

7
664.93286
ARPL



D-63158

Escuela Superior Politécnica del Litoral

**Instituto de Tecnologías
Programa de Tecnología en Alimentos**

**PROYECTO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE TECNÓLOGO EN ALIMENTOS**

**TEMA: SALAMI DE POLLO AHUMADO
OBTENIDO MEDIANTE UN PROCESO BIOTECNOLÓGICO**

Autores:

D-63158

**Elvia Edith Armijos Medrano
Jenniffer Isabel Salazar Cárdenas**

GUAYAQUIL - ECUADOR

2010 - 2011



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL
LITORAL**

INSTITUTO DE TECNOLOGIAS

PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

**PROYECTO DE GRADUACION PREVIO A LA
OBTENCION DEL TITULO DE TECNOLOGO EN ALIMENTOS**

TEMA: SALAMI DE POLLO AHUMADO

D-63158

OBTENIDO MEDIANTE UN PROCESO BIOTECNOLOGICO



Autores:

ELVIA EDITH ARMIJOS MEDRANO

JENNIFFER ISABEL SALAZAR CÁRDENAS

**MSC ABEL ROSADO
DIRECTOR DEL PROYECTO**

**MSC RENE RODRIGUEZ
VOCAL PRINCIPAL DEL TRIBUNAL**

AÑO LECTIVO

2010 - 2011

GUAYAQUIL - ECUADOR

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios y a mis Padres. A mi Familia. De manera especial a nuestro Director de proyecto MSC Abel Rosado, quien con sus enseñanzas y dedicación nos impulsó a la realización y culminación de éste trabajo investigativo. Al MSC René Rodríguez por ayudarnos con las microfotografías. Al Ing. Juan Carlos Neira que nos brindó ayuda con su conocimiento y experiencia en la fabricación de embutidos. Al MSC Edwin Tamayo. Al Dr. Pablo Chong que nos prestó la cámara de flujo para el tratamiento de las especias. A la Srta. Beatriz Oviedo por su valiosa colaboración. Al Sr. Tomás Pacheco por el préstamo oportuno de materiales e instrumentos de laboratorio. A la Unidad Académica. A todas las personas que colaboraron con su asistencia al panel de degustación, a todos quienes directa e indirectamente contribuyeron con nosotras durante la ejecución del Proyecto de Graduación.

Muchas Gracias.

E. Edith Armijos Medrano

AGRADECIMIENTO



Por Jenniffer Salazar Cárdenas

Agradezco:

A Dios, por haberme permitido llegar donde estoy, porque con su sabiduría supo guiarme y hacer que vea lo importante de llegar al final de cualquier meta, a pesar de las caídas que encontrara en el camino.

A mis padres y hermanos, porque su apoyo y motivación me ayudaron a seguir y a sentir que podía lograr lo que deseaba en los momentos de flaqueo y no desistir de mi lucha por llegar al final de esta etapa universitaria.

A mi amiga y hermana Blanca Sarmiento, quien con sus palabras llenas de afecto y fuerza me hicieron ver lo valioso de la vida, del esfuerzo, de seguir adelante y de volver a levantarme de mis tropiezos, sin dejar a un lado todo lo valioso que llevo dentro y que me convierte en un mejor ser humano.

A todas y cada una de las personas que aparecieron en mi camino y que dejaron huellas valiosas en mi vida como mis amigas y hermanas Edith Armijos y Beatriz Oviedo, Máster Abel Rosado, Máster René Rodríguez, Ing. Juan Carlos Neira, Máster Carlos Poveda, Máster Edwin Tamayo, el señor Tomás Pacheco y a las personas del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE). Quienes con su semilla permitieron que floreciera de muchas maneras y que las consecuencias y efectos de ello me hicieran crecer al final y entender que lo importante no es solo llegar a la meta o cumplir mis objetivos, sino, saber llegar con bien y en paz conmigo misma.

DEDICATORIA

A mis Padres, Maruja Medrano y Angel Armijos, quienes han estado a mi lado en cada momento de mi vida brindándome su amor, consejo y apoyo.

A mi hija Allisson quien supo comprender mi ausencia durante mi etapa de estudio. A ustedes mi Amor, Respeto y Admiración.

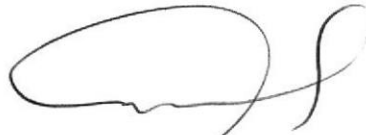
E. Edith Armijos Medrano.

DEDICATORIA

Por Jenniffer Salazar Cárdenas

Dedico este proyecto a mi familia, quienes con su amor, apoyo, buenos consejos y cuidados, me ayudaron a llegar donde estoy ahora; y a mi hijo muy especialmente, porque por él no desistí hasta llegar al final de este camino.

TRIBUNAL DE SUSTENTACION



MSc. Abel Rosado
Director del Proyecto



MSc. René Rodríguez
Vocal del Tribunal de Sustentación



MAE. Gloria Bajaña
Vocal alterno del Tribunal de Sustentación

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponden única y exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”.



Edith Armijos M.



Jenniffer Salazar C.

JUSTIFICACIÓN

Desde una nueva perspectiva comercial se crea un embutido fermentado a partir de carne de pollo y tocino, no solo por innovar sino para ofrecerle al consumidor un producto con características sensoriales conservativas y de vida útil prolongada, para satisfacer así las exigencias del mercado que siempre está buscando nuevas alternativas gustativas.

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Los principales problemas que se pueden presentar son:

1. El proceso Biotecnológico en sí, requiere de la búsqueda y adecuación de él o los medios para el crecimiento ideal del microorganismo *Lactobacillus plantarum*, con poca biota acompañante, que nos garantice un exitoso aislamiento.
2. Que durante el proceso de inoculación del cultivo starter o iniciador de *Lactobacillus plantarum* en la masa para salami, pueda ocurrir una contaminación cruzada con microorganismos perjudiciales presentes en el ambiente, con lo cual se vería afectado el poder de conservación e inocuidad del embutido.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Obtener un producto que satisfaga las expectativas del mercado y a la vez ser pionero en su clase, puesto que no existe como tal en la industria alimenticia ecuatoriana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener y Aislar el microorganismo *Lactobacillus plantarum* mediante un mosto para luego ser inoculado en materia prima cárnica de pollo, mediante técnicas de laboratorio.
- Elaborar un embutido (salami) con carne de pollo en el que se haya inoculado *Lactobacillus plantarum*, el mismo que proveerá características organolépticas óptimas, un tiempo de vida útil prolongado y un papel terapéutico que aumenta la digestibilidad del producto con respecto a los demás embutidos.

RESUMEN

El consumo de carne de pollo ha aumentado considerablemente durante los últimos años en todo el mundo, debido a importantes ventajas que presenta en comparación con los otros tipos de carne. Entre otras características positivas, destaca por tener un buen valor nutritivo lo que le ha dado la fama de ser un alimento sano y apto para la alimentación de todo tipo de público. Además, es relativamente barato, debido a ello se puede entender por qué el consumo ha aumentado de 44% y 55% en los últimos diez años.

El presente proyecto describe la manufactura de un producto crudo fermentado curado denominado "Salami" pero de carne de pollo en lugar de carne de cerdo, que es la que se utiliza actualmente en el mercado. La fermentación fue a partir de un mosto de col, el cual se seleccionó por permitir obtener una bacteria ácido láctica con mejor caracterización morfológica y un mayor crecimiento.

Esta cepa nativa es el *Lactobacillus plantarum*, la cual fue aislada y purificada en agar MRS y caracterizada bioquímicamente mediante la prueba API 50CHL. Posteriormente se inoculó este microorganismo a una concentración de 10^6 ufc/g en la materia prima cárnica (carne de pollo, grasa de cerdo), junto a las especias y aditivos sometidos previamente a análisis microbiológicos, manteniendo temperaturas por debajo de 0°C. Luego fue llevada al molino para darle a la materia prima el diámetro necesario en la etapa de embutición.

Esta última se realizó en una tripa natural (madeja de cerdo) hasta una temperatura de 2°C. A partir de aquí, comienza inmediatamente el secado. En el transcurso del secado empieza la maduración. Es la fase con mayor tendencia a la descomposición de la masa fresca, y por el que se debe controlar constantemente la temperatura, la cual no debe pasar de los 12°C.

Durante el secado, maduración y almacenamiento los embutidos pierden peso, y en el ahumado (1 hora a 65°C), las pérdidas de peso aumentan aún más. Aquí adquiere sabor y aspecto característicos a humo y una capacidad de conservación. Culminada esta etapa, se tomó varias muestras para los

respectivos análisis microbiológicos y cuyos resultados fueron ausentes de patógenos. Pudo entonces ser rebanado y empacado al vacío para su posterior análisis en un panel de degustación mediante el uso de una prueba sensorial, tipo preferencia denominada Escala Hedónica. Los resultados nos permitieron determinar el grado de aceptación del producto que tendría en el mercado, si las características organolépticas cumplen lo esperado por ser innovador y si podría competir frente a las otras marcas de embutidos curados.

Tabla de Contenido

Carátula	I
Agradecimiento	II
Dedicatoria	IV
Tribunal de Sustentación	VI
Declaración Expresa	VII
Justificación	VIII
Objetivos	IX
Resumen	X
Tabla de Contenido	XII
Índice de imágenes	XV
Introducción	XVII
CAPITULO # 1	1
1.1. Definiciones.....	1
1.2. Marco Teórico.....	4
1.3. Embutido.....	5
CAPITULO # 2	7
2.1. Diseño del Proceso biotecnológico para la obtención del microorganismo Lactobacillus plantarum.....	7
2.1.1. Características generales del microorganismo.....	8
2.2. Metodología para el aislamiento del Lactobacillus plantarum.....	10
2.2.1. Pepino.....	11
2.2.2. Col.....	12
2.2.3. Aloe Vera.....	14
2.2.4. Leche.....	16
2.3. Criterio de selección del mosto para el aislamiento.....	17
2.4. Metodología para el aislamiento.....	17
2.5. Diagrama de flujo del proceso biotecnológico.....	21
2.6. Desarrollo del proceso biotecnológico.....	24
2.6.1. Obtención del microorganismo Starter.....	24
2.7. Sistema enzimático del proceso biotecnológico.....	29
2.7.1. Mecanismo de Embden - Meyerhof.....	30

2.8. Elección de la materia prima para la elaboración del Salami	33
2.8.1. Materias Primas	35
2.9. Aditivos.....	42
2.10. Cultivos iniciadores (Starter).....	43
2.10.1. Criterios utilizados para la selección del microorganismo starter.....	44
2.10.2. Factores que afectan la capacidad competitiva de las cepas de las bacterias lácticas de los cultivos iniciadores.....	45
2.10.3. Bacterias lácticas habitualmente usadas como cultivos iniciadores en las fermentaciones de embutidos.....	45
2.11. Elaboración del Salami de pollo ahumado.....	47
2.11.1. Diagrama de flujo de elaboración del Salami de pollo	47
2.11.2. Descripción detallada del proceso.....	49
2.12. Fórmula para la elaboración del salami de pollo	60
CAPITULO # 3	61
3.1. Tecnología de empaques	61
3.1.1. Tipos de empaque.....	61
3.2. Descripción de las máquinas y equipos utilizados en la elaboración del salami ...	66
3.2.1. Molino de carne	66
3.2.2. Embutición al vacío	68
3.2.3. Ahumador	70
3.2.4. Empacado	72
3.2.5. Cortadora, Rebanadora F 370 TCV.....	73
3.3. Parámetros de Calidad de la materia prima cárnica.....	75
3.3.1. Control de calidad aplicado a la materia prima cárnica	76
3.4. Control de calidad del producto final.....	77
3.4.1. Análisis físico - químico	77
3.4.2 Análisis exterior del producto final.....	77
3.4.3. Análisis al corte de la pieza del salami.....	78
3.4.4. Análisis microbiológico realizado al producto final	78
3.5. Limpieza y desinfección de equipos.....	81
CAPITULO # 4	85
Legislación para la elaboración de productos a nivel industrial	85
4.1. Normas de Bioseguridad empleadas en el laboratorio.....	85
4.2. Normas INEN	86

4.3. Buenas prácticas de manufactura (BPM).....	86
CAPITULO # 5	93
5.1. Cálculos y resultados obtenidos para la elaboración del salami de pollo	93
5.2. Cuadro evolutivo del proceso de fermentación del producto.....	95
5.2.1. Tabla de pérdidas de peso durante la fermentación.....	96
5.3. Prueba de evaluación sensorial	96
CONCLUSIONES	100
RECOMENDACIONES	103
BIBLIOGRAFIA	104
ANEXOS	106

Índice de Imágenes

CAPITULO # 2.....	7
DISEÑO DEL PROCESO BIOTENCOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DEL MICROORGANISMO LACTOBACILLUS PLANTARUM.....	7
Figura 2.1. Lactobacillus plantarum	7
Figura 2.2. Mosto del pepino	12
Figura 2.3. Mosto de col.....	14
Figura 2.4. Mosto de aloe vera	15
Figura 2.5. Mosto de leche.....	17
Figura 2.6. Agar de Man Rogose and Sharpe (MRS)	18
Figura 2.7. Aislamiento del Lactobacillus	24
Figura 2.8. Siembra por expansión.....	25
Figura 2.9. Siembra por picadura	25
Figura 2.10. Purificación.....	26
Figura 2.11. Tinción de Gram	26
Figura 2.12. Identificación del Lactobacillus plantarum	26
Figura 2.13. Pruebas API 50 CHL	27
Figura 2.14 Titulación del Lactobacillus plantarum	28
Figura 2.15. Diluciones seriadas titulación)	28
Figura 2.16. Cortado en cubos de la grasa de cerdo.....	49
Figura 2.17. Cortado en cubos de la carne de pollo congelada	49
Figura 2.18. Carne de pollo congelada.....	50
Figura 2.19. Molido de carne de pollo	50
Figura 2.20. Etapa de mezclado manual	50
Figura 2.21. Etapa de embutición I	51
Figura 2.22. Etapa de embutición II	51
Figura 2.23. Etapa de fermentación.....	53
Figura 2.24. Etapa de desecación I	54
Figura 2.25. Etapa de desecación II	54
Figura 2.26. Control de peso durante la etapa de maduración	56
Figura 2.27. Control de peso final	56
Figura 2.28. Control de temperatura	56
Figura 2.29. Etapa de ahumado	58

Figura 2.30. Etapa de rebanado	58
Figura 2.31. Etapa de empacado.....	59
CAPITULO # 3.....	62
TECNOLOGIA DE EMPAQUES.....	62
Figura 3.1. Tripas naturales	62
Figura 3.2. Tripas artificiales	63
Figura 3.3. Funda plástica para el empacado.....	66
Figura 3.4. Esquema del molino de carne.....	67
Figura 3.5. Molino de carne	68
Figura 3.6. Embutidora hidráulica.....	70
Figura 3.7. Ahumador industrial	72
Figura 3.8. Maquina selladora al vacio.....	72
Figura 3.9. Rebanadora de carne y embutido.....	73
Figura 3.10. Esquema de la rebanadora de carne	74
Figura 3.11. Salmonella Shiguella (Agar SS)	80
Figura 3.12. Amplio espectro (Agar SM)	80
Figura 3.13. Escherichia coli (Agar Levine EMB heces fecales).....	80
Figura 3.14. Aerobios totales (Agar nutritivo).....	80
Figura 3.15. Vibrio cholerae (Agar TCBS)	80
Figura 3.16. Hongos (Agar PDA).....	80
Figura 3.17. Limpieza y desinfección de equipos.....	83
CAPITULO # 4.....	85
LEGISLACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS A NIVEL INDUSTRIAL	85
4.1. Uso correcto del mandil, cofia, mascarilla y guantes.....	85

INTRODUCCION

El salami es un embutido crudo, generalmente constituido por una mezcla de carne y partículas de grasa, sal, agentes curantes, especias, que han sido embutidos en una tripa; fermentados, secados y finalmente madurados. El termino Salami (Salame) proviene del latín sale – sal. Que hace referencia a una de las primeras técnicas de conservación de los alimentos, mediante la adición de sal.

Se conoce que la fermentación fue desarrollada como un sistema para potenciar la producción de carnes desecadas, convirtiéndose el secado en la primera forma de deshidratación.

El proceso se originó en China hace 2000 años. Mientras que la utilización de conservantes químicos aparece en el siglo XIII. La elaboración de estos embutidos se inició con procesos artesanales y tradicionales a pequeña escala, y es alrededor del siglo XX donde se desarrolló un alto nivel de automatización. Sin embargo las bases científicas acerca del conocimiento de los principios de fermentación de la carne surgen en los años cuarenta. La Fermentación es un proceso metabólico en el que los carbohidratos y compuestos afines son oxidados con liberación de energía.

En la etapa de fermentación ocurre el crecimiento activo y el metabolismo de las bacterias lácticas. Las bacterias que producen ácido láctico como producto principal o único de la fermentación de la glucosa; se denominan Homofermentativas. Entre ellas tenemos: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermenti*, *Pediococcus cerevisiae*. En la actualidad es común el uso de cultivos iniciadores o Starters en la fabricación de ciertos productos alimenticios como son el queso maduro y chucrut. Éstos cultivos consisten en un grupo de gérmenes seleccionados, que influyen de manera beneficiosa sobre la fermentación o maduración del embutido crudo, llegando incluso a disminuir considerablemente el tiempo de maduración. En el caso del salami el aroma y sabor característico provienen directa e indirectamente de los microorganismos fermentadores. El microorganismo que se utilizara en el proceso biotecnológico,

Lactobacillus plantarum, está ampliamente distribuido en la biota microbiana vegetal de col verde, la cáscara de pepino y el aloe vera. Esta bacteria será aislada y posteriormente utilizada como inóculo en la masa de salami que se va a fabricar.

