Scholar@UPRM

# Determinación del largo de vida útil de masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío



| | |
|---|---|
| Item Type | Thesis |
| Authors | Malavé León, Ana M. |
| Download date | 2026-02-06 21:51:23 |
| Link to Item | https://hdl.handle.net/20.500.11801/3752 |

# DETERMINACIÓN DEL LARGO DE VIDA ÚTIL DE MASITAS DE CERDO MARINADAS Y EMPACADAS AL VACÍO

Por

Ana M. Malavé León

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 UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2006

Aprobado por:

| | |
|---|---|
| _____ | _____ |
| Lynette E. Orellana Feliciano, Ph.D.<br>Presidente, Comité Graduado | Fecha |
| _____ | _____ |
| Edna Negrón, Ph.D.<br>Miembro, Comité Graduado | Fecha |
| _____ | _____ |
| Carmen Santana, Ph.D.<br>Miembro, Comité Graduado | Fecha |
| _____ | _____ |
| María M.Vargas, Ph.D.<br>Representante de Estudios Graduados | Fecha |
| _____ | _____ |
| Edna Negrón, Ph.D.<br>Coordinadora Programa Ciencia y Tecnología de Alimentos | Fecha |

# *Abstract*

Changes in life style and nutritional habits have promoted the production of pork meat with lesser fat content. Also, new alternatives for meat products are being sought for added value products. The objective of this study was to determine the shelf-life of pork cuts marinated and vacuum-packed. For the shelf-life study, the growth of anaerobic microorganisms, coliforms/*E. coli,* molds and yeast, *Pseudomonas* spp., in addition to the pathogenic microorganism *Yersinia enterocolitica* were determined. The pH, water activity (aw) and color were measured to evaluate physicochemical characteristics and quality of the product. The pork cuts before marination, spices and finish product at 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 26 and 34 days were evaluated. The experiment was repeated in three occasions. During the sampling period the pH and water activity did not undergo significant changes; the average pH of finished product was 5.90 and the water activity 0.991. In addition, the color of the meat was acceptable throughout the sampling period. The shelf life of the pork cuts marinated and vacuum packed was 34 days at 4°C. The shelf-life of fresh pork products is relatively short, therefore increasing shelf-life using techniques value-added has become a commercial necessity that allow new products development from and fresh meat commercialization of fresh products to greater geographic areas.

# *Resumen*

Cambios en el estilo de vida y hábitos alimenticios han promovido la producción de carne de cerdo con un menor contenido de grasa. Además se buscan nuevas alternativas en productos cárnicos utilizando técnicas de valor añadido. El objetivo principal de este trabajo fue determinar el largo de vida útil de masitas de cerdo marinadas empacadas al vacío. Para determinar el largo de vida útil se midió el crecimiento de microorganismos anaeróbicos, coliformes/*E. coli*, mohos y levaduras, *Pseudomonas spp.*, además del microorganismo patogénico *Yersinia enterocolitica*. El pH, actividad de agua ($a_w$) y color fueron medidas para evaluar las características fisicoquímicas y la calidad del producto. Fueron evaluadas: masitas de cerdo antes de la marinación, especias y producto final al día 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 26 y 34. El experimento fue repetido en tres ocasiones. Durante el periodo de muestreo el pH y la actividad de agua no sufrieron cambios significativos, el pH promedio del producto terminado fue de 5.90 y la actividad de agua de 0.991. Además el color de la carne fue aceptable durante todo el periodo de muestreo. El largo de vida útil de las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío fue 34 días a 4ºC. La vida útil de los productos de carne fresca es relativamente corta y prolongar esta vida útil se ha convertido en una necesidad comercial que permite desarrollar nuevos productos de carne fresca y comercializar estos productos frescos a áreas geográficas más amplias.

**Derechos de Autor Reservados ©**
**Ana M. Malavé León**
**2006**

# *Dedicatoria*

A Dios

Mis padres (Jeannette León y Rafael A. Malavé) y
hermana (María M. Malavé).

## *Agradecimiento*

A Dios, por haberme dado la oportunidad de aprender muchas cosas durante la realización de esta investigación.

A mami y papi, por haberme inculcado desde pequeña el deseo de superación y crecimiento profesional.

A los miembros del comité: Dra. Orellana, Dra. Negrón y Dra. Santana por su disposición y ayuda para la realización de esta investigación. Gracias por su cooperación y asesoramiento para el desarrollo y redacción de este trabajo.

A mis compañeros de maestría, gracias por todo su apoyo. Especialmente a Juan Manuel por ser mi consejero y amigo. Melissa nunca olvidaré que fuiste mi paño de lágrimas. Miguel muchas gracias por ayudarme en el experimento.

A la Sra. Ivette Vissepó (Bessie) y el Sr. Miguel Ruperto (Don Ruper), por su apoyo en los momentos que más los necesité.

A la Estación Experimental Agrícola de Lajas por proveer los perniles utilizados en esta investigación.

Al Departamento de Química especialmente a las profesoras Luz N. Solís, Sara Delgado, Ivelisse Padilla y Verónica Sánchez por brindarme la oportunidad de trabajar a través del Programa de Ayudantías Graduadas.

A mis compañeras de apartamento: Itza, Wandalys, Joanitza, Vanessa y a mis vecinos especialmente a Alexis y Joito por su apoyo día a día.

# *Tabla de Contenido*

Abstract…….....ii

Resumen…….iii

Dedicatoria…….....v

Agradecimientos……....vi

Lista de Tablas.....ix

Lista de Gráficas.....x

Lista de Figuras.....xii

Apéndices…….....……....….xiii

Introducción.....1

Revisión de Literatura.....4

Objetivos….....19

Materiales y Métodos.....20

Recolección de muestras.....20

Preparación del marinado.....22

Empaque y almacenamiento de las masitas de cerdo.....24

Periodo de muestreo.....24

Determinación del pH.....25

Determinación de actividad de agua.....25

Determinación de color.....25

Análisis microbiológico.....26

Recuento de microorganismos anaeróbicos.....26

Recuento de *Pseudomonas*.....27

Recuento de coliformes totales y *E. coli*.....27

Recuentos de mohos y levaduras.....28

*Yersinia enterocolitica*.....28

Análisis estadístico.....29

Resultados y Discusión….....30

Análisis de pH.....30

Medida de actividad de agua ($a_w$).....32

Análisis de color.....35

Análisis microbiológico.....39

Recuento anaeróbico.....39

Recuento de mohos y levaduras.....42

Recuentos de coliformes/ *E. coli*.....47

Recuento de *Pseudomonas*.....49

Recuento del patógeno *Y. enterocolitica*.....51

Conclusiones.....54

Recomendaciones.....57

Bibliografía.....58

Apéndices.....62

# *Lista de Tablas*

Tabla 1: Valores de pH durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....31
Tabla 2: Valores de $a_w$ durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....32
Tabla 3: Valores de **L**, **a** y **b**, durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....35
Tabla 4: Recuento de microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4°C……...40
Tabla 5: Recuento de Mohos (LogUFC/g)……43
Tabla 6: Recuento de Levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4°C……..…..45
Tabla 7: Recuentos de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4°C…….....47
Tabla 8: Recuento de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4°C……..50
Tabla 9: Recuento del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4°C……...52

# *Lista de Gráficas*

Gráfica 1: Regresión lineal para el pH del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....31
Gráfica 2: Regresión lineal para la actividad de agua del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....33
Gráfica 3: Regresión lineal del producto final para el parámetro **L** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....36
Gráfica 4: Regresión lineal del producto final para el parámetro **a** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....37
Gráfica 5: Regresión lineal del producto final para el parámetro **b** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....38
Gráfica 6: Recuento microbiano de anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....41
Gráfica 7: Regresión lineal del producto final para microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4°C.....41
Gráfica 8: Recuento microbiano de mohos durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....43
Gráfica 9: Regresión lineal del producto final para mohos durante el periodo de almacenamiento a 4°C…….....44
Gráfica 10: Recuento microbiano de levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....45
Gráfica 11: Regresión lineal del producto final para levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....45
Gráfica 12: Recuento microbiano de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....48
Gráfica 13: Regresión lineal para coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....48

Gráfica 14: Recuento microbiano de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....50
Gráfica 15: Regresión lineal para *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....51
Gráfica 16: Recuento microbiano del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.....52
Gráfica 17: Regresión lineal del producto final para el microorganismo patogénico *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4˚C……...…53

# *Lista de Figuras*

Figura 1: Pernil Trasero.....20
Figura 2: Trozado del pernil luego de removerle la grasa.....21
Figura 3: Trozado del pernil en cuadros de 1 x 1 x 1 cm.....21
Figura 4: Ingredientes del marinado……..22
Figura 5: Preparación de la mezcla del marinado.....23
Figura 6: Mezcla de la carne de cerdo marinada.....23
Figura 7: Carne Marinada.....24
Figura 8: Carne marinada y empacada al vacío (día 34).....34

# *Apéndices*

Tabla 1: Análisis de varianza y regresión lineal del pH para el producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C…….63
Tabla 2: Análisis de varianza y regresión lineal de la actividad de agua para el producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C……64
Tabla 3: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **L** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C……65
Tabla 4: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **a** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C……66
Tabla 5: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **b** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C……67
Tabla 6: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento……..68
Tabla 7: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de mohos durante el periodo de almacenamiento……...69
Tabla 8: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4°C……70
Tabla 9: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4°C……71
Tabla 10: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4°C……72
Tabla 11: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4°C……...73

# *Introducción*

La carne es uno de los alimentos más nutritivos de consumo humano debido a su aporte en proteínas, grasas, vitaminas y minerales de alto valor biológico. La carne provee calorías procedentes fundamentalmente de su contenido de lípidos, pero su contribución vital a la dieta son las proteínas, vitaminas del complejo B, ácidos grasos y ciertos minerales como hierro, zinc y fósforo (Hedrick *et al*., 2001; Pearson y Dutson, 1994; Pearson y Tauber, 1984).

La carne de cerdo, siempre ha sido valorada por sus diversas formas de prepararla y por su delicioso sabor. Según la Oficina de Estadísticas Agrícolas del Departamento de Agricultura (2004), del 1975 hasta el 2004 se ha reportado un incremento en el consumo per cápita de la carne de cerdo. Sin embargo, el consumo de la carne de cerdo importada ha aumentado mientras que la producción local ha disminuido. En el 2004 se consumió en Puerto Rico aproximadamente 30.96 libras per cápita de carne de cerdo importada mientras que de la local se consumió 6.32 libras per cápita.

La sociedad de hoy día está más consciente de la importancia de la dieta y el estilo de vida más saludable, por lo tanto, existe una demanda por parte de los consumidores a las industrias de alimentos para que introduzcan al mercado nuevas fuentes de alimentos con alta calidad proteica y bajo contenido de grasa. La tendencia del consumidor es a comprar productos con buen sabor, nutritivos, listos para comer o de poco tiempo de preparación. Todo esto va de la mano, ya que el poco tiempo que se dispone en los hogares para la preparación de la comida, requiere que el producto comprado sea fácil de preparar y que posea todos los nutrientes necesarios para una dieta

balanceada. A la creciente demanda de productos fáciles de preparar y con sabor óptimo, la industria cárnica ha respondido con una gran oferta de carnes marinadas listas para cocinar. Las carnes marinadas son productos crudos de pieza entera a la que se le incorpora por inyección o masaje, una salmuera. Esta salmuera provee al producto características organolépticas diferentes al producto fresco.

El concepto "calidad de la carne" se compone de la suma de criterios independientes como composición química, estructura de la carne, suavidad, textura, consistencia, olor, sabor, color, capacidad de retención de agua, pH, tipo de glicólisis, estado higiénico, potencial redox, contaminación química, entre otros. Estos criterios están influenciados tanto por factores independientes como interdependientes. Entre estos se encuentran manejo de los animales, alimentación, transporte, técnicas de sacrificio, estado de salud, manejo del animal antes y después del sacrificio, técnicas de faena, procesos pos mortales en musculatura, manejo de la carne y procedimientos de conservación.

Los microorganismos son otro factor importante que influye en la calidad de la carne. Entre estos podemos encontrar los parásitos, mohos, levaduras y bacterias. El tipo de microorganismo y el número son factores importantes que afectan la velocidad de alteración de la carne (Hedrick *et al*., 2001).

El crecimiento microbiano resulta en daño del producto o el riesgo de peligrosas enfermedades transmitidas por alimentos. El crecimiento microbiano depende de factores intrínsecos, factores de procesamiento y factores extrínsecos. Los factores intrínsecos son propiedades naturales de los alimentos que influyen en el crecimiento microbiano. Estas son características químicas, físicas y bioquímicas tales como la

composición de nutrientes en los alimentos, factores antimicrobianos naturales, pH, actividad de agua ($a_w$) y el potencial de oxido-reducción de los alimentos ($E_h$). Los factores de procesamiento son factores que influyen en la colonización microbiana, supervivencia y crecimiento durante el procesamiento de alimentos. Estos pueden incluir tratamientos térmicos, contaminación cruzada y buenas prácticas de manufactura. Los factores extrínsecos son factores ambientales tales como la temperatura de almacenamiento, atmósfera gaseosa y/o actividad de otros microorganismos (Scott, 1989).

La vida útil es definida como el período de tiempo bajo condiciones definidas de almacenamiento, después de manufacturado o empacado, para las cuales un producto alimenticio seguirá siendo seguro para consumo (Man, 2002). La vida útil de los productos de carne fresca es relativamente corta, por lo tanto, prolongar la vida útil de los productos se ha convertido en una necesidad comercial. Reducir la contaminación inicial y retrasar o inhibir el crecimiento de los microorganismos responsables de la alteración del producto son los principales factores implicados en mejorar el largo de vida útil de los productos elaborados a partir de carne fresca. Este período de tiempo será un factor crítico para la aceptabilidad del consumidor y para establecer el valor del mismo.

La calidad de un producto se puede perder o afectar debido a factores físicos, químicos o biológicos. Es por esto que en los estudios de vida útil es tan importante establecer las causas principales que afectan la calidad e inocuidad del producto para consumo humano.

