el cuerpo [27]. Por último, también provee cierta cantidad de vitamina E, la cual funciona como antioxidante, ayuda al mantenimiento de la membrana celular y actúa como agente anti- inflamatorio.

Adicional a esto la carne de pollo nos brinda una serie de minerales de gran beneficio a la salud. El calcio y el fosforo son minerales sumamente importante para huesos sano y fuertes. El selenio por otro lado es importante para la formación de hormonas de la tiroides, las cuales regulan el metabolismo de las personas. El potasio es utilizado por el cuerpo para poder realizar acciones de movimientos musculares.

2.1.2 Consumo de carne de pollo

Las pechugas deshuesadas son un producto muy consumido, por lo que darle un valor agregado a este producto y a su vez alargarle su vida útil, es o podría ser una gran ventaja para el mercado de las mismas. En el 2009 la producción de carne de pollo incrementó para alcanzar unas 71.9 millones de toneladas de carne de pollo. Los Estados

Unidos fue el principal productor de carne con 15.9 millones de toneladas, seguido por China con 12.1 millones de toneladas y luego Brasil con una producción anual de 10.9 millones de toneladas [4]. En el 2011 la producción de carne de pollo mundial aumentó a unas 87 millones de toneladas [Tabla 4]. Se estima que para el 2013 aumente hasta 93 millones de toneladas [24]. Entre los países tomados en consideración por la Food and Agriculture Organization (FAO), Puerto Rico se encuentra en la vigesimosegunda posición en cuanto a producción de carne de pollo en América [Tabla 5].

Tabla 4. Producción mundial de carne de pollo (millones de toneladas)

Región	2008	2009	2010	2011	2012
América	35.7	37.4	38.4	39.2	39.4
Asia	26.4	27.2	28.6	29.9	31.0
África	4.0	4.2	4.4	4.6	4.7
Europa	12.1	13.4	13.8	14.2	14.5
Oceanía	1.0	1.0	1.1	1.3	1.3
Mundo	80.8	82.5	86.2	89.2	90.9

Fuente: FAO

Tabla 5. Posición por país de producción de carne de pollo en 2010

País	Toneladas
Estados Unidos	16,971.0
Brasil	10,692.6
México	2,681.1
Argentina	1,598.0
Canadá	1,048.5
Perú	1,020.0
Colombia	1,000.0
Venezuela	848.1
Chile	503.8
Puerto Rico	52.2

Fuente: FAO

2.1.3 Riesgos microbiológicos

Todos los alimentos tienen unos parámetros o características propias que los hacen más o menos susceptibles a crecimiento de bacterias, estos se conocen como parámetros intrínsecos. Estos parámetros son: pH, contenido de humedad, potencial de oxidación – reducción, contenido de nutrientes, constituyentes antimicrobiales y estructuras biológicas. A través de los años estudios han demostrado que las bacterias crecen mejor en rangos de pH neutrales (6.5 – 7.5). El pH de la carne de pollo se encuentra entre 6.2 – 6.4, en pechugas levemente menor (5.8-5.9) lo que la hace susceptible al crecimiento de bacterias, que pueden afectar la calidad de la carne, además de causar problemas a la salud de los consumidores [5]. La actividad de agua (a_w) de un alimento nos indica la cantidad de agua

que hay disponible en un alimento para que microorganismos puedan llevar a cabo sus reacciones metabólicas. La mayoría de bacterias en alimentos no crecen en alimentos con a_w menor de 0.91. La carne de pollo tiene un a_w alrededor de 0.98 – 0.99 el cual es muy favorable para el crecimiento de bacterias. El potencial de oxidación – reducción se define como la capacidad que tiene un substrato para ganar o perder electrones. Si el substrato gana electrones se dice que se redujo, mientras que si pierde electrones se oxida [5] [Fig.1].

Figura 1. Reacción oxidación - reducción.



La oxidación también puede ocurrir cuando el substrato recibe un oxígeno [Fig.2].

Figura 2. Reacción de oxidación.



El contenido de nutriente que tenga un alimento es muy importante para el desarrollo o crecimiento de las bacterias en ese medio. Para que microorganismos puedan crecer necesitan: agua, fuente de energía y nitrógeno, vitaminas y minerales. Entonces, con tan solo ver esto podemos notar que la carne de pollo cumple todos esos requisitos. La carne de pollo tiene un a_w de alrededor de 0.99, un pH cercano a neutralidad y es una excelente fuente de nutrientes para el crecimiento de microorganismos.

Por lo general, los músculos y tejidos internos de un animal sano son estériles o libres de bacterias a la hora de la matanza. Sin embargo, cuando el consumidor compra la carne en el supermercado o carnicería, esta no está libre de bacterias. Posibles fuentes de

contaminación bacteriana incluyen: cuchillos, pelo o plumas del animal, vía gastrointestinal, recipientes y el manejo y almacenamiento.

Generalmente, el daño microbiológico en la carne de pollo ocurre en su superficie y la razón es porque, por lo general, la carne es estéril o contiene muy pocos microorganismos en su parte interior. Teniendo esto en cuenta podemos decir que el manejo que se le dé a la carne durante su procesamiento es de suma importancia para evitar conteos microbiológicos elevados.

2.2 *Salmonella spp.*

Salmonella spp. es una bacteria Gram – negativa. Morfológicamente es un bacilo pequeño muy parecido a *Escherichia coli*. Es una bacteria ampliamente distribuída en la naturaleza, humanos y los animales siendo su mayor hospedero. La infección con *Salmonella spp.* generalmente ocurre por la ingestión de alimentos con presencia de la bacteria.

Este microorganismo gram – negativo es capaz de crecer en gran cantidades de medios y de producir colonias visibles en un periodo de 24 horas a temperatura de 37 ° C. Generalmente esta bacteria no es capaz de fermentar lactosa y sucrosa. Sin embargo, si es capaz de fermentar glucosa y producir gas. Como la mayoría de las bacterias, el pH óptimo para su crecimiento es alrededor de valores neutrales. Niveles por debajo de 4.0 o por encima de 9.0 son bactericidas. En el caso de *Salmonella spp.* específicamente, valores de pH entre 6.6 – 8.2 son los ideales para su crecimiento óptimo [49].

El hábitat principal de *Salmonella spp.* es el tracto intestinal de animales como: aves, réptiles, animales de granja y humanos. Muchas veces es encontrado en la excreta de animales, esto debido a que se encuentra en el intestino de los mismos. De la excreta, por medio de insectos y otros animales es transmitido a otros lugares, por ejemplo, al agua. En un estudio realizado en un matadero de cerdos se encontró *Salmonella spp.* en el vaso, hígado, nódulos linfáticos y heces fecales de los cerdos [48]. El problema en lugares donde hay concentraciones altas de animales como cerdos, ganado y aves es que muchas veces estos animales pueden ser portadores de la bacteria y no presentar síntoma alguno. El hecho de que el tracto gastrointestinal sea el principal hábitat de la bacteria en aves representa un gran problema, pues durante la matanza de las aves para la producción de carnes hay que tener suma precaución en el procesamiento especialmente en la evisceración. La posible presencia de la bacteria en carnes, huevos y hasta el aire hace casi inevitable su presencia en algunos alimentos, además se debe tomar en consideración el manejo de los alimentos y posible contaminación cruzada no intencional con otros alimentos. El manejo y la preparación de alimentos por el momento parece ser los métodos más efectivos de prevención y control de *Salmonella spp.* en alimentos. La alternativa ideal sería tener los animales y humanos libres de *Salmonella spp.* en su totalidad y aunque es una idea sumamente difícil, quizás en un futuro pueda ser una opción real.

La infección con *Salmonella spp.* normalmente ocurre por la ingestión de algún alimento que contenga la bacteria. El tiempo en que los síntomas se presentan es de 12 – 14 horas luego de la ingestión. Los síntomas son: náuseas, vómitos, dolor abdominal, dolor de cabeza y diarreas. Normalmente los síntomas perduran de 2 – 3 días. Conteos celulares

de $10^7 - 10^9$ /g generalmente son los necesarios para que ocurra salmonelosis [5]. La bacteria ha sido encontrada en varios alimentos, por ejemplo: mezcla de bizcocho, masa de galletas, “dinner rolls”, aderezo para ensaladas, mayonesa, leche, carnes, entre otros.

Algunos de los brotes más significativos en alimentos son:

- 1994, más de 224,000 personas afectadas. El alimento vehículo fue mantecado, la causa fue que el mantecado fue transportado en un camión que había transportado huevo líquido anteriormente [50]
- 1985, cerca de 200,000 persona afectadas. El alimento vehículo fue leche 2% producida en una planta en Illinois [51]

2.3 Limón

El limón, *Citrus aurantifolia*, *Citrus limonum* r. es un fruto oriundo de Asia, de forma circular u ovalada de aproximadamente 1.5 – 2 pulgadas. La cáscara es muy delgada y lisa de color amarillo o verde en su estado maduro. Es una fruta comestible de extrema acidez cuyo aroma tiene muchos usos, especialmente en la cocina. El árbol de limón o también conocido como Limonero es cultivado en zonas cálidas y alcanza una altura aproximada de 4 metros. Es una planta muy tropical y extremadamente sensible al frío. El árbol tiene un alto requerimiento de calor para poder producir buenos frutos. La corteza del árbol de limón es de tonalidad gris y corteza lisa. Sus tallos poseen espinas muy cortas y fuertes [35]. Las hojas son de forma elíptica y de color verde brillante, estas desprenden olor a limón. Es una planta que provee un fruto con una gran importancia medicinal y culinaria.

2.3.1 Producción mundial

El limón es una fruta muy consumida mundialmente debido a todos los usos y propiedades que posee. En 2010 la producción mundial total de limón fue de aproximadamente 14 millones de toneladas [Tabla 6].

Tabla 6. Principales productores de limón en el mundo.

País	Toneladas
India	2,629,200
México	1,891,400
Argentina	1,113,380
China	1,058,105
Brasil	1,020,350
Estados Unidos	800,137
Puerto rico	254

Fuente: FAO

Es un fruto muy consumido y por consecuencia muy producido debido a que las personas le otorgan muchas funciones ya sea en la cocina, como planta y fruto medicinal, elaboración de dietas para adelgazar, entre otras.

2.3.2 Valor nutricional

El limón es un fruto muy rico en vitamina C, debido a su alto contenido de ácido ascórbico, el cual representa casi el 5% del contenido total de este fruto. Además del ácido ascórbico el limón tiene otros antioxidantes como son los flavonoides. Algunos ejemplos de estos flavonoides son: rutina, hesperidina, naranjina y limoneno. Todos estos caen bajo

la clasificación de citroflavonoides [8]. Otros componentes importantes son vitaminas y minerales como el potasio y el calcio [Tabla 7].

Tabla 7. Valor nutricional del limón

Energía	121 KJ (29kcal)
Carbohidratos	9.32 g
Azúcar	2.50 g
Fibra dietaria	2.80 g
Grasa	.30 g
Proteína	1.10 g
Tiamina (vit B1)	0.040 mg
Riboflavina (vit B2)	0.020 mg
Niacina (vit B3)	0.100 mg
A. pantoénico (vit B5)	0.190 mg
Piridoxina(Vit B6)	0.080 mg
Folato (vit B9)	11 µg
Vitamina C	53 mg
Calcio	26 mg
Hierro	0.60 mg
Magnesio	8 mg
Fósforo	16 mg
Potasio	138 mg
Zinc	0.06 mg

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en frutas y vegetales y algunas bebidas como la cerveza, vino y té verde. Estos brindan protección contra agentes oxidantes como, la luz ultravioleta o sustancias químicas presentes en los alimentos. El ser humano no es capaz de producir estos compuestos por lo que es importante obtenerlos por medio de los alimentos o algún suplemento. Los flavonoides aunque no brindan energía son parte importante de la dieta humana por sus beneficios contra la oxidación y producción de radicales libres. Las excelentes propiedades antioxidantes de los flavonoides se deben a su capacidad quelante, capacidad para atrapar hierro y otros metales de transición, que promueven la oxidación. Los flavonoides tienen un gran espectro de funciones biológicas, por ejemplo, antibacterial, antifungicos, anticancer y antiviral [30]. El jugo de limón también tiene propiedades hipotensoras [31]. El limón contiene citroflavonoides, estos son:

rutina, hesperidina los cuales se encuentra en la piel delgada que cubre el limón, la naranjina que es la responsable del sabor amargo del limón y el limoneno [8] [Tabla 8].

Tabla 8. Concentracion de flavonoides (mg/100g) en distintas partes de la planta de limón.