CAPITULO # 1

1.1. DEFINICIONES

Potencial de Hidrogeno (pH):

Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución o de una sustancia. Entre 0 y 7 la disolución es ácida, y de 7 a 14, básica.

Tinción de Gram:

Es una técnica de coloración de contraste o diferencial. Se utiliza en microbiología para la observación de bacterias, las cuales, con base en la reacción que tengan las paredes de los microorganismos a los colorantes usados con esta técnica, se les califica en gram positivos y gram negativos; considerándose bacterias Gram positivas a las bacterias que se aprecian en color violeta y Gram negativas a las que presentan color rosa. Otra ventaja es que se puede efectuar una percepción primordial a las diferencias entre bacterias, por su morfología (Cocos, Bacilos y Espirilos)

Frotis:

Se denomina frotis a la extensión que se realiza sobre un portaobjetos de una muestra o cultivo, con objeto de separar lo más posible los microorganismos; ya que si aparecen agrupados en la preparación es muy difícil obtener una imagen clara y nítida. Este frotis debe ser posteriormente fijado al vidrio del portaobjetos para poder aplicar los métodos habituales de tinción que permiten la observación al microscopio de las bacterias, sin que la muestra sea arrastrada en los sucesivos lavados. La fijación de una extensión bacteriana hace que las bacterias queden inactivadas y adheridas al vidrio alterando lo menos posible la morfología y las posibles agrupaciones de células que pudiera haber. (12)

Auxótrofo:

En fisiología microbiana, se dice que un microorganismo es auxótrofo cuando sólo es capaz de proliferar en un medio de cultivo si a éste se ha añadido alguna sustancia específica, que el tipo silvestre, llamado protótrofo, no requiere, porque es capaz de sintetizarla. Típicamente, la genética subyacente a una auxotrofia es la carencia de una ruta metabólica funcional que genere la sustancia de la que depende el auxótrofo. Esta carencia suele deberse a una mutación que genera un alelo nulo carente de capacidad biológica. Por ejemplo, existen cepas de levaduras empleadas en el laboratorio que, debido a una carencia en una enzima requerida para la síntesis de uracilo, precisan de éste en el medio de cultivo para poder crecer. (13)

Bacteriocinas:

Son compuestos antimicrobianos de naturaleza peptídica, producidas por las bacterias ácido lácticas y han recibido gran atención por la industria alimentaria, debido a su uso potencial como sustitutos de aditivos químicos.

Las más usadas comercialmente son la nisina (*Lactococcus lactis*) y la pediocina (*Pediococcus acidilactici*)

Cultivo Starter:

Un cultivo estárter consiste en una especie o combinación de especies microbianas que una vez

adicionados a un producto originan un conjunto de transformaciones en los componentes básicos (glúcidos-proteínas-lípidos) con un resultado final que se manifiesta en el cambio de la textura, color y sabor del producto final, incrementando su poder de conservación y en ocasiones aportan efectos benéficos para la salud del consumidor (probióticos). Los microorganismos empleados como cultivos estárter pueden ser bacterias, levaduras y mohos individualmente o una mezcla de ellos (bacteria-bacteria; bacteria-levadura; bacteria-moho; moho-moho; moho-levadura; levadura-levadura).

1.2. MARCO TEORICO

Origen y Características del Producto

a. Oríen:

El proceso de fermentación se cree que se origino en China hace 2000 años. El uso de sal y nitrito llegaron muchos años más tarde, probablemente alrededor del siglo XIII, derivando el termino salami (*salame*) del latín *sale* – *sal*. En Europa se desarrollo en el año 1700. La tecnología se introdujo en Hungría en 1851 y se extendió a los Estados Unidos con los inmigrantes de Europa Central. En Chicago se automatizo en el siglo XX. En los años 40 se hicieron los primeros estudios científicos del proceso de fermentación (6).

b. Características del Producto

Productos Cárnicos Fermentados:

Son aquellos constituidos básicamente por una emulsión de carne, grasa molida / picadas o piezas de carne integra, embutidas o no, que se someten a un proceso de maduración que les confiere las características organolépticas y conservabilidad, con la adición o no de cultivos iniciadores, agentes curantes, fosfatos, cloruro de sodio, condimentos, sustancias de relleno y gomas (arábica, tragacanto), alginatos, ácido ascórbico y sus derivados, los tocoferoles, contienen preservantes, fijadores del color y especias, pudiendo ser o no ahumados. El agua se encuentra en mayor proporción, 70% de los tejidos magros; las proteínas se encuentran en un 22%, la grasa de 5-10% y el contenido mineral es del 1%.

La fermentación se desarrolló como un sistema para potenciar la producción de carnes desecadas, siendo el secado la primera forma de deshidratación (6, 9).

Durante la elaboración de embutidos crudos hay que tomar en cuenta 3 factores principales:

1. La Calidad de la carne y la Grasa así como de la sal y las especias.
2. La composición bacteriana de las materias iniciales y el posterior desarrollo de los gérmenes.
3. Las influencias medioambientales, sobre todo del macro-clima (verano e invierno) y del micro-clima (temperatura, humedad, luz, etc.)

1.3. EMBUTIDO

Es un alimento preparado a base de carne picada y condimentada, introducida a presión en tripas, aunque en el momento de consumo carezcan de ellos.

Clasificación:

1. Embutidos Crudos: Aquellos elaborados con carne y grasa crudos, sal común o sal curante de nitrito o nitrato potásico como sustancias curantes, azúcar, especias y otros condimentos y aditivos. Ejemplo: chorizo, longaniza, salami. Para obtener un buen embutido crudo es importante el proceso fermentativo o de maduración, subsiguiente con la fase de desecación; las reacciones químicas, bioquímicas y enzimáticas generan el aroma.

Como consecuencia del descenso de pH (potencial de hidrogeno) y de la desecación (disminución del valor de la actividad de agua (aw)), el embutido adquiere su capacidad de conservación, cuando las bacterias responsables de la descomposición son incapaces de multiplicarse con bajos valores de pH y aw; produciéndose la consistencia deseada (dureza al corte).

Curado: Es importante la capacidad de conservación, estabilidad del color y la formación del aroma en los productos crudos curados.

Tipos de Curado:

Curado en seco: La carne es apilada con una mezcla de sal común, nitrato, o una mezcla de sal curante de nitrito (sal común y nitrato).

Curado húmedo: Se introduce la carne o jamón en una salmuera del 18 al 20%.

Curado al vacío: Es para salazón de jamones y carnes. Debe aplicarse de una sola vez la cantidad a inyectar de la salmuera.

2. Embutidos Escaldados: Aquellos cuya pasta es incorporada cruda, sufriendo un tratamiento térmico de cocción y ahumado opcional, luego de ser embutido. Ejemplos: mortadelas, salchicha, jamón cocido.

3. Embutidos Cocidos: cuando parte o la totalidad de la pasta se cocina antes de incorporarla a la masa. Ejemplo: morcilla, paté, queso de cerdo.

4. Embutidos Fermentados: Se deben a los microorganismos naturalmente presentes en la fabricación (propios de la carne); en los modernos sistemas (bioreactores); o a los cultivos iniciadores adicionados (enzimas, bacterias liofilizadas). (9)

CAPITULO # 2

2.1. DISEÑO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA OBTENCIÓN DEL MICROORGANISMO *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

El Proceso Biotecnológico se inicia con la preparación de un mosto a partir del cual se obtiene un cultivo Starter; que se trata de gérmenes seleccionados, que influyen de manera beneficiosa sobre la fermentación o maduración de un embutido crudo (salami), y en este producto el microorganismo Starter es el *Lactobacillus plantarum*. (ver figura #2. 1).

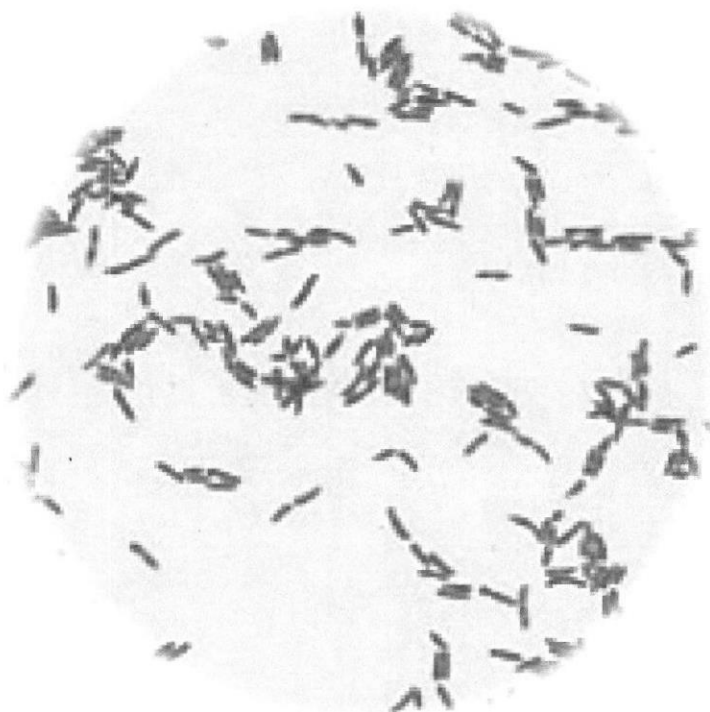


Figura # 2.1. *Lactobacillus plantarum*

TAXONOMIA BACTERIANA

Lactobacillus plantarum

Filum: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Lactobacillales*

Dominio: *Eubacteria*

Familia: *Lactobacillaceae*

Género: *Lactobacillus*

Especie: *Lactobacillus plantarum*

Sub-división: *Streptobacterias*

El género *Lactobacillus* se subdivide en tres géneros:

1. ***Betabacterium*:** Su Temperatura óptima de crecimiento es 30°C.
2. ***Streptobacterium*:** *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, producen hasta 1.5% de ácido láctico.
3. ***Thermobacterium*:** *Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus*, producen hasta un 3% de ácido láctico. La temperatura óptima de crecimiento es de 40°C. (9)

2.1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL MICROORGANISMO

- Es una bacteria ácido - láctica, mesófila, resistente a las altas temperaturas; su temperatura óptima es a los 32°C y a una temperatura mayor a los 40°C no se desarrolla.
- Son bacilos microaerófilos, anaerobios facultativos; Gram (+), Catalasa (-), Citocromo (-).

- Estos organismos forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares, son homofermentadores.
- Morfológicamente algunos bacilos son bastones delgados y largos; muchos cultivos demuestran una forma diplobacilar característica; casi todos son inmóviles, y los motiles se mueven ayudados por flagelos peritricos; generalmente se presentan en cadenas largas;
- Se encuentra extensamente distribuido en la mayoría de las hortalizas, vegetales como la col y el pepino y es uno de los organismos responsables de la fermentación de los encurtidos, productos cárnicos y chucrut.
- Crecen a una concentración de sal del 3 al 5% y soportan concentraciones menores al 12%.
- Para su crecimiento necesitan la presencia de vitaminas del complejo B, aminoácidos preformados, bases púricas y pirimidínicas.
- Fermentan la glucosa produciendo ácido DL- Láctico sin producción de gas, también lo realizan en fructosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa, dextrina, sorbitol, manitol y glicerol pero no fermentan xilosa y manosa; la ribosa se fermenta produciendo ácido láctico y acético.
- No reduce nitratos a nitritos
- Es sensible a productos metabólicos de bacterias de putrefacción como indol, escatol, ácido indolacético y ácido propiónico.
- El pH óptimo es de 4,5 y su rango de crecimiento es de 3 – 7,2; siendo ácido tolerante.

- Sus necesidades nutritivas son complejas y la mayor parte de las cepas no pueden cultivarse en medios nutritivos ordinarios, a menos que se enriquezcan con glucosa y suero.
- La necesidad de aminoácidos varía de 2 a 15 en general, se requiere también piridoxina, tiamina, riboflavina, biotina, ácido fólico y ácido nicotínico.
- Los bacilos miden de 0,5 – 1,2 x 1,0 – 10,0 milimicras (μm), y se encuentran aislados o en cadenas cortas.
- Participa en la acidificación espontánea de muchos productos agrícolas, por ejemplo, el forraje verde en silaje.
- Las bacterias ácido lácticas son difícilmente proteolíticas y lipolíticas; auxótrofos quimiorganotróficos.
- El espectro antibacterial de esta cepa o de su bacteriocina es utilizado como sustancia antimicrobiana en la preservación de alimentos.

2.2. METODOLOGÍA PARA EL AISLAMIENTO DEL LACTOBACILLUS PLANTARUM

Para este procedimiento se utilizaron cuatro mostos distintos; pepino, col, aloe vera y leche.

2.2.1. PEPINO

Materiales e Ingredientes

- Pepino
- Sal común
- Fiola estéril
- Generador de ambiente microaerófilo (papel aluminio y algodón estéril)

Procedimiento

1. Selección del pepino verde.
2. Lavado con una solución de cloro de 10ppm, para reducir el nivel de contaminación microbiana.
3. Enjuague del pepino con agua.
4. Cortado de la cascara y parte de la pulpa del pepino.
5. Licuado y adición de sal común en un 5% que permite crear un medio selectivo para el crecimiento de lactobacilos.
6. Lavado de la licuadora y cuchillo con una concentración de cloro de 20 partes por millón (ppm), posteriormente se enjuaga con agua y finalmente se neutraliza la presencia de cloraminas residuales mediante el uso del ácido ascórbico.
7. Esta mezcla de pepino y sal fue colocada en una fiola estéril, y tapada con algodón y papel aluminio para crear un ambiente microaerófilo.
8. El mosto contenido en la fiola fue llevado a la incubadora a una temperatura de 37 °C por un periodo de 6 días.
9. El pH del pepino fue de 7, pero el del mosto marco 6.
10. Si llegara a ocurrir la presencia de mohos y levaduras indeseables en el proceso, esto se debería a la contaminación ambiental o a la falta de asepsia durante el ensayo.
11. Se realizó frotis y tinción de gram, se comprobó por medio de la observación en el microscopio el crecimiento del *Lactobacillus*, luego se realizaron las diluciones con agua de peptona en los tubos de ensayo a

partir de una solución madre; luego se inoculó en cajas petri con Agar DE MAN, ROGOSA AND SHARPE (MRS), utilizando la técnica de siembra por estrías y agotamiento con un asa de platino.

12. El pH final del mosto fue 4. (ver figura # 2.2).

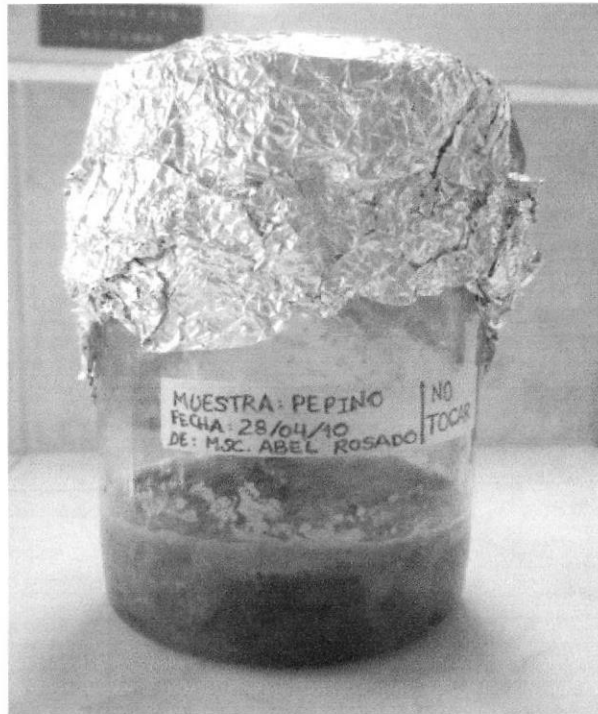


Figura # 2.2. Mosto de Pepino

2.2.2. COL

Materiales e Ingredientes:

- Col verde
- Sal común
- Fiola estéril
- Generador de ambiente microaerófilo (papel aluminio y algodón estéril)

Procedimiento:

1. Eliminación de hojas externas y de aquellas que presentan manchas de alteración en el repollo de col.
2. Lavado ligero con agua potable y cortado en trozos pequeños.
3. Agregado de sal de mesa (3%) y mezclado uniforme para asegurar distribución homogénea. Con esta acción se promueve la aparición del jugo y la eliminación del aire.
4. La mezcla de col y sal se la lleva a la fiola estéril adaptada para mantener el repollo sumergido en su propio jugo y evitar la entrada de aire.
5. El mosto contenido en la fiola fue llevado a la incubadora a una temperatura de 30 °C por un lapso de 4 días.
6. El pH de la col y el del mosto fueron de 6.
7. Se realizo un frotis y tinción de Gram en una placa porta objetos y se comprobó por medio de la observación en el microscopio el crecimiento de *Lactobacillus spp.*
8. Luego se realizaron diluciones en tubos de ensayo con agua de peptona a partir de una solución madre y posteriormente se inoculó en cajas petri con Agar DE MAN, ROGOSA y SHARPE (MRS) utilizando la técnica de siembra por estrías y agotamiento con un asa de platino.
9. Transcurridos los 6 días llegó a un pH final de 4. (ver figura # 2.3) (3).