# *Revisión de Literatura*

El largo de vida útil representa el período en el cual la carne mantendrá todas sus características organolépticas, calidad nutritiva e inocuidad para el consumo humano. Según la ¨Campden & Chorleywood Food Research Association¨ (CCFRA por sus siglas en inglés) una comprensión del largo de vida útil de un producto es esencial para garantizar la seguridad y calidad del producto en el momento de consumo. Como parte de un estudio de largo de vida es importante considerar diversos aspectos como el almacenamiento, distribución y comercialización.

Existen varios factores importantes a considerar para garantizar la seguridad y calidad de los alimentos. El primero y más estricto es el control de temperatura durante su producción y almacenamiento. Por ejemplo, mantener el alimento bajo condiciones de refrigeración se garantiza la seguridad y calidad de los mismos porque se reduce el riesgo del posible crecimiento de microorganismos debido a abusos de temperatura. En la industria de alimentos los rangos de temperatura entre 41-135°F deben ser evitados debido al rápido crecimiento microbiológico que puede ocurrir en esta zona de peligro. Según Mendonca *et al.,* (1989), la reducción en calidad de la carne es el resultado del crecimiento microbiano. Otros factores a considerar son: la contaminación inicial de la carne fresca con bacterias provenientes de la piel, el equipo y los trabajadores entre otras fuentes. Estos factores también pueden determinar el largo de vida útil y la calidad microbiológica de la carne fresca (Mendonca *et al.*, 1989), por lo tanto, el control de estos factores contribuye a mantener un largo de vida aceptable (Doyle, 1998).

Carnes que han sido objeto de deterioro por crecimiento microbiano pueden ser agentes que transmiten enfermedades. Las enfermedades transmitidas por alimentos son aquellas que se originan por la ingestión de alimentos infectados con agentes contaminantes en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor.

Según McEntire (2004), 76 millones de casos estimados por enfermedades transmitidas por los alimentos ocurren cada año en los Estados Unidos, costando entre $6.5 mil millones y $34.9 mil millones en asistencia médica y pérdida de productividad. De 13.8 millones de casos estimados por enfermedades transmitidas por los alimentos debido a los agentes conocidos, aproximadamente el 30% se deben a las bacterias. De los casos restantes un 3% se debe a parásitos y un 67% a virus.

Según el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), la gran mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos son casos leves y causan síntomas durante sólo un día o dos. Sin embargo algunos casos son más graves y el CDC estima que ocurren 325,000 hospitalizaciones y 5,000 muertes cada año relacionadas con las enfermedades transmitidas por los alimentos. Los casos más graves tienden a ocurrir entre los pacientes muy ancianos, niños, aquellos que tienen una enfermedad que ya reduce la función de su sistema inmunológico y en personas saludables expuestas a una dosis muy elevada del organismo.

Según ¨The World of Food Science¨, (http://www.worldfoodscience.org/cms/?pid=1001315) durante las últimas décadas se han identificado nuevos patógenos que se transmiten a través de los alimentos, algunos de los cuales aún pueden crecer a temperaturas de refrigeración. También se han identificado nuevos métodos de propagación de estos patógenos. Los cambios en las

poblaciones demográficas, en los estilos de vida de los consumidores y en las preferencias alimentarias han producido cambios en la formulación, manufacturación y distribución de los alimentos. Estos cambios, unidos a la habilidad que tienen los microorganismos para evolucionar rápidamente y adaptarse a su medio ambiente, presentan nuevos retos microbiológicos para todas las personas involucradas en la industria alimentaria.

La presencia de patógenos potencialmente peligrosos en el ambiente y áreas de proceso, indica la seriedad de los peligros potenciales a los cuales se enfrenta la industria diariamente. Sin embargo, la industria de alimentos utiliza una variedad de medidas de control eficaces para limitar los peligros potenciales y garantizar la inocuidad del alimento. Por ejemplo, algunas industrias de alimentos deben crear y seguir un plan de análisis de peligro y puntos críticos de control, también conocido en inglés como ¨Hazard Analysis and Critical Control Points¨ (HACCP) (McEntire, 2004).

El ¨Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos¨ constituye el enfoque científico de la seguridad alimentaria. HACCP comprende el análisis de peligros físicos, químicos y microbiológicos para su control en todos los puntos de la cadena alimenticia. Existen siete principios en la creación y funcionamiento de un plan HACCP (Nash, 2002). Estos son: (1) identificar los peligros, estimar los riesgos y establecer medidas para controlarlos, (2) identificar los puntos donde el control es crítico o puntos críticos de control, (3) establecer límites para cada punto crítico, (4) establecer procedimientos de monitoreo o vigilancia (5) establecer cuales serán las acciones correctivas en caso que ocurra una desviación del proceso correcto, (6) establecer procesos de verificación y validación y (7) desarrollar procesos efectivos para mantener registros o documentación.

Los microorganismos, de los cuales un pequeño porcentaje es patogénico, están en todas partes y contaminan los productos agrícolas. Algunos de estos microorganismos son capaces de sobrevivir los tratamientos para su conservación. Por lo tanto, cualquier alimento, ya sea crudo o procesado puede presentar algún nivel de riesgo, si no se maneja apropiadamente antes de su consumo. Todas las personas involucradas en la industria alimentaria, desde el productor hasta la persona que prepara el alimento deben reconocer la necesidad de vigilancia para el control de los peligros microbiológicos, a fin de reducir las enfermedades transmitidas a través de los alimentos.

Entre los factores intrínsecos que fueron evaluados en esta investigación se encuentra el pH y la actividad de agua ($a_w$). El valor de pH juega un papel muy importante en la preservación de alimentos. El pH es un valor que se usa para indicar la acidez o alcalinidad de una sustancia. La escala de pH oscila entre los valores de 0 (más ácido) y 14 (más básico), donde el valor de 7 es neutro. El pH puede ser un indicador del deterioro en las carnes, ya que es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesamiento, el almacenamiento y la distribución del producto terminado. Valores bajos de pH (5.2 o menos) pueden ayudar en la conservación de los alimentos de dos maneras: directamente, inhibiendo el crecimiento microbiano, e indirectamente, con base en la disminución de la resistencia al calor de los microorganismos en los alimentos que vayan a ser tratados térmicamente (http://club.telepolis.com/ohcop/pehachey.html).

La energía requerida para la actividad muscular en un animal vivo se obtiene del glucógeno presente en el músculo. En un animal sano y descansado, el nivel de glucógeno en los músculos es alto. Una vez sacrificado el animal, este glucógeno se

convierte en ácido láctico y el músculo y la canal se vuelven rígidos a medida que pasa el proceso de *rigor mortis*. El ácido láctico producido es necesario para obtener carne tierna, de buen sabor, calidad y color; ya que, si el animal está estresado antes y durante el sacrificio se consume todo el glucógeno y se reduce el nivel de ácido láctico que se desarrolla en la carne luego de su sacrificio. Esto puede tener efectos adversos muy graves en la calidad de la carne (Chambers y Grandin, 2001).

La condición PSE (pálida, suave y exudativa) es el principal problema de la carne de cerdo, y ocurre debido a una rápida baja del pH (Terra y Fries, 2000). En los cerdos esto puede ser causado por un estrés severo antes del sacrificio, por ejemplo: al descargar los animales, manejarlos, encerrarlos en los corrales o inmovilizarlos y aturdirlos. Todo esto resulta en una serie de procesos bioquímicos en el músculo y la rápida descomposición del glucógeno. La carne se vuelve muy pálida y adquiere una acidez muy pronunciada (valores de pH entre 5.4 – 5.6 inmediatamente después del sacrificio) y con poco sabor (Chambers y Grandin, 2001).

La actividad de agua ($a_w$) es un valor indicativo de la cantidad de agua libre que un producto posee y que puede ser utilizada por los microorganismos para su metabolismo. Los microorganismos necesitan la presencia de agua para crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. El $a_w$ de un alimento se puede reducir aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa de los alimentos mediante la extracción del agua o mediante la adición de solutos.

En la actualidad, se admite de forma universal que las necesidades de agua de los microorganismos se deben expresar en términos de la actividad de agua ($a_w$) en el medio. Este parámetro se define mediante la relación existente entre la presión del vapor de agua

del sustrato alimenticio y la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura $a_w=p/p_o$ , donde p = presión de vapor de la solución y $p_o$ = presión de vapor del solvente (generalmente agua) (Jay, 1994).

La actividad de agua en alimentos fluctúa entre los valores de 0 a 1. El agua pura tiene una $a_w$ de 1.00 (Jay, 1994). La $a_w$ de la mayoría de los alimentos frescos es superior a 0.99. La mayoría de las bacterias que alteran los alimentos no crecen a valores de $a_w$ inferiores a 0.91, mientras que los mohos son capaces de crecer en alimentos con $a_w$ de 0.80. En general, para crecer, las bacterias necesitan los valores de $a_w$ más elevados que los mohos, teniendo las bacterias gram-negativas necesidades más elevadas que las gram-positivas (Jay, 1994). La medida de actividad de agua para carnes es muy alta, lo que la convierte en un medio apto para crecimiento bacteriano.

Además, la carne es un excelente medio de cultivo para toda clase de microorganismos debido a la gran cantidad de nutrientes que posee. La carne de cerdo es un alimento altamente perecedero por su composición química y características biológicas (Minor-Pérez *et al*., 2002). La composición química de la carne de cerdo es 42 % de agua, 11.9 % de proteína, 45 % de lípido y 0.6% de cenizas (Jay, 1994).

Según Hedrick *et al.,* (2001), la carne fresca es el producto que resulta de los cambios químicos y físicos que siguen a la matanza, pero que no ha sido sometida a ningún procesado ulterior mediante congelación, curado o ahumado, entre otros. Las propiedades de la carne fresca determinan su utilidad para el comerciante, su atracción para el consumidor y su adaptabilidad para procesados ulteriores. Los productos cárnicos procesados se definen como aquellos en donde las propiedades de la carne fresca han sido modificadas mediante el empleo de uno o más procedimientos, tales como molido o

trituración, adición de condimentos, modificación del color o tratamiento térmico (Hedrick *et al.,* 2001).

Para la carne fresca, atributos como el color, la cantidad de grasa, la terneza, jugosidad y sabor son vitales para la decisión de compra. Mientras que para la carne procesada la atención se centra en factores como el pH, la capacidad de retención de agua, estabilidad oxidativa y ausencia de sabores anómalos (Coma y Piquer, 2004).

Actualmente la manufactura de productos cárnicos procesados está largamente conducida por la demanda de los consumidores por seguridad, conveniencia, sabor único, forma distintiva del producto y empaque. El largo de vida útil de algunos productos de carnes procesadas contribuye a su atracción permitiendo ser distribuido y utilizado en diversas formas (Hedrick *et al.,* 2001). Existen diversos métodos para el procesamiento de productos cárnicos entre los cuales se encuentran el curado y la marinación.

La marinación es una técnica culinaria tradicional usada para dar terneza y mejorar el sabor de la carne. En años recientes, la industria de alimentos está teniendo un creciente interés en marinar productos cárnicos (Gault, 1991). Según Björkroth (2005) productos de carne marinada se consumen cada vez más. En adición al sabor, la marinación es considerada para aumentar la seguridad y la vida útil de los productos. En los supermercados no solo están colocando variedades de productos marinados sino que también incluyen diferentes marcas de marinados líquidos listos para usarse y mezclas secas para marinar la carne en los hogares (Gault, 1991).

La marinación es un método de agregar valor a varios productos. Los marinados ofrecen una gran versatilidad en la preparación de carnes al realzar las características de sabor y jugosidad. Según Acton y Jensen (1994), el término ¨marinado¨ históricamente

se refería a la solución de remojo utilizada por las personas especializadas en el arte culinario para darle sabor a las carnes. Típicamente los marinados contenían ingredientes como azúcar, condimentos, aceite y un ácido, este último en la forma de vinagre, vino o jugo de fruta. Al hacer contacto con la superficie de la carne, los condimentos sólidos y el aceite forman una capa en el exterior mientras la solución y los sabores solubles son absorbidos internamente.

Los fosfatos son extensivamente usados en la industria de carnes y marinados porque mejoran la capacidad de retener agua y retardan la rancidez oxidativa de productos cárnicos (Lin y Chuang, 2001). Según Acton y Jensen (1994), la adición de fosfatos alcalinos a los marinados tiene el efecto de subir el pH de los tejidos del músculo y aumentar la fuerza iónica en la fase acuosa de la carne. Debido al aumento del pH, la ionización total de los aminoácidos en las proteínas miofibrilares aumenta y los iones negativos de fosfato actúan recíprocamente con los sitios expuestos en las proteínas de la misma manera que la sal.

La capacidad de retener agua se define como la capacidad del alimento de retener el agua propia o el agua añadida, durante la aplicación de fuerzas externas tales como trozado, calentamiento, molido y prensado. Sin embargo, es importante recordar que fuerzas o tratamientos suaves pueden liberar agua del alimento, debido a que una parte del agua presente en la carne se encuentra en forma libre. Muchas de las propiedades físicas de la carne incluyendo el color, la textura y la firmeza de la carne cruda, así como la jugosidad y terneza de la carne cocida dependen, en gran parte, de la capacidad de retención de agua (Hedrick *et al.*, 2001).

Según Cannon *et al*., (1993) la marinación envuelve la incorporación de soluciones acídicas o alcalinas en productos que alteran el pH del tejido. El proceso tiene muchos efectos positivos en sabor y en el largo de vida útil de productos cárnicos. Condiciones acídicas reducen el crecimiento bacteriano y tiene efectos negativos en algunos tipos de bacterias portadoras de enfermedades. La gran mayoría de los microorganismos responsables de deterioro y varios microorganismos patógenos pueden ser inhibidos o destruidos por el ambiente acídico creado por la marinación (Acton y Jensen, 1994).

La industria de alimentos ha desarrollado diferentes tecnologías de empaques tratando de prolongar la vida útil de productos perecederos tales como carne y productos cárnicos. Entre estas tecnologías, podemos mencionar el empaque al vacío y los empaques bajo atmósferas modificadas. Este tipo de empaque reduce la pérdida y extienden el largo de vida útil durante el almacenamiento al reducir el crecimiento de microorganismos responsables de deterioro o transmisión de enfermedades (García-Esteban *et al.,* 2004).