Flavonoide	Hoja	Fruto	Jugo
Rutina	591.3	22.7	<10
Hesperidina	<10	358.0	384.0
Naranjina	<10	<10	<10
Diosmina	204.0	73.2	<10

Datos tomados de Kawaii [33] – [35]

La vitamina C o ácido ascórbico es un compuesto muy polar por lo que es soluble en agua y es muy importante en la dieta de los humanos [6]. Esto debido a que actúa como cofactor de algunas enzimas del cuerpo, por lo que son importantes en las reacciones metabólicas del mismo. La vitamina C se encuentra ampliamente distribuída en frutas y vegetales y es sintetizada por todos los mamíferos excepto por los humanos y los monos. La vitamina C tiene un sin número de ventajas para los humano, por ejemplo, estimula las defensas contra las infecciones, ayuda a la síntesis de algunas hormonas, favorece el buen estado de los huesos y vasos sanguíneos y ayuda en la absorción de hierro. Sin embargo el ácido ascórbico es bien susceptible al deterioro por oxidación a pH alto [3]. En el caso de la lámina comestible utilizada en este estudio este factor no debe ser problema ya que el pH final de la lámina debe estar bastante ácido (2.0-3.0). En los alimentos esta vitamina es de gran importancia ya que actúan como antioxidante [6].

El complejo de vitaminas B es uno muy importante en la fisiología del cuerpo humano. Las vitaminas B son esenciales para el crecimiento y desarrollo del ser humano y también juegan un papel muy importante en el funcionamiento de algunas enzimas y producción de energía en el cuerpo. El complejo de vitaminas B está compuesto por ocho vitaminas estas son: tiamina (vit B1), riboflavina (vit B2), niacina (vit B3), a. pantoénico (vit B5), piridoxina(Vit B6), biotina (vit B7), folato (vit B9) y cobalamina (B12). De las ocho vitaminas previamente mencionadas el limón posee seis de ellas. La tiamina y riboflavina ayudan en la producción de energía e influye sobre enzimas que afectan a los músculos y el corazón. La niacina ayuda en la producción de energía celular y es muy importante para mantener la piel, sistema nervioso y sistema digestivo saludable. El ácido pantoénico promueve un crecimiento y desarrollo saludable, mientras que la piridoxina es muy importante en la descomposición de proteínas y para mantener la salud de los eritrocitos. La biotina al igual que la piridoxina ayuda en la descomposición de proteínas, pero tiene una función muy peculiar y es que ayuda en la formación de hormonas en el cuerpo. El ácido fólico es importante en la producción de eritrocitos y para mantener el DNA. Por último, la vitamina B12 es importante para el crecimiento y desarrollo, de igual manera en la producción de células rojas para el torrente sanguíneo [21]. Deficiencias en el complejo de vitaminas B puede causar un sin número de efectos adversos a la salud entre lo que se encuentra: pérdida de apetito, anemia, dolor abdominal, pobre crecimiento en niños e incluso defectos de nacimiento.

2.4 Papaya

La papaya, *Carica papaya* es un árbol que crece rápidamente y por lo general mide entre 3-10 metros de altura. Es una planta con hojas grandes, de crecimiento rápido, mayormente no maderada, herbácea y duradera de muchos años. Botánicamente *Carica papaya* no se puede calificar claramente como árbol, ni planta vivaz, ni arbusto. Alcanza una edad de 15 hasta 30 años. El tamaño de la fruta varía, pues puede pesar entre 100 g y 10 kg. Su forma es redonda-ovalada hasta oblonga, el color de su pulpa es blanco amarillento, amarillo profundo, anaranjado o amarillo rojizo. Este produce una fruta tropical a la que llamamos papaya también conocida en Puerto Rico como lechosa. La papaya resiste climas secos y cálidos, aunque necesita bastante agua para poder crecer bien [11]. Al terminar el primer año los árboles comienzan a dar frutos. En regiones de clima tropical los árboles florecen y dan frutos continuamente. El rendimiento más alto se obtiene en el segundo año. Durante el segundo año las frutas varían entre 25 y 100 unidades por árbol. En el tercer año el rendimiento baja considerablemente y se reduce aún más en los años siguientes. La cosecha se vuelve cada vez menor a medida que los árboles avanzan en edad [10].

2.4.1 Valor nutricional

La papaya es una fuente de Vitaminas A, B y C, entre otros nutrientes [Tabla 9]. Además de proveer estos nutrientes es una fruta que podemos obtener durante todo el año y rápido, ya que, el árbol de papaya solo tarda un año en comenzar a dar frutos. Esto nos brinda una buena fuente de vitaminas y minerales de calidad a nuestra disposición todo el tiempo.

Tabla 9. Valor nutricional de la papaya.

Energía	163 KJ (39kcal)
Carbohidratos	9.81 g
Azúcar	5.90 g
Fibra dietaria	1.80 g
Grasa	.14g
Proteína	.61 g
Tiamina (vit B1)	0.040 mg
Riboflavina (vit B2)	0.050 mg
Niacina (vit B3)	0.338 mg
Vitamina A	55µg
Piridoxina(Vit B6)	0.080 mg
β carotenos	276 µg
Vitamina C	61.8 mg
Calcio	24mg
Hierro	0.10 mg
Magnesio	10 mg
Fósforo	5 mg
Potasio	257 mg
Sodio	3 mg

La vitamina A es muy importante en el desarrollo y mantenimiento del cuerpo humano. Esta ayuda en la formación de los dientes, piel, tejidos blandos y óseos, también ayuda a la vista especialmente en la luz tenue. Los carotenoides son pigmentos que se encuentran en algunos alimentos como frutas y hortalizas de color naranjas o amarillas, por ende la papaya. Los carotenoides se pueden transformar en vitamina A, de ahí la fuente de esta vitamina en la papaya. Mientras más intenso es el color de la fruta, hortaliza o alimento, mayor es el contenido de carotenos. Deficiencias en vitamina A puede llevar a enfermedades infecciosas y problemas de la visión. El complejo de vitaminas B como se mencionó anteriormente son de suma importancia para la fisiología del cuerpo humano, su funciones principales son para el funcionamiento de enzimas y producción de energía. La vitamina C por otro lado es un antioxidante natural y ayuda grandemente a mantener un sistema inmunológico saludable.

2.4.2 Papaína; suavizador comercial

La papaína es una enzima similar a la pepsina humana. Estas son enzimas proteolíticas, es decir que tienen la capacidad de digerir proteínas de los alimentos. La papaína se encuentra en el látex, esto es un líquido blanco que se obtiene al cortar los frutos inmaduros [9]. En el laboratorio se separa la enzima del latex hasta tener la enzima en su forma más pura. La papaína es una enzima proteolítica que se utiliza muy a menudo en la industria como suavizador y aclarador de carnes y en la industria de cervezas [11]. En la industria de las cervezas se utiliza para evitar clarificar y evitar la sedimentación durante su procesamiento.

2.4.3 Producción mundial

Tomando en consideración los beneficios nutritivos y ventajas comerciales en la producción de papaína y con la facilidad que se cosecha la papaya, se puede esperar que sea una fruta de alta producción mundialmente. Para el año 2005 la producción mundial de papaya fue de aproximadamente 8 millones de toneladas, para el año 2010 esa cifra aumentó considerablemente a unos 12 millones de toneladas [Tabla 10].

Tabla 10. Producción de Papaya (2005 al 2010).

Año	Toneladas
2010	11,568,346
2009	11,123,396
2008	10,295,856
2007	9,839,781
2006	9,167,111
2005	8,316,472

Los principales productores de papaya son países con clima tropical y cálido, clima que cumple con los requerimientos de la planta para poder dar frutos buenos y de calidad [Tabla 11].

Tabla 11. Principales países productores de papaya en el 2010

País	Toneladas
India	4,196,000
Brasil	1,871,300
República dominicana	908,462
Nigeria	703,800
Indonesia	675,801
Puerto Rico	6,600

Fuente: FAO

2.5 Especies

Muchas especias tienen actividad antimicrobiana; entre las utilizadas en alimentos se encuentran por ejemplo la canela, mostaza, pimienta negra, cilantro, comino, orégano, romero, entre otras. Los compuestos presentes en especias que tienen actividad antimicrobiana son derivados simples y complejos del fenol. Los fenoles son compuestos orgánicos que en sus estructuras moleculares tienen por lo menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos un grupo funcional. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas; estos son productos creados o sintetizados por las plantas, como resultado de su metabolismo. Ejemplos de metabolitos primarios son vitaminas, aminoácidos, nucleótidos, entre otros. Por otro lado, metabolitos secundarios pueden ser toxinas, antibióticos, fenoles, pigmentos entre otros. Básicamente los primarios son esenciales para el crecimiento del organismo, mientras que los secundarios no.

Las especias por lo general son raíces, semillas, hojas o frutos de plantas aromáticas que se añaden a los alimentos como agentes saborizantes. Sin embargo, no es secreto que las especias y sus aceites esenciales tienen diferentes grados de actividad antimicrobiana. Algunas especias inhiben el crecimiento de microorganismos. Generalmente son más efectivos las especias frente a organismos gram-positivos, que frente a bacterias gram-negativas. Dependiendo de la especia será el nivel de efectividad como conservante. La canela y la mostaza tienen gran poder de inhibición de microorganismos. El cilantro, comino, orégano y romero poseen una actividad intermedia de inhibición. Por otro lado, la pimienta negra tiene un poder de inhibición débil [44].

A pesar de que las especias han sido estudiadas y reportadas por tener propiedades antimicrobianas una gran desventaja es que para que se obtenga ese efecto antimicrobiano se necesitan concentraciones altas de las mismas, lo que puede afectar de manera negativa el sabor de los alimentos.

2.6 Ajo

El ajo, *Allium savitum* es una hortaliza muy utilizada como saborizante y condimento en alimentos, además como remedio en la medicina natural. Es una planta familia de la cebolla. Sus hojas son planas y delgadas, pueden crecer hasta 30 cm de longitud. Las raíces alcanzan con facilidad profundidades de 50 cm. El bulbo (ajo), es blanco y está dividido en gajos que comúnmente son llamados dientes. Cada cabeza o bulbo puede contener de 6 a 12 dientes.

2.6.1 Propiedades medicinales

El ajo es una de las plantas medicinales más estudiadas, comúnmente se ha utilizado y todavía se continúa usando para tratar infecciones, resfriados, diabetes y enfermedades cardíacas. Clínicamente está siendo evaluada por su posible capacidad para bajar la presión sanguínea, colesterol y niveles de glucosa en la sangre. También es evaluada por posible prevención de cáncer [36].

En los Estados Unidos las condiciones cardiovasculares son la principal causa de muertes [37]. Muchas de estas son causadas por niveles altos de colesterol en la sangre. En un estudio realizado se tomaron 51 pacientes con condiciones del corazón y se trataron por

un año, a estos se le daba 300mg diarios de ajo en polvo en pastillas, el resultados fue que los niveles de colesterol disminuyeron [38]. Se ha reportado que el ajo previene condiciones cardiovasculares por varias razones una de ellas es por su capacidad antitrombótica y capacidad para evitar el aglutinamiento de plaqueta; esto es debido a que la alicina un compuesto que se encuentra en el ajo tiene actividad antitrombótica [39]. En relación al cáncer se cree que el ajo pueda tener algún efecto contra dicha enfermedad. Se han reportado bajas en cáncer del colon y estómago en personas que consumen proporciones altas de ajo [40]. Aunque no se conoce con exactitud el mecanismo de acción del ajo contra el cáncer se cree que puede ser debido a las siguientes [36]: regulación de la proliferación celular, aumento en apoptosis de células en tumores, bloqueo del ciclo celular y aumento en capacidad antioxidante.

2.6.2 Alicina

Durante muchos años las propiedades antimicrobianas del ajo han sido estudiadas, sin embargo no fue hasta el año 1944 que Cavallito y Bailey aíslan la alicina [12]. La alicina es el componente antimicrobiano que puede ser encontrado en el ajo. Este compuesto se puede describir como un aceite incoloro o amarillento, altamente aromático y el principal responsable del olor del ajo. El compuesto aparece o puede ser obtenido cuando el ajo se corta o es macerado, ya que se deteriora la integridad celular de las células del ajo donde se encuentra la alicina. Este compuesto es producido por la planta como mecanismo de defensa contra hongos, bacterias e insectos propios del suelo. La alicina es un compuesto que tiene gran efectividad contra un gran espectro de microorganismos Gram positivos y Gram negativo [12]. El mecanismo de la actividad antimicrobiana del ajo, se

basa en la inhibición de la actividad de enzimas como: fosfatasa alcalina, invertasa, ureasa y papaína, así como de enzimas sulfhidricas [43]. Se ha encontrado que el ajo inhibe el crecimiento de *Salmonella spp.* en alimentos [15]. En un estudio realizado, se demostró que extracto de ajo en un medio líquido tiene efecto contra *Salmonella hadar*. En dicho estudio se vio el comportamiento de la curva de crecimiento de la bacteria según la concentración de extracto de ajo. Resultó ser que en concentraciones de 12 – 13mg/ml la fase lag era más prolongada y al llegar a la fase estacionaria el conteo de células de *Salmonella hadar* era menor, que sin ninguna concentración aplicada del extracto. Además de esto, actividades enzimáticas y rupturas en las membranas celulares de *Salmonella hadar* fueron observadas [41].