Figura # 2.3. Mosto de la Col

2.2.3. ALOE VERA

Materiales e Ingredientes:

- Cristal de sábila (aloe vera)
- Sal común
- Fiola estéril
- Generador de ambiente microaerófilo (papel aluminio y algodón esteril)

Procedimiento:

1. Selección de las hojas de sábila.
2. Las hojas de aloe vera se lavaron con agua y se cortaron en filetes que se maceraron en una licuadora comercial.
3. Posteriormente fueron filtrados en un tamiz para separar la fibra y obtener el jugo utilizando en las fermentaciones.
4. Tomar 100 ml del filtrado y agregar sal común a una concentración del 2% y mezclar uniformemente para asegurar una distribución homogénea.
5. Ajustar el pH del jugo a 6,5.

6. La mezcla de aloe vera y sal se coloca en una fiola esteril y se tapo con algodón y papel aluminio para crear un ambiente microaerofilo.
7. El mosto fue llevado a la incubadora a una temperatura de 30°C por un tiempo de 6 días.
8. El pH del aloe fue 4 y el pH del mosto también fue 4.
9. Se realizo un frotis y tinción de gram en una placa porta objeto, y se comprobó por medio de la observación en el microscopio el crecimiento del Lactobacillus.
10. Luego se realizaron las diluciones con agua de peptona en tubos de ensayo a partir de una solución madre y posteriormente se inoculó en cajas petri con Agar DE MAN ROGOSA AND SHARPE (MRS) utilizando la técnica de siembra por estrías y agotamiento con un asa de platino.
11. Transcurridos los 6 días de incubación, el pH final del mosto fue de 5. (ver figura #2.4) (2).



Figura# 2.4. Mosto del Aloe vera

2.2.4. LECHE

Materiales e Ingredientes:

- Leche entera
- Fiola estéril
- Generador de ambiente microaerófilo (papel aluminio y algodón estéril)

Procedimiento:

1. Colocar 100 ml de leche en una fiola estéril, tapar con algodón y papel aluminio, para evitar la entrada de aire.
2. Dejar en reposo durante 3 días a temperatura ambiente hasta que se fermentada.
3. Incubar a 37° centígrados durante 5 días en condiciones de anaerobiosis.
4. Realización del frotis y tinción de gram en una placa porta objeto, y se comprobó por medio de la observación en el microscopio el crecimiento del Lactobacillus.
5. Preparación de diluciones con agua de peptona en tubos de ensayos, a partir de una solución madre y posteriormente, inoculación en cajas petri con Agar DE MAN ROGOSA AND SHARPE (MRS) utilizando la técnica de siembra por estrías y agotamiento con un asa de platino.
6. Transcurridos los 6 días de incubación, el pH final del mosto fue 4.
(ver figura # 2.5) (1).

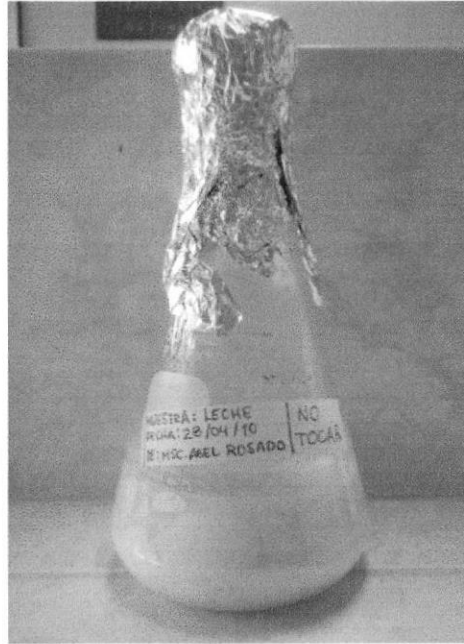


Figura # 2.5. Mosto de la leche

2.3. CRITERIO DE SELECCIÓN DEL MOSTO PARA EL AISLAMIENTO

Para poder realizar el criterio de selección del mosto y determinar cuál de ellos obtuvo los mejores resultados, luego del periodo de incubación, se considero el uso de la técnica de Tinción de Gram. Pudiendo así determinar a través de la observación en el microscopio una mejor caracterización morfológica y un mayor crecimiento de los *Lactobacillus* spp en el mosto de col con relación a los otros realizados.

2.4. METODOLOGÍA PARA EL AISLAMIENTO

Se siembra densamente en medios DE MAN ROGOSA and SHARPE (MRS) a un pH entre 5,0 y 5,8 para obtener un cultivo puro. Muchas cepas crecen muy mal si lo hacen a pH 7,0.

Agar para Lactobacillus (MRS De man Rogose and Sharpe)

Al contrario de otros medios de cultivo en MRS crecen todos los lactobacilos.

Forma de Actuación: El medio MRS contiene polisorbato, acetato de magnesio, sustancias conocidas como factores especiales de crecimiento para lactobacilos, así como una base nutritiva, abundante y rica. (ver figura # 2.6)

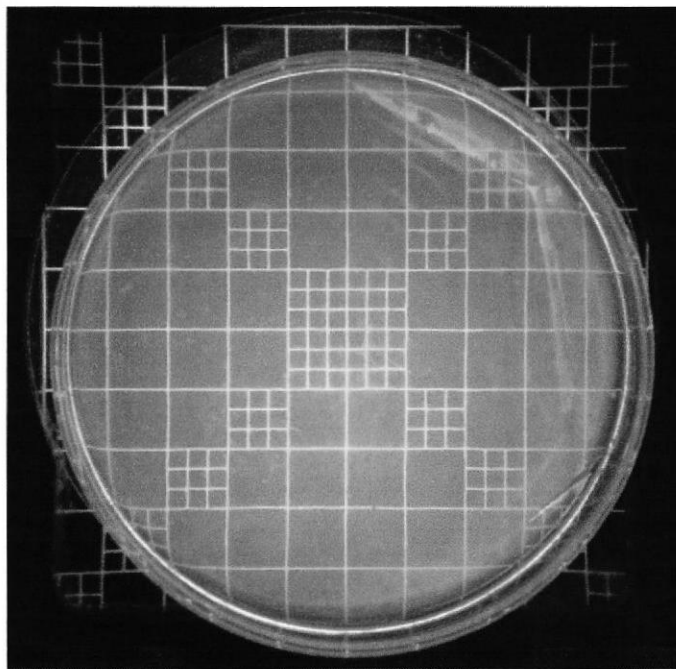


Figura # 2.6. Agar De Man Rogose and Sharpe (MRS)

Composición Química:

INGREDIENTES	CANTIDAD (g)
Peptona universal	100
Extracto de carne	5
Extracto de levadura	2
Tween 80	1
Hidrogencitrato Diamónico	2
Acetato sódico	5
Sulfato de magnesio	0.1
Sulfato de manganeso	0.05
Agar - Agar	12

3. Incubación:

Se realizó en una incubadora con ambiente controlado en un período de 3 días a 32°C. Debe procurarse que las placas sean incubadas en una atmosfera con 5% de dióxido de carbono y en cámara húmeda. La superficie de las placas no deberán dejarse secas porque aumenta la concentración de acetato en las mismas, en consecuencia resulta inhibido el crecimiento de lactobacillus.

4. Resultados:

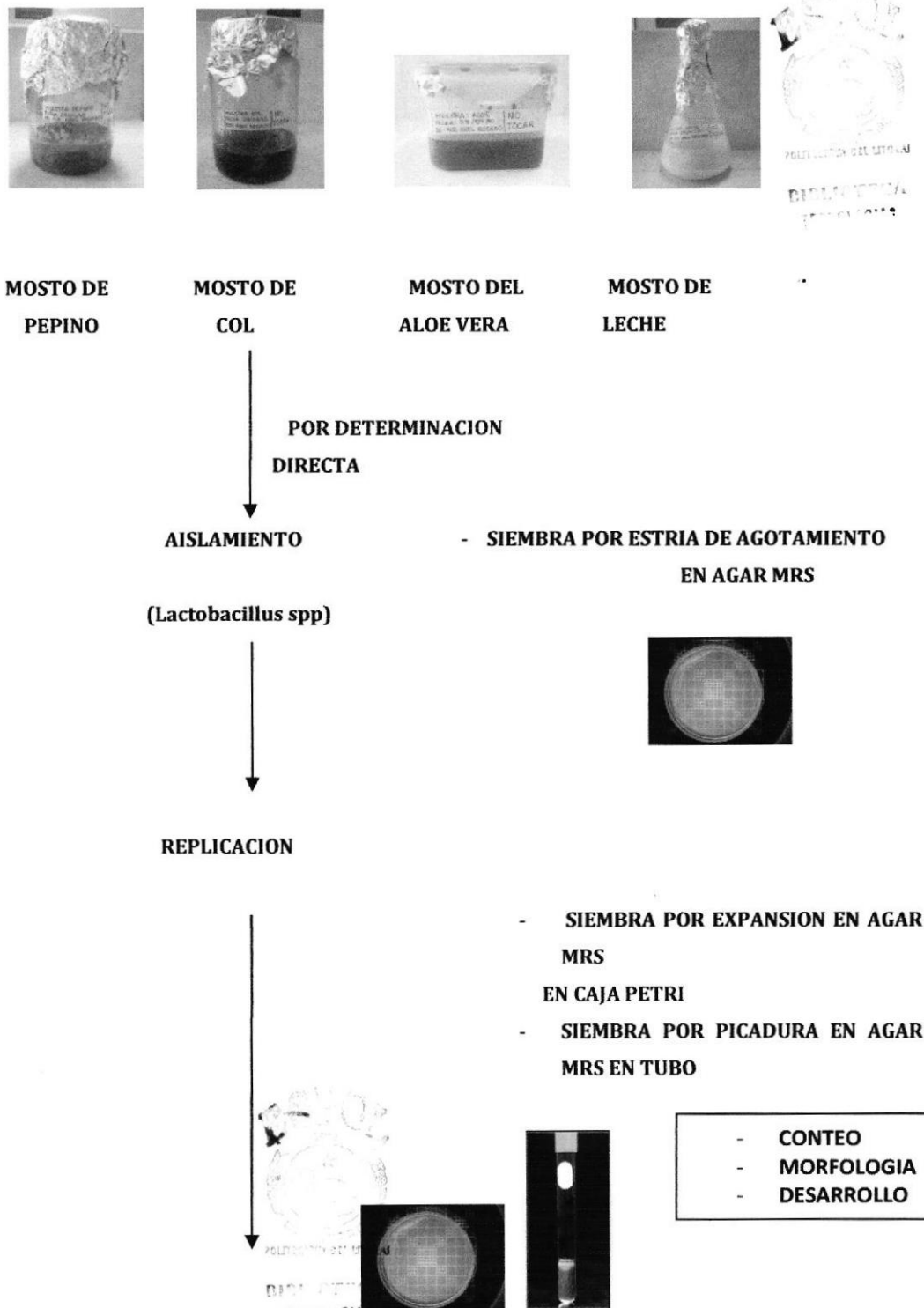
- Reacción positiva en un 90% o más de cepas.
- Reacción negativa para un 90% de las cepas acompañantes.
- Variables, reacción lenta o débil.
- Se incuban en una serie de placas en anaerobiósis y la otra en atmósfera de dióxido de C-H.

- Los cultivos procedentes de alimentos se incuban de 28 a 30 grados C de 3 a 4 días.
- Los de procedencia animal o humana se incuban de 35 a 37 grados C de 48 a 72 horas.
- Se cultiva en medio sólido con bajo contenido de carbohidratos para la prueba de la catalasa; ya que los medios con alto contenido dan reacciones falsas positivas.
- Se investiga la presencia de colonias blancas, muy pequeñas. Muy pocos organismos aparte de los hongos pueden crecer en medios ácidos.
- Para el crecimiento de los Lactobacilos homofermentadores que producen el enverdecimiento de las carnes crudas, se añade 0,1 g de clorhidrato de tiamina a cada litro de medio o se usa medio APT (D).
- Se vuelve a realizar un frotis y se comprueba la presencia solo de lactobacilos y se procede a realizar una prueba bioquímica para determinar la presencia de *Lactobacillus plantarum*.
- La prueba bioquímica se lleva a cabo inoculando en caldos de carbohidratos. Entre los que tenemos están:
Caldo de sacarosa al 1%; caldo de fructosa al 1%; caldo de sorbitol al 1%;
caldo de manitol al 1%; caldo de maltosa al 1%; caldo de glucosa al 1% y
caldo de lactosa al 1%.

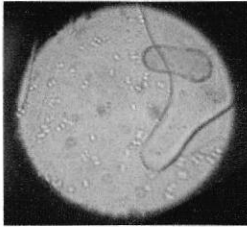
IDENTIFICACION

El resultado positivo se comprueba por el indicador rojo de metilo con una coloración rojo intenso mediante la Prueba API 50 CHL.

2.5. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO

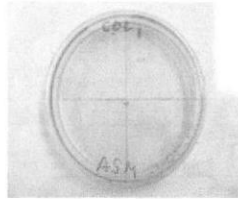


PURIFICACION (AMPLIO ESPECTRO)

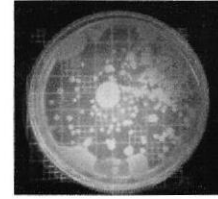


**OBSERVACION
EN PLACA**

- **SIEMBRA POR ESTRIA Y AGOTAMIENTO EN AGAR ESTÁNDAR METHOD (ASM) / SIEMBRA POR ESTRIA Y AGOTAMIENTO EN AGAR NUTRITIVO (AN)**



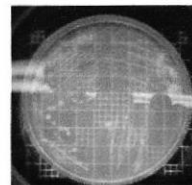
(ASM)



RESULTADO 5 DIAS

IDENTIFICACION

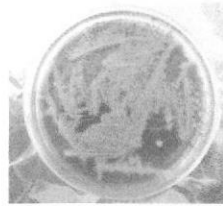
- **SIEMBRA POR ESTRIA Y AGOTAMIENTO EN AGAR MRS (ANAEROBIOSIS)**



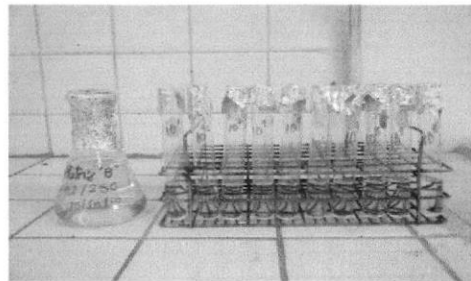
- **PRUEBA API 50 CHL**
- **TINCION DE GRAM (+)**
- **PRUEBA DE LA CATALASA (-)**
- **PRUEBA DE LA BENCIDINA (+)**

TITULACION

TOMA DE MUESTRA



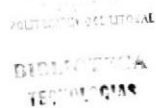
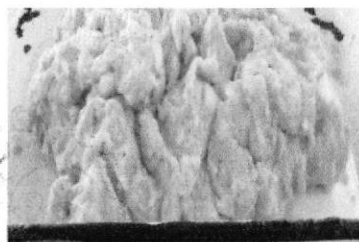
- **POR CONTEO (10^6 UFC/ G DE MASA DE PRODUCTO)**



POR DILUCION SERIADA PARA DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS



**INOCULACION
(MASA CARNICA DE POLLO)**



2.6. DESARROLLO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO

2.6.1. OBTENCIÓN DEL MICROORGANISMO STARTER

Aislamiento:

A partir de un mosto de col fue aislada la bacteria *Lactobacillus plantarum* que presenta propiedades probióticas y es productora de bacteriocinas. Estos son compuestos antimicrobianos de naturaleza peptídica y han recibido gran atención por la industria de alimentos debido a su uso potencial como sustitutos de aditivos químicos. El extracto libre de células de *Lactobacillus plantarum* presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. La bacteriocina es altamente termoestable, presenta mayor actividad a pH ácido y su actividad no se ve afectada por la presencia de proteinasa K, agentes quelantes y detergentes.

La cepa de *Lactobacillus plantarum* fue aislada en caldo Man Rogosa Sharpe (MRS) a partir de un mosto de col naturalmente (sin ningún tipo de inóculo) e incubada a 37°C durante 5 días en condiciones de anaerobiosis. (ver figura #2.7)

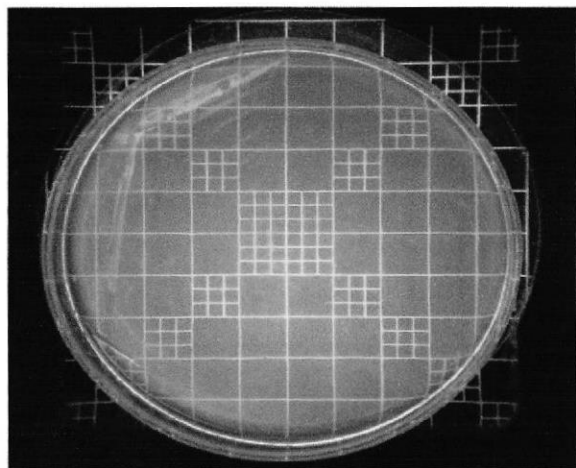
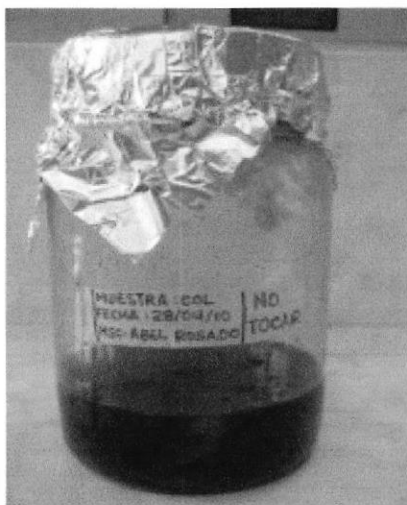


Figura # 2.7. Aislamiento del *Lactobacillus* spp en agar MRS

Replicación:

Después de este tiempo se tomó 1 ml de caldo MRS, se inoculó en Agar MRS por profundidad y se incubó bajo las mismas condiciones. A los diferentes aislamientos obtenidos se les hicieron las pruebas de la catalasa, coloración de Gram y producción de esporas.