Desde el año 1960, el empaque al vacío se convirtió en una de las técnicas más comunes para empacar carne fresca (Tewari *et al*., 1999). La tecnología de empaques al vacío envuelve la colocación de un producto en una membrana de baja permeabilidad de oxígeno, removiendo el aire del empaque y sellando herméticamente. Si bien antes del cierre del envase no todo el oxígeno es eliminado, parte del que queda es consumido por la flora aerobia y por la propia carne, lo que da como resultado un aumento de la concentración de $CO_2$ que es inhibidor de la mayor flora microbiana existente en la carne. Las cantidades relativas de $O_2$ y de $CO_2$ existentes en el espacio de cabeza de los

paquetes de carne envasada al vacío mientras permanecen almacenados, son reguladas, en gran parte, por el grado de impermeabilidad de los envases de plástico que impiden el intercambio gaseoso de la atmósfera exterior con el envase (Jay, 1994).

Las bacterias aeróbicas y las reacciones oxidativas requieren oxígeno. Por lo tanto, si el oxígeno no esta disponible se inhibirán los daños, aumentando la calidad y a su vez la vida de almacenamiento del producto. No obstante, la presencia de organismos anaeróbicos/microaerófilicos y reacciones no-oxidativas pueden ocasionar algunos daños o algunos deterioros al producto en ausencia de oxígeno. Usualmente, estos daños pueden ser minimizados al almacenar el producto en frío (Church y Parsons, 1995). Sin embargo, un gran número de investigadores han puesto de manifiesto que cuando se utiliza un envase permeable al $O_2$, las carnes frescas refrigeradas experimentan la alteración por bacterias gram negativas. Esta alteración va acompañada del aumento en pH y de olores pestilentes, siendo los microorganismos responsables perteneciente a especies del género *Pseudomonas* (Jay, 1994).

Los microorganismos evaluados en este trabajo fueron: coliformes, *Escherichia coli*, microorganismos anaeróbicos, mohos, levaduras, *Pseudomonas* y el patógeno *Yersinia enterocolitica*. *E. coli* es un indicador de sanidad que puede indicar contaminación fecal en el alimento (De Caloni y Fernández-Coll, 1983). Si la presencia de *E. coli* se detecta luego del procesamiento del alimento, esto es un indicativo que los procesos de saneamiento y control de temperatura son inadecuados.

*Pseudomonas* spp. son bacilos gram negativos que constituyen el género bacteriano más amplio que existe en los alimentos frescos. Estos organismos son típicos de las bacterias del suelo y del agua y se encuentran muy difundidos en los alimentos,

sobre todo en las hortalizas, carne, aves y alimentos marinos. El género *Pseudomonas* comprende el grupo de bacterias más importantes responsable de alterar los alimentos frescos refrigerados dado que muchas de sus especies y cepas son psicrotróficas. Algunas especies son importantes debido a la producción de pigmentos hidrosolubles de color azul-verde, aunque algunas otras cepas que alteran los alimentos no los producen (Jay, 1994).

El género *Yersinia* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. La especie de principal interés en los alimentos es *Y. enterocolitica* (Jay, 1994). Esta bacteria es un bacilo gram negativo, pequeño, no forma esporas y es aerobio o anaerobio facultativo (Elizalde *et al*., 2001). Bioquímicamente es oxidasa-negativo y fermenta glucosa con la producción de poca o ninguna cantidad de gas, carece de fenilalaninodesaminasa, es urea-positivo, y es singular como patógeno por el hecho de ser psicrotrófico (Jay, 1994). *Y. enterocolitica* está ampliamente distribuida en la naturaleza. Posee reservorios en animales terrestres y acuáticos, siendo el cerdo el origen más común de las cepas patógenas en humanos (Johnson, 1998). El ser humano por lo general, se infecta mediante la ingestión de agua o alimentos contaminados o mediante la inoculación directa de los microbios en las transfusiones de derivados sanguíneos que contengan eritrocitos. En el tracto digestivo, *Y. enterocolitica* puede causar gastroenteritis aguda, enterocolitis, linfadenitis mesentérica e ileítis terminal. Los cuadros de septicemia no son frecuentes, pero pueden aparecer tanto en los pacientes normales como en los inmunocomprometidos, por ingestión del patógeno o por transfusión sanguínea (Gadea y Soriano, 1997).

El color es un factor importante en la industria de carne de cerdo y también para los consumidores. Los consumidores a menudo asocian el color rosa brillante con carne de cerdo fresca. Sin embargo, el color de la carne fresca es de corta duración y la decoloración de la carne es inevitable durante el almacenamiento. Por lo tanto, el color se considera una de las características sensoriales más importantes en la apariencia de un alimento.

El color de los alimentos esta determinado por el largo de onda entre 380 y 770 nm y se puede definir como la energía radiante que el ojo humano detecta a través de sensaciones visuales recibidas por la estimulación de la retina (Kramer, 1976). El color de la carne se debe en gran parte a la proteína hidrosoluble conocida como mioglobina y sus tres formas: deoximioglobina, oximioglobina y metmioglobina (Zhu *et al*, 2001). La mioglobina es usada en el músculo vivo para almacenar oxígeno. La cantidad o concentración de mioglobina en la carne está relacionada con varios factores, tales como la especie del animal, la edad, y el tipo de fibra muscular.

El color del músculo varía según el pigmento y el pH. El color depende de la mioglobina que puede hallarse en tres estados: mioglobina reducida (hierro ferroso: $Fe^{++}$) de color rojo púrpura, la mioglobina oxidada u oximioglobina ($MbO_2$) (hierro ferroso: $Fe^{++}$) de color rojo vivo y metmioglobina (MetMb) (hierro férrico: $Fe^{+++}$) de color marrón. El color de la carne dependerá además de la edad del animal, sexo, especie, tipo de músculo y las condiciones de conservación como: la temperatura, luz y presión de oxígeno entre otros (De Huidobro *et al*., 2003). La interconverción de las formas de mioglobina están influenciadas por factores ambientales como la temperatura, la presión parcial de oxígeno, luz y carga microbiana, además de los factores intrínsecos del

músculo como el pH, tipo de fibra muscular, razón de consumo de oxígeno y la capacidad de degradar metmioglobina (Zhu *et al*, 2001).

El largo de vida útil como se menciona previamente, es el tiempo requerido por un alimento para convertirse inaceptable desde las perspectivas sensoriales, nutricionales, microbiológicas y de inocuidad. Este puede ser extendido cuando el mecanismo causante de daño de un producto alimenticio es conocido y manipulado usando técnicas que no afecten las características sensoriales o nutricionales. Hoy en día se conoce que es posible extender el largo de vida útil de los alimentos utilizando, técnicas tales como procesos termales (retorta y procesos asépticos), congelación, deshidratación y otros. Estas técnicas son adaptadas por la industria de alimentos para extender la vida útil de alimentos líquidos (retorta o procesos asépticos), alimentos líquidos con partículas (enlatado y retorta), alimentos deshidratados (congelación seca), cortes de frutas y vegetales (IQF, técnicas individuales de congelamiento rápido) y carnes (refrigeración o congelación) (Tewari *et al*., 1999).

Según Lin y Chuang (2001) el promedio de vida útil de las chuletas de cerdo fresca es de 3 a 5 días dependiendo de la contaminación microbiana inicial y el manejo en el área de proceso. Prolongar la vida útil de chuletas de cerdo fresca mediante marinación puede estimular al consumidor a comprar este tipo de alimento ya que el producto posee características organolépticas diferentes al producto fresco. Además al extender el largo de vida útil se reduce pérdidas económicas y estimula mayor producción de carne de cerdo a nivel local.

Blixt y Borch (2002), diseñaron un estudio para comparar la vida útil de carne de cerdo y carne de res en empaques al vacío. Los científicos investigaron la importancia de

los factores intrínsecos relacionados con el largo de vida sensorial del empaque al vacío. Entre estos factores estudiaron el pH, concentración de glicógeno, glucosa, glucosa-6-fosfato, L-lactato y grasa. Del estudio se desprende que la carga microbiana inicial fue la misma para los dos tipos de carnes. Sin embargo, utilizando un método estadístico de regresión se demostró que los cambios en pH, en la concentración de L-lactato y glucosa-6-fosfato durante el almacenamiento presentaban un 68% de la variación en la tasa de daño pero no se encontró ninguna relación entre el deterioro y el origen de la carne.

Cannon *et al*., (1993) realizaron un estudio de la aceptabilidad y vida útil de carne de cerdo fresca, marinada y precocida. En este trabajo se evaluó el efecto de la marinación a diferentes pH en las propiedades sensoriales, químicas y microbiológicas de trozos de longissimus fresco y precocidos y cortes frescos semimembranosos de cerdo cocidos. Para estos propósitos utilizaron ácido cítrico, pirofosfato ácido de sodio y tripolifosfato de sodio. Se encontró que en cortes frescos de longissimus y semimembranoso, el tripolifosfato de sodio aumentó el pH y mejoró las características sensoriales y la capacidad de retención de agua. Mientras que el ácido cítrico y pirofosfato ácido de sodio disminuyeron el pH reduciendo el crecimiento microbiano en cortes frescos de longissimus. El estudio concluye que la marinación a pH bajos reduce el crecimiento microbiano, mientras que la marinación a pH elevados mejora las propiedades sensoriales y la capacidad de retener agua.

La seguridad microbiana y la estabilidad de muchos productos alimenticios están basadas en la aplicación de varios factores de preservación. A esta combinación se le conoce como tecnología de obstáculos (¨hurdle¨) o barreras antimicrobiales. Muchos de los esfuerzos en predecir la microbiología de productos alimenticios están enfocados en

el desarrollo de modelos cinéticos en el cual el efecto de factores ambientales como: temperatura, pH, actividad de agua y agentes preservativos, entre otros afectan la razón de crecimiento microbiano. Estos modelos cinéticos procuran predecir la vida útil o extensión del crecimiento de microorganismos en alimentos (Koutsoumanis *et al*, 2004).

# *Objetivos*

El objetivo principal de este trabajo fue determinar el largo de vida útil de masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío. El largo de vida útil fue determinado midiendo el crecimiento de microorganismos anaeróbicos, *Pseudomonas*, coliformes/ *E. coli*, mohos y levaduras, además del microorganismo patogénico *Yersinia enterocolitica*. También se evaluó la calidad del producto a través de pruebas físico-químicas. Las pruebas físico-químicas realizadas fueron: medidas de pH, la actividad de agua ($a_w$) y color.

# *Materiales y Métodos*

## Recolección de muestras

La carne de cerdo utilizada para este experimento fue suministrada por la Estación Experimental Agrícola de Lajas. El corte utilizado para los muestreos fue pernil trasero (Figura 1). Los perniles fueron almacenados y transportados al laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez en neveritas portátiles con hielo. Al llegar al laboratorio los perniles fueron descongelados a 4ºC por alrededor de 18 horas utilizando una nevera ¨walk-in¨. Luego de este periodo los perniles fueron procesados removiéndoles la piel, grasa y cortando la carne en cortes de 1 x 1 x 1 cm (Figura 2 y 3).

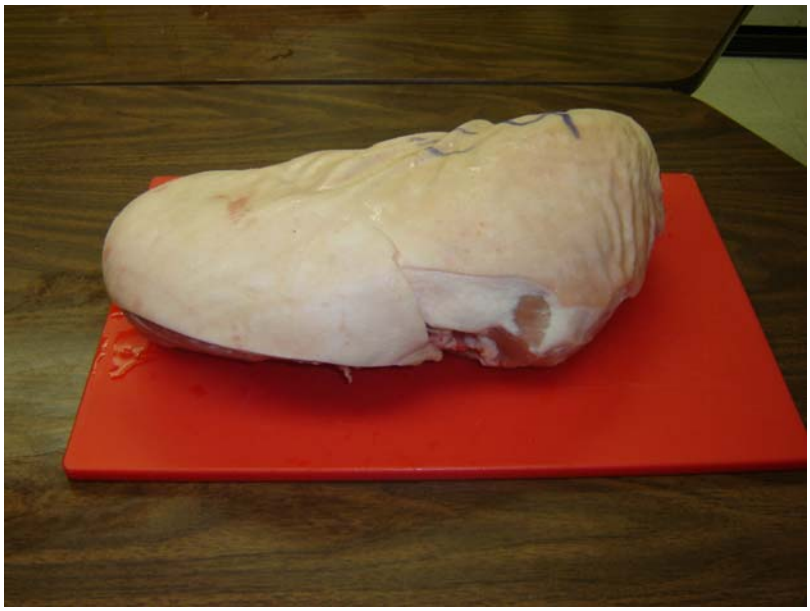


Figura 1: Pernil Trasero

Figura 2: Trozado del pernil luego de removerle la grasa.

Figura 3: Trozado del pernil en cuadros de 1 x 1 x 1 cm.

**Preparación del marinado**

El marinado utilizado en este experimento fue "Manic Mustard and Garlic Marinade" de la compañía Elite Spice (Figura 4). Una mezcla de ¼ de taza de agua con 2 cucharadas de marinado por libra de carne fue añadida a los cortes de masitas de cerdo (1 x 1 x 1 cm) (Figura 5). Esta carne fue masajeada por 10 minutos en un cuarto de proceso a 21ºC (Figura 6 y 7).

Figura 4: Ingredientes del marinado

Figura 5: Preparación de la mezcla del marinado.

Figura 6: Mezcla de la carne de cerdo marinada.

Figura 7: Carne Marinada

**Empaque y almacenamiento de las masitas de cerdo**

Las masitas de cerdo marinadas fueron empacadas al vacío (Food Saber by Tilia® model VAC **550**) en empaques de una libra en bolsas pre-cortadas tamaño 17 cm x 28.3 cm de polietileno y nilón y almacenadas en nevera a 4°C por 34 días. Se empacaron 10 bolsas de una libra, una para cada día de muestreo.

**Periodo de muestreo**

Los puntos de muestreo fueron: masitas de cerdo antes de la marinación, mezcla de ingredientes utilizados para la marinación y producto final (carne marinada y

empacada al vacío). El producto final fue evaluado los días 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 26 y 34. El experimento fue repetido en tres ocasiones.