2.6.3 Producción mundial

El ajo es una hortaliza muy consumida y es que dado el sin número de beneficios que posee, hacen de este alimento uno de gran valor no solo nutricional, sino también medicinal o curativo. El ajo una de las hortalizas más producidas en el mundo, para el año 2010 se produjo aproximadamente 23 millones de toneladas. Entre los principales productores se encuentran China e India [Tabla 12].

Tabla 12. Principales productores de ajo en el 2010

País	Toneladas
China	18,558,669
India	833,970
Republica de Korea	271,560
Egipto	244,626
Rusia	213,480

Fuente: FAO

2.7 Pimienta negra

Su nombre científico es *Piper nigrum* y es una planta oriunda de la India. *Piper nigrum* puede alcanzar hasta 10 m si no se poda. Sus tallos son largos son leñosos en la parte baja, pero en su parte alta se mantienen verdes. Esta planta es cultivada en zonas tropicales alrededor de todo el mundo. Los países de mayor producción son: India, Indonesia, Brasil, Malasia, Madagascar y México.

La pimienta negra, blanca y verde proviene de la misma planta solo varían en el estado en que estos granos son cosechados [42]. La pimienta verde son granos cosechados completamente inmaduros, la pimienta negra son los granos cosechados en un estado de maduración intermedio y la blanca proviene de los granos cosechados totalmente maduros. La pimienta negra es una excelente fuente de magnesio, hierro y vitamina K. Adicional es buena fuente de fibra dietaría [13].

En cuanto a usos medicinales se utiliza para aliviar el asma, tos, inflamación de la garganta y ayuda a la digestión. También se puede utilizar para dolores de dientes y dolores

musculares ya que actúa como un relajante muscular [13]. Un nuevo estudio realizado por el departamento de Ciencias del Núcleo de la Universidad de Oriente de Monagas, reafirma y revela que los extractos etanólicos, clorofórmico y acuoso de la pimienta negra actúa como antimicrobiano contra bacterias Gram Positivas y Gram Negativas, especialmente contra *Escherichi coli* y *Proteus* [44]. La pimienta negra es una especia muy importante y muy consumida, específicamente en la preparación de alimentos o como condimento de los mismos. La aplicación de esta especia a la lámina comestible tiene como objetivo o función dar un sabor agradable al ser combinada con el ajo.

2.8 Romero

El romero, *Rosmarinus officinalis* es una planta muy aromática de hojas audas y es oriunda de la región mediterránea. Tiene una aroma parecida al pino. Las hojas del romero son utilizadas en la preparación de alimentos. El romero es muy versátil y tiene diversas aplicaciones y usos: se puede utilizar para marinar carnes, darle sabor a vegetales y en la preparación de salsas. El romero es digestivo y antiespasmódico y tiene propiedades coleréticas. El efecto favorable que ejerce en la digestión es debido a que actúa en varios niveles. Primero, estimula la producción de los jugos gastrointestinales. Segundo, relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones. Al relajar las cardias que es la parte del estómago que une con el esófago, promueve la expulsión de gases del tubo digestivo y secreción de bilis. El romero también tiene un efecto diurético, antiinflamatorio y antioxidante. Algunos estudios han permitido demostrar que el aceite esencial, algunos extractos y algunos de sus componentes, relajan los músculos lisos traquiales, intestinales y vasculares de distintos animales de

experimentación [45]. Se ha encontrado que el romero tiene propiedades antimicrobiales y atrasa el crecimiento de microorganismos que pueden crecer en algunos alimentos, teniendo hasta un 75% de inhibición bacteriana [15]. Esto principalmente en alimentos en el que las bacterias gram + son el problema principal, por ejemplo, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* [16].

Existen poco estudios enfocados a entender cuál es el mecanismo de inhibición microbiana de las especias pero se cree que la actividad microbiana es afectada por algunas especias debido a que estas deterioran algunos complejos enzimáticos que son esenciales para la producción de energía y componentes estructurales que las células necesitan para proliferar.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Obtención de la materia prima

Las pechugas de pollo deshuesadas y sin piel utilizadas en el estudio fueron compradas en un supermercado local. Se compraron en bolsas de 4lbs de una marca comercial. El limón igualmente se obtuvo en un supermercado local pero producidos en Adjuntas, PR. La papaya fue comprada en la plaza del mercado del municipio de Mayagüez, PR. El ajo y la pimienta negra granulada se compraron en un supermercado local.

3.2 Preparación de la materia prima

3.2.1 Preparación de las pechugas

Las pechugas se descongelaron durante 24 horas a temperatura de refrigeración (2 - 6°C) facilitando así la aplicación de la lámina y posterior análisis.

3.2.2 Preparación de jugos

En la preparación de los jugos de limón y papaya, como primer paso se realizó un escogido visual de las frutas con mejor calidad, maduras y que no presentaran algún golpe o daño físico. Las frutas fueron lavadas en una solución de agua con cloro (10 gotas de cloro/ 1000ml de agua destilada, una solución 25 ppm). Las frutas se dejaron por un periodo de 10 minutos en la solución higienizante y luego fueron enjuagadas en agua destilada por 10 minutos adicionales. Se procedió a obtener los jugos de las frutas los cuales se almacenaron a temperatura de refrigeración. El jugo de limón se obtuvo utilizando un exprimidor manual. Para obtener el jugo de papaya las frutas fueron peladas y cortadas en trozos rectangulares para facilitar la extracción del jugo utilizando una máquina de extracción de jugos (modelo Hamilton Beach) se obtuvo el jugo de papaya. Los jugos

fueron obtenidos siempre el día antes de la elaboración de las láminas y almacenados en temperatura de refrigeración.

3.2.3 Preparación de las láminas.

La lámina comestible se preparó al colocar en un “Beaker” de 1000ml las cantidades necesarias de agua o jugo, metilcelulosa y glicerol, en ese orden (Tabla 13). Una vez todos los componentes fueron mezclados, se agitó y calentó 15 minutos a una temperatura de 70°C , ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) [14]. Se dejó enfriar a temperatura ambiente por 15 minutos.

Ciertas variaciones en la preparación de las distintas láminas fueron realizadas. Las láminas de limón y papaya el agua fue sustituida en su totalidad por el jugo de limón o de papaya, según correspondía. Para las láminas de ajo con pimienta negra y romero se utilizó agua en la preparación de la misma. El ajo y las especias fueron añadidos al final de la preparación de una vez pasado el tiempo de enfriamiento. En el caso de la lámina de ajo y pimienta negra se aplicó 25g y 2g, respectivamente. En la lámina de romero se aplicó 25g de la especia.

Tabla 13. Componentes para la elaboración de las láminas base

Componentes	Cantidad (ml)
Agua	462.5
Metilcelulosa	25
Glicerol	12.5

3.2.4 Aplicación de la lámina a las pechugas

Una vez formada la lámina se colocó en un recipiente limpio de plástico. Las pechugas fueron sumergidas por un periodo de 30 segundos en la solución de lamina comestible. Al finalizar el tiempo de aplicación las pechugas fueron almacenadas en recipientes de plástico por separado a temperatura de refrigeración (2-6⁰C).

3.3 Análisis químicos

Los análisis químicos realizados a las muestras fueron determinación de pH y actividad de agua (a_w). Ambos fueron realizados tres veces por cada lámina evaluada. Los análisis fueron realizados los días 0, 5 y 10 de almacenamiento de las pechugas.

3.3.1 Determinación de pH

La determinación de pH se realizó utilizando un medidor de pH marca Sartorius Docu – pHmeter, calibrado con soluciones de valores de pH de 4,7 y 10. Para realizar el análisis, en un tubo de ensayo de plástico de 50ml se colocaron 5 gr de muestra con 5 ml de agua destilada. La muestra fue macerada y agitada por un periodo de 1 minuto y posteriormente se tomó la lectura de pH.

3.3.2 Determinación de Actividad de Agua (a_w)

El valor de a_w se determinó luego de 0, 5 y 10 días de almacenado el producto. Para estos valores se tomaron 5gr de cada muestra, se colocaron en envases plásticos previamente rotulados y compatibles con el higrómetro utilizado (modelo Decagon). El higrómetro fue calibrado utilizando agua destilada previo a tomar los valores de a_w .

3.4 Análisis microbiológicos

El efecto de la lámina comestible sobre el crecimiento de bacterias aerobias y *Salmonella spp.* fue evaluado. Para ello se tomaron muestras al azar y se les realizaron los análisis microbiológicos según los procedimientos descritos en el Bacteriological Analytical Manual (BAM) para la detección de aerobios y *Salmonella spp.* [19]. Se tomaron 25g de las pechugas con láminas y una control sin lámina y se mezcló en 225ml de agua peptonada al 0.1%. Todos los procedimientos a seguir se encuentran en el BAM, capítulo 3 para aerobios y capítulo 5 para *Salmonella spp.* Los análisis fueron realizados en triplicado luego de 0, 5 y 10 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

3.4.1 Conteo de aerobio

Para el conteo de aerobios se utilizó el medio de cultivo Plate Count Agar (PCA) incubado por 24 horas a 35 °C [17]. Al finalizar el periodo de incubación se observaron los platos para detectar presencia y hacer conteo de colonias.

3.4.2 Salmonella

Para la detección de *Salmonella spp.* en el producto se tomó 25 gramos de la muestra y homogenizó con 225ml de agua peptonada (0.1%). La muestra homogenizada se incubó 24h / 35 ° C. Luego de 24 horas se prepararon dos caldos de enriquecimiento selectivo: Tetracionato (TT) y Rappaport – Vassiliadis (RV). Se añadió 1 ml de la muestra en el caldo Tetracionato y 0.1 ml para el caldo Rappaport Vassiliadis y se agitaron en un vortex. Los caldos luego fueron incubados por 24 h, el TT se incubó a 43 ° C, mientras que el RV se incubó a 42 ° C. Al finalizar el periodo de incubación cada tubo de caldo inoculado se utilizó para hacer un estriado en tres medios de cultivo selectivos: Hektoen Enteric Agar (HE), Bismuth Sulfite Agar (BS) y Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD). Después del estriados los platos fueron incubados por 24h/ 35 ° C. Se evaluaron todos los platos para detectar posible presencia de colonias típicas de *Salmonella spp.* según el medio luego de 24 horas. Las colonias típicas o atípicas para los distintos medios selectivos se describen en la Tabla 14.

Tabla 14. Descripción de colonias para *Salmonella spp.*

Medio	Típica	Atípica
Hektoen Enteric Agar	azul – verdes o azules con o sin centros negros	amarillas con o sin centros negros
Bismuth Sulfite Agar	marrón, gris o negras	Verde
Xylose Lysine Desoxycholate Agar	rosa con o sin centros negros	amarillas con o sin centros negros

Se procedió a inocular tubos de Triple Sugar Iron Agar (TSI) y Lysine Iron Agar (LIA) con colonias típicas o atípicas de los medios selectivos BS, HE Y XLD. En el caso de TSI se realizó un estocado y estriado, mientras que en LIA se hizo un doble estocado y estriado, para luego ser incubados 24h / 35 ° C. Al finalizar la incubación se observan los tubos para confirmar presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en las muestras [18]. El medio TSI, contiene tres azúcares: lactosa, sucrosa y glucosa. Para este medio una superficie roja es indicativa de que no hubo fermentación de lactosa o sucrosa, mientras que un fondo amarillo es indicativo de que hubo fermentación de glucosa y por ende presencia de *Salmonella spp.* El medio TSI además contiene sulfato ferroso (FeSO_4). *Salmonella spp.* tiene la capacidad de reducir sulfato (SO_4) a sulfato de hidrogeno (H_2S) . Este H_2S reacciona con hierro (Fe) para formar sulfato de hierro (FeS) un compuesto color negro. La formación de un precipitado color negro indica la presencia de H_2S . El medio LIA, también nos permite determinar si hay producción de H_2S . A diferencia de TSI que contiene FeSO_4 , LIA contiene citrato férrico () como indicador de H_2S .