(ver figuras #2.8 y 2,9)

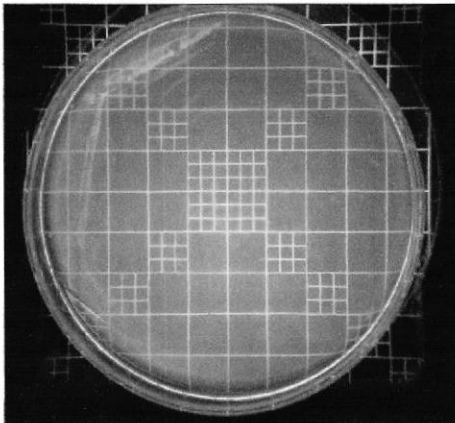


Figura # 2.8. Siembra por expansión

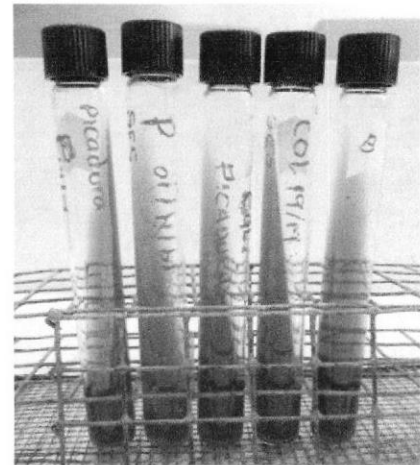


Figura # 2.9. Siembra por picadura

Purificación

La caracterización preliminar de *Lactobacillus plantarum* permite establecer que esta cepa corresponde a un microorganismo Gram positivo, catalasa negativa, que forma colonias de tamaño grande, cremosas, de color beige, con bordes homogéneos y cóncavas en Agar MRS.

Tiene potencial probiótico, tal como lo indica su crecimiento a un pH ácido de 2.0 y 0.3% de sales biliares. (ver figuras # 2.10; 2.11).

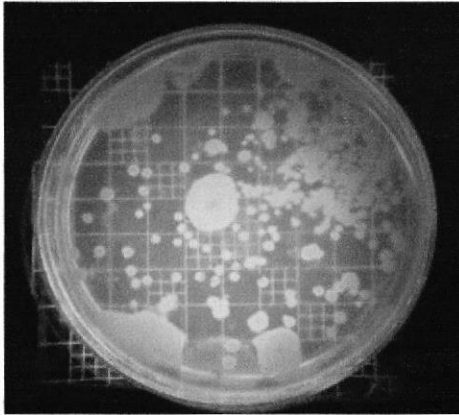


Figura # 2.10. Purificación

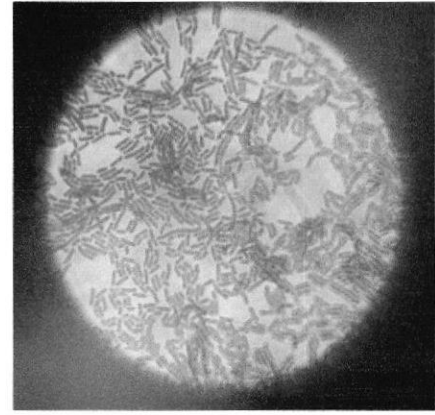


Figura # 2.11. Tinción de Gram

Identificación

Los microorganismos identificados como *Lactobacillus plantarum*, fueron caracterizados por la utilización de azúcares de acuerdo al test API 50 CH kits a 37 °C (API System, BioMérieux S.A., Marcy l'Etoile, FR), específico para cepas de los géneros Bacillus y Lactobacillus.

(ver figura # 2.12)

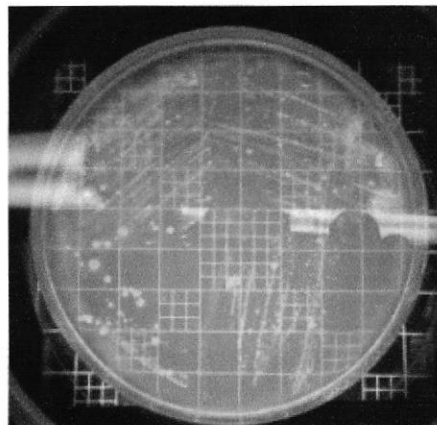


Figura # 2.12. Identificación del *L. plantarum*

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

Determinar el patrón de fermentación de carbohidratos y derivados por parte de los microorganismos (heterósidos, polialcoholes y ácidos urónicos). Consiste en

un método estándar que consta de 50 microtubos que contienen diferentes sustratos.

METODO DEL ENSAYO

Se prepara una suspensión del microorganismo en el diluyente suministrado, posteriormente se inocula cada tubo de la galería. Se deben seguir las instrucciones suministradas por la casa comercial.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Establecer el patrón de fermentación de los cuarenta y nueve compuestos de la galería API50CHL®. (ver figura # 2.13)

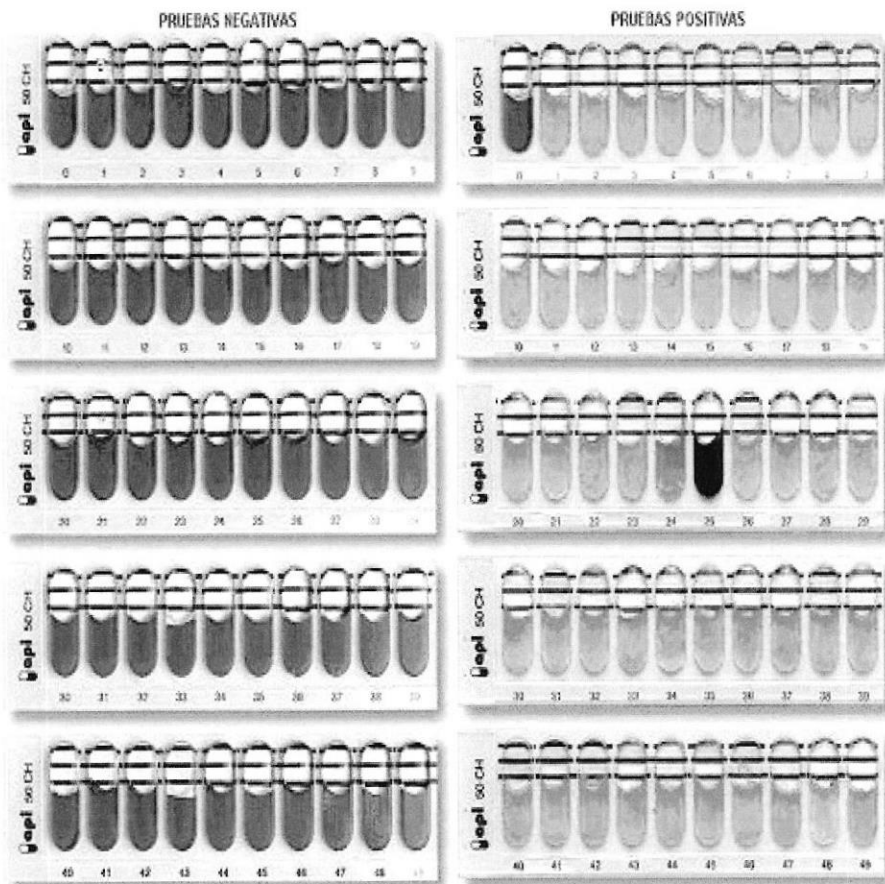


Figura # 2.13. Pruebas API 50 CHL

TITULACION

Se realizó por recuento en placa en proporción 1:9, se realizaron diluciones sucesivas hasta 10^{10} ; luego se realizó el método de siembra en profundidad en Agar MRS, las cajas se incubaron a 37°C , por 72 h en condiciones de anaerobiosis (31). Los conteos de células viables se realizaron como UFC/100g UF y los resultados se expresaron en unidades logarítmicas (Log UFC/100 g UF).

Se realizaron los siguientes análisis microbiológicos por triplicado: recuentos de bacterias mesófilas aerobias en Agar para recuento en placa incubado a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas, mohos y levaduras en Agar APD (Agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol) incubado a $20-24^{\circ}\text{C}$ por 5 días, coliformes totales en Agar Coliforme incubado a $30-32^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (10). Los resultados fueron expresados en UFC/g. (ver figura# 2.14)



Figura # 2.14. Lactobacillus plantarum



Figura # 2.15. Diluciones Seriadadas

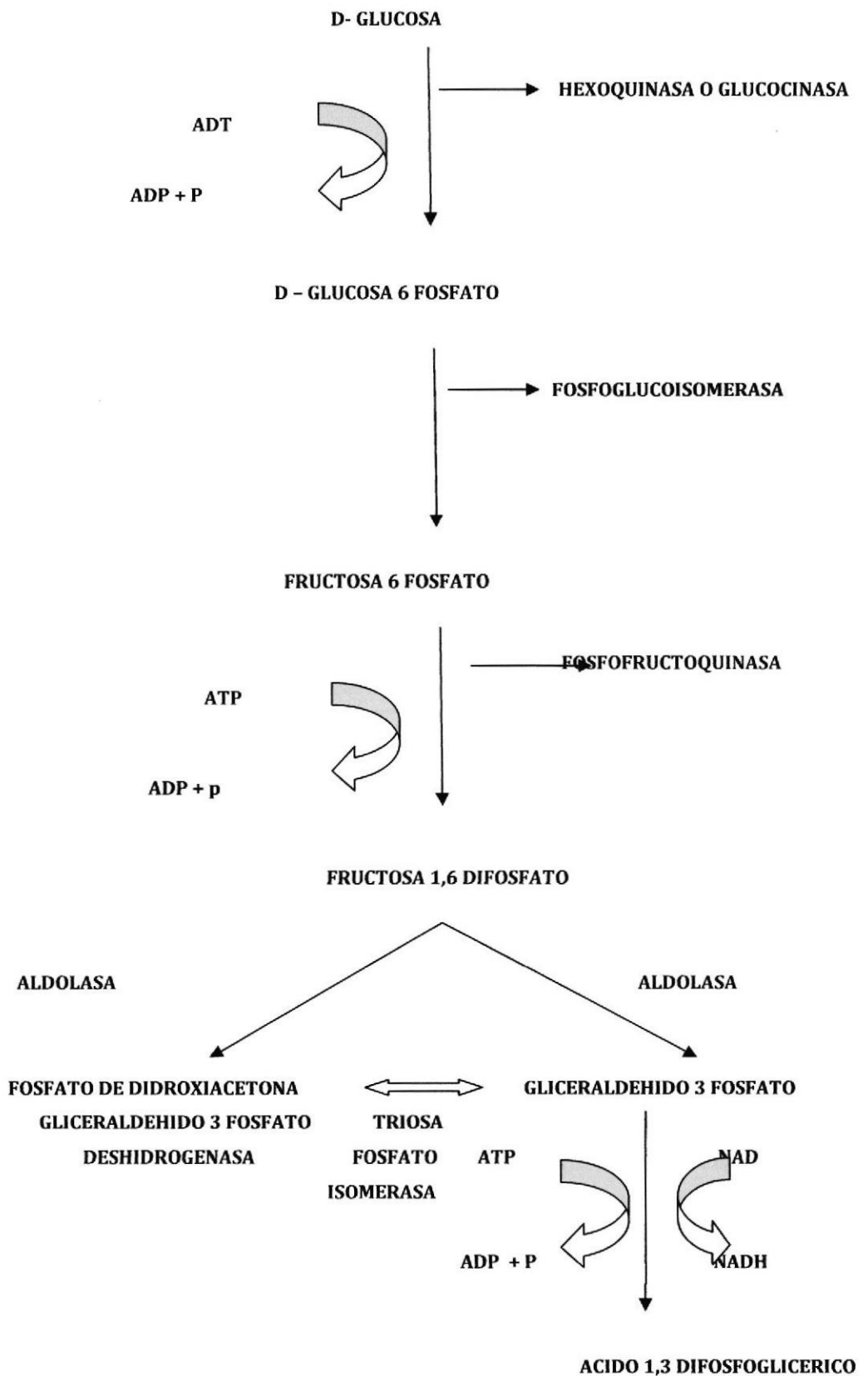
2.7. SISTEMA ENZIMÁTICO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO

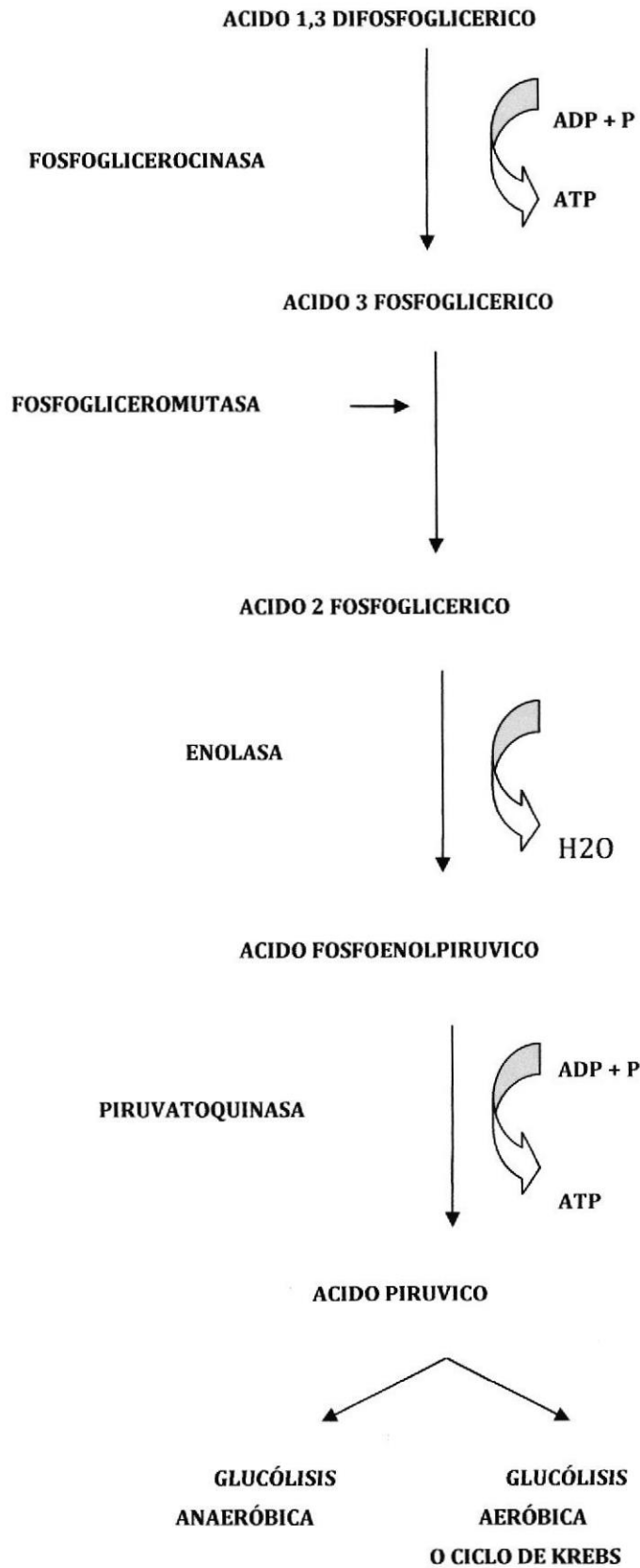
Las bacterias homofermentativas poseen enzimas como: las aldolasas y hexosa-isomerasa, y carecen de fosfoctolasa. Estas utilizan la vía de Embden - Meyerhof para la producción de lactatos por moléculas de glucosa.

En los tejidos animales la glucosa se transforma en piruvato el cual en presencia de oxígeno es oxidado completamente en la mitocondria hasta CO_2 y agua a través del

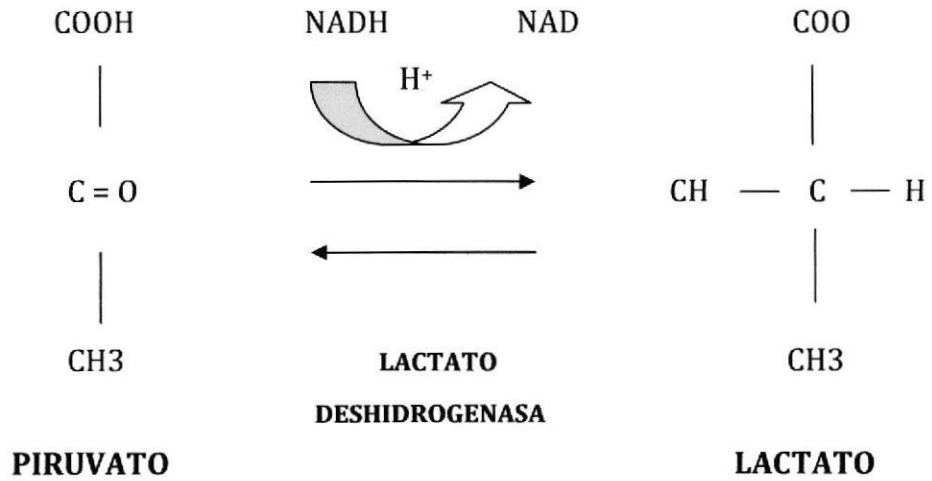
ciclo del ácido cítrico, en cuyo caso se trata de una glucólisis aerobia. En ausencia de oxígeno el piruvato generado a partir de la glucosa es transformado en lactato en un proceso llamado Glucólisis anaeróbica o Fermentación láctica.