**Determinación del pH**

Para la determinación del pH se utilizó un potenciómetro (pH Meter AB 15 Accumen Basic®), previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 4.00, 7.00 y 10.00. Se pesaron 10 gramos de muestra por paquete cada día de muestreo, las cuales se transfirieron a un procesador de alimentos (Kitchen Gourmet Electric Food Processor®) con 90 mL de agua destilada. La solución homogenizada se filtró a través de papel de filtro. Finalmente, se midió el pH del líquido obtenido luego de la filtración, según descrito por Lattuada y Dey (1998). Esta lectura se realizaba en triplicado durante los diferentes puntos de muestreo antes mencionados.

**Determinación de actividad de agua**

La determinación del $a_w$ se llevó a cabo con un higrómetro (Aqua Lab Mod. CX-2®) previamente calibrado. Para medir la actividad de agua un pedazo de muestra fue cortado y colocado en platos de medición en el instrumento. Este procedimiento se realizó en triplicado durante los diferentes puntos de muestreo antes mencionados.

**Determinación de color**

El color se analizó utilizando un colorímetro de refracción (Hunter Lab Mini-Scan XE Color Analyst®) utilizando la escala **L**, **a** y **b**. **L** mide las tonalidades de blanco (100) hasta negro (0), **a** las tonalidades de rojo (+) hasta verde (-) y **b** mide los colores de

amarillo (+) hasta azul (-). El sistema fue calibrado con platos de porcelana negro y blanco (**X**=79.8; **Y**=84.6; **Z**=90.4). Las muestras se colocaron en platos Petri debajo del ojo óptico del colorímetro y la lectura era obtenida según descrito anteriormente. De cada una de las muestras se realizaron lecturas en triplicado durante los diferentes puntos de muestreo antes mencionados.

**Análisis Microbiológico**

Las masitas de cerdo marinadas fueron homogenizadas según Lattuada y Dey (1998) en un procesador de alimentos (Electric Food Processor, Kitchen Gourmet). De las muestras homogenizadas se obtuvieron alrededor de 25 gramos de muestra que fueron transferidos a bolsas de ¨stomacher¨ con 225 mL de buffer de fosfato. Las bolsas fueron procesadas por 120 segundos en un ¨stomacher¨ (Seward, Laboratory Blender STOMACHER 400®) y se prepararon diluciones seriadas entre $10^{-1}$ - $10^{-6}$.

**Recuento de microorganismos anaeróbicos**

Para el conteo de microorganismos anaeróbicos se utilizó el medio de cultivo Difco® ¨Plate Count Agar¨(PCA) (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA). De cada una de las diluciones seriadas, 0.1 mL fue transferido a placas Petri a las cuales se le añadió PCA utilizando la técnica de vertido en plato. Platos duplicados de cada dilución fueron preparados y colocados en una jarra anaeróbica a las cuales se le colocaban absorbedores de oxígeno o Gas-Pack™ (BD BBL™ GasPack™ Plus Anaerobic System Envelopes with Palladium Catalyst, Bacton, Dickinson and Company). Las jarras anaeróbicas fueron incubadas por 48 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C (Isotemp Incubator, Fisher Scientific).

**Recuento de *Pseudomonas***

Para el crecimiento de *Pseudomonas* spp. se utilizó el medio de cultivo Difco® ¨*Pseudomonas* Isolation Agar¨ al cual se le añadío Difco® Glycerol (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA) según las instrucciones del manufacturero. De cada una de las diluciones seriadas se obtuvo 0.1 mL los cuales fueron transferidos a placas Petri previamente preparadas con el medio de cultivo utilizando la técnica de esparcido en plato. Platos duplicados de cada una de las diluciones fueron preparados e incubados por 48 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C (Isotemp Incubator, Fisher Scientific).

**Rcuento de coliformes totales y *E. coli***

El conteo de coliformes totales y *E. coli* se realizó utilizando "Petrifilms" (3M, Microbiology Products St. Paul). Este medio contiene Agar de Bilis Rojo Violeta deshidratado, un indicador de actividad de glucoronidasa y tetrazolium, un indicador que facilita la enumeración de las bacterias. De cada dilución seriada 1.0 mL fue transferido y depositado sobre las láminas de Petrifilm y esparcido utilizando el disco especial para dicho medio. Láminas de Petrifilm en duplicado por dilución fueron preparadas e incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas para coliformes y 48 horas para *E. coli*. Para el recuento se utilizaron láminas con contajes entre 25 a 250 colonias. Colonias de color rojo con presencia de gas son indicativas de coliformes, mientras que colonias de color azul con presencia de gas son indicativas de la presencia de *E. coli*.

**Recuento de mohos y levaduras**

Para el conteo de mohos y levaduras se utilizaron "Petrifilms" (3M, Microbiology Products St. Paul) para mohos y levaduras. Este medio contiene agar con nutrientes suplementado con antibióticos como medio de crecimiento y a su vez tienen un indicador de enzima fosfatasa para identificar los mismos. De cada dilución seriada 1.0 mL fue transferido y depositado sobre las láminas de Petrifilm y esparcido utilizando el disco de dispersión en duplicado. Los Petrifilms se incubaron a 25 °C por un periodo de 5 días. Luego del periodo de incubación se hizo recuento para mohos identificados con colonias negras en el medio y para levaduras identificadas por colonias azul-verdosas.

***Yersinia enterocolitica***

Para el aislamiento del patógeno *Yersinia enterocolitica* en las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío se realizaron tres pasos: (1) homogenización de la muestra, (2) enriquecimiento y (3) cultivo en plato. Se pesaron alrededor de 25 gramos de muestra para un paquete en cada muestreo, los cuales fueron transferidos asépticamente a una bolsa de "stomacher" con 100 mL de buffer de fosfato salino 0.01 M (pH 7.6). La muestra fue homogenizada por 2 minutos en un "stomacher" (Seward, Laboratory Blender STOMACHER 400®). El homogenizado estuvo en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente, según Johnson (1998). Este homogenizado fue almacenado a 4˚C por 24 horas como paso de enriquecimiento según Doyle y Hugdahl (1983). Este paso nos ayuda a favorecer y aumentar el crecimiento de la bacteria. El medio de cultivo utilizado fue "CIN (Cefsulodin-Irgasan®-Novobiocin) Agar Base"

suplementado con "*Yersinia* Supplement" (Remel®) según las instrucciones del manufacturero. De cada una de las diluciones seriadas 0.1 mL fue transferido en duplicado a platos previamente preparados. Las placas fueron inoculadas usando la técnica de esparcido en plato e incubadas a 25˚C por 24 horas (Doyle y Hugdahl, 1983). Las colonias de coloración rosa oscuro con un halo traslúcido fueron contabilizadas en cada plato.

**Análisis estadístico**

El análisis estadístico realizado fue ANOVA (Infostat, 2002) para determinar si existen o no diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en los parámetros antes mencionados durante el tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración de 4°C. También se llevó a cabo regresión lineal para el producto final y los días de muestreo.

# *Resultados y Discusión*

## Análisis de pH

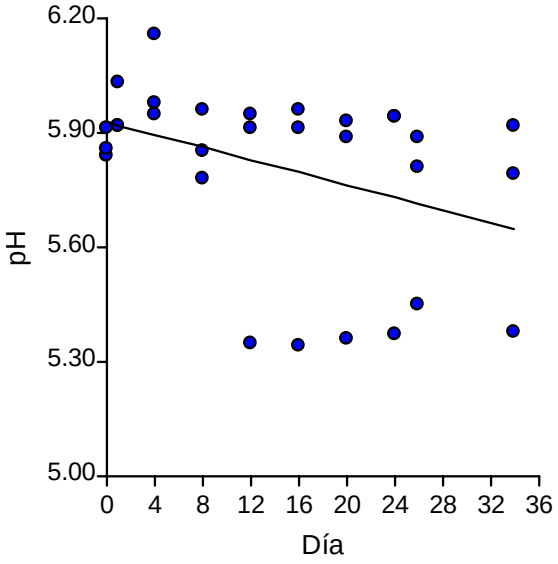
El pH de la carne marinada al día 0 fue 5.87 y al final del muestreo, el día 34 se observó un pH de 5.70 (Tabla 1). Según el análisis estadístico esta disminución no fue significativa ($P > 0.05$). Al realizar el análisis de regresión lineal se encontró una relación lineal ($P < 0.05$) (Gráfica 1 y Tabla 1 del apéndice) indicando una disminución en el pH a medida que pasan los días de almacenamiento.

Si se observa la tabla 1 se encuentra que el marinado disminuye el pH de la carne. Sin embargo, un análisis de varianza para la carne fresca e ingredientes del marinado no mostró diferencias significativas para este parámetro. El marinado contiene sal, ajo, cebolla deshidratada y fosfato de sodio. Estos ingredientes tienen pH ácidos y pueden contribuir a la baja en pH observada en la carne. Esto puede tener un efecto positivo en el largo de vida útil del producto, ya que puede restringir el crecimiento de microorganismos en el producto. Chambers y Grandin (2001) indican que carnes con pH entre 5.4 y 5.6 se vuelven muy pálidas, suaves y exudativas. La carne de cerdo marinada y empacada al vacío mantiene el pH por encima de ese valor indicando que todavía no existe este tipo de deterioro. A medida que los microorganismos crecen puede acidular la carne debido a la producción de metabolitos secundarios resultado de la descomposición de carbohidratos, lípidos y proteína.

Tabla 1: Valores de pH durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| Descripción | pH* |
|---|---|
| **Carne fresca** | 6.09 |
| **Marinado** | 5.98 |
| **Días** | |
| 0 | 5.87 |
| 1 | 5.96 |
| 4 | 6.03 |
| 8 | 5.86 |
| 12 | 5.74 |
| 16 | 5.74 |
| 20 | 5.73 |
| 24 | 5.75 |
| 26 | 5.61 |
| 34 | 5.70 |

* (P > 0.05)




Gráfica 1: Regresión lineal para el pH del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

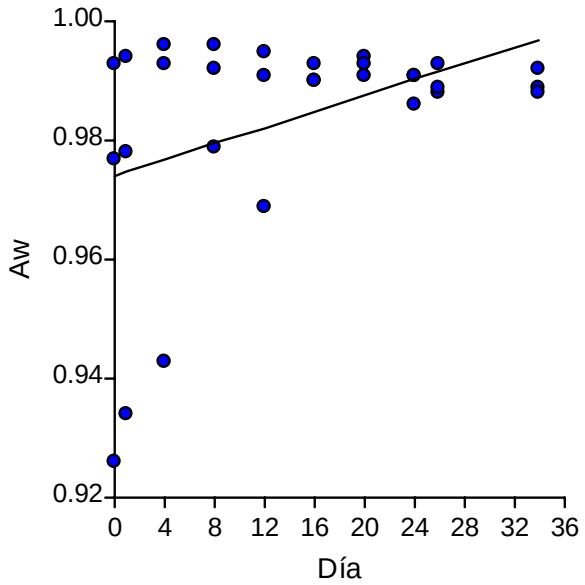
**Medida de actividad de agua ($a_w$)**

Durante el periodo de almacenamiento, las lecturas de actividad de agua no demostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) aunque se observó un aumento a medida que transcurría el periodo de almacenamiento (Tabla 2). La lectura inicial de $a_w$ para la carne fresca fue de 0.971 mientras que el día 34 se obtuvo un $a_w$ de 0.990. Sin embargo, al realizar la regresión lineal para este parámetro se encontró una relación lineal o tendencia a aumentar ($P > 0.05$) (Gráfica 2, Tabla 2 del apéndice). Este aumento aunque no significativo en la carne marinada, puede ser resultado de la presencia de fosfato de sodio en el marinado. Es ampliamente conocido que el fosfato de sodio ayuda en la retención de agua; según Lin y Chuang (2001) los fosfatos son extensivamente usados en la industria de carnes porque mejoran la capacidad de retener agua y retardan la rancidez oxidativa de productos cárnicos.

Tabla 2: Valores de $a_w$ durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| **Descripción** | **$a_w$*** |
|---|---|
| **Carne fresca** | 0.971 |
| **Días** | |
| 0 | 0.965 |
| 1 | 0.969 |
| 4 | 0.977 |
| 8 | 0.989 |
| 12 | 0.985 |
| 16 | 0.991 |
| 20 | 0.992 |
| 24 | 0.989 |
| 26 | 0.990 |
| 34 | 0.990 |

* ($P > 0.05$)




Gráfica 2: Regresión lineal para la actividad de agua del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

La capacidad de retención de agua según Hedrick *et al*. (2001) se define como la capacidad de la carne de retener su agua durante la aplicación de fuerzas externas, tales como cortes, calentamiento, trituración y prensado. La capacidad de retención de agua del tejido muscular puede tener un efecto directo en el periodo de almacenamiento. El agua libre exuda a partir de la superficie de los cortes y se acumula en torno de la carne, dando lugar a un paquete húmedo e inatractivo para la venta. Este fenómeno pudo ser observado a partir del día 34 (Figura 8) en la carne marinada y empacada al vacío. La carne de cerdo posee un gran porcentaje de agua libre que puede acumularse en la superficie de los cortes y liberarse de la misma luego del empaquetado (Hedrick *et al*., 1975).

Según estos resultados las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío son un alimento altamente perecedero, ya que posee una actividad de agua alta siendo un excelente medio para el crecimiento de microorganismos que contribuyen al proceso de deterioro.

Figura 8: Carne marinada y empacada al vacío (día 34).

**Análisis de color**

El ¨Sistema Color Hunter Lab¨ fue utilizado para tomar las lecturas de color para la carne marinada y empacada al vacío durante el período de almacenamiento a 4°C. Para estos muestreos se utilizó la escala de **L**, **a** y **b**. El color de la carne de cerdo es rosa-grisácea (Jay, 1994). Los valores promedios para la carne fresca fueron **L**= 40.26, **a**= 8.60 y **b**= 11.66 (Tabla 3).