3.5 Pruebas de terneza objetiva (WBS)

Para la determinación de terneza objetiva se midió con el Warner-Bratzler Shear (WBS). Esta se llevó a cabo según lo establecido por la Asociación Americana de Ciencia y Tecnología de la Carne (“American Meat Science Association”). Se utilizó un Warner-Bratzler (marca Salter, modelo 3000), el cual mide terneza en forma objetiva mediante un dinamómetro que registró la fuerza ejercida sobre la muestra de carne para romperla. Para determinar la terneza objetiva se utilizaron muestras de carnes cocidas y se utilizó un sacabocado con un diámetro de 1.27cm. Se obtuvieron tres muestras por pechuga, a favor

de la fibra muscular sin tejido conectivo o grasa visible. Cada muestra de carne se colocó de forma perpendicular a la chuchilla del equipo. Se tomaron tres lecturas de la fuerza requerida para realizar cada corte (kg).

3.6 Panel sensorial

Un panel sensorial evaluó dos aspectos de las pechugas: la ternura subjetiva de las pechugas cocidas con los distintos tratamientos y el sabor de las pechugas con sus distintos tratamientos. Ambas cualidades fueron evaluadas entorno a la preferencia de los panelistas participantes.

3.6.1 Parte # 1: Evaluación de ternura

En la evaluación de ternura subjetiva se buscaba es identificar cuál de los distintos tratamiento tiene algún efecto en esta. Los panelistas masticaron las muestras y las colocaron en orden de preferencia las cuatro muestras de pechugas con los distintos tratamientos, siendo 4 la más preferida y 1 la menos preferida.

3.6.2 Parte # 2: Evaluación de sabor

El panel sensorial buscó identificar la preferencia de los panelistas entorno al sabor que las láminas otorgan a las pechugas. Se le brindo a cada panelista una muestra de pechuga para cada tratamiento. Luego cada panelista ingirió y coloco en orden de preferencia las muestras otorgadas, siendo 4 la más preferida y 1 la menos preferida.

Hoja del Panelista

Recinto Universitario Mayagüez
Ciencia y Tecnología de Alimentos
Prueba de ordenamiento
Pechugas de pollo

No. panelista: _____

Fecha: _____

Instrucciones: Se les estará entregando cuatro muestras de pechuga de pollo identificadas con números aleatorios. Manténgalo en el orden provisto. Escriba los números de la muestra en los espacios provistos abajo. Entre muestras tome un poco de agua y galleta de soda para limpiar sus receptores. Evalué las muestras de izquierda a derecha y determine el orden de su preferencia en términos de ternéz y sabor. Para determinar ternéza favor de masticar las muestras con las muelas, luego puede proceder a ingerir el alimento y determinar su preferencia en sabor. Asigne 1 a la muestra que menos prefiere y 4 la muestra que más prefiere. No asigne el mismo valor a más de una muestra. **(1= menos preferido, 4=más preferido)**

Muestra	Preferencia (ternéza)	Preferencia (sabor)
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Comentarios:

3.7 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos de los datos obtenidos fueron llevados a cabo utilizando los programas de Excel e Infostat. Los resultados se analizaron con un análisis de varianza considerando las láminas comestibles (4 tratamientos: limón, papaya, romero y ajo con pimienta negra) y el periodo de almacenamiento (0, 5, 10 días) a temperatura de refrigeración. Las diferencias estadísticas se analizaron con la prueba Tukey a una probabilidad de 95% ($P \leq 0.05$).

4. Resultados y Discusión

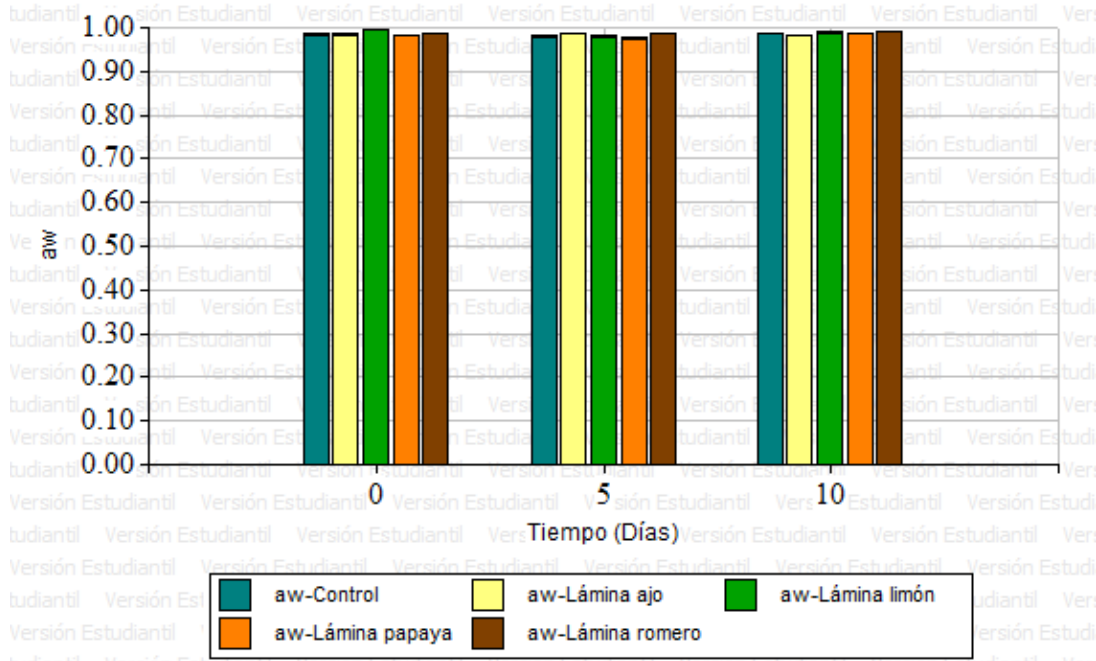
El objetivo principal de este estudio fue el desarrollar una serie de láminas comestibles de diferentes sabores: con limón, papaya, ajo y pimienta negra y romero, para preservar pechugas de pollo deshuesadas y sin piel. Además, se buscó determinar los efectos en el largo de vida útil que tienen las distintas láminas comestibles en este producto.

Objetivos específicos:

1. Determinar recuento aerobios totales en pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
2. Determinar presencia o ausencia de *Salmonella spp.* en pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
3. Evaluar el efecto de las láminas comestibles en los factores fisicoquímicos de pH, terneza y a_w en las pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.
4. Llevar a cabo un panel sensorial para determinar diferencias en sabor y terneza de las pechugas deshuesadas tratadas con láminas comestibles.

4.1 Actividad de agua

Grafica 1. Relación entre a_w y tiempo de almacenamiento en pechugas de pollo deshuesadas con los tratamientos.



La actividad de agua se define como la relación entre la presión de vapor de agua del alimento (P) y la presión de vapor del agua pura (P_o) [Figura 3]. Este valor nos indica o nos da una idea del agua libre que tiene un alimento. Esta agua libre está disponible metabólicamente para el desarrollo de microorganismos, por eso en algunos alimentos es de gran utilidad bajar este parámetro para preservarlos mejor.

Figura 3. Formula de actividad de agua.

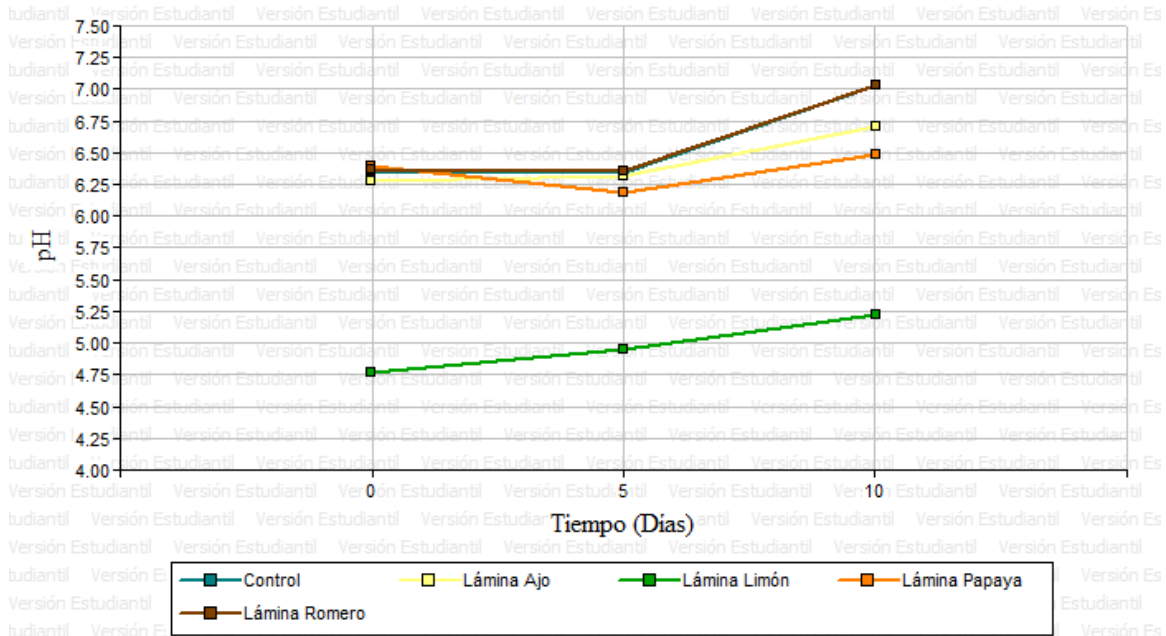
$$A_w = P / P_o$$

Al bajar el a_w de un alimento se alarga la fase “lag” de crecimiento microbiano y/o disminuir o acortar el periodo de crecimiento microbial. Por lo general las bacterias

requieren niveles de a_w más altos que hongos. La mayoría de bacterias que afectan a los alimentos no crecen en valores menores de 0.91, las levaduras no proliferan en valores menores de 0.88, pero los hongos pueden tolerar valores tan bajos como 0.80. Los resultados de actividad de agua en las pechugas deshuesadas no mostraron cambios significativos. Los valores de actividad de agua de carne de pollo por lo general fluctúan entre 0.98 – 0.99. Como se puede apreciar en la gráfica 1 queda muy claro que los valores de a_w de las pechugas control y las pechugas bajo tratamiento quedaron prácticamente con los mismos valores. Todos los valores obtenidos estuvieron entre 0.975 – 0.994. En específico las pechugas control obtuvieron valores entre 0.979 – 0.986, las muestras con láminas de limón obtuvieron valores entre 0.979 -0.994, muestras con láminas de papaya dieron valores entre 0.975 – 0.987, pechugas con láminas de ajo con pimienta negra arrojaron valores entre 0.984 – 0.985 y por último las pechugas con láminas de romero dieron valores entre 0.985 – 0.990. Desde el punto de vista microbiológico estos valores representan una gran disponibilidad de agua para que bacterias o microorganismos realicen sus reacciones metabólicas y crezcan. Valores de 0.86 o menos garantizan que un gran número de bacterias no proliferarán en el alimento [5]. Por lo tanto, podemos decir que los tratamientos aplicados a las pechugas no alteraron en nada la actividad de agua en las mismas. Solo hubo diferencias significativas en los valores obtenidos de dos pechugas, estas fueron: la lámina de papaya en el día cinco de análisis y la lámina de limón en el día cero de análisis. En el resto de las pechugas tratadas no hubo diferencia significativa entre sus valores de actividad de agua (a_w).

4.2 pH

Grafica 2. Relación entre pH y tiempo en pechugas con distintos tratamientos



La escala de pH es una logarítmica, lo que implica que si se baja una unidad en la escala significa diez veces un aumento en acidez. Para dar un ejemplo, el pH del vinagre es 2 y el del jugo de china es 3, esto significa el vinagre es diez veces más ácido que el jugo de china. El pH es una medida de iones de (H^+) libre en una solución. Los iones de (H^+) controlan los niveles de acidez y (OH^-) los niveles de alcalinidad. Cuando estos dos iones están en equilibrio se dice que la solución esta neutral. Entonces, si $(H^+) > (OH^-)$ la solución es acida, si $(OH^-) > (H^+)$ la solución es alcalina o básica [53].

El análisis de los datos obtenidos de pH mostró que hubo diferencias significativas entre las láminas utilizadas. Se pudo observar que la lámina de limón fue la que mayor efecto tuvo en el pH de las pechugas. El pH del limón es de aproximadamente de 2.3.

Debido a la alta acidez del limón se pudo notar una reducción significativa en el pH de las pechugas tratadas con la lámina de limón. Si comparamos este pH de las pechugas con las láminas de limón con las pechugas control podemos ver que la disminución del valor de pH fue casi de dos unidades. Los valores de pH para las pechugas control fueron entre 6.34 – 7.03, contra 4.77 – 5.22 de las pechugas con láminas de limón. Un pH de 4.0 o menos hubiese sido muy bueno ya que prácticamente eliminamos el riesgo de crecimiento de la mayoría de bacterias que afectan a los alimentos y el crecimiento de *Salmonella spp.* Esperábamos obtener un pH más bajo para las pechugas que fueron tratadas con las láminas de limón; sin embargo esto pudo verse afectado por razones como: el tiempo de “dipping” de las pechugas en la lámina, la capacidad amortiguadora de las carnes y el grosor de las pechugas.