2.7.1. MECANISMO DE EMBDEM - MEYERHOF





GLUCÓLISIS ANAERÓBICA



Explicación del Mecanismo de Embden - Meyerhof

En la primera fase de la glucólisis, las moléculas se modifican para formar *fructosa 1-6 di fosfato*, la cual será rota en dos *triosas fosfato*, a partir de una molécula de **glucosa** se obtendrán dos moléculas de *gliceraldehido - 3 - fosfato* por la transferencia de dos grupos fosfatos desde dos moléculas de ATP.

Este *gliceraldehido - 3 - fosfato* genera en una segunda fase 4 moléculas de ATP por medio de la oxidación del *gliceraldehido - 3 - fosfato* y la formación de una molécula de NADH.

El *gliceraldehido - 3 - fosfato* se oxida a ácido *1-3- difosfoglicérico* formando moléculas de ATP, en donde este ácido se transforma a ácido *-3- fosfoglicérico*, donde se isomeriza a ácido *-2- fosfoglicérico*.

Las enzimas que intervienen en estas fases son:

- *Gliceraldehido-3-fosfatodeshidrogenasa*
- *fosfoglicerocinasa*
- *fosfogliceromutasa* respectivamente.

El último compuesto formado es catalizado por la enzima **enolasa** perdiendo una molécula de agua, transformándose en *ácido fosfoenol pirúvico*, que por una reacción fuertemente exergónica, catalizado por la enzima **piruvatoquinasa**, pierde el ácido y se convierte en *piruvato*.

Este último, entra a la fermentación láctica donde es esencial mantener la disponibilidad del NAD que es una coenzima necesaria para el paso de *piruvato* a *lactato*, en esta reacción interviene la enzima **lactatodeshidrogenasa**, es decir, que el *piruvato* es reducido a *lactato* donde se oxida una molécula de NADH y así mantener la disponibilidad de NAD.

Ocurriendo una fermentación de tipo homofermentativa necesaria para la producción de ácido láctico, este proceso es fundamental en la producción de productos cárnicos como el salami.

2.8. ELECCIÓN DE MATERIAS PRIMAS PARA LA ELABORACIÓN DEL SALAMI

Se toma en cuenta lo siguiente:

- La alimentación y el manejo al que son sometidos los animales antes del sacrificio ejercen influencia sobre la calidad de la carne y con ello la idoneidad de ésta para la producción de embutidos crudos.
- Los animales deben estar sanos y descansados.

- Se debe usar carne de animales adultos.
- Refrigerar bien la carne después del sacrificio del animal.
- Emplear solo carne bien madura (suficientemente ácida), valores elevados de pH favorecen las condiciones de multiplicación de los microorganismos indeseables.
- La carne utilizada debe tener un pH entre 5,4- 5,8 o 5,9 como punto crítico, el tejido muscular con pH mayor a esta cifra no debe destinarse a la fabricación de embutidos crudos.
- En las grandes fábricas el pH se consigue mezclando las carnes de diversos animales, obteniendo un pH promedio que debe hallarse entre 5,5- 5.9.
- Si el pH está cercano al punto isoeléctrico, el músculo cede la mayor cantidad de humedad, el embutido se seca de forma óptima, ganando consistencia y conservación. Si el pH está por encima del punto isoeléctrico no se logra esto.
- Cuando es muy baja la cifra de pH ocurre un enrojecimiento insuficiente, sobre todo cuando el nitrato potásico se transforma en nitrito y las reacciones posteriores hasta óxido nítrico y nitrosomioglobina; por razones organolépticas el pH no debe descender por debajo de 5.0- 5.1.
- La carne no debe ser demasiado húmeda para este tipo de producto, por ello se recomienda salar previamente la carne para eliminar un cierto contenido de agua o humedad de la materia prima, un bajo valor de actividad de agua (A_w) en el material de partida dificulta las condiciones de multiplicación de gérmenes perjudiciales que pueden ocasionar maduraciones defectuosas.

- La correcta maduración natural de un embutido crudo, depende de la existencia de una buena flora bacteriana, dicha maduración puede verse influida negativamente por la presencia de cifras muy altas de gérmenes indeseables; por lo cual es de suma importancia que la carga inicial de microorganismos en la materia prima sea mínima.
- La carne debe almacenarse a una temperatura aproximada de 0°C, la masa solo debe trabajarse bien refrigerada o congelada para obtener el aspecto y consistencia deseada.
- Debe usarse tocino fresco, ya que si se almacena demasiado tiempo en condiciones inadecuadas pueden provocar defectos; incluso en la congelación profunda continúan los fenómenos oxidativos y con ello el enranciamiento del material graso. (4, 10)

2.8.1. MATERIAS PRIMAS

Análisis microbiológico de la materia prima, especias y aditivos

Materia Prima Cárnica:

Se realizó los respectivos análisis microbiológicos en la materia prima cárnica (carne de pollo y grasa de cerdo), para determinar la presencia de bacterias: *Salmonella typhi*, *Escherichi coli* y *Vibrio cholerae*, cuyos resultados arrojaron **AUSENCIA** de unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g).

Aditivos:

A los aditivos utilizados en el proceso (sal, pimienta en grano, nuez moscada, eritorbato de sodio, ajo en polvo y nitrito de sodio) se les aplicó directamente la Técnica de la Luz Ultravioleta por un tiempo de 60 minutos (1 hora) para descartar la presencia de hongos en el producto final.

Carne Blanca: Pollo

La carne de pollo tiene que ser de buena calidad y sin defectos visibles, como manchas de sangre o hematomas. Los principales factores que determinan si es o no adecuada son: la capacidad de retención de agua, el pH, y el color. La carne oscura, firme y seca no es adecuada, pero la carne pálida, blanda y exudativa si puede ser utilizada.

La carne debe ser también de buena calidad microbiológica para reducir la competición al comienzo de la fermentación. (7)

Manejo previo al Sacrificio de Animales y Aves

El manejo previo al sacrificio tiene un profundo efecto sobre la calidad, y por lo tanto sobre el valor de la carne. La más simple, que es la agitación se traduce en lesiones. Esto es un problema potencial, especialmente con los pollos, donde las patas y alas rotas disminuyen la calidad de la canal.

El estrés lleva a una mayor defecación y la contaminación de los cuerpos de los animales de abasto y las aves. La incidencia de Salmonella en las aves puede aumentar bajo estas condiciones.

Efectos del estrés previo al sacrificio sobre la Calidad de la Carne

La carne de las aves puede sufrir ciertos cambios en la calidad debido al estrés al que son sometidos, ya sea en el transporte desde las granjas hasta su venta o en los criaderos, estas son

- Aumento de la dureza en el tejido de la piel.
- Oscurecimiento y endurecimiento del tejido de la pechuga.

Las aves deben ser transportadas en vehículos correctamente diseñados evitando el hacinamiento, se requiere ventilación adecuada durante los meses cálidos.

La entrada en el matadero es un punto crítico de control (PCC) con respecto a la seguridad de los alimentos y se podría mejorar el control de los patógenos

evitando que los animales infectados entren a la planta ya que en muchos casos de infección con patógenos potenciales, los síntomas no son obvios.

Grasa:

Es un componente esencial de los embutidos, le proporciona características que influyen de forma positiva en su calidad y características organolépticas. Puede llegar a representar hasta el 50% después del secado;

Aunque muchos productos fermentados tienen alto contenido de grasa, es habitual añadir ésta como un ingrediente separado y no se recomienda el uso de carne con elevada cantidad de grasa.

La grasa no debe ser demasiado blanda ya que contiene ácidos grasos insaturados que aceleran el enranciamiento y alteraciones en el sabor, color y disminuye la capacidad de conservación.

El material graso debe tener un punto de fusión alto y bajo contenido de ácidos grasos insaturados; para evitar la oxidación lipídica que puede llevar a la rancidez y reducir la vida útil de los embutidos terminados.

La grasa de cualquier tipo no debería haber sido sometida a condiciones de almacenamiento que inicien rápidamente cambios deteriorativos. En algunos países, la adición de antioxidantes con la grasa está permitida. El palmitato de ascorbilo (ácido 6-0- palmitoil - ascórbico), y el α - tocoferol sintético son antioxidantes idénticos a los naturales utilizados con más frecuencia.

El ácido ascórbico se puede añadir como un inhibidor de la oxidación de las grasas, pero en muchos casos el principal papel es como coadyuvante del curado y para mantener el buen color. (7, 10)

Tripas

Se llama tripa a un envoltorio cilíndrico que permite dar forma y protección a ciertos productos de charcutería crudos, cocidos, o que hayan sufrido un secado - maduración. Son un componente fundamental puesto que van a contener al resto

de ingredientes condicionando la maduración del producto. Este envoltorio puede ser natural o artificial. (5)

Sal

La sal adicionada desempeña las funciones de dar sabor al producto, actuar como conservante, solubilizar las proteínas; favorece la capacidad de retención del agua de las proteínas, y ejerce un efecto conservador al reducir la actividad de agua. La sal retarda el crecimiento microbiano. (4, 7, 8)

Influencia de la sal sobre el sabor del embutido

A principios de siglo la media de concentración de sal en el embutido crudo era del 3,5%. Hoy en día se considera salado. La cantidad de sal añadida actualmente es del 2 - 3%.

Influencia de la sal común sobre la solubilidad

Las fracciones proteicas de las fibras musculares presentan algunos enlaces que se disuelven en el agua pura, otros que para disolverse necesitan sal y otros que son insolubles. La adición de sal provoca la disolución de los enlaces e incrementa la proporción de proteínas en disolución. (8)

Influencia de la sal común sobre la capacidad de retención del agua

Las moléculas protéicas poseen cargas eléctricas negativas o positivas de diferente fuerza. Las moléculas de agua también están "ionizadas", es decir, que son positivas y negativas. Las moléculas de agua de carga positiva son atraídas y ligadas por las moléculas proteicas de carga negativa. Las proteínas se rodean de una capa de agua. Esta unión es tanto más intensa y fuerte cuanto mayor número de moléculas de proteína y agua estén disponibles. La sal común posee la propiedad de aumentar la fuerza de unión de las moléculas y por tanto favorece la

unión del agua y las proteínas, es decir aumenta el poder de asociación del agua. (7, 8)

Influencia de la sal común sobre la conservación

Las bacterias necesitan para su reproducción y metabolismo mucho líquido "agua libre". Todas las sustancias solubles en agua consumen, al disolverse parte del agua libre, que de ésta forma pasa a ser "agua ligada". Basta con asociar un 10% del agua para que las bacterias no puedan desarrollarse.

Si se disuelve un 12% de sal común en el agua, bajara la actividad del agua hasta un valor de 0,92. A este valor no pueden desarrollarse las bacterias responsables de la descomposición de la carne, lo que se traduce en la conservación de la misma. Algunas de las especies bacterianas ven inhibido su crecimiento a un valor de 0,96 otras incluso toleran un valor de 0,94.

La adición de un 2,3% de sal no consigue una conservación absoluta pero permite seleccionar determinadas especies bacterianas. (8)

Carbohidratos

Sirven como donantes de energía para los microorganismos presentes en la masa del embutido crudo, los cuales desdoblan los azúcares hasta ácido.

El propósito es asegurar que haya suficiente sustrato fermentable para favorecer el crecimiento de bacterias lácticas y la producción de ácidos orgánicos. La cantidad y tipo añadidos representa el equilibrio entre establecer la fermentación láctica y la necesidad de evitar un descenso demasiado rápido de pH. Pueden ser monosacáridos como la dextrosa que puede ser desdoblada rápido en ácido por casi todos los gérmenes, también sacarosa, lactosa, glucosa, jarabe de maíz, almidón y sorbitol.

La glucosa, es rápidamente metabolizada, se añade en combinación con un oligosacárido metabolizado más lentamente.

Se los usa para dar sabor por sí mismos y para enmascarar el sabor de la sal.

Principalmente sirven de fuente de energía para las bacterias ácido lácticas, que a partir de los azúcares producen ácido láctico, reacción fundamental en la

elaboración de embutidos fermentados. Los carbohidratos se añaden a un nivel de 0,4 - 0,8%. (7, 8)

Condimentos y Especies

En el curso de la maduración se genera el típico aroma (ácido suave) del embutido crudo como resultado de la actividad microbiana. La agregación de condimentos es el único procedimiento para lograr el sabor y aroma deseado.

Condimento es todo ingrediente que aisladamente o en combinación confiere sabor a los productos alimenticios. Para sazonar los embutidos se mezclan diferentes especias: pimienta negra, clavo de olor, jengibre, nuez moscada, romero, la salvia y tomillo.

Estas dan lugar a la mayor característica distintiva de los embutidos crudos entre sí. No deben adicionarse más del 1% de especias.

Además de impartir aromas y sabores especiales al embutido se las usa por sus propiedades antioxidantes.

Algunos tipos de embutidos, principalmente los crudos, desarrollan por sí mismos aromas propios específicos y solo requieren una ligera condimentación.

En la elaboración de este producto se pueden combinar al menos 40 tipos diferentes de condimentos. Algunos de estos pierden sus propiedades cuando se calientan. El punto crítico se produce al alcanzar temperaturas de 90°C.

Los condimentos se pueden clasificar en:

- Estables al calor (chili, salvia)
- Poco estables al calor (cardamomo, clavo, pimentón, pimienta, romero y tomillo).
- Inestables al calor (cilantro, mazís, mejorana, pimienta de Jamaica, jengibre).

(4, 7)

Pimienta

Proviene de la India y hoy en día en muchos países tropicales. Es una planta trepadora de la que se cultivan las bayas verdes de la cual se obtiene la pimienta negra, mientras que para la pimienta blanca hay que dejar madurar las bayas. El aroma típico se debe a una amida denominada PIPERINA.

La pimienta negra tiene menos fuerza condimentante que la blanca, pero es más picante. En cambio la pimienta molida pierde sus propiedades muy rápidamente.

(7)

Modo de empleo y dosificación:

Para embutidos de larga duración se utilizan granos enteros de pimienta blanca o negra; hasta 1 gramo por kilogramo (g/Kg) de masa.

La pimienta en polvo ya sea negra o blanca, se puede añadir a cualquier tipo de embutido; 2 - 3 gramos (g) por kilogramo (Kg) de masa. (7)

Ajo

Proviene del Oriente y se cultiva en los países del sur y centro de Europa. Generalmente se utilizan los dientes de ajo frescos, pero se puede usar también el ajo en polvo. Existe una mezcla de ajo con sal común denominada sal de ajo.

Modo de empleo y Dosificación:

El ajo se utiliza sobre todo en la elaboración de embutidos crudos, y en algunos tipos de embutidos escaldados. Se emplea normalmente 1 a 2 dientes de ajo por cada 50 kilogramos (Kg) de masa. (7)

Nuez moscada

Se utiliza en las regiones tropicales de Asia. El fruto se extrae de la cascara, la cual no se utiliza. La nuez moscada posee un contenido alto de aceites estéricos (TERPENOS) que tienen acción antioxidante y estabilizante de las grasas (favorecen las emulsiones). (7, 8)

El GDL es derivado de la glucosa, es un anhídrido interno del ácido glucónico. Bajo la influencia del agua contenida en la carne o en la pasta, el GDL se hidroliza y se transforma en ácido glucónico, con lo que baja el pH.

Cuando se usa GDL, solo se trabaja con sal curante de nitrito; y temperatura de maduración no muy altas. El Dióxido de azufre está permitido hasta 450 ppm para la elaboración de embutidos.

Los Benzoatos y Parahidroxibenzoatos; se agregan sobre la superficie de productos cárnicos desecados.

Los Sorbatos se permiten en Estados Unidos solo en determinados productos. (ver tabla #5) (4, 10)

Sorbato Potásico

El sorbato potásico es un conservador que mantiene la superficie de los embutidos limpia de bacterias y hongos.

Es común la aparición de un revestimiento mohoso en la superficie de los embutidos crudos durante los primeros días de maduración, como consecuencia de la elevada humedad ambiental y de la superficie húmeda; así como durante el almacenamiento de las piezas terminadas. Para evitarlo se suele efectuar un ligero ahumado de las piezas en el tercero y cuarto día de maduración, entonces los componentes bactericidas del humo impiden la formación de un revestimiento superficial.

La legislación alemana permite el tratamiento de la superficie de la tripa o la inmersión breve de los embutidos crudos en una solución de sorbato potásico al 10 - 20%, el cual debe ser declarado obligatoriamente. (4)

2.10. CULTIVOS INICIADORES (STARTER)

Se trata de cultivos de gérmenes seleccionados, que influyen de manera beneficiosa sobre la fermentación o maduración del embutido crudo. Incorporando cultivos starters, se enriquece la pasta con microorganismos beneficiosos capaces

de dirigir la maduración en el sentido deseado. A la vez se inhibe la biota de acompañamiento que procede de la materia prima.

Están constituidos principalmente por bacterias lácticas y se añaden para mejorar la consistencia y el control de la fermentación.

Las fermentaciones iniciadas por starters de bacterias lácticas es la misma que el de las fermentaciones naturales, aunque las bacterias lácticas se pueden convertir en dominantes. La capacidad para competir con éxito con las bacterias naturalmente presentes en la carne es un requisito previo.

Los cultivos iniciadores habitualmente se suministran de forma liofilizada y requiere reconstitución en agua antes de la adición a la masa del embutido.