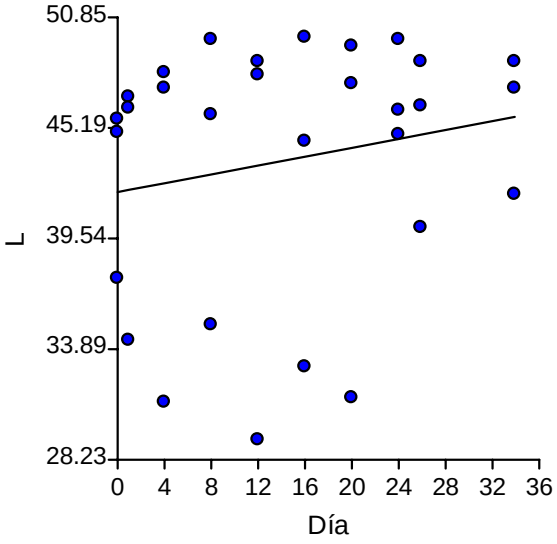
Tabla 3: Valores de **L**, **a** y **b**, durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| Descripción | L* | a* | B* |
|---|---|---|---|
| Carne Fresca | 40.26 | 8.60 | 11.66 |
| Marinado | 38.66 | 5.50 | 20.80 |
| Días | | | |
| 0 | 42.70 | 5.61 | 15.03 |
| 1 | 42.46 | 5.61 | 15.63 |
| 4 | 42.14 | 6.28 | 15.69 |
| 8 | 43.57 | 5.71 | 17.20 |
| 12 | 41.90 | 4.77 | 14.50 |
| 16 | 42.41 | 5.14 | 16.39 |
| 20 | 42.73 | 4.48 | 15.42 |
| 24 | 46.90 | 3.82 | 18.36 |
| 26 | 44.99 | 4.78 | 18.55 |
| 34 | 45.90 | 4.74 | 19.33 |

* ($P > 0.05$)

El parámetro **L** mide la claridad del color de la muestra y comprende desde blanco (100) hasta negro (0). La carne fresca tuvo un valor de **L** de 40.26 para el día 0 y la carne marinada tuvo un valor de 42.70, resultado de la adición del marinado. El marinado utilizado tenía una coloración amarillenta con particulado negro y rojo. Para la carne marinada y empacada al vacío (Tabla 3) no se encontraron diferencias

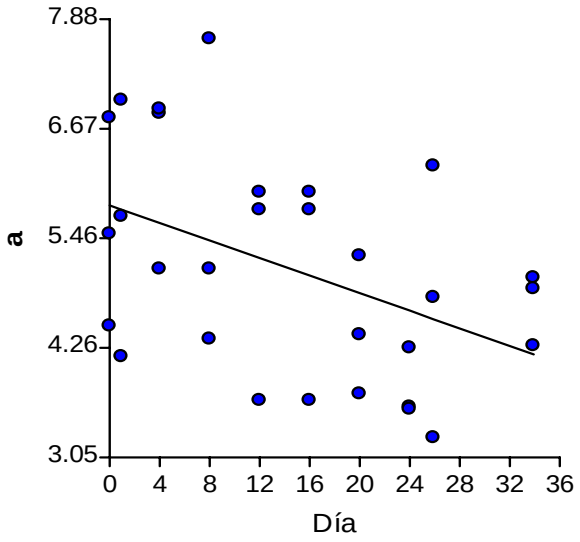
significativas en **L** (P > 0.05) a medida que pasaba el periodo de almacenamiento y según el análisis de regresión lineal este parámetro no muestra regresión lineal o sea no se percibe ninguna tendencia (P > 0.05) (Gráfica 3, Tabla 3 del apéndice). Sin embargo, al observar los valores de **L** se encontró que según pasaban los días de almacenamiento hubo un aumento en el valor **L** por lo que la carne se vuelve más pálida al pasar el tiempo de almacenamiento.




Gráfica 3: Regresión lineal del producto final para el parámetro **L** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

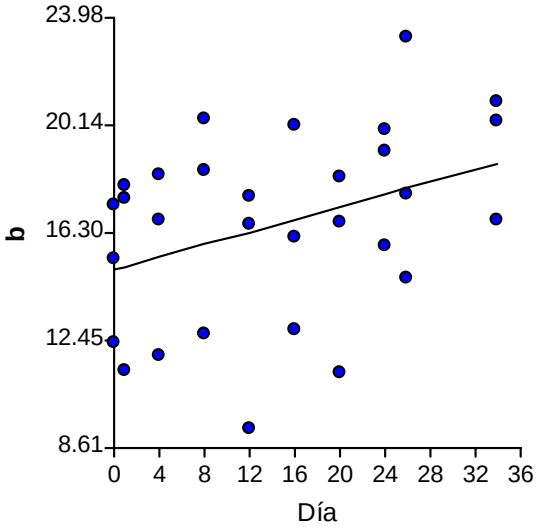
El parámetro **a** mide los colores de rojo (+) a verde (-). Para este parámetro no se encontraron diferencias significativas a medida que pasaba el periodo de almacenamiento (Tabla 3 , Tabla 4 del apéndice). Sin embargo, al realizar la regresión lineal se encontró que si existe una relación lineal para el valor de **a** (P < 0.05). Según la gráfica 4 de regresión lineal, mientras pasan los días de almacenamiento del producto el valor **a** disminuye. Los valores positivos que muestra este parámetro reflejan las

tonalidades del color rosado natural de la carne, ya que la carne de cerdo es de color rosa-grisácea.




Gráfica 4: Regresión lineal del producto final para el parámetro **a** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

Así como los parámetros antes mencionados, el valor **b** de la escala del ¨Hunter Lab¨ (Tabla 3, Tabla 5 del apéndice) no muestra diferencias significativas a medida que pasa el periodo de almacenamiento. El parámetro **b** mide los colores de amarillo (+) a azul (-). Sin embargo, la regresión lineal muestra que mientras pasan los días hay un aumento en este parámetro ($P < 0.05$) (Gráfica 5). Observamos que el valor se vuelve más positivo a medida que pasa el periodo de almacenamiento, indicando que posee un color amarillo. Esta observación va de acuerdo con lo observado para el parámetro **L** (se vuelve mas claro).




Gráfica 5: Regresión lineal del producto final para el parámetro **b** durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

Según Nottingham (1982), el color de la carne es determinado por la reacción entre el pigmento mioglobina y el oxígeno. La mioglobina es una proteína soluble en agua que almacena oxígeno para el metabolismo aeróbico en el músculo. Consiste de una porción proteica y un anillo de porfirina no-proteico con un átomo central de hierro. El átomo de hierro juega un papel importante en el color de la carne. Por lo tanto, algunos factores que pudieron afectar el color de la carne durante el periodo de almacenamiento fueron: el estado de oxidación del hierro, la ausencia de oxígeno y la liberación de agua del tejido (Fennema, 1996).

Los valores **L**, **a** y **b** describen el color de la carne, pero no revelan el origen del color observado en términos de las especies de mioglobina. Los parámetros del color varían según la especie de la mioglobina y un cambio en los valores de **a** o **b** pueden ser un efecto de la oxigenación - deoxigenación o un efecto de la oxidación a metmioglobina (Lindahl, 2005).

## Análisis microbiológico

### Recuento anaeróbico

El recuento total de microorganismos anaeróbicos para las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío puede ser indicativo de la calidad y grado de contaminación del alimento. En la actualidad no existe un estándar microbiológico para comparar los resultados de recuentos anaeróbicos de las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío. Según el análisis estadístico no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) (Tabla 6 del apéndice) para el recuento de microorganismos anaeróbicos durante el tiempo de almacenamiento. El recuento inicial de microorganismos anaeróbicos para la carne de cerdo fresca fue 1.47 Log UFC/g mientras que para la carne marinada fue 1.70 Log UFC/g (Gráfica 6, Tabla 4). Los alimentos no son tejidos estériles. Además el grado de potencial oxidación-reducción en un alimento varía dependiendo del grado de oxigenación y este potencial varía dependiendo del punto de análisis en el tejido; la superficie posee condiciones más oxigenadas que el interior de ese mismo tejido donde el oxígeno es mucho más reducido. Al primer día de almacenamiento se observó un leve aumento en el recuento a 1.92 Log UFC/g. Este aumento se debe a que la jarra anaeróbica y los absorbedores de oxígeno tienen como función seleccionar y favorecer el crecimiento de microorganismos anaeróbicos. Al realizar el análisis de regresión lineal (Gráfica 7) se encontró que no se observa tendencia para el crecimiento de microorganismos anaeróbicos durante los días de almacenamiento.

Jay (1986) estudió la caracterización en conjunto que influye el crecimiento bacteriano en la calidad de la carne. Estableció que la mayoría de los alimentos que

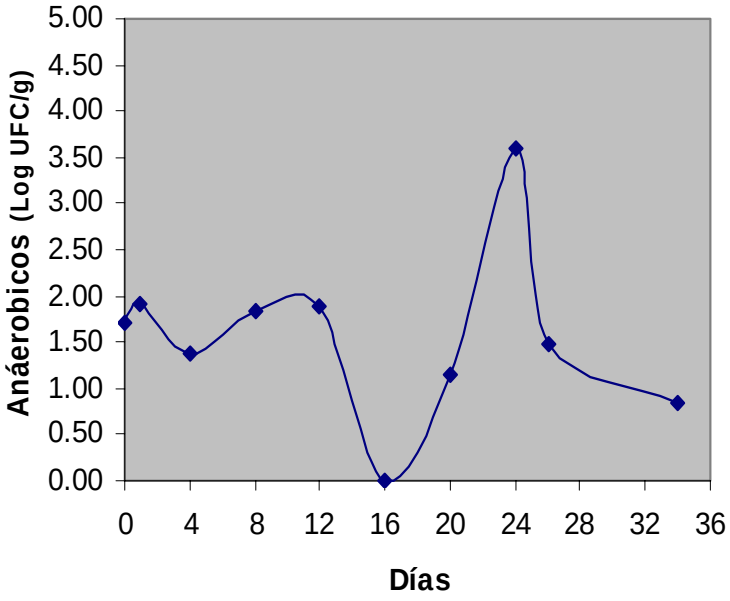
poseen un conteo de platos aeróbicos (APC) inferior a $10^5$ bacteria/g tienen una calidad microbiana aceptable, aquellos que tienen conteos entre $10^5$ bacteria/g y $10^6$ bacteria/g tienen algunos signos de sabor inaceptable, mientras aquellos que tienen APC entre $10^7$ a $10^8$ generalmente tienen olores y sabores inaceptables. Números bacterianos superiores a $10^8$/g resultan en algunos cambios estructurales, particularmente formación de limo (Bailey *et al*., 1993).

Por lo tanto, en el estudio realizado para las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío no se encontró un crecimiento de microorganismos anaeróbicos mayor de $10^5$/g. Según lo establecido por Jay (1986), el producto hasta el último día de muestreo tiene una calidad microbiana aceptable.

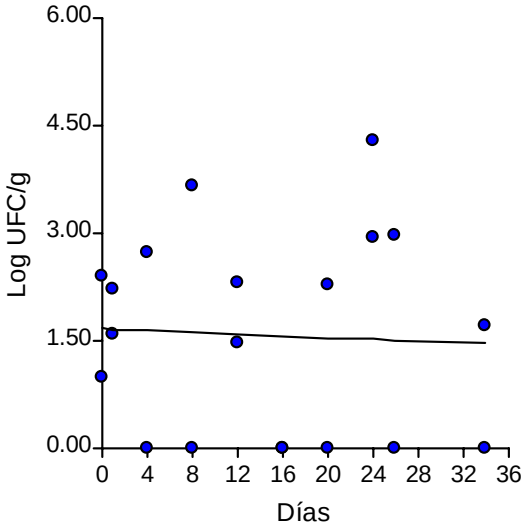
Tabla 4: Recuento de microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| **Descripción** | **Anaeróbicos* (Log UFC/g)** |
|---|---|
| **Carne fresca** | 1.47 |
| **Marinado** | 0.93 |
| **Días** | |
| 0 | 1.70 |
| 1 | 1.92 |
| 4 | 1.37 |
| 8 | 1.83 |
| 12 | 1.89 |
| 16 | 0.00 |
| 20 | 1.14 |
| 24 | 3.61 |
| 26 | 1.49 |
| 34 | 0.85 |

*($P > 0.05$)




Gráfica 6: Recuento microbiano de anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 7: Regresión lineal del producto final para microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Recuento de mohos y levaduras**

Los mohos se encuentran dispersos en el ambiente y pueden estar en lugares donde la carne es procesada y almacenada. Los mohos se caracterizan porque pueden crecer sobre un amplio rango de pH (0.3 – 11.0), $a_w$ entre 0.62 y 0.995 y a una temperatura bajo 0 (Brown y Baird-Parker, 1982).

Los mohos no son causantes de daño significativo durante el almacenamiento refrigerado de la carne empacada, pero están asociados con daños de las canales de carnes, particularmente cuando la actividad de agua de la superficie de la carne decrece como resultado de la desecación durante el almacenamiento (Lambert *et al*., 1991).

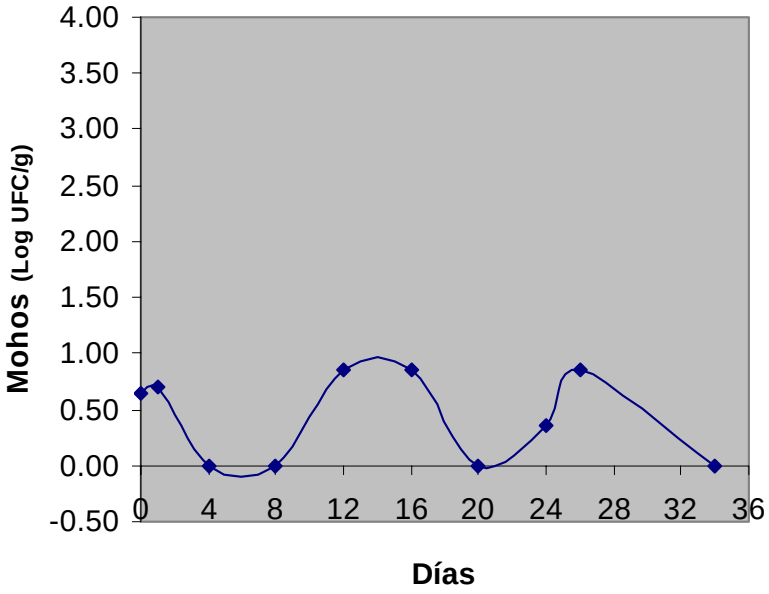
El recuento de mohos para el producto final el día 0 fue 0.65 Log UFC/g mientras que para la carne fresca fue 0.35 Log UFC/g y para la mezcla de los ingredientes para el marinado fue 0 Log UFC/g. Sin embargo, los recuentos de mohos fueron menor de 1 Log UFC/g durante todo el período de almacenamiento (Gráfica 8, Tabla 5).