En este proyecto la aplicación de la lámina se llevó a cabo sumergiendo las pechugas en un envase que contenía la lámina líquida. El tiempo de aplicación fue de 30 segundos, es muy probable que si el tiempo de aplicación se alarga los valores de pH de las pechugas pueden ser menores dado que podríamos entender que a mayor tiempo de sumersión mayor será la absorción que tendrá la pechuga de la lámina líquida.

El alto valor proteico de las pechugas también podría explicar la razón por la cual se obtuvo un valor de pH un poco más alto de lo esperado. Las proteínas tienen un comportamiento anfótero y esto las hace capaces de neutralizar las variaciones de pH del medio en que se encuentren, ya que pueden comportarse como un ácido o una base y por tanto liberar o retirar protones (H^+) del medio donde se encuentran. Cuando se dice que tienen un

comportamiento anfótero significa que se comportan como ácidos o como bases según el pH del medio. Si el medio es ácido se comportan como bases y el grupo $-\text{COO}^-$ capta un (H^+) . En medio básico el grupo $-\text{NH}_3^+$ libera un (H^+) [6].

La tercera razón que pudo haber afectado los valores es el grosor de las pechugas quizás en investigaciones futuras si se realizan pruebas en pechugas de menor grosor se puede lograr bajar el pH de las mismas aún más. Primero se puede decir que la lámina es una protección superficial, si se disminuye el grosor menor será el contenido proteico de las pechugas, menor será el efecto amortiguador de las mismas al pH y podría haber una mayor absorción.

Las láminas hechas a base de jugo de papaya, no bajaron significativamente el pH de las pechugas. De hecho, no se esperaba que bajara tanto el pH, pues la papaya no es una fruta con alta acidez. El pH de la papaya es de aproximadamente 5.2 – 5.5 [52]. Aunque si la lámina de papaya logró bajar muy poco el pH de las pechugas no logró llegar a una acidez donde se inhiba con efectividad el crecimiento de microorganismos. Los valores de pH de las pechugas con la lámina de papaya estuvieron entre 6.18 – 6.48. Estos valores son levemente ácidos y no son suficientemente bajos o ácidos para poder tener un efecto de preservación efectivo.

Las láminas de romero y ajo con pimienta negra no mostraron una reducción en el pH de las pechugas. Si comparamos los tratamientos en la gráfica 2, se puede ver claramente que la diferencia entre los dos tratamientos anteriormente mencionados y las pechugas

control es muy poca. Los valores de las pechugas control estuvieron entre 6.34 – 7.03, mientras que los valores de las pechugas con láminas de romero y de ajo con pimienta negra estuvieron entre 6.35 – 7.03 y 6.28 – 6.70, respectivamente. El propósito de estas láminas realmente no era aumentar la acidez de las pechugas, estas láminas se estudiaron para evaluar la efectividad de los agentes antimicrobiales del ajo y el romero.

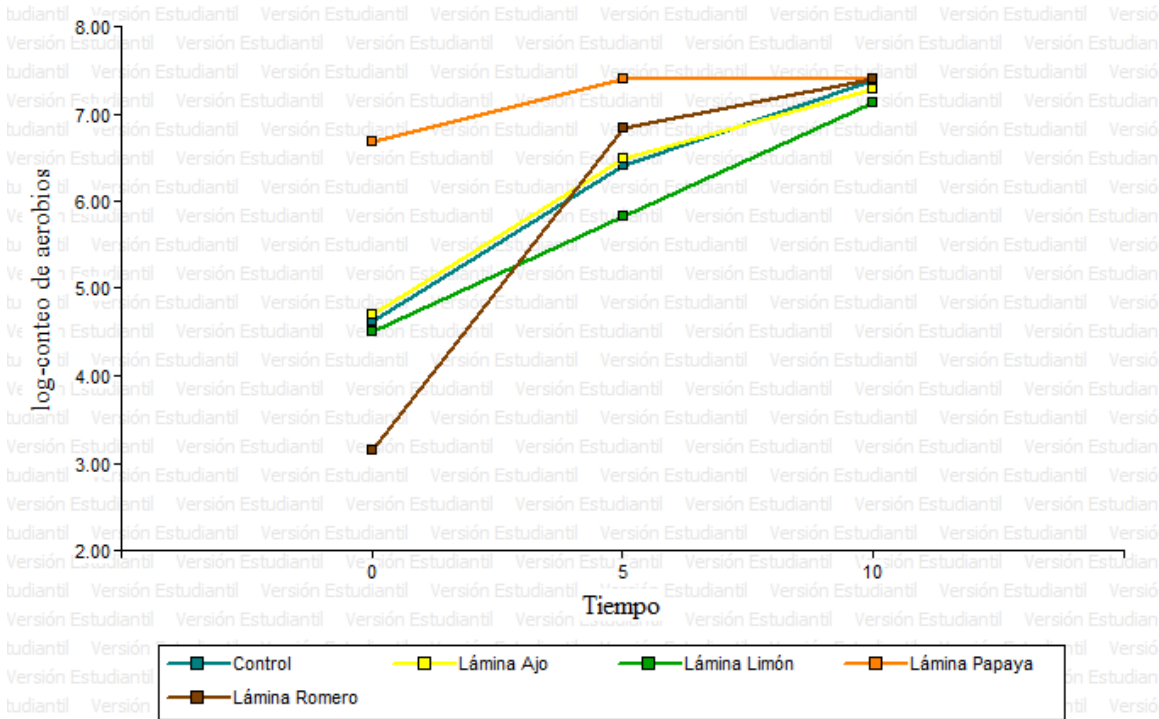
4.3 Conteo de aerobios

El agar de recuento total (“plate count agar”) es un medio muy utilizado y recomendado para realizar análisis microbiológicos en alimentos, productos lácteos y agua. Este medio está compuesto por los siguientes:

- Caseína (5g/L)
- Extracto de levadura (2.5g/L)
- Dextrosa (1g/L)
- Agar (15g/L)

La caseína provee los aminoácidos necesarios para que crezcan los microorganismos o bacterias, el extracto de levadura provee el complejo de vitaminas B y la dextrosa es una fuente de energía. El agar no tiene ningún valor nutricional solo es utilizado para lograr obtener un medio semisólido [54]. El medio ya finalizado tiene un pH de 7; un medio neutral nos garantiza que un sinnúmero de bacterias pueden crecer en el mismo. Con este análisis se observa la carga microbiana de las pechugas en un tiempo determinado y se puede comparar si alguno de los tratamientos tiene un efecto en las pechugas tratadas. Si se logra bajar el conteo de bacterias en las pechugas es probable que se puedan preservar mejor y alargar la vida útil de las mismas.

Grafica 3. Recuento de aerobio durante tiempo de almacenamiento en pechugas tratadas (escala logarítmica).



Al observar la gráfica se puede ver con claridad que el conteo de aerobios tiende a aumentar a medida que pasa el tiempo de almacenamiento. Este comportamiento es normal dado a la disponibilidad de alimento y alta actividad de agua habrá crecimiento microbiano. En el día 0 de análisis los resultados obtenidos fueron similares para todos los tratamientos con excepción del tratamiento con láminas de papaya. Los conteos fueron los siguientes (valores en escala logarítmica): 4.62 log ufc/g para pechugas control, 4.50 log ufc/g para pechugas con láminas de limón, 6.67 log ufc/g para pechugas con láminas de papaya, 4.69 log ufc/g para pechugas con láminas de ajo y 3.15 log ufc/g para pechugas tratadas con láminas de romero. Si observamos las gráficas previamente provistas se puede identificar que para el primer día de análisis (día 0) el conteo de aerobios de las pechugas tratadas

con las láminas de papaya tuvo una diferencia bastante marcada en comparación con los demás tratamientos que obtuvieron conteos más reducidos. La papaya provee a la lámina una alta concentración de azúcares que pueden ser utilizados como alimento o fuente de energía por las bacterias y si tomamos en consideración que no es una fruta con alta acidez, pudo favorecer un mayor crecimiento de los microorganismos. El contenido de carbohidratos y azúcares en la papaya es de 9g y 6g, respectivamente. El pH de la fruta oscila entre 5-6 [10]. Es interesante que el conteo obtenido como resultado de las láminas de romero fueron tan bajos, lo que me puede llevar a pensar que el efecto antimicrobial del romero tuvo un efecto muy rápido en las bacterias presentes en las pechugas en ese momento.

En las pechugas que fueron tratadas con las láminas de papaya ya para el día cinco de análisis los conteos de aerobios sobrepasaban los 7.40 log ufc/g. Si comparamos estos resultados con las demás pechugas en los distintos tratamientos, incluso con las pechugas control vemos que para el día cinco los conteos dieron muy altos. Las pechugas control para el día cinco tuvieron conteo de 6.40 log ufc/g, este valor está muy distante al de las pechugas tratadas con láminas de papaya, por lo que puedo decir que para efectos de este trabajo las láminas de papaya no tuvieron efecto positivo en la preservación de las pechugas. Los restantes valores de los distintos tratamientos para el día cinco de análisis fueron los siguientes: 5.83 log ufc/g para pechugas tratadas con láminas de limón, 6.48 log ufc/g para pechugas tratadas con láminas de ajo y 6.84 log ufc/g para pechugas con láminas de romero. En el día cinco, la lámina que mejor resultado obtuvo fue la de limón que mantuvo considerablemente los conteos por debajo de los de las pechugas control. El

tratamiento con láminas de ajo mantuvo el conteo de aerobios prácticamente igual que las pechugas sin tratamiento o control. Los restantes dos tratamientos (papaya, romero) obtuvieron resultados por encima del control. La lámina de romero en el día cero logró dar resultados o conteos bien bajos pero ya para el día cinco de análisis, el crecimiento fue bastante marcado, si la comparamos con las láminas de ajo y de limón. Posiblemente el efecto antimicrobial del romero tiene menor tiempo de duración o efectividad que las láminas de ajo y limón. También puede ser muy probable que se necesite una concentración mayor de romero para obtener un efecto antimicrobial más potente. En un estudio realizado por Castaño y colegas, (2009) [55] se mostró que el aceite esencial de las hojas de romero tienen un amplio espectro de acción antimicrobiana en contra de bacteria gram positiva y gram negativas. En dicho estudio se observó que el aceite esencial del romero tiene actividad antimicrobiana contra *S. sonnei*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* y *E. coli*. Bien es cierto que en este proyecto no se utilizó el aceite esencial de romero, en la investigación se utilizó solo con la hoja seca. El uso de la hoja seca mostró una disminución en el conteo de aerobios en el tiempo cero, pero en los próximos días de análisis (5 y 10) su efectividad no fue tan marcada y la población bacteriana aumentó bastante. En investigaciones futuras puede resultar exitoso tratar de integrar el aceite esencial a la formulación de la lámina.

Para el último día de análisis (día 10), se observó que las pechugas con láminas de papaya y romero obtuvieron conteos superiores a 7.40 log ufc/g. Estos son valores muy elevados, curiosamente fueron conteos mayores que los de las pechugas control (7.38 log ufc/g). No se esperaba en ninguna de las pechugas con tratamientos, que sus conteos fueran mayores a los de las pechugas sin ningún tipo de tratamiento. Tomando en cuenta que todas

las pechugas y láminas fueron tratadas bajo las mismas condiciones, puedo sugerir varias explicaciones a lo ocurrido. La primera es que el efecto antibacterial de la lámina de romero o la acidez en la lámina de papaya no fueron lo suficientemente fuertes para contrarrestar el crecimiento de bacterias en las pechugas. Anteriormente se mencionó que la papaya no es una fruta de alta acidez (pH 5-6) y además provee azúcares a la lámina que pueden ser utilizados por bacterias para su crecimiento. En el caso de la lámina de romero se vio un efecto en el primer día de análisis, luego no fue factor para inhibir el crecimiento de bacterias. Por otro lado, las pechugas tratadas con las láminas de limón y ajo mostraron resultado positivo. El conteo final para el día diez de análisis para la lámina de ajo fue 7.29 log ufc/g. Al comparar con las láminas de papaya y romero, puedo decir que fue un tratamiento efectivo pues mantuvo por debajo de las 7.40 log ufc/g de los tratamientos de romero y papaya, también de los 7.38 log ufc/g de las pechugas control. El ajo como fue mencionado anteriormente contiene alicina. El aceite se obtiene cuando se corta el ajo, debido a que se deteriora la integridad celular, donde se encuentra la alicina. La planta misma produce esta sustancia como protección contra insectos, bacterias y hongos. Por lo tanto ese mismo efecto es el que debió haber bajado el conteo de bacterias en las pechugas y evito que los conteos sobrepasaran las 7.40 log ufc/g. Este compuesto se puede describir como un aceite incoloro o amarillento, altamente aromático y el principal responsable del olor del ajo. El mecanismo de la actividad antimicrobiana del ajo, se basa en la inhibición de la actividad de enzimas [43].