Los cultivos reconstituidos se pueden usar directamente; pero es habitual reconstituir a los microorganismos manteniendo el iniciador reconstituido durante 18-24 horas a temperatura ambiente. Es necesario inocular de 10^6 - 10^7 unidades formadoras de colonias por gramo de masa (ufc/g), y niveles de hasta 10^8 ufc/g son usados en fermentaciones cortas, a temperatura alta.

El descenso de pH en el curso de la maduración y almacenamiento de los embutidos crudos es resultado del desdoblamiento microbiano de los hidratos de carbono hasta el escalón de ácidos por la acción de las bacterias ácido lácticas homofermentativas como el *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentis*, *Pediococcus cerevisiae* etc.

Con el uso de cultivos starters se controla con exactitud el pH, acortándose el proceso de maduración. (4,7)

2.10.1. CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA SELECCIÓN DEL MICROORGANISMO STARTER.

1. Deben ser capaces de competir efectivamente con las bacterias lácticas endógenas.
2. Deben producir cantidades adecuadas de ácido láctico.
3. Deben ser tolerantes al cloruro de sodio (Na Cl) y capaces de crecer en una concentración de al menos 6%.

4. Deben ser tolerantes al nitrito de sodio (NaNO_2) y capaces de crecer en una concentración de al menos 100 miligramos por kilogramos (mg/kg).
5. Deben ser capaces de crecer en un intervalo de temperatura de 15-40 grados centígrados ($^{\circ}\text{C}$), con un óptimo de intervalo de 30-37 $^{\circ}\text{C}$.
6. Deben ser homofermentativas.
7. No deben ser proteolíticas.
8. No deben producir grandes cantidades de H_2O_2 (agua oxigenada).
9. Deberían ser catalasa positiva.
10. Deberían reducir el nitrato.
11. Deberían potenciar el aroma y sabor del embutido terminado.
12. No deberían producir aminas biógenas.
13. No deberían producir limosidad.
14. Deberían ser antagónicas de los patógenos y otros organismos indeseables.
15. Deberían ser tolerantes de, o sinérgicos con, otros componentes de los cultivos iniciadores.

2.10.2. FACTORES QUE AFECTAN LA CAPACIDAD COMPETITIVA DE LAS CEPAS DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS DE LOS CULTIVOS INICIADORES.

1. El número inicial de bacterias lácticas nativas en la mezcla.
2. La naturaleza de las bacterias lácticas nativas.
3. El tamaño del inóculo del cultivo iniciador de bacterias lácticas.
4. El estado fisiológico del cultivo iniciador de bacterias lácticas.
5. La formulación de la masa.

2.10.3. BACTERIAS LÁCTICAS HABITUALMENTE USADAS COMO CULTIVOS INICIADORES EN LAS FERMENTACIONES DE EMBUTIDOS. (7)

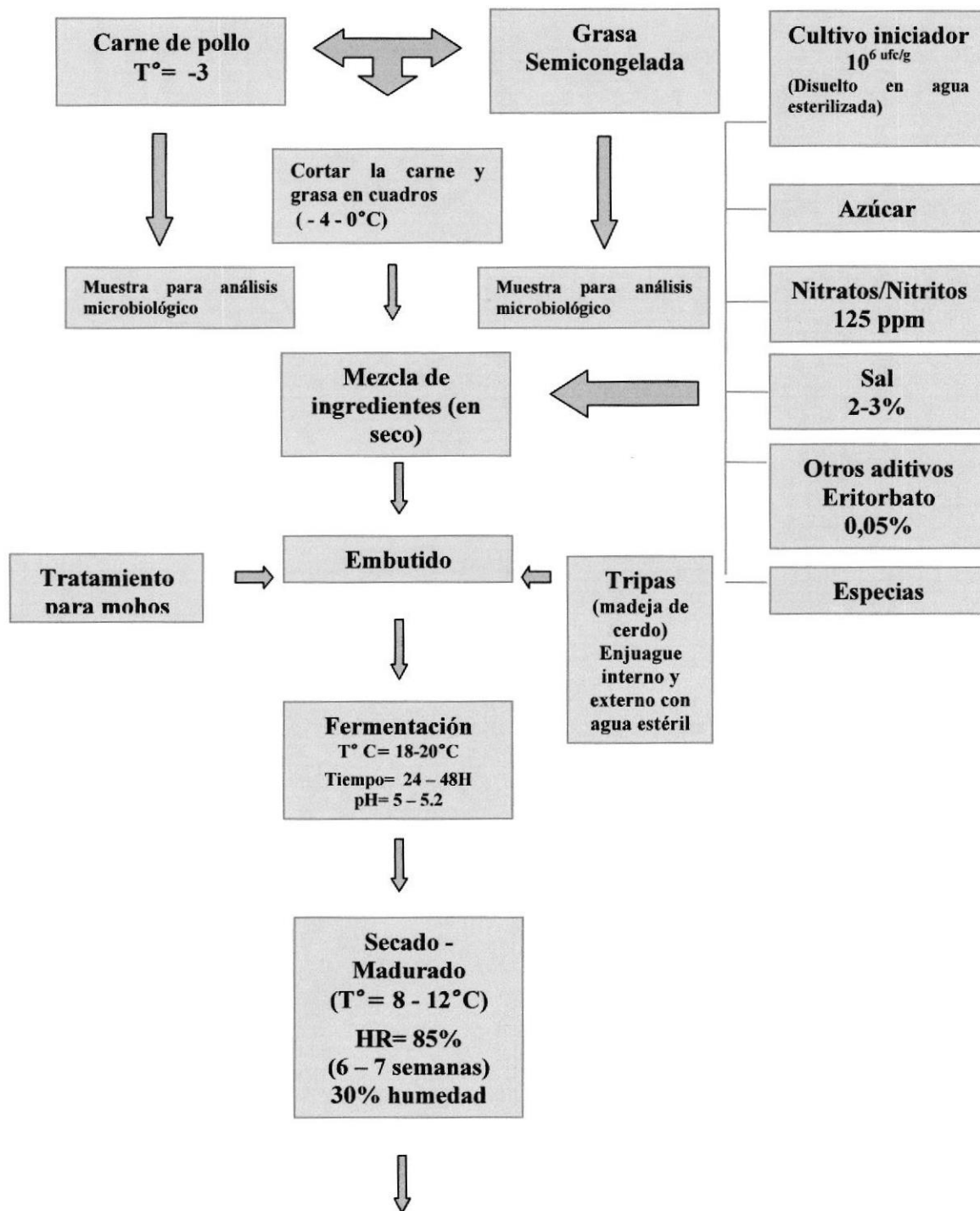
- *Lactobacillus curvatus*
- *Lactobacillus jensenii*
- *Lactobacillus plantarum*

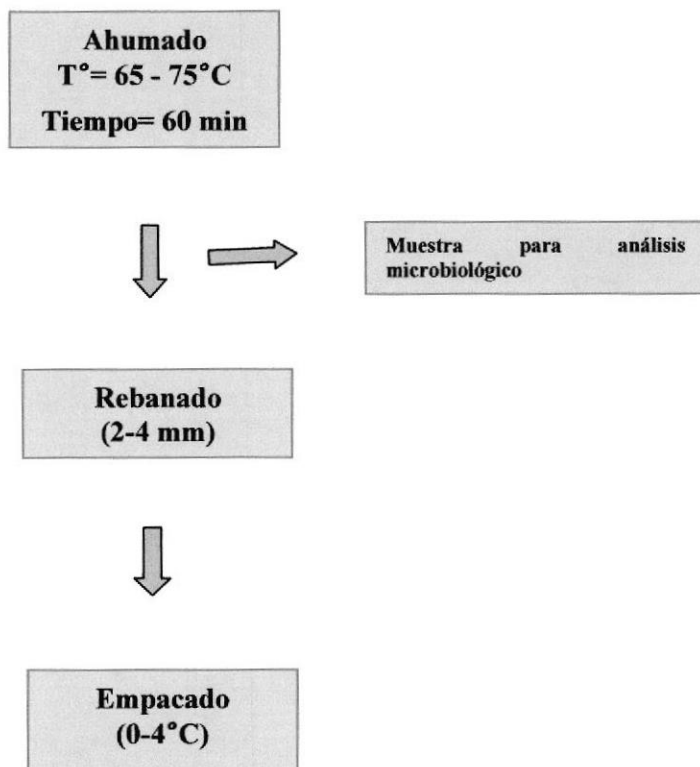
- *Lactobacillus sake*
- *Pediococcus acidilactici.*
- *Pediococcus damnosus*
- *Pediococcus pentasaceous*
- *Lactococcus lactis sub sp. Lactis*
- *Lactococcus lactis sub sp. Diacetylactis*



2.11. ELABORACIÓN DEL SALAMI DE POLLO AHUMADO

2.11.1. DIAGRAMA DE FLUJO DE ELABORACIÓN DEL SALAMI DE POLLO





2.11.2. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCESO

Molido

La carne y la grasa se cortan en cubitos de 4x4 cm previamente. El tamaño de los poros en la picadora o molino pueden estar entre 3, 4 o 5 milímetros (mm). La granulación del embutido crudo viene determinada por el diámetro de los orificios del disco de la picadora y por su velocidad de rotación, por la velocidad de giro de la cuchilla y por la duración de la operación de picado. Si la cuchilla no está bien afilada, la carne se aplastará en lugar de picarse; ya que ésta avanzará irregularmente por el serpentín y se producirán fenómenos de aplastamiento de la carne y la fusión de las grasas. Si el anillo de cierre está mal fijado, la masa se calentará en exceso. Todo esto influye negativamente sobre la textura del embutido. La carne debe estar a una temperatura menor a 5 grados centígrados (°C) durante el picado, la grasa puede estar congelada. Solo a estas temperaturas se podrá conseguir la consistencia deseada. El desmenuzamiento con la picadora es un requisito imprescindible para mezclar la carne con la grasa, para dar consistencia a la masa y liberar agua y proteínas solubles al ser destruidas las uniones celulares. (4, 7) (ver figuras # 2.16; 2.17; 2.18 y 2.19)

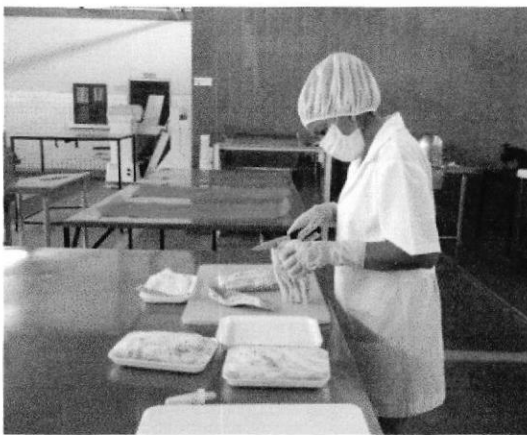


Figura # 2.16. Cortado en cubos de la grasa de cerdo



Figura # 2.17. Cortado en cubos de la carne de pollo

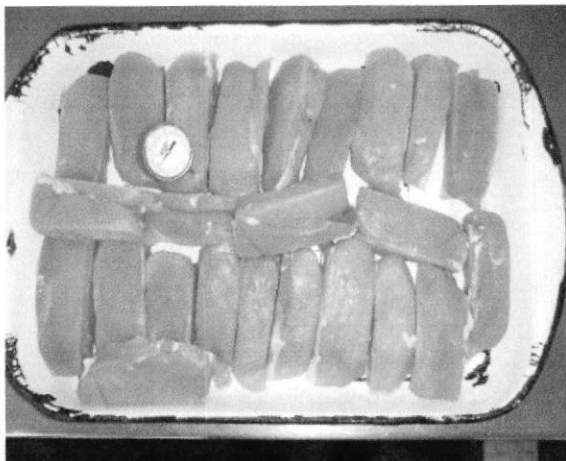


Figura # 2.18. Carne de pollo congelada



Figura # 2.19. Molido de carne de pollo

Mezclado

La carne y la grasa recién picada se mezclan y amasan junto con los otros ingredientes como la sal, azúcar, nitritos, condimentos y especias. En esta etapa se adiciona también el cultivo starter a la masa, para que dé lugar a la fermentación. Se debe procurar la distribución homogénea del cloruro de sodio (NaCl). El objetivo del amasado es dar consistencia a la masa y para liberar el agua al ser destruídas las uniones celulares. El agua liberada arrastra consigo proteínas solubles; sin la cantidad adecuada de esta solución a base de proteína y agua no es posible elaborar un embutido crudo con una resistencia al corte aceptable. La temperatura durante la mezcla debe ser 0-4 ° C. (4, 7) (ver figura # 2.20)



Figura # 2.20. Etapa de mezclado (manual)

Embutido

Consiste en introducir y comprimir la pasta picada y amasada en la tripa para constituir las piezas. La masa debe tener entre 4 - 5 grados centígrados ($^{\circ}\text{C}$) antes de ser embutida, pues en caso contrario se presentan pringosidades durante la operación de rellenado. Es necesario en esta etapa evitar el ingreso de aire a la pasta. Por lo tanto resulta más efectivo el uso de embutidoras al vacío, que extraen el aire de la pasta; ya que la cantidad de oxígeno presente en ésta ejerce influencia sobre la estabilidad del color y sobre los fenómenos microbianos determinantes de la maduración. La presión de llenado no debe ser demasiado escasa, pues se formarían burbujas en el embutido y se conglutinarían deficientemente los compuestos de la pasta.

Se debe evitar que la pasta se humedezca, para lo cual no se emplearan tripas húmedas, ni se las manipulara con las manos mojadas o se verá reflejado en defectos de enrojecimiento.

Las embocaduras del embutidor deben ser lisas en su interior y no más largas de 15 centímetros (cm). Hay que efectuar el relleno con rapidez, llenando el intestino sin apretar demasiado. Una vez finalizada la embutición, los extremos deben atarse con piola o a su vez clipados, a continuación los embutidos deben colgarse inmediatamente. (4, 7, 8) (ver figura # 2.21 y 2.22)



Figura # 2.21. Etapa de embutición I



Figura # 2.22. Etapa de embutición II

Fermentación

La fermentación de los carbohidratos comienza luego de la preparación de la masa del embutido. Un 50% de la glucosa se metaboliza durante la fermentación activa, de la cual un 74% participa en la formación de ácidos orgánicos. El ácido láctico predomina, pero también hay ácido acético y trazas de ácido pirúvico. Un 18% adicional de glucosa se metaboliza durante la deshidratación, de lo cual un 83% se convierte en ácido láctico. El dióxido de carbono constituye el 21% de los productos de la fermentación.

Es la etapa en la que se produce el crecimiento activo y el metabolismo de las bacterias lácticas, acompañado por un rápido descenso de pH. El papel fundamental de las bacterias lácticas es la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, a partir de carbohidratos, por la ruta de Embden - Meyerhof. Esto disminuye el pH y contribuye a la inhibición de microorganismos no deseables. El descenso de pH es también un factor importante en la reducción de la capacidad de retención de agua de las proteínas y así asegurar que el secado se realice correctamente.

Las especies de *Lactobacillus* son las bacterias lácticas dominantes en las fermentaciones naturales de embutidos. Las especies que aparecen más frecuentemente son: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bavaricus*, *Lactobacillus curvatus* y *Lactobacillus sake*. Los *Pediococcus* son secundarios a los *Lactobacillus*, pero son numéricamente dominantes durante algunas fermentaciones. Los tres más importantes son *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* y *Pediococcus damnosus*.

La temperatura de fermentación varía según el tipo de embutido. Se usan temperaturas altas cuando se requiere un descenso rápido de pH, considerando que un aumento de 5°C duplica la formación de ácido, pero aumenta la posibilidad de crecimiento de patógenos.

Los embutidos secos se fermentan a 15 - 27°C durante 24 - 72 horas.

El control de la humedad relativa es importante durante la fermentación, tanto para iniciar el secado como para evitar el excesivo crecimiento de levaduras y mohos en la superficie. La humedad relativa en la cámara de fermentación debería

estar entre 5 - 10% más baja que la del interior del embutido. Esta fase concluye con la diferenciación bacteriana. (7, 8,) (ver figura # 2.23)



Figura # 2.23. Etapa de fermentación

Desecado

La intensidad del secado varía considerablemente y es uno de los factores importantes en la determinación de propiedades físicos químicos y organolépticos del embutido así como su estabilidad en el almacenamiento. Se debe controlar el secado de tal forma que la velocidad de pérdida de agua desde la superficie del embutido sea igual a la velocidad a la que la humedad migra desde el interior del embutido. La desecación de los embutidos secos es un proceso largo, la duración está determinada por el diámetro del embutido. El secado se realiza a bajas temperaturas, estando la temperatura final en el intervalo de 12 - 15°C. La humedad relativa también disminuye progresivamente y se mantiene en aproximadamente 10% por debajo de la del embutido. (4, 7, 8) (ver figura # 2.24 y 2.25)



Figura # 2.24. Etapa de Dsecación I

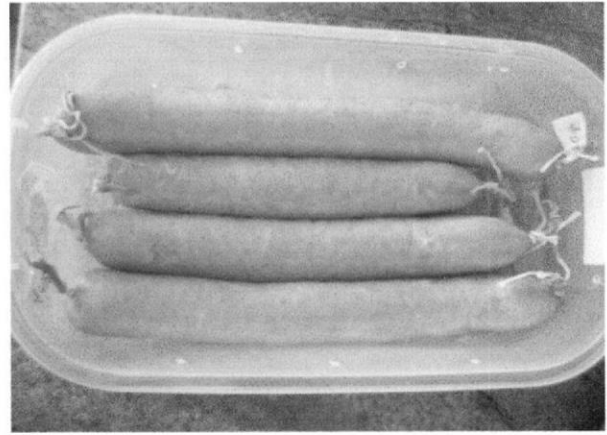


Figura # 2.25. Etapa de Dsecación II

Maduración

La maduración consiste en una serie de procesos que afectan los cuatro grupos principales de sustancias: proteínas, grasas, carbohidratos y agua. Estos procedimientos son los que originan las características típicas de los distintos embutidos crudos (de consistencia firme, frescos, curados, etc.).