Según el análisis de varianza no existen cambios significativos del crecimiento de mohos durante el período de almacenamiento (Tabla 7 del apéndice). Para el análisis de regresión lineal se encontró que no existe una relación lineal ($P > 0.05$) para el crecimiento de mohos según pasan los días (Gráfica 9). Esto indica que los recuentos se mantienen estables y en niveles que ayudan a alargar la vida útil del alimento.

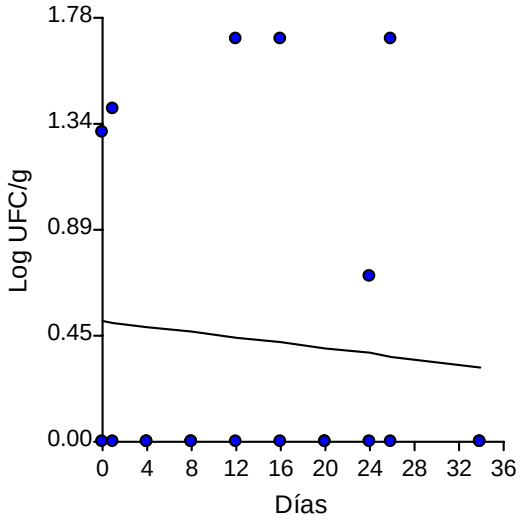
Tabla 5: Recuento de Mohos (LogUFC/g)

| Descripción | Mohos* (Log UFC/g) |
|---|---|
| **Carne fresca** | 0.35 |
| **Marinado** | 0.00 |
| **Días** | |
| 0 | 0.65 |
| 1 | 0.70 |
| 4 | 0.00 |
| 8 | 0.00 |
| 12 | 0.85 |
| 16 | 0.85 |
| 20 | 0.00 |
| 24 | 0.35 |
| 26 | 0.85 |
| 34 | 0.00 |

*(P > 0.05)




Gráfica 8: Recuento microbiano de mohos durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 9: Regresión lineal del producto final para mohos durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

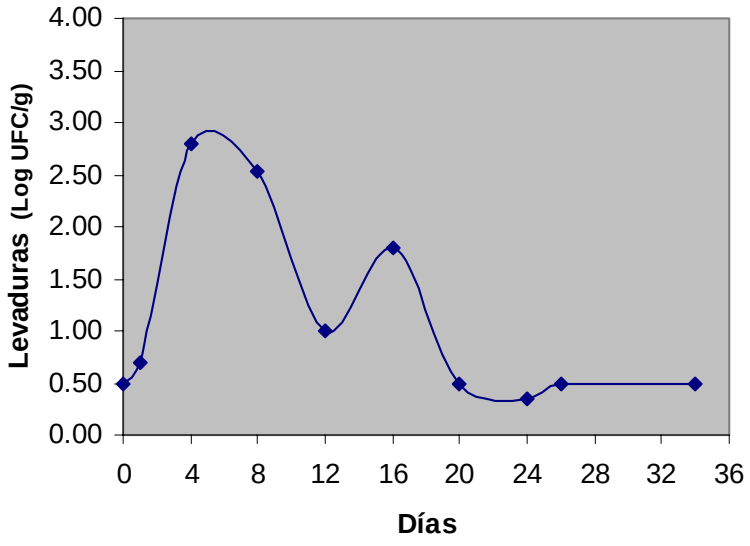
Sin embargo, el uso de varias especias en el marinado para la elaboración de las masitas de cerdo además de impartir sabor pueden ser una fuente de contaminación ya que las especias pueden estar contaminadas con hongos (Jay, 1994).

Los recuentos de levaduras estuvieron entre 0.35 y 2.79 Log UFC/g (Tabla 6, Gráfica 10) durante el periodo de tiempo de almacenamiento. Sin embargo el crecimiento de levaduras en el producto final no es estadísticamente diferente. El análisis de regresión lineal no encontró tendencia para el crecimiento de levaduras durante el periodo de almacenamiento (Tabla 6, Gráfica 11).

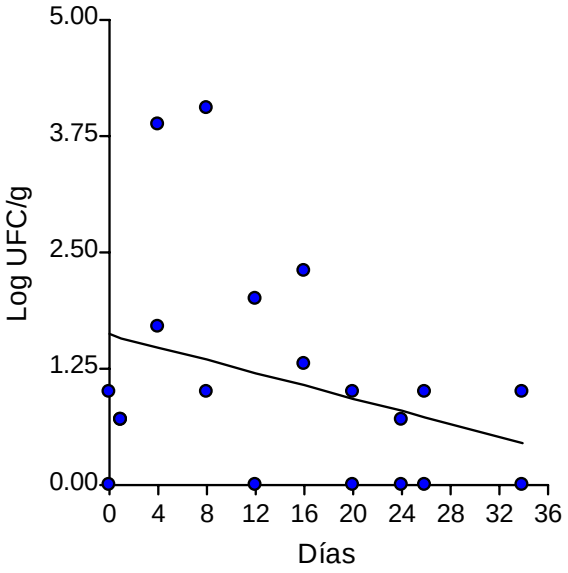
Tabla 6: Recuento de Levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| Descripción | Levaduras* (Log UFC/g) |
|---|---|
| **Carne fresca** | 0.91 |
| **Marinado** | 0.00 |
| **Días** | |
| 0 | 0.50 |
| 1 | 0.70 |
| 4 | 2.79 |
| 8 | 2.53 |
| 12 | 1.00 |
| 16 | 1.80 |
| 20 | 0.50 |
| 24 | 0.35 |
| 26 | 0.50 |
| 34 | 0.50 |

*(P > 0.05)




Gráfica 10: Recuento microbiano de levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 11: Regresión lineal del producto final para levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

Los recuentos de hongos y levaduras se mantuvieron en niveles menores que las bacterias durante el periodo de almacenamiento. La carne de cerdo es un medio donde la actividad de agua es alta, el pH es adecuado para el crecimiento de bacterias y ellas poseen un tiempo de generación mucho más corto que los mohos y las levaduras.

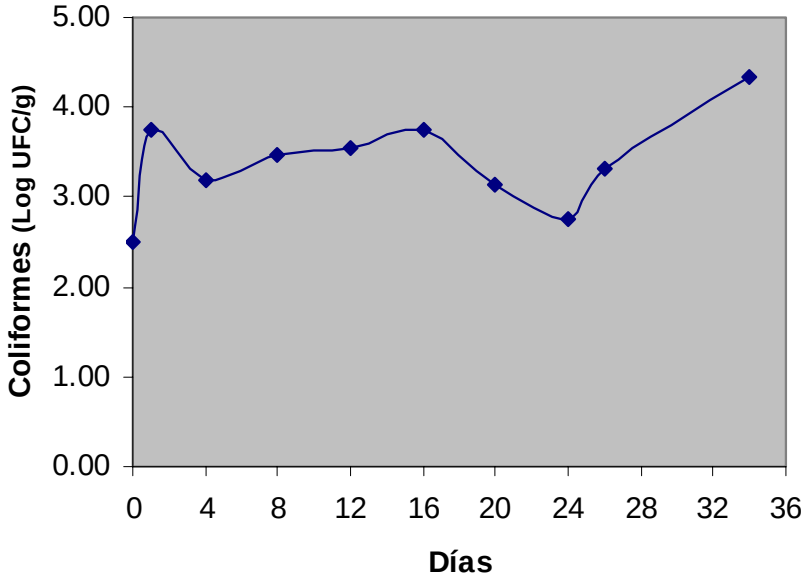
**Recuento de coliformes/ *E. coli***

El recuento de coliformes el día 0 para la carne fresca fue 2.02 Log UFC/g, para la mezcla de ingredientes del marinado fue 0.53 Log UFC/g mientras que para la carne marinada fue de 2.54 Log UFC/g (Tabla 7, Gráfica 12). Sin embargo, el análisis de varianza no muestra diferencias significativas para los coliformes durante el almacenamiento del producto (Tabla 9 del apéndice) y el análisis de regresión lineal no encontró relación lineal o tendencias para coliformes (Gráfica 13). No se detectó la presencia de *E. coli* en el producto terminado durante el periodo de almacenamiento. El medio de cultivo utilizado para identificar coliformes detecta varios géneros dentro de la familia Enterobacteriacea, estos son: *Escherichia, Salmonella, Shigella, Enterobacter, Serratia, Erwinia, Yersinia, Klebsiella, Citrobacter.* De éstos se busca detectar solamente *Escherichia* por ser indicador de contaminación fecal. Por lo tanto en el producto terminado se pudo tener los otros géneros pero no *E. coli*.

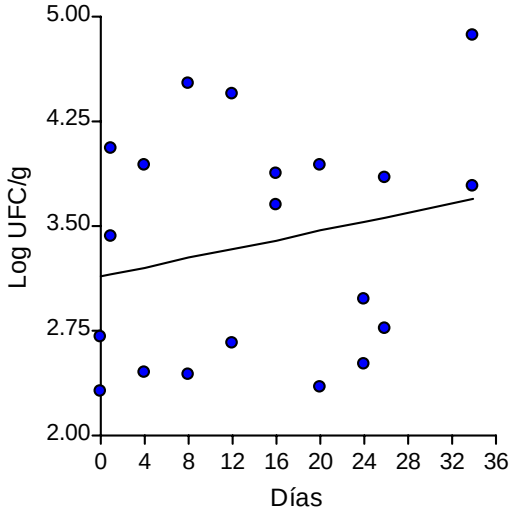
Tabla 7: Recuentos de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| **Descripción** | **Coliformes* (Log UFC/g)** |
|---|---|
| **Carne fresca** | 2.02 |
| **Marinado** | 0.53 |
| **Días** | |
| 0 | 2.51 |
| 1 | 3.74 |
| 4 | 3.19 |
| 8 | 3.47 |
| 12 | 3.55 |
| 16 | 3.76 |
| 20 | 3.14 |
| 24 | 2.74 |
| 26 | 3.31 |
| 34 | 4.33 |

*($P > 0.05$)




Grafica 12: Recuento microbiano de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 13: Regresión lineal para coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.

**Recuento de *Pseudomonas***

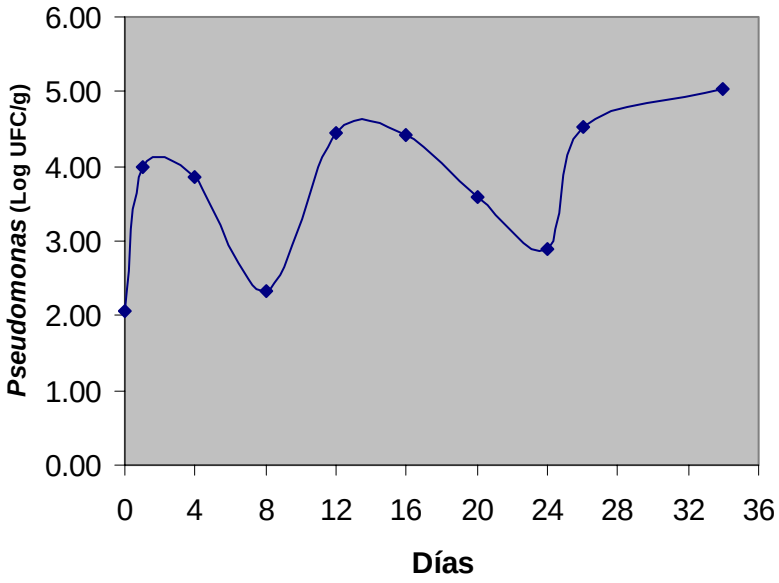
*Pseudomona* es una bacteria aeróbica y psicotrópica, por lo tanto es una bacteria responsable de deterioro en alimentos refrigerados. Este deterioro que ocurre en las carnes refrigeradas puede ser retrasado por el almacenamiento bajo condiciones anaeróbicas. Sin embargo es importante recordar que el empaque no es completamente impermeable al oxígeno presente en el ambiente, por lo tanto se pudo observar su crecimiento bajo las condiciones de estudio utilizadas. Newton and Rigg (1979) han reportado el crecimiento de bacterias aeróbicas, como *Pseudomonas* spp. en este tipo de empaque.

El recuento del microorganismo *Pseudomonas* para el día 0 para la carne marinada fue 2.07 Log UFC/g. Este recuento aumentó 3.99 Log UFC/g para el primer día y termino en 5.04 Log UFC/g para la carne empacada al vacío y almacenada a 4°C (Tabla 8, Gráfica 14). El análisis de varianza no indica que haya diferencias significativas ($P > 0.05$) para este microorganismo durante el almacenamiento y el análisis estadístico de regresión lineal no muestra relación lineal durante el almacenamiento (Gráfica 15, Tabla 10 del apéndice).

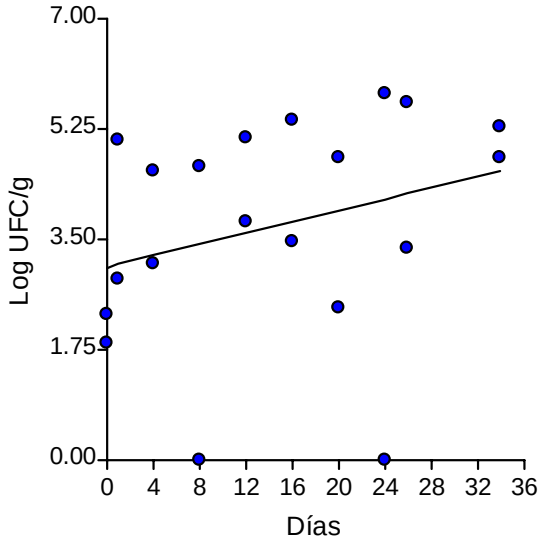
Tabla 8: Recuento de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| **Descripción** | ***Pseudomonas** (Log UFC/g)** |
|---|---|
| **Carne fresca** | 2.02 |
| **Días** | |
| 0 | 2.07 |
| 1 | 3.99 |
| 4 | 3.85 |
| 8 | 2.33 |
| 12 | 4.44 |
| 16 | 4.43 |
| 20 | 3.60 |
| 24 | 2.90 |
| 26 | 4.52 |
| 34 | 5.04 |

*(P > 0.05)




Gráfica 14: Recuento microbiano de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 15: Regresión lineal para *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.