De todas las láminas bajo estudio la de limón fue la más efectiva. A diferencia de otras láminas estudiadas el limón no posee agentes antimicrobiales, pero su alta acidez es

su mayor protección. El pH del limón es aproximadamente de 2, lo que hace sumamente difícil el crecimiento de bacterias en el mismo. Precisamente la acidez del limón se vio reflejada en los conteos finales de las pechugas tratadas con las láminas de limón. El pH final de las pechugas tratadas con las láminas de limón fue de 4.8 en promedio y obtuvo un conteo de bacterias aerobias de 7.13 log ufc/g aproximadamente. Este valor fue el menor obtenido en el análisis de conteo de bacterias aerobias.

4.4 Salmonella spp.

Salmonella es el nombre (género) para un gran grupo de bacterias. Estas pueden causar una infección gastrointestinal conocida como salmonelosis. *Salmonella spp.* es una bacteria que se encuentra comúnmente en aves por lo tanto la carne de pollo es un alimento que a menudo posee la bacteria causando de esta manera la infección. La salmonelosis puede contraerse por medio de alimentos si estos no son bien cocinados y se consumen, o si son contaminados luego de ser cocidos. Generalmente los síntomas comienzan de 12 – 72 horas luego de haber ingerido la bacteria o alimento contaminado. Los síntomas más comunes son: dolor abdominal, dolor de cabeza, fiebre y diarrea severa. En algunos casos puede causar náuseas y vómitos. La salmonella se asocia con alimentos crudos provenientes de animales, como: huevos y productos elaborados a partir de huevos, carne, productos cárnicos, leche no pasteurizada. Además se puede encontrar en las heces de humanos y animales. En este estudio se realizaron pruebas de detección de Salmonella en pechugas deshuesadas.

La “Food Safety and Inspection Services” (FSIS) del United States Department of Agriculture (USDA) ha estado estableciendo algunos requerimientos aplicables a carne de

pollo. Estos requisitos están designados para disminuir la ocurrencia y el número de microorganismos patogénicos en las carnes; esto con el fin de reducir los casos de enfermedades transmitidas por alimentos. También requiere a establecimientos de matanza realizar pruebas microbiológicas para verificar y monitorear los procesos. Estos ayudarán a la prevención y eliminación de contaminación fecal y sus bacterias asociadas [57].

- Implementación de “Sanitation Standard Operating Procedures” (SSOP)
- Pruebas microbiológicas
- Estándares reducción de patógenos (*Salmonella spp.*)
- Implementation de “ Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP)”

Los SSOP son requeridos por el USDA en plantas de producción de alimentos y se considera un programa prerequisite de HACCP. SSOP son una serie de pasos detallados que se deben seguir para garantizar una limpieza adecuada tanto en el área de producción de los alimentos, como en las áreas de contacto directo con los mismos. El propósito es evitar la contaminación y/o adulteración de los alimentos.

El llevar a cabo pruebas microbiológicas en establecimientos o plantas procesadoras de alimentos brinda una idea más certera de los niveles de contaminación microbiológica. Luego se puede pasar a tomar medidas y acciones correctivas para resolver el problema. En plantas procesadoras estándares para la reducción de *Salmonella spp.* deben ser desarrollados e implementados. Hay que tener en consideración que esta es una bacteria ampliamente distribuída en la naturaleza, humanos y sobre todo en animales. El habita

principal de *Salmonella spp.* es el tracto gastrointestinal de aves y animales de granja, lo que hace la carne de pollo un alimentos con alta probabilidad de presencia de *Salmonella spp.* Por tal razón, es muy importante establecer estándares para la reducción de *Salmonella spp.* en establecimientos de matanza, especialmente en pollos. Debido a que la bacteria por lo general se encuentra en el tracto gastrointestinal de los pollos, algunos puntos de interés para establecer estándares de reducción de patógenos (*Salmonella spp.*) deben ser: heces fecales, agua, alimentos, desplume, evisceración, entre otros.

El plan HACCP es un sistema preventivo de control para alimentos cuyo fin es la inocuidad de los mismos. El plan debe estar bien documentado y debe ser verificable para poder identificar peligros, medidas preventivas y los puntos críticos de control. La FSIS ha propuesto un programa para la reducción de patógenos en alimentos, esto con el propósito de asegurar la inocuidad de los alimentos y por tanto el bienestar del consumidor. El plan Reducción de Patógenos/HACCP fue propuesto debido a la importancia de corregir algunas deficiencias en sistemas de regulación e inspección en plantas o establecimientos que manejan o producen alimentos. Adicional, busca establecer medidas correctivas en casos donde problemas con bacterias patogénicas estén presentes en los alimentos. Una de esas bacterias patogénicas es precisamente *Salmonella spp.*

La mejor manera de prevenir o minimizar la enfermedades transmitidas por alimentos es manteniendo esfuerzos para mejorar la identificación de puntos críticos de control en procesos de alimentos. La FSIS propone tres medidas para tratar de controlar y/o reducir patógenos en alimentos [57].

- Implementación de SSOP
- Utilización de tratamientos antimicrobianos
- Crear estándares de enfriamiento y almacenamiento

La realidad es que no todo recae en desarrollar un plan de Reducción de Patógenos/HACCP, realmente la clave está en cumplir con los planes establecidos. Por ejemplo, estándares de: limpieza, somatización, procesamiento, enfriamiento, almacenamiento, entre otros. La FSIS establece claramente que HACCP combinado con buenas prácticas de manejo es la manera más efectiva para controlar y/o reducir el crecimiento de bacterias en carnes, bacterias que pueden causar daño a la población como *Salmonella spp.*

Si observamos los resultados encontrados con la lámina de limón, encontramos que si mostró acción contra *Salmonella spp.* La mayoría de los casos positivos se vieron en las pechugas sin tratamientos, mientras que las pechugas con tratamiento de lámina de limón no mostraron presencia de la bacteria o fue muy poca al compararla con la pechuga control y las otras laminas utilizadas.

La alta carga microbiana debe ser un factor determinante a la presencia de *Salmonelle spp.* ya que la competencia por los nutrientes (factor más importante) presentes en el medio es muy alta. La mayoría de los medios o ambientes poseen una gran diversidad de especies de microorganismos, estos para poder sobrevivir y proliferar tienen que competir por nutrientes, espacio, oxígeno, entre otros. La realidad es que esto es un factor

que no solo afecta a *Salmonella spp.* más bien afecta a cualquier especie de bacteria. Por consecuencia las bacterias que más rápido se adapten al ambiente y las que mejores mecanismos de defensas tengan son las que proliferarán. La movilidad, producción de agentes antimicrobiales como antibióticos, bacteriocinas y la tasa de crecimiento o reproducción de las bacterias son mecanismos que las bacterias pueden utilizar para obtener los nutrientes y espacios disponibles en el medio que se encuentren [56]. Con esto en mente se llega a una realidad expresada por el científico Charles Darwin “El más apto es el que sobrevive y se reproduce”.

En el día cero para la prueba Lysine Iron Agar (LIA) las pechugas tratadas con láminas de ajo y pimienta negra dieron resultados negativos en su mayoría. Solo se obtuvieron tres resultados positivos para *Salmonella spp.* dos de ellos fueron en la pechuga uno (P1) y el otro en la pechuga control. No obtener ningún resultado (+) en las pechugas con el tratamiento era lo esperado, sin embargo se vio que si fue posible para *Salmonella spp.* crecer en las pechugas con las láminas. Seguramente es una cantidad poco significativa para establecer una tendencia, pero nos demuestra que si es posible la presencia de la bacteria en las pechugas con la lámina de ajo y pimienta negra. En la prueba Triple Sugar Iron Agar (TSI) no se detectó presencia de la bacteria, la mayoría de los resultados fueron negativos (-) con algunos resultados donde no hubo crecimiento de colonias (nc). En esta prueba se puede notar que similar a la anterior los resultados negativos (-) fueron los que predominaron. Esto lo puedo interpretar de varias maneras: la primera es que el tratamiento si fue efectivo y entre las dos pruebas (LIA y TSI) solo se detectó dos resultados (+). El problema con asumir esto es que, de ese ser el caso la pechugas control o sin tratamiento

hubiesen tenido más resultados (+) a *Salmonella spp.* La segunda es que tanto los resultados (-) como los (nc) fueron debidos al factor competencia entre las bacterias presente en las pechugas y sucesivamente los medios de cultivo. Tercero, puede ser que en el día cero de análisis la gran mayoría de los microorganismos estén en fase “lag” y necesiten más tiempo para lograr alcanzar la fase logarítmica, es ahí donde se puede tener una idea más clara de la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* y la efectividad del tratamiento.

Los resultados del día cinco dan un panorama más certero del efecto de las láminas de ajo y pimienta negra. En el día cero de análisis la mayoría de los resultados fueron negativos y sin crecimiento en los platos, con muy pocos datos positivos. Entre las posibles explicaciones a lo ocurrido con los resultados del día cero, se mencionó que en el día cinco de análisis las bacterias muy probablemente estarían o habrían pasado su fase “log” lo que nos asegura que tuvieron el tiempo suficiente para que se desarrollaran y tendríamos un panorama más claro de la presencia o ausencia de *Salmonella spp.* y de la efectividad del tratamiento. En el día cinco de análisis en ambas pruebas confirmativas (LIA y TSI) se detectaron cantidades significativas de resultados positivos a *Salmonella spp.*

En el día diez de análisis predominaron resultados (-) y (nc), como se mencionó anteriormente se asume que es debido a la alta carga microbiana presente en las pechugas para dicho día de análisis, lo que aumenta la competencia entre microorganismo, por lo tanto mayor dificultad para *Salmonella spp.* mostrar algún tipo de crecimiento. Solo en la prueba confirmativa TSI se observó presencia de *Salmonella spp.* en la (P1). Al comparar la cantidad de datos (+) del día cinco con los del día diez se ve claramente una reducción. A

mi entender los distintos mecanismos que utilizan las bacterias para competir, entiéndase: antibióticos, bacteriocinas, motilidad, entre otras, son los responsables de la reducción en resultados (+) y por ende disminución de *Salmonella spp.* en las muestras.

En el primer día de análisis para las láminas de romero, las pruebas LIA y TSI en su gran mayoría mostraron resultados (-) a presencia de *Salmonella spp.*, con algunos resultados (nc). En esta ocasión entiendo que asumir que el romero pudo haber sido efectivo contra el crecimiento de *Salmonella spp.*, esto tomando en consideración que el conteo de aerobios en las pechugas para esta fecha fue muy bajito, ósea, la competencia bacteriana en este caso debió haber sido mínima. Es válido decir que el romero o mejor dicho la lámina de romero tiene un efecto muy rápido en el crecimiento de las bacterias, este comportamiento se vio y se discutió anteriormente en la discusión de conteo de aerobios para la lámina de romero, donde se vio una reducción bastante significativa en comparación con las demás laminas estudiadas. En el caso de los resultados (nc) pudo haber sido el resultado de los conteos de aerobios tan bajos.

En las pruebas del día cinco de análisis todos los resultados obtenidos fueron (nc). Los conteos de aerobios para el día cinco de análisis de las láminas de romero fueron muy altos, por lo que se asume que la competencia entre bacterias por el espacio y los nutrientes en los medios aumentó. Esto hace más difícil para *Salmonella spp.* proliferar en el caso de que haya habido presencia de esta en las pechugas.

Finalmente en el día diez de análisis fue más similar al día cero, en el cual los resultados obtenidos de las pruebas LIA y TSI fueron en su mayoría (-) con varios casos de (nc). La diferencia entre el día cero de análisis y el día diez es que en el primero se puede decir que los resultados fueron debido al conteo bajo de aerobios, mientras que en el día diez probablemente fue debido al alto conteo de aerobios en las pechugas, que aumenta grandemente la lucha entre las bacterias por los recursos disponible para desarrollarse.

4.5 Terneza

En esta prueba se pudo observar la fuerza requerida para el corte de la carne de pollo para cada tratamiento. A continuación en la tabla 14, se muestran las lecturas obtenidas para las pechugas cocidas con sus distintos tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla 15. Medidas de fuerza requerida para corte de pechugas cocidas.