Al descomponerse las proteínas de alto peso molecular se originan sucesivamente, peptonas, aminoácidos, aminos y amoniaco. La proteólisis se debe principalmente a enzimas derivadas de la carne, tales como *Calpaínas* y *Catepsinas*. La mayor producción de aroma se da en la fase de aminoácidos, se forma también ácido glutámico, que es muy aromático. Cuanto más avanza la descomposición protéica, más amoniaco se forma. El diámetro del embutido se ha identificado como un factor que afecta la proteólisis.

Los ácidos grasos libres y los compuestos carbonilos son componentes mayoritarios del sabor y aroma de los embutidos fermentados. Su formación esta medida por *Lipasas*. La lipólisis se considera que se debe a enzimas de origen microbiano. Las grasas y sus productos de desdoblamiento influyen poderosamente sobre el aroma. En este grupo son los ácidos carbonílicos los compuestos más aromáticos. A medida que avanza la maduración predominan los procesos oxidativos; éstas reacciones originan ácidos grasos de bajo peso molecular, monóxido de carbono, aldehídos y cetonas.

En esta fase comienza una lenta, pero constante, disminución del número de bacterias. Dominan los procesos de descomposición y transformación. Lo más importante es la descomposición de los ácidos grasos producidos en la fermentación, formándose así el típico aroma del producto. Al mismo tiempo se produce una intensa descomposición de las proteínas y del ácido láctico formado a partir de la glucosa.

Tras la diferenciación bacteriana ya solo quedan pocas especies de bacterias, sobre todo las productoras de ácido láctico, micrococcus y esporuladores aerobios. También existen hongos. Ahora se encuentran aquellas enzimas que tras la destrucción bacteriana lograron romper la membrana celular. Las sustancias nutritivas solubles para las bacterias durante la maduración van descendiendo al igual que la actividad de agua (A_w), que provoca a su vez una reducción del número gérmenes.

Si el embutido está muy maduro éste se enrancia, y las bacterias vivas pueden desaparecer por completo, ya que los compuestos que se forman durante el enranciamiento son altamente tóxicos para las bacterias. (7, 8)(ver figura # 2.26; 2.27 y 2.28)

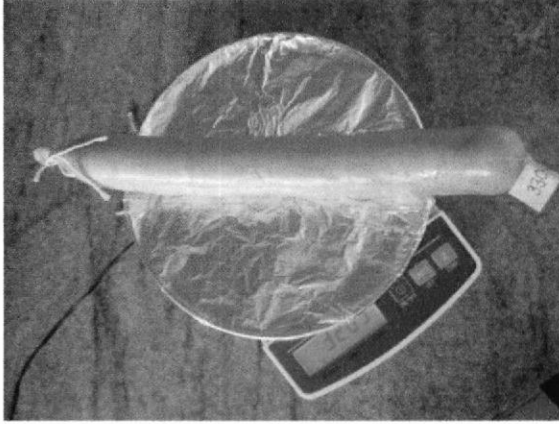


Figura # 2.26. Control de peso durante la etapa de maduración

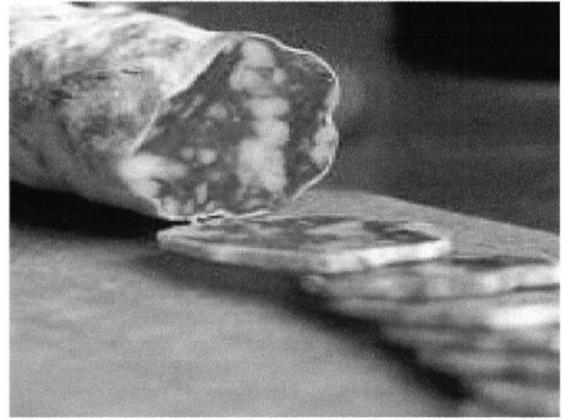


Figura # 2.27. Etapa final de la maduración

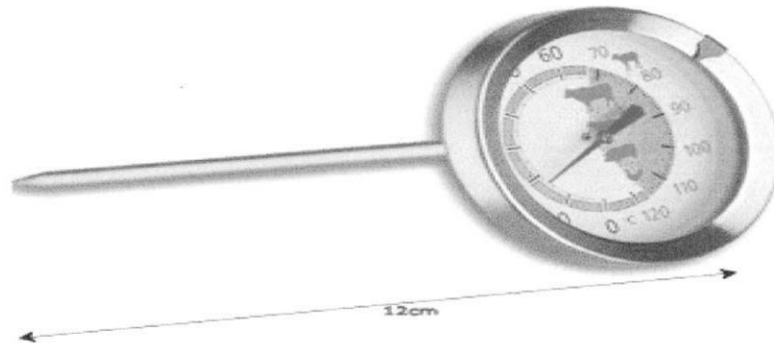


Figura # 2.28. Control de la temperatura

Ahumado

El ahumado se efectúa para inhibir el crecimiento de mohos por secado de la superficie y por deposición de fenoles antimicrobianos, carbonilos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular. Los compuestos fenólicos reducen la oxidación de las grasas; el ahumado tiene efecto sobre las propiedades organolépticas del embutido. Se usa humo de madera, generalmente roble, variando condiciones, desde 2 horas a 60°C y 57% de humedad relativa.

Cuando se quema madera, lo primero que se produce es carbón vegetal y humo. La humedad del serrín utilizado tiene importancia, ya que una humedad excesiva implica una temperatura de incandescencia baja y por tanto una producción de humo más lenta.

Un mismo serrín de la misma madera puede producir, aromas diferentes según esté más o menos húmedo. La intensidad del aroma es mayor cuando menor sea el grado de humedad del serrín.

El ahumado de la carne o del embutido tiene los siguientes objetivos:

1. Conservación
2. Aroma
3. Coloración

Hoy en día se emplean tiempos muy cortos de ahumado que únicamente pueden garantizar un efecto conservador a corto plazo y limitado a la tripa o a una capa externa de masa de unos pocos milímetros.

El producto debe permanecer expuesto al humo hasta haber conseguido el aroma y color deseados. La aromatización del producto se debe a que éste absorbe determinados compuestos del humo. El humo está formado por una serie de componentes gaseosos invisibles y por una niebla visible a base de alquitrán y hollín. La fase gaseosa, que contiene las sustancias responsables del aroma, se disuelve en el agua contenida en la masa del embutido. La aromatización es más rápida cuanto más húmeda sea la superficie del producto.

La coloración es el resultado de la reacción química entre determinados componentes del humo (aldehídos) y la proteína muscular.

Esta reacción únicamente se desarrolla de forma óptima si la superficie está seca y la temperatura es alta. La aromatización y la coloración del producto son dos procesos que no tienen lugar simultánea sino sucesivamente. (7, 8)

(ver figura # 2.29)

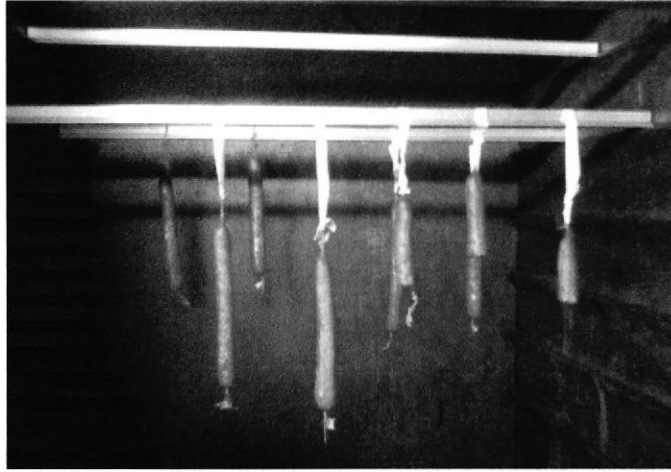


Figura # 2.29. Etapa de Ahumado

Rebanado

Los embutidos fermentados frecuentemente se lonchean y se pre-ensacan antes de la venta al por menor. El envasado al vacío se usa mucho y es efectivo para mantener el color del embutido y reducir al mínimo la oxidación de la grasa. El salami se debería lonchear a bajas temperaturas para evitar la fusión de las grasas que les da un aspecto inadecuado, y disminuyen las posibilidades de que la grasa contamine la lámina plástica y causen problemas de sellado térmico. El espesor del rebanado es de 2-4 mm. (ver figura # 2.30)



Figura # 2.30. Etapa de Rebanado

Empacado

Muchos embutidos fermentados elaborados tradicionalmente tienen un mínimo envasado, colocándose en cajas de cartón como medida de protección durante el transporte y almacenamiento, y se elimina antes de la venta. Algunos se colocan en bolsas de tela o en fundas de plástico, que ofrecen protección individual. Al momento de envasar se deben tomar las siguientes precauciones:

1. Comprobar la permeabilidad para el oxígeno de la lámina empleada.
2. Envasar solo embutidos bien secos (evitar la formación de gotitas de condensación).
3. Únicamente envasar piezas bien desecadas y maduras.
4. Evitar contaminaciones superficiales. (ver figura # 2.31)



Figura # 2.31. Etapa de empackado

**2.12. FÓRMULA PARA LA ELABORACIÓN DEL SALAMI DE
POLLO AHUMADO**

INGREDIENTES	PORCENTAJES AGREGADOS
Carne de pollo	68 %
Tocino	25 %
Sal refinada	2,2%
Azúcar	1%
Nitrito de sodio	0,03%
Eritorbato de sodio	0,1%
Pimienta negra en grano	0,15%
Ajo en polvo	0,25%
Nuez moscada	0,08%
Agua esterilizada	2,6%
TOTAL	100%

Capítulo # 3

3.1. TECNOLOGÍA DE EMPAQUES

El empaquetado incluye las actividades de diseñar y producir el recipiente o la envoltura para un producto. El paquete puede incluir el recipiente principal del producto; un empaque secundario que se desecha cuando se va a utilizar el producto; y el empaque de envío necesario para almacenar, identificar y enviar el producto.

El etiquetado también es parte del empaquetado y consiste en la información impresa que aparece en o dentro del paquete. Las decisiones del empaquetado se basaban en los factores de costos y producción. La función principal del empaque es contener y proteger el producto. Sin embargo, en una época reciente, numerosos factores han convertido al envase en un instrumento muy importante de la mercadotecnia.

3.1.1. TIPOS DE EMPAQUE

El envasado de los alimentos es una técnica fundamental para conservar la calidad de los alimentos, reducir al mínimo su deterioro y limitar el uso de aditivos. El envase cumple diversas funciones de gran importancia: contener los alimentos, protegerlos del deterioro químico y físico, y proporcionar un medio práctico para informar a los consumidores sobre los productos.

Cualquier tipo de envase, ya sea una lata, una botella, un frasco o funda, contribuye a proteger los alimentos de la contaminación por microorganismos, insectos y otros agentes contaminantes. Asimismo, el envase preserva la forma y la textura del alimento que contiene, evita que pierda sabor o aroma, prolonga el tiempo de almacenamiento y regula el contenido de agua o humedad del alimento.

En el caso de los embutidos se utilizan las tripas como un pre-empaque o como empaque. En el primer caso, cuando a parte de ellas se utilizan fundas plásticas termosellables o termoencojibles como su empaque final; y en el segundo caso, cuando al producto solo lo contiene la tripa.

Existen dos tipos de empaques para embutidos descritos a continuación:

1. Tripas:

Se pueden utilizar naturales o artificiales.

Tripas animales o naturales:

Se utilizan los intestinos de vaca, cerdo y oveja; además el estomago de cerdo, el esófago de la vaca y la vejiga urinaria del cerdo, vaca y ternera. El intestino delgado del cerdo recibe el nombre de "rizo". Mide entre 16 - 18 metros de longitud, y un calibre o diámetro de 22 - 36 milímetros; está constituido por el duodeno, yeyuno e íleon. El intestino delgado por lo general se utiliza para embutidos crudos y escaldados.

Son los envases tradicionales y deben ser escrupulosamente limpiados y secados antes de su uso, ya que pueden ser vehículos de contaminación microbiana. Pueden ser: grasos, semigrasos o magros y pueden ir cocidas o pegadas entre ellas. (5, 10) (ver figura # 3.1)



Figura # 3.1. Tripas naturales de cerdo

Tripas artificiales:

Elaboradas a partir de fibra animal y constituidas por fibras de colágeno obtenidas por tratamiento físico - químico de la dermis de los bovinos. Presentan características superiores en algunos aspectos a las tripas naturales.

(ver figura # 3.2)

En su fabricación se utilizan las siguientes materias primas:

- Hidrato de celulosa
- Pergamino natural
- Tejidos de sostén con revestimientos proteicos
- Proteínas endurecidas
- Poliamidas
- Poliésteres
- Polímeros mixtos de polivinil (PVDC)
- Polipropileno
- Polietileno



Figura # 3.2. Tripas artificiales

a. Características principales que debe cumplir la Tripa

Permeabilidad al vapor de agua:

Es indispensable: para los productos madurados – secados pues permite la desecación progresiva del producto; para ciertos productos cocidos por la penetración de aromas como los del humo (ahumado), las especias o aromas tras una cocción.

Elasticidad y Retractibilidad:

Permite a la tripa seguir el cambio de volumen del producto durante el proceso de fabricación: dilatación durante el secado y retracción durante el enfriamiento o el secado.

Adherencia al producto: No se debe permitir la presencia de aire entre la tripa y la pasta.

Otras: Facilidad de almacenamiento y utilización; solidez; regularidad de calibre (grosor); posibilidades de grapado o paso a través de maquinas automáticas de embutidos; posibilidades de coloración y de impresión. (5)

b. Ventajas de su Uso:

1. Son totalmente sintéticas, permeables al humo, vapor y retractiles.
2. Muchas de ellas son contráctiles y se adaptan al aumento o disminución de volumen del contenido. Mediante un revestimiento interno de la tripa, se consigue mantener unido el producto y a la vez se pueda desprender la tripa con facilidad.
3. Protegen por más tiempo el producto de fenómenos de oxidación de las grasas.
4. No necesitan ser lavadas y desinfectadas antes de su uso. (7)

c. Tipos de tripa:

De Colágeno: Son una alternativa lógica a las naturales, ya que están fabricadas con el mismo compuesto químico. Se usa para la producción de embutidos cocidos ahumados, fiambres y embutidos cortados.

De Celulosa: Se emplean principalmente en salchichas y productos similares que se comercializan sin tripas.

De Plástico: Se usan en embutidos cocidos.

2. Funda Plástica

Las bolsas también tienen una importancia central en el proceso de vacío. Para cada caso, hay que elegir el tipo de bolsa adecuado a los requerimientos. Las bolsas deberán tener la resistencia necesaria para que no se rompan durante la manipulación ni se dañen al calentarse o enfriarse. Como también deben poder sellarse con calor, las bolsas se confeccionan con varias capas de plásticos que reúnan las características deseadas, muchas de ellas contradictorias entre sí.

La capa externa deberá ser resistente al calor y a la manipulación. La capa intermedia será de baja permeabilidad a los gases. La capa interna, por el contrario, tendrá una baja temperatura de fusión para facilitar el sellado. Existe un tipo de bolsa retráctil y resistente a las altas temperaturas para cocer y conservar alimentos que necesitan estar bien sujetos y evitar también la exudación. Sumergiendo la bolsa en agua a 90°C se consigue retraerla y moldearla al producto.

El producto se empacó en Fundas Plásticas Termosellables (Food Saber Rolls). La medida del rollo es de 28 centímetros de ancho por 5.48 metros de largo. La especificación del empaque final es la siguiente: (ver figura # 3.3)

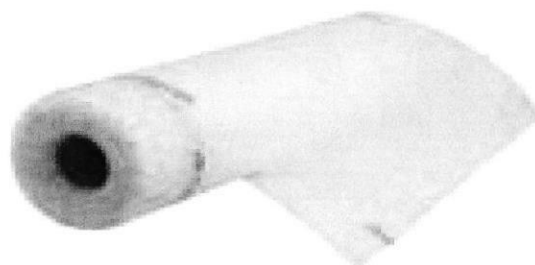


Figura # 3.3. Funda plástica para empaqueo

ESPECIFICACIONES DEL EMPAQUE FINAL					
PRODUCTO	PESO DEL EMPAQUE (g)	UNIDADES POR EMPAQUE	DIMENSIONES		
			LARGO (mm)	ANCHO (mm)	ESPEJOR (mm)
Salami de Pollo Ahumado	230	56	385	280	0,19

3.2. DESCRIPCIÓN DE MAQUINARIAS Y EQUIPOS UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DEL SALAMI

3.2.1. MOLINO DE CARNE

La carne de pollo limpia congelada cortada en cubos de 4x4 centímetros (cm), pasa hacia la etapa de molido, en el cual la materia prima cárnica se va trasladando en un tornillo sin fin hasta llegar a un disco que posee agujeros de 5 milímetros (mm) de diámetro, por donde pasara la materia prima para ser reducida de tamaño y darle la característica física al producto final.

El grupo molidor tiene un diseño exclusivo que le permite realizar una perfecta trituración de la carne, pues debido a los canales afilados en el interior de la boca, y

al sinfín de formas muy bien calculadas, al mismo tiempo que va transportando la carne, la va cortando con los canales interiores de la boca, de tal manera que al llegar a la cuchilla, la carne ya ha sido macerada y cortada, sin que se produzca recalentamiento del producto.