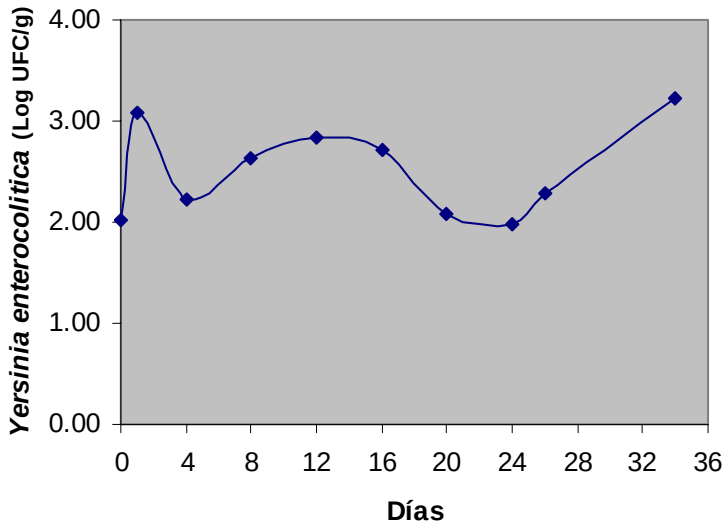
**Recuento del patógeno *Y. enterocolitica***

El patógeno *Y. enterocolitica* es un organismo psicotrófico. Esta bacteria es un bacilo gram negativo, pequeño, no forma esporas y es aerobio o anaerobio facultativo (Elizalde *et al*., 2001). *Y. enterocolitica* está ampliamente distribuida en la naturaleza y posee reservorios acuáticos y animales, siendo el cerdo el reservorio más importante de las cepas patógenas para la especie humana. El crecimiento de *Y. enterocolitica* el día 0 para la muestra de carne marinada fue de 2.03 Log UFC/g mientras que para carne fresca fue 0.65 Log UFC/g (Tabla 9, Gráfica 16). Sin embargo, el análisis de varianza no encontró diferencias significativas para el crecimiento de *Y. enterocolitica* durante el almacenamiento y el análisis de regresión lineal no encontró una tendencia lineal ($P > 0.05$) (Gráfica 17, Tabla 11 del apéndice).

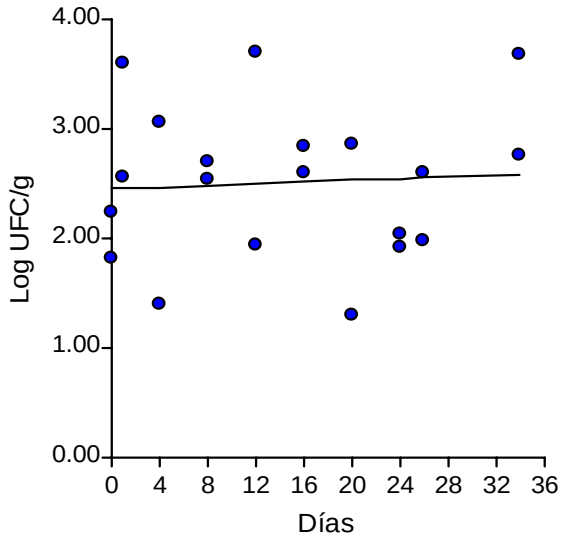
Tabla 9: Recuento del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

| **Descripción** | ***Y. enterocolitica** (Log UFC/g)** |
|---|---|
| **Carne fresca** | 0.65 |
| **Días** | |
| 0 | 2.03 |
| 1 | 3.09 |
| 4 | 2.23 |
| 8 | 2.62 |
| 12 | 2.83 |
| 16 | 2.72 |
| 20 | 2.07 |
| 24 | 1.99 |
| 26 | 2.29 |
| 34 | 3.22 |

*(P > 0.05)




Gráfica 16: Recuento microbiano del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4ºC.




Gráfica 17: Regresión lineal del producto final para el microorganismo patogénico *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

A pesar de obtener colonias en el medio de cultivo para *Yersinia* con coloración típica se realizó la prueba confirmativa de fermentación de lactosa ya que, *Yersinia enterocolitica* fermenta lactosa con poca o ninguna producción de gas. Para estos propósitos se utilizó caldo de lactosa el cual fue inoculado en la colonia aislada del medio CIN e inoculado por 48 horas a 35°C. Sorpresivamente las pruebas de fermentación demostraron vigorosa producción de gas, por lo cual se puede concluir que no era la bacteria buscada a pesar de poseer colonias típicas para *Yersinia* en CIN. Según referencia literaria (http://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/CINAgar.htm) se puede presumir que la colonia aislada fue *Aeromonas hydrophilas*, ya que esta puede crecer en el medio de cultivo CIN con unas colonias típicas de color rosa oscura con halo traslucido. Esta bacteria en la prueba bioquímica de lactosa presenta producción de gas y es gram negativa.

# *Conclusiones*

Los factores intrínsecos están relacionados al alimento: composición química, actividad de agua ($a_w$), pH, potencial oxidación-reducción y componentes de actividad antimicrobiana propias del alimento. Los factores extrínsecos están relacionados al medio ambiente que le rodea: temperatura de almacenamiento, empaque, gas atmosférico y humedad relativa entre otros. Estos factores influyen en la supervivencia o crecimiento de microorganismos en los alimentos (Tewari *et al*., 1999).

La estabilidad y seguridad microbiana de la mayoría de los alimentos se basa en la combinación de estos factores tanto intrínsecos como extrínsecos, que no deberían ser vencidos por los microorganismos. Esta técnica es conocida como efecto de barrera y es de fundamental importancia para la preservación de los alimentos dado que las barreras en un producto estable controlan los procesos de deterioro no deseados (Leistner, 1992). Además, el concepto de barrera ilustra el hecho de que las complejas interacciones entre la temperatura, actividad de agua, pH, potencial redox, etc., son significativas para controlar el crecimiento microbiano en alimentos. Los métodos combinados permiten mejorar la seguridad y calidad mediante una combinación de obstáculos que aseguran la estabilidad y seguridad microbiana, así como las propiedades nutritivas. En este experimento se utilizaron las barreras de pH, $a_w$, adición de sales, empaque al vacío y temperatura de refrigeración para alargar la vida útil del producto.

Los efectos que la temperatura, el oxígeno, pH y $a_w$ ejercen sobre la actividad microbiana no son completamente independientes unos de otros. A medida que las temperaturas se aproximan a las mínimas o máximas de crecimiento, los

microorganismos se hacen generalmente más sensibles a la actividad de agua ($a_w$), a la disponibilidad de oxígeno y al pH. Por ejemplo, bajo condiciones anaeróbicas las bacterias pueden necesitar un pH, una $a_w$ y una temperatura mínima de crecimiento mayores que cuando prevalecen las condiciones aeróbicas. De hecho los microorganismos que crecen a temperaturas bajas son generalmente aeróbicos y normalmente requieren una alta disponibilidad de agua. En consecuencia, la disminución de la $a_w$, por adición de sal o por la exclusión del oxígeno de la carne mantenida a bajas temperaturas, reduce mucho la velocidad de la alteración microbiana (Jay, 1994). Esto fue lo que se hizo para la carne, ya que se marinó, se empacó al vacío y se mantuvo a temperatura de refrigeración por un periodo de tiempo. Al realizar todo esto se están creando barreras combinadas y el efecto va a ser mayor.

El empaque es una barrera física con la que cuenta el producto para no contaminarse con los microorganismos en el ambiente, pero como algunos microorganismos son inherentes del producto nuestra única defensa es evitar la rápida proliferación. Por esta razón ha aumentado dramáticamente el interés por estudiar la microbiología de alimentos en especial de aquellos microorganismos patogénicos, ya que mientras más contaminado esté un producto menos tiempo durará el mismo. La vida útil de la carne enfriada puede ser extendida al ser empacada al vacío en una película plástica de baja permeabilidad de oxígeno. Bajo estas condiciones el oxígeno residual es consumido por la carne, con la liberación de bióxido de carbono. Sin embargo, un ambiente completamente anaeróbico no es producido porque algún oxígeno siempre penetra a través de la película y esto puede permitir el crecimiento de aeróbicos estrictos como las *Pseudomonas* (Gill, 1982).

El deterioro causado por microorganismos es resultado de las relaciones entre el alimento y el microorganismo. Para poder predecirlo y controlarlo hay que conocer las características del alimento como medio de crecimiento de microorganismos y los microorganismos que colonizan habitualmente dicho alimento. Las carnes son los alimentos más alterables debido en sus características de composición: alto contenido en proteínas y grasas entre otras que favorecen el crecimiento bacteriano.

Por lo tanto para este estudio podemos concluir que:

1. Las masitas de cerdo marinadas y empacadas al vacío se encuentran aptas para consumo hasta el día 34 de almacenamiento, según las pruebas físico-químicas y microbiológicas realizadas.
2. No se encontraron cambios significativos durante el periodo de almacenamiento a 4°C hasta el día 34 en pH, $a_w$, color.
3. Las pruebas microbiológicas realizadas para microorganismos anaeróbicos, coliformes/ *E. coli*, mohos, levaduras, *Pseudomonas* y el patógeno *Yersinia enterocolitica* demostraron recuentos aceptables durante el periodo de almacenamiento.
4. El proceso de marinar la carne ayuda a extender la vida útil del producto, si comparamos con el largo de vida útil de solo 5 días para carne fresca de cerdo.

# *Recomendaciones*

- Determinar el efecto de otros tipos  y condiciones de empaque en el largo de vida útil del producto, por ejemplo: atmósfera modificada.

- Realizar evaluación sensorial con panelistas adiestrados para detectar posibles cambios en sabor y olor del producto a medida que transcurre el periodo de almacenamiento.

# *Bibliografía*


Acton, J. y Jensen, J. 1994. Como entender la tecnología del marinado. Industria Avícola. 32-38.

Bailey, M. E., Intarapichet, K. O., Gerhardt, K. O., Gutheil, R. A. y Noland, L. A. 1993. In: Charalambous, G., editor. Shelf life studies of Food and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects. Elsevier Science Publishers B. V. p 63-71.

Blixt, Y. y Borch, E. 2002. Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef. *Meat Science*. 60:371-378.

Björkroth, J. 2005. Microbial ecology of marinated meat products. *Meat Science*. 70:477-480.

Brown, M. H. y Baird-Parker, A. C. 1982. The Micribiological Examination of Meat. In: Brown, M. H. Meat Microbiology. New York: Applied Science Publishers LTD. p.479.

Chambers, P. G. y Grandin, T. 2001. Directrices para el Manejo, Transporte y Sacrificio Humanitario del Ganado. Food and Agricultura Organization of the United Nations Regional Office for Asia and Pacific.

Cannon, J. E., McKeith, F. K., Martin, S. E., Novakofski, J. y Carr, T. R. 1993. Acceptability and Shelf-life of Marinated Fresh and Precooked Pork. *J. Food Sci*. 58(6):1249-1253.

Coma, J. y Piquer, J. 2004. Calidad de Carne en Porcino: Efecto de la Nutrición. XV Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal.

Church, I. J. y Parsons, A. L. 1995. Modified Atmosphere Packaging Technology: A Review. *J. Sci. Food Agric*. 67:143-152.

De Caloni, I.B. y Fernández-Coll, F. 1983. Elaboration, sensory and microbiological evaluation of mofongo. *J. Agri. Univ. P.R.* 67(2):95-99.

De Huidobro, Ruiz F., Miguel, E., Blázquez, B. y Onega, E. 2003. La calidad de la carne y su percepción por los consumidores. Alimentaria, Marzo 04/37

Departamento de Agricultura, Oficina de Estadísticas Agrícolas. 2004. External Trade Stadistics Puerto Rico. Commonwealth of Puerto Rico, Office of the Governor Planning Borrad. 11.59c10 Carne de Cerdo: Proceso de Cómputos de Consumo Per Cápita (Peso al Detal y Peso a la Canal).

Doyle, M. P. 1998. Extending the Shelf Life of Refrigerated Foods: For Better or Worse?. *Food Technology*. 52 (2):20.

Doyle, M. P. y Hugdahl, M. B. 1983. Improved Procedure for Recovery of *Yersinia enterocolitica* from Meats. *Appl. Environ. Microbiol*. 45(1):127-135.

Elizalde, C. P., Díaz, A. E., Hernández, A. L. y Jaramillo, A. C. 2001. Identificación y tipicación de biotipos y sertipos de *Yersinia enterocolitica*. *Rev. de Saúde Pública.* 35(4):380-384.

Fennema, O. R. 1996. Food Chemistry. 3rd editon. Marcel Dekker, New York.

Gadea, I. y Soriano, F. 1997. *Yersinia enterocolitica*: Aspectos Prácticos. Control de Calidad SEIMC. Departamento de Microbiología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

García-Esteban, M., Ansorena, D. y Astiasarán, I. 2004. Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality. *Meat Science*. 67:57-63.

Gault, N. F. S. 1991. Marinaded meat. In: R. A. Lawrie (Ed.). Developments in meat science. Vol. 5. Elsevier Applied Science, London. p. 191-247

Gill, C. O. 1982. Microbial Interaction with Meats. In: Brown, M. H. Meat Microbiology. Applied Science Publishers, New York LTD. p. 225-265.

Hedrick, H. B., Aberle, E. D., Forrest, J. C., Judge, M. D. y Merkel, R. A. 1975. Fundamentos de Ciencia dela Carne. Editorial Acribia, Zaragoza (España).

Hedrick, H. B., Aberle, E. D., Forrest, J. C., Judge, M. D. y Merkel, R. A. 2001. Principles of Meat Science. 4rd ed., Kendall Hunt Publishing Co., Dubuque, Iowa.

Infostat, 2002. Universidad Nacional de Córdoba Estadística y Diseño-F. C. A.

Jay, J. M. 1986. In: Pearson, M. D. y Stern, N. J. Foodborne Microorganisms and their Toxins: Developing Methodology, Marcel Deckker, New York, N. Y.

Jay, J. M. 1994. Modern Food Microbiology. 6th edition. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York.