Tratamiento	Promedio (kg)
Lámina limón	0.40 (A)
Lámina papaya	0.27 (A)
Lámina ajo/pimienta negra	0.33 (A)
Lámina romero	0.70 (A)

4.6 Panel sensorial

Se realizó un panel sensorial donde panelistas evaluaron ternura y sabor de las pechugas con los distintos tratamientos. Fue un panel bastante sencillo, en que los panelistas indicaron sus preferencias. A continuación los cálculos y resultados del panel sensorial:

Cálculos:

1) Valor experimental

- n = número de panelista
- t = número de tratamiento

*Ternura:

$$X^2 = \left(\frac{12}{nt(t+1)} \sum R_i^2 \right) - 3n(t+1)$$

$$X^2 = \left(\frac{12}{28 * 4(4+1)} (57^2 + 73^2 + 85^2 + 65^2) \right) - 3 * 28(4+1) = 8.60$$

*Sabor:

$$X^2 = \left(\frac{12}{28 * 4(4+1)} (54^2 + 58^2 + 92^2 + 75^2) \right) - 3 * 28(4+1) = 15.90$$

2) Valor teórico

CHIINV ($\alpha, t-1$), donde $\alpha = 0.05$ y $t = 4$

$$\text{CHIINV}(0.05, 4-1) = 7.815$$

Si el valor experimental es mayor al valor teórico se rechaza la hipótesis nula, lo que significa que hay diferencias entre tratamientos.

*Ternura: $8.60 > 7.815$ hay diferencia

*Sabor: $15.90 > 7.815$ hay diferencia

3) Prueba de Tukey (HSD)

$$HSD = q_{\alpha, t, \infty} \sqrt{\frac{nt(t+1)}{12}}$$

Nuevamente $\alpha = 0.05$ y $t = 4$. El valor de q se encuentra utilizando una tabla que das valores de q en distintos α , t , y grados de libertad.

$$q(0.05, 4, \infty) = 3.63$$

$$HSD = 3.63 \sqrt{\frac{28 * 4(4+1)}{12}}$$

$$HSD = 24.7$$

4) Determinación de diferencias

*Terneza:

$$|L - P| = |57 - 73| = 16 < HSD$$

no diferencia

$$|L - A| = |57 - 85| = 28 > HSD$$

diferentes

$$|L - R| = |57 - 65| = 8 < HSD$$

no diferencia

$$|P - A| = |73 - 85| = 12 < HSD$$

no diferencia

$$|P - R| = |73 - 65| = 8 < HSD$$

no diferencia

$$|A - R| = |85 - 65| = 20 < HSD$$

no diferencia

*Sabor:

$ L - P = 54 - 58 = 4 < \text{HSD}$	no diferencia
$ L - A = 54 - 92 = 38 > \text{HSD}$	diferentes
$ L - R = 54 - 75 = 21 < \text{HSD}$	no diferencia
$ P - A = 58 - 92 = 34 < \text{HSD}$	diferentes
$ P - R = 58 - 75 = 17 < \text{HSD}$	no diferencia
$ A - R = 92 - 75 = 17 < \text{HSD}$	no diferencia

Estos cálculos fueron realizados con el propósito de poder establecer diferencias significativas entre tratamientos según la preferencia de los panelistas. En los casos que hubo diferencias entre tratamientos, son indicativos de preferencias marcadas en las pechugas con los tratamientos.

Para la parte de terneza, luego de haber realizados todos los cálculos pertinentes, resultó que sólo hubo una preferencia marcada y significativa en las pechugas tratadas con láminas de ajo/pimienta negra sobre las pechugas tratadas con láminas de limón. En el resto de los tratamientos al compararlos no hubo una diferencia tan amplia o significativa como para poder decir que se prefirió la terneza de una muestra sobre otra.

El segundo aspecto evaluado por los panelista fue el sabor de las pechugas otorgadas en el panel. En esta evaluación se vieron marcadas preferencias entre las láminas de ajo/pimienta negra vs limón y en las láminas de ajo/pimienta negra vs papaya. Similar a la parte de terneza al comparar y evaluar las demás muestras con su respectivos tratamientos, se llegó a la conclusión que los valores obtenidos en cuanto a sabor se refiere, no son

suficientemente distintos como para poder decir que hubo una preferencia significativa en los tratamientos.

5 Conclusiones

El objetivo principal de la investigación fue desarrollar un producto nuevo a base de la aplicación de láminas comestibles de distintos sabores a pechugas deshuesadas con el propósito de alargarle la vida útil a las misma y a su vez tratar de controlar o eliminar presencia de *Salmonella spp.* Para determinar si se logró tal objetivo se realizaron análisis químicos de pH y a_w . También se realizaron análisis microbiológicos como conteo de aerobios y determinación de *Salmonella spp.* Secundario a extender el largo de vida útil de las pechugas, se buscó dar sabor a las pechugas: sabores a limón, papaya, romero y ajo con pimienta negra. Para esto se realizó un panel sensorial de ordenamiento simple en el cual se evaluó la preferencia de los panelista en cuanto a las pechugas con los cuatro tratamientos diferentes. Los resultados mostraron que, en cuanto a fuerza de corte de la carne solo hubo una diferencia y por lo tanto preferencia marcada cuando se compararon las pechugas con láminas de limón y ajo. Siendo las pechugas tratadas con láminas de ajo las preferidas por los panelistas. En la parte de preferencia de sabor solo las comparaciones de pechugas con láminas de limón y ajo; y las comparaciones de pechugas con láminas de papaya y ajo resultaron suficientemente diferentes para poder decir que los panelistas prefirieron las de ajo más que las de papaya y limón. En cuanto a análisis químicos se refiere, los resultados de actividad de agua en las pechugas fueron muy similares y sin diferencia significativa en todas las pechugas con los tratamientos y la pechuga control, lo

que indica que las láminas no afectaron la actividad de agua en las muestras o pechugas. En el análisis de pH como era de esperarse el cambio más significativo se obtuvo en las pechugas con láminas de limón, esto debido a la alta acidez del limón. Las pechugas con láminas de papaya, ajo con pimienta negra y romero fueron muy parecidos en valores a la pechuga sin tratamiento o control. En el conteo de aerobios se observó que la lámina hecha con limón fue la más efectiva, la misma logro contener a 7.13 log ufc/g aproximadamente para el día diez de análisis. También se puede decir que la lámina que se le añadió ajo y pimienta negra fue efectiva. La lamina anteriormente mencionada logro mantener los conteos de aerobios por debajo de 7.29 log ufc/g para el décimo día de análisis.

Para *Salmonella* se puede ver que en la pechugas control hubo presencia de *Salmonella spp.*, mientras que en las pechugas tratadas con las láminas de limón se redujo significativamente los resultados positivos a dicha bacteria, lo que es indicativo que el tratamiento redujo la presencia de *Salmonella spp.* presente en la muestra.

6 Recomendaciones

En investigaciones futuras entiendo que se pueden mejorar algunos aspectos para así aumentar la efectividad de las láminas, tanto en el área de microbiológica como en la parte sensorial. Primeramente si se reduce el grosor de las pechugas el contenido proteico de la muestra va a ser menor, por lo tanto se esperaría que el efecto amortiguador de la pechuga sea menor. Esto conlleva a que por lo menos en las láminas de papaya y limón cuyo efecto antimicrobiano es debido a la acidez del jugo de las frutas, el efecto sea mejor y más eficiente para evitar el crecimiento de microorganismos en las pechugas. Como

segunda alternativa se puede aumentar el tiempo de aplicación de la lámina líquida, mientras más tiempo estén sumergidos mejor será la absorción y entiendo que el efecto de la lámina debe mejorar, además de que también puede ser beneficioso para la formación de la lámina en la muestra. Como última alternativa se pueden aumentar las concentraciones o cantidades de los jugos de limón y papaya, también de las especias romero y ajo con pimienta negra. Entiendo que aumentar las concentraciones debe mejorar las cualidades y propiedades de las láminas y hacer de las mismas un método más efectivo para la preservación de las pechugas, que en combinación con otros métodos nos debe proveer alimentos bastante seguros desde un punto de vista microbiológico.

7 Referencias

1. Embuscado M y Huber k. (2009). Edible Films and Coatings for Food Applications. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
2. Vargas M., Pastor C., Chiralt A., McClements J y Gonzalez C. (2008) Recent Advances in Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits. Food Science and Nutrition, vol 48, pp 496-507.
3. Negrón E. (2009). Manual de Laboratorio Química de Alimentos. Programas de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. pp 68 y 75.
4. Red Alimentaria (2010). La producción mundial de carne de pollo aumentó 0.5% en 2009, hasta 71.9 millones de toneladas.
http://www.americarne.com/noticias/buscador.php?tipo=unico&id_articulo=3707 Accesado: septiembre 2013
5. Jay J., Loessner M y Golden D.(2005). Modern Food Microbiology (7th edition). pp 39-45 Springer, New York, USA.
6. Fennema O., Damodaran S y Parkin.K.(2008). Food Chemistry (4th edition). pp 223, 467-474 y 593-597. CRC Press Taylor & Francis Group.
7. Bejarano R y Centeno S. (2009). Extracto de *Citrus limón* para el control de aflatoxinas y hongos aflatoxigenicos en alimentos concentrados para pollos de engorde producidos en Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, vol 29, pp 57-61.
8. Martínez S., González J., Culebras J y Tuñón M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. XVII (6) pp 271-278.
9. Peterson E. (2010). Papaína: Ayuda Digestiva Propia de la Naturaleza. Carl R. Darnall Army Medical Center, Health Library, Fort Hood, TX.
<http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token=c5987b1e-add7-403a-b817-b3efe6109265&chunkiid=126728> Accesado: septiembre 2013
10. Organic Farming in the Tropics and Subtropics(2000). Papaya. Naturland e.V- 1st edition. <http://www.naturland.de/fileadmin/MDb/documents/Publication/English/papaya.pdf> Accesado: septiembre 2013
11. Rivera R. A Guide to Papaya Growing and Marketing (2005). Agronomist, Agricultural Consultant. General Sato City.

12. Díaz L y Jiménez K. (2008). Validación de un Método de Extracción de Alicina en Ajo y su Cuantificación por HPLC. Simposio de Metrología. Santiago de Queretano, México 22-24 octubre.
13. Nelson S y Cannon K T. (2013). Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black Pepper (*Piper nigrum*). Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry <http://agroforestry.net/scps> Accesado: septiembre 2013
14. Flores S y Fama L. (2007). Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. Food Research International, vol 40, issue 2, pp 257-265.
15. M.M. Tajkarimi, S.A. Ibrahim y D.O. Cliver. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food . Food Control, vol 21, issue 9, pp 1199-1218.
16. Del Campo, M.J. Amiot y C. Nguyen (2000). The, Antimicrobial effect of rosemary extracts. Journal of Food Protection, vol 10, pp. 1359–1368.
17. Maturin L.J y Peeler JT. (2001). Aerobic plate count; Chapter 3. Bacterial Analytical Manual (BAM). <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.htm> Accesado: septiembre 2013
18. Andrews W.H y Hammack T.S. (2011). *Salmonella*; Chapter 5. Bacterial Analytical Manual (BAM). <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm> Accesado: septiembre 2013
19. Andrews W.H y Hammack T.S. (2003). Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate; Chapter 1. Bacterial Analytical Manual (BAM). <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063335.htm> Accesado: septiembre 2013
20. Sengum I.Y y Karapinar M. (2004). Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.)International Journal of Food Microbiology, vol 96, issue 3, pp 15.
21. Página de internet de American Cancer Society (2013). Vitamin B Complex. <http://www.cancer.org/Treatment/TreatmentsandSideEffects/ComplementaryandAlternativeMedicine/HerbsVitaminsandMinerals/vitamin-b-complex> Accesado: septiembre 2013
22. Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. International Food Research Journal, vol 15.
23. Kester, J. J. y Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings: A review. Food Technology, vol40(12), pp 47-59.