Johnson, J. L. 1998. Isolation & Identification of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* from Meat and Poultry Products. 3rd ed. USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook.

Koutsoumanis, K. P., Kendall, P.A. y Sofos, J. N. 2004. Modeling the Boundaries of Growth of *Salmonella Typhimurium* in Broth as a Function of Temperature, Water Activity, and pH. *J. Food Prot.* 67 (1):53-59.

Kramer, A. 1976. Use of color measurement in quality control of foods. *Food Technol*. 30(10):62.

Lambert, A. D., Smith, J. P. and Dodds, K. L. 1991. Shelf life extension and microbial safety of fresh meat – a review. *Food Microbiol*. 8:267-297.

Lattuada, C. y Dey, B. 1998. Sample Preparation for Meat, Poultry and Pasteurized Egg Products. 3rd ed. USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook.

Leistner, L. 1992. Food preservation by combined methods. *Food Research International*. 25:151-158.

Lin, K. W. and Chuang, C. H. 2001. Effectiveness of dipping with Phosphate, Lactate and acetic Acid Solutions on the Quality and Shelf-life of Pork Loin Chop. *J. of Food Sci*. 66 (3):494.

Linhand, G. 2005. Colour Characteristic of Fresh Pork. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural sciences.

Man, D. 2002. Shelf Life. Blackwell Science, Oxford.

McEntire, J. C. 2004. IFT Issues Update on Foodborne Pathogens. *Food Technol*. 58(7):20-21.

Mendonca, A. F., Molins, R. A., Kraft, A. A. y Walker, H. W. 1989. Effects of Potassium Sorbate, Sodium Acetate, Phosphates and Sodium Chloride Alone or in Combination on Shelf Life of Vacuum-Packaged Pork Chops. *J. Food Sci.* 54(2):302-306.

Minor-Pérez, H., Ponce-Alquicira, E., Macias-Bravo, S. y Guerrero-Legarreta, I. 2002. Conservación de la Carne Fresca de Cerdo por Fermentación Láctica: Efecto Sobre el Color, la textura y la Formación de los Ácidos Grasos Libres. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. (1):73-80.

Nash, C. 2002. Principios de Control en Seguridad Alimenticia. Publicado exclusivamente en nombre de NEHA Training, LLC por Chadwick House Group Limited. p.52.

Newton, K., G. y Rigg, W. J. 1979. Vacuum-Packaging of Meat. *J. of Applied Bacteriology*. 47:433.

Nottingham, P. M.1982. Microbiology of Carcass Meats. In: Brown, M. H. Meat Microbiology. Applied Science Publishers LTD, New York. p.13-67.

Pearson, A. M. y Dutson, T. R. 1994. Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products, 1st edition. Blackie Academic & Professional, New York.

Pearson, A. M. y Tauber, F. W. 1984. Processed meats. 2 nd edition. A VI Publishing Company, Westport Connecticut. p. 29.

Scott, V. N. 1989. Interaction of Factors to Control Microbial Spoilage of Refrigerated Foods. *J. Food Prot*. 52(6):431-435.

Terra, N. N. y Fries, L. L. 2000. Pork Quality and Processing. Universidad Federal de Santa María, Rio Grande do Sul – Brasil.

Tewari, G., Jayas, D. y Holley, R. 1999. Centralized Packaging of Retail meat Cuts: A Review. *J. Food Prot*. 62(4):418-425.

Zhu, L. G., Bidner B. y Brewer M. S. 2001. Postmortem pH, Muscle, and Refrigerated Storage Effects on Ability of Vacuum-Packaged Pork to Bloom. *J. of Food Sci.* 66 (8):1230-1235.

http://club.telepolis.com/ohcop/pehachey.html

http://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/CINAgar.htm Mosby **Company**, St. Louis, MO. 4. Isenberg, HD Clinical Microbiology

http://www.worldfoodscience.org/cms/?pid=1001315

# APÉNDICES

# Datos y Estadística

Tabla 1: Análisis de varianza y regresión lineal del pH para el producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| pH | 30 | 0.23 | 0.00 | 4.22 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.36 | 9 | 0.04 | 0.66 | 0.7340 |
| Día | 0.36 | 9 | 0.04 | 0.66 | 0.7340 |
| Error | 1.20 | 20 | 0.06 | | |
| Total | 1.56 | 29 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| pH | 30 | 0.15 | 0.12 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 5.93 | 0.07 | 5.79 | 6.06 | 89.79 | <0.0001 | |
| Día | -0.01 | 0.00 | -0.02 | 0.00 | -2.26 | 0.0320 | 5.95 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.24 | 1 | 0.24 | 5.09 | 0.0320 |
| Día | 0.24 | 1 | 0.24 | 5.09 | 0.0320 |
| Error | 1.32 | 28 | 0.05 | | |
| Total | 1.56 | 29 | | | |

Tabla 2: Análisis de varianza y regresión lineal de la actividad de agua para el producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Aw | 30 | 0.28 | 0.00 | 1.87 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.00 | 9 | 0.00 | 0.86 | 0.5712 |
| Día | 0.00 | 9 | 0.00 | 0.86 | 0.5712 |
| Error | 0.01 | 20 | 0.00 | | |
| Total | 0.01 | 29 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Aw | 30 | 0.17 | 0.14 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 0.97 | 0.01 | 0.96 | 0.98 | 192.57 | <0.0001 | |
| Día | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.42 | 0.0222 | 6.69 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.00 | 1 | 0.00 | 5.86 | 0.0222 |
| Día | 0.00 | 1 | 0.00 | 5.86 | 0.0222 |
| Error | 0.01 | 28 | 0.00 | | |
| Total | 0.01 | 29 | | | |

Tabla 3: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **L** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| L | 30 | 0.07 | 0.00 | 17.00 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 82.13 | 9 | 9.13 | 0.17 | 0.9955 |
| Día | 82.13 | 9 | 9.13 | 0.17 | 0.9955 |
| Error | 1096.74 | 20 | 54.84 | | |
| Total | 1178.87 | 29 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| L | 30 | 0.04 | 0.00 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 41.94 | 1.93 | 37.97 | 45.90 | 21.68 | <0.0001 | |
| Día | 0.11 | 0.11 | -0.11 | 0.33 | 1.06 | 0.2995 | 2.11 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 45.25 | 1 | 45.25 | 1.12 | 0.2995 |
| Día | 45.25 | 1 | 45.25 | 1.12 | 0.2995 |
| Error | 1133.62 | 28 | 40.49 | | |
| Total | 1178.87 | 29 | | | |

Tabla 4: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **a** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| a | 30 | 0.33 | 0.03 | 22.81 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 13.65 | 9 | 1.52 | 1.11 | 0.4012 |
| Día | 13.65 | 9 | 1.52 | 1.11 | 0.4012 |
| Error | 27.39 | 20 | 1.37 | | |
| Total | 41.03 | 29 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| a | 30 | 0.20 | 0.17 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 5.83 | 0.33 | 5.15 | 6.50 | 17.71 | <0.0001 | |
| Día | -0.05 | 0.02 | -0.09 | -0.01 | -2.65 | 0.0132 | 7.80 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 8.21 | 1 | 8.21 | 7.00 | 0.0132 |
| Día | 8.21 | 1 | 8.21 | 7.00 | 0.0132 |
| Error | 32.82 | 28 | 1.17 | | |
| Total | 41.03 | 29 | | | |

Tabla 5: Análisis de varianza y regresión lineal para el parámetro **b** del producto final durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| b | 30 | 0.23 | 0.00 | 21.16 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 74.34 | 9 | 8.26 | 0.67 | 0.7275 |
| Día | 74.34 | 9 | 8.26 | 0.67 | 0.7275 |
| Error | 247.15 | 20 | 12.36 | | |
| Total | 321.49 | 29 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| b | 30 | 0.14 | 0.11 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 14.99 | 0.96 | 13.03 | 16.95 | 15.68 | <0.0001 | |
| Día | 0.11 | 0.05 | 0.00 | 0.22 | 2.11 | 0.0435 | 5.35 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 44.28 | 1 | 44.28 | 4.47 | 0.0435 |
| Día | 44.28 | 1 | 44.28 | 4.47 | 0.0435 |
| Error | 277.21 | 28 | 9.90 | | |
| Total | 321.49 | 29 | | | |

Tabla 6: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de microorganismos anaeróbicos durante el periodo de almacenamiento.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Anaeróbico | 20 | 0.42 | 0.00 | 92.51 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 15.32 | 9 | 1.70 | 0.80 | 0.6276 |
| Días | 15.32 | 9 | 1.70 | 0.80 | 0.6276 |
| Error | 21.33 | 10 | 2.13 | | |
| Total | 36.64 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Anaeróbico | 20 | 0.00 | 0.00 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 1.67 | 0.53 | 0.55 | 2.78 | 3.14 | 0.0056 | |
| Días | -0.01 | 0.03 | -0.07 | 0.06 | -0.21 | 0.8369 | 1.09 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.09 | 1 | 0.09 | 0.04 | 0.8369 |
| Días | 0.09 | 1 | 0.09 | 0.04 | 0.8369 |
| Error | 36.55 | 18 | 2.03 | | |
| Total | 36.64 | 19 | | | |

Tabla 7: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de mohos durante el periodo de almacenamiento.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Mohos | 20 | 0.30 | 0.00 | 188.31 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 2.79 | 9 | 0.31 | 0.48 | 0.8548 |
| Días | 2.79 | 9 | 0.31 | 0.48 | 0.8548 |
| Error | 6.41 | 10 | 0.64 | | |
| Total | 9.20 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Mohos | 20 | 0.01 | 0.00 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 0.51 | 0.27 | -0.05 | 1.06 | 1.91 | 0.0723 | |
| Días | -0.01 | 0.01 | -0.04 | 0.03 | -0.38 | 0.7069 | 1.19 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.07 | 1 | 0.07 | 0.15 | 0.7069 |
| Días | 0.07 | 1 | 0.07 | 0.15 | 0.7069 |
| Error | 9.12 | 18 | 0.51 | | |
| Total | 9.20 | 19 | | | |

Tabla 8: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de levaduras durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Levaduras | 20 | 0.56 | 0.17 | 97.26 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 15.12 | 9 | 1.68 | 1.42 | 0.2942 |
| Días | 15.12 | 9 | 1.68 | 1.42 | 0.2942 |
| Error | 11.80 | 10 | 1.18 | | |
| Total | 26.92 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Levaduras | 20 | 0.10 | 0.05 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 1.61 | 0.43 | 0.71 | 2.52 | 3.74 | 0.0015 | |
| Días | -0.03 | 0.02 | -0.08 | 0.02 | -1.44 | 0.1665 | 3.02 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 2.79 | 1 | 2.79 | 2.08 | 0.1665 |
| Días | 2.79 | 1 | 2.79 | 2.08 | 0.1665 |
| Error | 24.14 | 18 | 1.34 | | |
| Total | 26.92 | 19 | | | |

Tabla 9: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de coliformes durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Coliformes | 20 | 0.39 | 0.00 | 26.06 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 4.93 | 9 | 0.55 | 0.71 | 0.6927 |
| Días | 4.93 | 9 | 0.55 | 0.71 | 0.6927 |
| Error | 7.73 | 10 | 0.77 | | |
| Total | 12.66 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Coliformes | 20 | 0.05 | 0.00 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 3.14 | 0.30 | 2.50 | 3.77 | 10.31 | <0.0001 | |
| Días | 0.02 | 0.02 | -0.02 | 0.05 | 0.98 | 0.3390 | 1.97 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.64 | 1 | 0.64 | 0.96 | 0.3390 |
| Días | 0.64 | 1 | 0.64 | 0.96 | 0.3390 |
| Error | 12.02 | 18 | 0.67 | | |
| Total | 12.66 | 19 | | | |

Tabla 10: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento de *Pseudomonas* durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Pseudomonas | 20 | 0.31 | 0.00 | 53.58 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 17.63 | 9 | 1.96 | 0.49 | 0.8483 |
| Días | 17.63 | 9 | 1.96 | 0.49 | 0.8483 |
| Error | 39.66 | 10 | 3.97 | | |
| Total | 57.28 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Pseudomonas | 20 | 0.08 | 0.03 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 3.06 | 0.64 | 1.73 | 4.39 | 4.82 | 0.0001 | |
| Días | 0.05 | 0.04 | -0.03 | 0.12 | 1.29 | 0.2125 | 2.64 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 4.86 | 1 | 4.86 | 1.67 | 0.2125 |
| Días | 4.86 | 1 | 4.86 | 1.67 | 0.2125 |
| Error | 52.42 | 18 | 2.91 | | |
| Total | 57.28 | 19 | | | |

Tabla 11: Análisis de varianza y de regresión lineal para el crecimiento del patógeno *Yersinia enterocolitica* durante el periodo de almacenamiento a 4°C.

**Análisis de la varianza**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ | CV |
|---|---|---|---|---|
| Y. enterocolitica | 20 | 0.40 | 0.00 | 29.45 |

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)**

| F.V. | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 3.65 | 9 | 0.41 | 0.74 | 0.6677 |
| Días | 3.65 | 9 | 0.41 | 0.74 | 0.6677 |
| Error | 5.46 | 10 | 0.55 | | |
| Total | 9.11 | 19 | | | |

**Análisis de regresión lineal**

| Variable | N | $R^2$ | $R^2Aj$ |
|---|---|---|---|
| Y. enterocolitica | 20 | 0.00 | 0.00 |

**Coeficientes de regresión y estadísticos asociados**

| Coef. | Est. | E.E. | LI(95%) | LS(95%) | T | Valor p | CpMallows |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| const | 2.45 | 0.26 | 1.89 | 3.01 | 9.27 | <0.0001 | |
| Días | 0.00 | 0.01 | -0.03 | 0.03 | 0.28 | 0.7833 | 1.13 |

**Tabla de análisis de la varianza SC Tipo III**

| FV | SC | gl | CM | F | Valor p |
|---|---|---|---|---|---|
| Modelo | 0.04 | 1 | 0.04 | 0.08 | 0.7833 |
| Días | 0.04 | 1 | 0.04 | 0.08 | 0.7833 |
| Error | 9.07 | 18 | 0.50 | | |
| Total | 9.11 | 19 | | | |