24. Tendencias Avícolas Mundiales (2011). Producción de pollo en América superará las 40 millones de toneladas en 2013.
<http://www.elsitioavicola.com/articles/2034/tendencias-avacolas-mundiales-2011-amarica-tiene-la-mayor-participacion-en-la-produccion-mundial-de-carne-de-pollo> Accesado: septiembre 2013
25. Lawrie, R.A.(1967). Ciencia de la carne. Acribia. Zaragoza, España, pp380.
26. De Castro Cardoso Pereira, P. (2013). **Meat nutritional** composition and nutritive role in the human diet. **Meat Science**, Vol 93, Issue 3, pp 586-592.
27. The health and nutritional benefits of chicken (2009). Food & Nutrition Australia.
<http://www.freerangechicken.com.au/Chicken%20Nutrition%20Report%20LOWRES%20Sep09.pdf>
 Accesado: septiembre 2013
28. Jongen, W. (2002). Fruit and vegetable processing, Improving quality, pp 31. Woodhead Publishing.
29. Maruti J. Dhanavade, Chidamber B. Jalkute, Jai S. Ghosh y Kailash D. Sonawane.(2011). Study Antimicrobial Activity of Lemon (Citrus lemon L.) Peel Extract. British Journal of Pharmacology and Toxicology, vol 2(3), pp 119-122.
30. Ortuno, A.A., P. Baidez, M.C. Gomez, I. Arcas, A.G. Porras y J.A. Del Rio, (2006). *Citrus paradise* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defense mechanism against *Penicillium digitatum*. Food Chemistry, vol 98(2), pp 351-358.
31. Fuentes V y Granda M. (1998). Estudio sobre la medicina tradicional en Cuba. Revista Cubana Farm, vol 22, pp 77-90.
32. Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K y Yano, M. (1999). Differentiating activity and flavonoid content of the readily extractable fraction prepared from citrus juices. J Agric Food Chem, vol 47, pp 128-35.
33. Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K y Yano M. (1999). Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. J Agric Food Chem, vol 47, pp 3565-71.
34. Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K y Masamichi Ykoizumi M. (2000). Quantitative study of flavonoids of citrus plants. J Agric Food Chem, vol 48, pp 3865.
35. Phillips R.L, Goldweber S y Campbell, C.W. (1997). El Limón criollo en Florida. University of Florida, IFAS extensión. <http://edis.ifas.ufl.edu/hs271> Accesado: octubre 2013.
36. Chia-Wen Tsai a, Haw-Wen Chen a, Le-Yen Sheen b, Chong-Kuei Lii a. (2012) Garlic: Health benefits and actions. BioMedicine, vol 2, pp 17 – 29.
37. Anderson RN. (2001). Deaths: leading causes for 1999. Natl Vital

Stat Rep vol 49, pp 1-87.

38. Sobenin IA, Pryanishnikov VV, Kunnova LM, Rabinovich YA, Martirosyan DM, Orekhov AN. (2010). The effects of time-released garlic powder tablets on multifunctional cardiovascular risk in patients with coronary artery disease. *Lipids Health Dis*, vol 9 pp 119 .
39. Cavagnaro PF, Camargo A, Galmarini CR, Simon PW. (2007). Effect of cooking on garlic (*Allium sativum* L.) antiplatelet activity and thiosulfinates content. *J Agric Food Chem* vol 55, pp 1280.
40. Fleischauer AT, Arab L. (2001). Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *J Nutr*, vol 200, pp 131:1032S-40S.
41. Belguith, H.; Kthiri, F.; Ben Ammar, A.; Jaafoura, H.; Hamida, J. B. & Landoulsi, A. (2009). Morphological and biochemical changes of *Salmonella hadar* exposed to aqueous garlic extract. *Int. J. Morphol.*, vol 27(3), pp 705-713.
42. Agricultura orgánica en el trópico y subtropico. (2009). Pimienta. Asociación naturland 1st ed .
http://www.naturland.de/fileadmin/MDB/documents/Publication/Espanol/pimienta_2005.pdf
Accesado: octubre 2013
43. Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Vol 7 (1), pp 153-170.

http://www.google.com/search?sourceid=navclient&aq=0&oq=agentes+anti&ie=UTF-8&rlz=1T4GWYE_enPR400PR400&q=agentes+antimicrobianos&gs_upl=010121810631111111110&aqi=g4&pbx=1#hl=es&rlz=1T4GWYE_enPR400PR400&sclient=psyab&q=agentes+antimicrobianos+de+la+pimienta+negra&oq=agentes+antimicrobianos+de+la+pimienta+negra&gs_l=serp.3...32878.38457.0.39522.21.20.0.1.1.0.675.4388.0j13j4j2j0j1.20.0...0.0...1c.CqDcfSkGZZs&pbx=1&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.r_qf.&fp=bf39e2209f04615d&biw=1280&bih=614
Accesado: septiembre 2013
44. Fernandez, T. (2007). Componentes de la pimienta negra con efectos antimicrobianos. Caracas Venezuela. <http://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>
Accesado: octubre 2013
45. Transito, M. (2008). El romero planta aromática con efectos antioxidantes. *Farmacéutica*, vol 27 (7).
46. Balasubramaniam VM, Chinnan MS, Mallikarjunan P, Phillips RD (2007). The effect of edible film oil uptake and moisture retention of a deep-fat fried poultry product. *J. Food Process Eng*, vol 20, pp 17-20.
47. Ayers, JC (1959). Use of coating materials or film impregnated with chlortetracycline to enhance color and shelf life of fresh beef. *Food Technol*, vol 13, pp 512-515.

48. Kampelmacher, E.H. (1963). The role of salmonellae in foodborne diseases. In Microbiological Quality of Foods, pp 84-101. New York: Academy Press.
49. Matches, J.R., y J. Liston. (1968). Low temperature growth of *Salmonella*. J. Food Sci. vol 33, pp 641-645.
50. Hennessy, T.W., C.W. Hedberg y L. Slutsker. (1996). A national outbreak of *Salmonella* Enteritidis infections from ice cream. N. Engl. J. Med, vol 334, pp 1281-1286.
51. Ryan, C.A., M.K. Nickels y N.T. Hargrett- Bean. (1987). Massive outbreak of antimicrobial resistant salmonellosis traced to pasteurized milk. JAMA, vol 258, pp 3269-3274.
52. Berry, A y Sargent, S. (2004). Pre and postharvest application of Retain to “Red Lady” papaya fruit: effects on harvest maturity, ripening and quality. Proc. Fla. State Hort Soc, vol 117, pp 389 – 391.
53. Addy, K., Green, L y Herron, E. (2004). pH and Alkalinity. College of the Environment and Life Sciences (CELS). Department of Natural Resources Science (NRS). Coastal Institute in Kingston, 1 Greenhouse Road, Kingston, Rhode Island 02881 -0804. URIWW-3.
54. Sigma-Aldrich Chemie GmbH · Industriestrasse 25 · Postfach · CH-9471 Buchs / Switzerland.

<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Datasheet/00464dat.Par.0001.File.tmp/00464dat.pdf>
Accesado: septiembre 2013
55. Castaño, P., Gelmy y Zapata, J. (2010). Actividad bactericida del extracto etanolico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* sobre algunas bacterias de interés alimentario. Revista facultad de química farmacéutica, vol 17 (2), pp 149-154
56. Hibbing, M y Fuqua, C. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. Nat Rev Microbiol, vol 8(1), pp 15-25.
57. USDA, Food Safety and Inspection Service. Federal Register (1996). Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) Systems; Final Rule. Vol 61 (144).

8 Apéndice

8.1 Resultados estadísticos Aw

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aw	48	0.62	0.46	0.43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9.8E-04	14	7.0E-05	3.89	0.0007
Tiempo	2.8E-04	2	1.4E-04	7.79	0.0017
Tratamiento	2.8E-04	4	6.9E-05	3.83	0.0115
Tiempo*Tratamiento	4.2E-04	8	5.2E-05	2.90	0.0146
Error	5.9E-04	33	1.8E-05		
Total	1.6E-03	47			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00368

Error: 0.0000 gl: 33

Tiempo	Medias	n	E.E.	
5	0.98	16	1.1E-03	A
0	0.99	16	1.1E-03	B
10	0.99	16	1.1E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00560

Error: 0.0000 gl: 33

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
LP	0.98	9	1.4E-03	A	
C	0.98	12	1.2E-03	A	B
LA	0.98	9	1.4E-03	A	B
LL	0.99	9	1.4E-03	A	B
LR	0.99	9	1.4E-03		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01230

Error: 0.0000 gl: 33

Tiempo	Tratamiento	Medias	n	E.E.			
5	LP	0.98	3	2.4E-03	A		
5	C	0.98	4	2.1E-03	A	B	
5	LL	0.98	3	2.4E-03	A	B	
10	LA	0.98	3	2.4E-03	A	B	C
0	LP	0.98	3	2.4E-03	A	B	C
0	C	0.98	4	2.1E-03	A	B	C
0	LA	0.98	3	2.4E-03	A	B	C
0	LR	0.99	3	2.4E-03	A	B	C
5	LA	0.99	3	2.4E-03	A	B	C
10	C	0.99	4	2.1E-03	A	B	C
10	LP	0.99	3	2.4E-03	A	B	C
10	LL	0.99	3	2.4E-03		B	C
5	LR	0.99	3	2.4E-03		B	C
10	LR	0.99	3	2.4E-03		B	C
0	LL	0.99	3	2.4E-03			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

8.2 Resultados estadísticos Ph

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	48	0.96	0.95	2.48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	20.00	14	1.43	60.25	<0.0001
Tiempo	2.22	2	1.11	46.85	<0.0001
Tratamiento	17.09	4	4.27	180.18	<0.0001
Tiempo*Tratamiento	0.52	8	0.07	2.75	0.0192
Error	0.78	33	0.02		
Total	20.79	47			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.13359

Error: 0.0237 gl: 33

Tiempo	Medias	n	E.E.	
5	6.03	16	0.04	A
0	6.03	16	0.04	A
10	6.49	16	0.04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.20344

Error: 0.0237 gl: 33

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
LL	4.98	9	0.05	A	
LP	6.35	9	0.05		B
LA	6.44	9	0.05		B C
C	6.57	12	0.04		C
LR	6.58	9	0.05		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.44685

Error: 0.0237 gl: 33

Tiempo	Tratamiento	Medias	n	E.E.			
0	LL	4.77	3	0.09	A		
5	LL	4.95	3	0.09	A		
10	LL	5.22	3	0.09	A		
5	LP	6.18	3	0.09		B	
0	LA	6.28	3	0.09		B	C
5	LA	6.32	3	0.09		B	C
5	C	6.34	4	0.08		B	C
0	C	6.35	4	0.08		B	C
5	LR	6.35	3	0.09		B	C
0	LR	6.37	3	0.09		B	C
0	LP	6.40	3	0.09		B	C
10	LP	6.48	3	0.09		B	C
10	LA	6.70	3	0.09			C D
10	C	7.03	4	0.08			D
10	LR	7.03	3	0.09			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

8.3 Resultados estadísticos PCA

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Recuento	42	0.92	0.87	37.45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4777020409583090.00	14	341215743541649.00	20.98	<0.0001
Tratamiento	875801372776252.00	4	218950343194063.00	13.46	<0.0001
Tiempo	3044238341300680.00	2	1522119170650340.00	93.59	<0.0001
Tratamiento*Tiempo	576594015144987.00	8	72074251893123.30	4.43	0.0016
Error	4391147333786670.00	27	16263508658765.60		
Total	5216135143369760.00	41			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=5761225.34222

Error: 16263508658765.5644 gl: 27

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
LL	4686055.56	7	1552227.01	A	
LA	7580955.56	9	1344268.02	A	B
C	7975344.44	8	1691500.17	A	B
LR	10632800.00	9	1344268.02		B
LP	18222222.22	9	1344268.02		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3782492.20180

Error: 16263508658765.5644 gl: 27

Tiempo	Medias	n	E.E.		
0	958080.00	14	1092088.50	A	
5	7140346.67	13	1232041.99		B
10	21360000.00	15	1066979.67		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=12924602.06306

Error: 16263508658765.5644 gl: 27

Tratamiento	Tiempo	Medias	n	E.E.				
LR	0	1400.00	3	2328340.51	A			
LL	0	31500.00	2	2851623.10	A			
C	5	34000.00	1	4032804.07	A			
C	0	42033.33	3	2328340.51	A			
LA	0	48800.00	3	2328340.51	A			
LL	5	676666.67	3	2328340.51	A	B		
LA	5	3094066.67	3	2328340.51	A	B		
LP	0	4666666.67	3	2328340.51	A	B		
LR	5	6897000.00	3	2328340.51	A	B	C	
LL	10	13350000.00	2	2851623.10		B	C	D
LA	10	19600000.00	3	2328340.51			C	D
C	10	23850000.00	4	2016402.03				D
LP	5	25000000.00	3	2328340.51				D
LP	10	25000000.00	3	2328340.51				D
LR	10	25000000.00	3	2328340.51				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

8.4 Resultados estadísticos Terneza

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
terneza	12	0.69	0.44	37.00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.33	5	0.07	2.70	0.1290
tratamiento	0.33	3	0.11	4.44	0.0574
medida	0.01	2	2.5E-03	0.10	0.9053
Error	0.15	6	0.02		
Total	0.48	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.44442

Error: 0.0247 gl: 6

tratamiento	Medias	n	E.E.
papaya	0.27	3	0.09 A
ajo/pimienta	0.33	3	0.09 A
limon	0.40	3	0.09 A
romero	0.70	3	0.09 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.34113

Error: 0.0247 gl: 6

medida	Medias	n	E.E.
1	0.40	4	0.08 A
3	0.43	4	0.08 A
2	0.45	4	0.08 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)