La tolva y todo el grupo de corte se pueden retirar del motor reductor mediante un simple movimiento, para ser conservados en la cámara frigorífica. El mecanismo de inversión de marcha sirve para desbloquear el alimento que se ha acumulado en exceso, sin necesidad de tener que desmontar el grupo de corte.

(ver figura # 3.4)

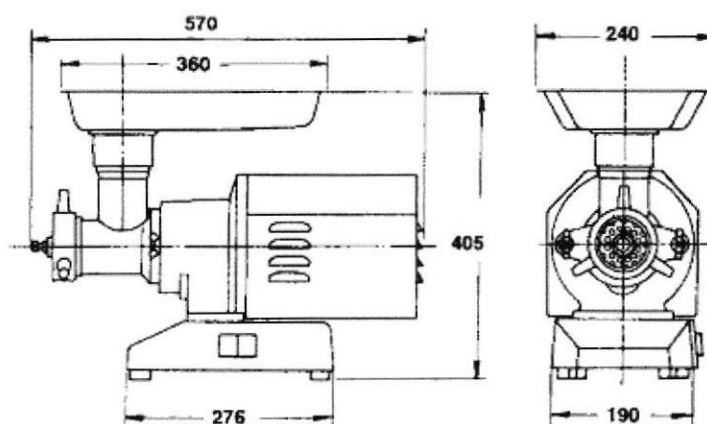


Figura # 3.4. Esquema del Molino de Carne

FICHA TECNICA

Nombre del equipo: Molino de carne industrial modelo JR MJ - 22

CARACTERISTICAS

- Maquina de estructura sólida y compacta.
- Engranaje de reducción en acero, montado en rodamientos de bolas, lubricados en baño de aceite.
- Grupo moedor, cubierta del motor y tolva en acero Inoxidable 18/8.

- Disco y cuchilla en acero inoxidable auto afilante.
- Motor monofásico 1,5 HP (1,1 Kw)
- Interruptor con inversión de marcha (reversa).
- Rendimiento por hora: 200 Kg.
- Peso: 27 Kg.

(ver figura # 3.5)



Figura # 3.5. Molino de carne

3.2.2. EMBUTIDORA AL VACÍO

Las embutidoras al vacío son equipos destinados para la producción industrial de productos cárnicos y otros productos alimenticios. Son adecuadas para la fabricación de embutidos. Pueden funcionar continuamente o en intervalos ajustables. El producto se conduce a la rellenadora de forma continua, por lo tanto asegura un rendimiento suficiente. Las embutidoras al vacío están equipadas de un compresor, gracias al cual se puede ajustar cualquier vacío para limitar la creación de las burbujas de aire. Los tubos de llenado se pueden cambiar para diferentes calibres. Para aumentar su utilidad han sido equipadas de un motor de dos velocidades, el cual permite elevar el rendimiento del cabezal durante el llenado ininterrumpido.

El llenado también se puede realizar con la ayuda de un equipo auxiliar giratorio. Las embudadoras al vacío se destacan por su construcción sólida que cumple todos los requisitos de higiene y garantiza un mayor periodo de vida útil.

Las formas redondeadas y las superficies pulidas permiten su limpieza perfecta.

Todos los elementos de mando importantes se encuentran ubicados a la vista del operario con acceso simple.

FICHA TECNICA

Nombre del equipo: Embudadora Hidráulica de Pistón modelo

E - 45L

CARACTERISTICAS

- Construídas en Acero Inoxidable, incluida la tapa.
- Cilindro torneado y rectificado.
- Pistón interior desmontable para limpiarlo con facilidad.
- Desagüe del cilindro, para su limpieza.
- Regulador de presión y velocidad con manómetro.
- 24 voltios.
- Capacidad: 12 litros
- Potencia de motor 375 watts
- Velocidad regulable
- Corriente monofásica 230 voltios, 50 Hz
- Altura de salida 1,090 milímetros (mm)
- Apoyo sobre dos ruedas y dos patas fijas.
- Embudos de Ø15, Ø20 y Ø30.

(ver figura # 3.6)



Figura # 3.6. Embutidora Hidráulica

3.2.3. AHUMADOR

Las cámaras de ahumado son equipos destinados para la producción industrial de productos cárnicos y otros productos alimenticios elaborados térmicamente.

Permiten automáticamente el enrojecimiento, secado, ahumado y cocción en un mismo ciclo de producción sin necesidad de algún otro tipo de manipulación. La estructura de las cámaras de ahumado ha sido diseñada en forma de módulos.

Combinando los diferentes módulos es posible crear un equipo con diferentes capacidades para el producto fabricado, según las necesidades del cliente.

Un ahumador está compuesto por dos partes principales, la primera es la cámara de ahumado, donde se introducen los alimentos para que tengan contacto con el humo y la segunda es el hogar donde se quema la madera para la producción de humo.

Cámara de ahumado

La cámara de ahumado es un recinto construido en acero inoxidable, alimentado por la salida de humos del hogar, que puede estar incorporado o no en la cámara. La cámara tiene una salida de humos en su parte superior y en su interior se introducen los alimentos a ahumar por la puerta habilitada para ello. Los alimentos normalmente se cuelgan en el interior de la cámara con diferentes accesorios o se

disponen en bandejas. Las dimensiones de la cámara serán las adecuadas para contener la producción deseada.

La cámara de ahumado tiene un registro para el control de tiro con el que se podrá controlar la temperatura de trabajo en su interior.

El Hogar

El hogar es un recinto cerrado con una puerta de fundición de hierro por donde se introduce la madera a quemar y con una salida para los humos hacia la cámara de ahumado. El hogar está construido con ladrillo refractario y puede ser interior o exterior a la cámara de ahumado. Se controlará mediante el registro de entrada de aire para que la combustión se produzca en presencia mínima de aire, para que la cantidad de humo producida sea alta y la temperatura del mismo no sea excesiva.

Funcionamiento

La madera a quemar se introduce en el hogar, donde se controla la combustión con una presencia mínima de aire. El humo producido se introduce por convección natural en la cámara de ahumado, donde tiene contacto con los alimentos a ahumar, que se encuentran colgados en su interior. La temperatura de la cámara se controla con un control de tiro del humo de entrada, permitiendo o no el paso del humo. El humo en la cámara se extrae por la chimenea y los alimentos, una vez terminado el proceso, se extraen por la misma puerta de entrada.

FICHA TECNICA

Nombre del Equipo: Horno Ahumador Industrial AC 200

CARACTERISTICAS

Capacidad: 120 libras de carne; 50 libras de cortes; 20 pollos.

Resistencia de calentamiento: 1500 watts

Voltios: 380

Bandeja: 50.5 cm de ancho, 66.7 cm de fondo (ver figura # 3.7)

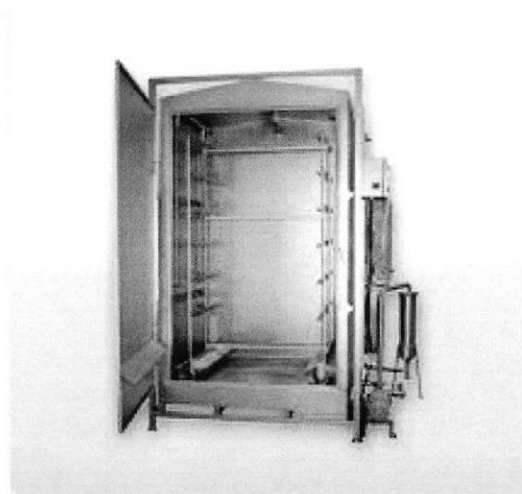


Figura # 3.7. Ahumador Industrial

3.2.4. EMPACADO

Se lo realiza a través de una maquina selladora al vacío, con una presión de 550 atmósferas; y consiste en envolver y sellar el producto en una funda plástica termosellable. Estas pueden estar hechas de polietileno de baja densidad, polietileno lineal, polietileno de alta densidad o de polipropileno, polímeros de plástico no biodegradable, con espesor variable entre 18 y 30 micrómetros.

La funda utilizada en el proceso es de polietileno de baja densidad. El producto debe ser empacado bajo condiciones de refrigeración, de 0 - 4 grados centígrados (°C). (ver figura # 3.8).

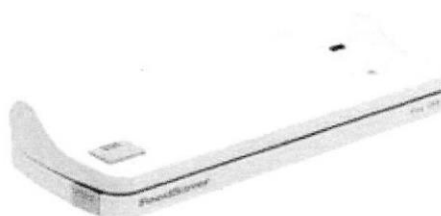


Figura # 3.8. Maquina Selladora al Vacío

FICHA TECNICA**Nombre del Equipo: Máquina Selladora al Vacío VAC550****CARACTERISTICAS****Capacidad:** 3Kg.**Voltios:** 120 - 127

Además contiene:

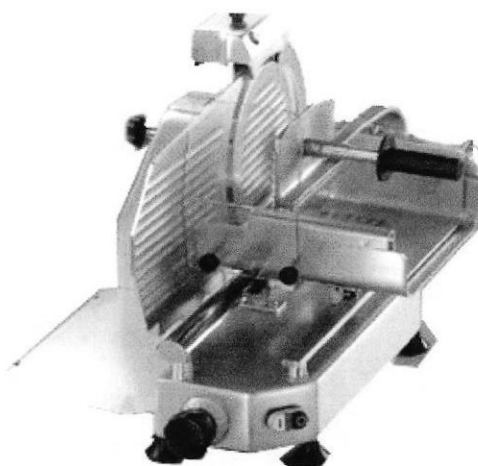
Luz de sellado

Guía de bolsa

Banda de sellado

Canal de absorción de aire

Traba (2) : hay una en cada lado

3.2.5. CORTADORA, REBANADORA F 370 TCV**Figura # 3.9. Rebanadora de Carne y Embutidos**

- Construida completamente en aleación especial PERALUMAN tratada con oxidación anódica, para ofrecer absoluta higiene durante el manejo y facilidad para la limpieza.
- Cuchilla de 370 mm., en acero Cr 100, de mayor resistencia a la acción corrosiva de los ácidos.
- Afilador incorporado, con piedras de afilar no abrasivas para un mejor desgaste de la cuchilla.
- Excéntrica de mayor precisión, para un corte exacto.
- Regulador de espesor de corte hasta 16 mm., muy sensible, lo que permite regulación decimal.
- Interruptor de seguridad. Retenedores de humedad.
- Protectores de seguridad
- Corte útil: 290 x 275 mm.
- Motor monofásico 110 V. 0,50 HP 260 r.p.m.
- Peso: 44 Kg. (ver figura # 3.10)

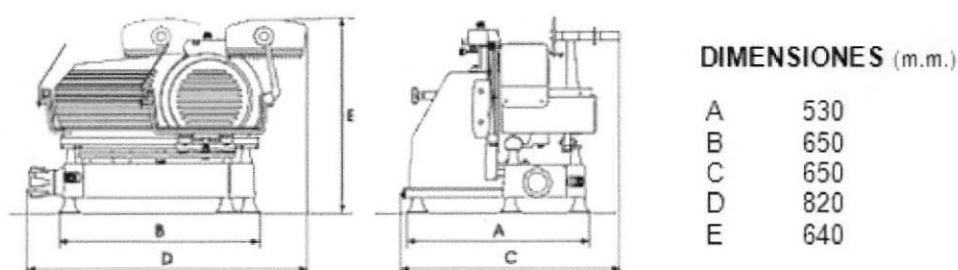


Figura # 3.10. Esquema de la Rebanadora de Carne

3.3. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA CÁRNICA

PARAMETROS DE CALIDAD	DATOS ESTABLECIDOS
pH inicial de la carne	5,8 - 6,2
pH del tocino	5,8 - 6,2
pH de la pasta	5,8 - 6,2
Temperatura inicial de la carne de pollo	-5 a -3°C
Temperatura del tocino	-5 a -3°C
Temperatura de la pasta	-2 a 0°C
Cultivo Iniciador	10 ⁶ ufc/g

3.3.1. CONTROL DE CALIDAD APLICADO A LA MATERIA PRIMA CÁRNICA

ITEMS	PARAMETROS DE CALIDAD
Materia prima	Carne de Pollo
Temperatura de almacenamiento	-4 a 0°C
pH	5,8
Color	Blanco (mioglobina escasa)
Hematomas	Ausencia
Líquido sanguinolento	Escaso
Olor	Característico a fresco
Coliformes totales	< 2500 ufc/g
Escherichia coli	< 300 ufc/g
Aerobios totales	<1'000000 ufc/g

ITEMS	RESULTADOS
Materia prima	Grasa de cerdo
Temperatura de almacenamiento	-4 a 0°C
pH	6
Color	Blanquecina
Hematomas	Ausencia
Líquido sanguinolento	Ausencia
Olor	Característico
Coliformes totales	<2500 ufc/g
Escherichia coli	<300 ufc/g
Aerobios totales	<1'000000 ufc/g

3.4. CONTROLES DE CALIDAD EN EL PRODUCTO FINAL

3.4.1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

INFORMACION NUTRICIONAL DEL SALAMI DE POLLO AHUMADO	
ITEMS	CANTIDADES (%)
Proteínas	47,38
Grasas	16,4
Carbohidratos	Trazas

3.4.2. ANÁLISIS EXTERIOR DEL PRODUCTO FINAL

Aspecto:	Textura firme
Enmohecimiento:	Positivo
Color del moho:	Blanco
Color:	café claro
Colores anormales (manchas):	Ausencias
Arrugas:	Ninguna
Tipo de tripa:	Natural
Calibre del producto:	32 mm de diámetro
Intervalos de Pesos de las piezas:	175 - 370 gramos
Clipeado, atado:	Atado con piola
Rezumado de grasa:	Ausente
Presión de embutidos:	Vacio
Deformaciones:	Ninguna
Resistencia a la compresión	Si
Impresión de la tripa:	No

3.4.3. ANÁLISIS AL CORTE DE LA PIEZA DEL SALAMI DE POLLO

ITEMS	RESULTADOS
Resistencia al corte:	No
Consistencia:	Firme
Superficie de corte:	Semidura
Distribución uniforme de la grasa:	Positivo
Color de la grasa o tocino:	Blanquecino
Cantidad de pimienta al corte:	1 - 2
Color de la pasta:	Café claro
Uniformidad de color:	Si
Presencia de costra oscura:	No
Colores anormales en pasta o en tocino:	No
Grado de picado de la pasta:	Normal
Defecto de ligazón:	
Fisuras:	Ninguna
Poros, oclusiones de aire:	Ninguno
Cavidades:	Ninguna
Cúmulos de grasa fundida:	Trazas
Aroma:	característico

3.4.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO REALIZADO AL PRODUCTO FINAL

Objetivo:

Determinar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos presentes en el producto terminado, utilizando la técnica de siembra por expansión, en caja petri.

Materiales:

- * Fiolas
- * Probetas
- * cajas petri
- * espátula
- * mortero
- * agitadores magnéticos

Medios de Cultivo:

- * Agar Coliformes
- * Potato Dextrosa Agar (PDA)
- * Agar Estandar Method (SM)
- * Agar Livine (EMB)
- * Agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (TCBS)

Procedimiento:

- a. Preparación de la muestra: Pesar 10 gramos de salami y suspenderlo con 100 mililitros (ml) de agua destilada estéril fría.
- b. Tomar 0,1 ml del líquido sobrenadante de la muestra anterior y colocarla en la caja petri con el medio de cultivo respectivo (solidificado).
- c. Con el asa de vidrio estéril realizar la siembra por el método de expansión en la superficie del agar.
- d. Colocar las cajas en la incubadora a una temperatura de 37°C por el lapso de 24 horas.
- e. Realizar una caja en blanco para comprobar la esterilidad del medio.
- f. Transcurridas las 24 horas realizar la lectura de las cajas en el contador de colonias.
- g. Identificación del microorganismo en el microscopio, utilizando tinción de gram.
- h. En el caso del medio de cultivo Potato Dextrosa Agar (PDA), la muestra se sembrará por contacto directo del producto terminado con el medio, utilizando un asa de platino y la técnica de siembra por estrías y agotamiento en caja petri. (ver figuras # 3.11; 3.12; 3.13; 3.14; 3.15 y 3.16)

Resultados:

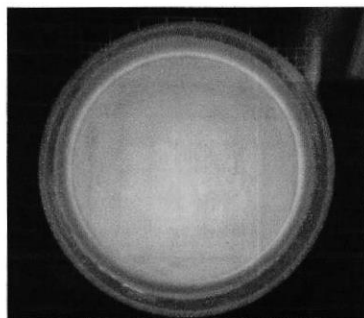


Figura # 3.11. Salmonella Shiguella (Agar SS)

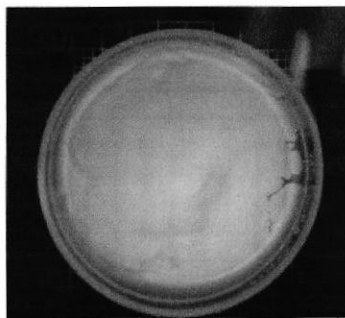


Figura # 3.12. Amplio espectro (Agar SM)

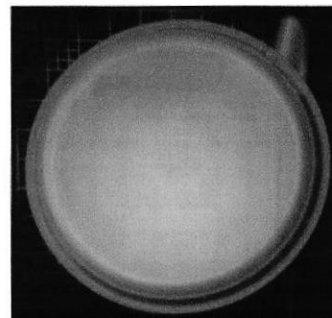


Figura # 3.13. Escherichia coli (Agar Levine EMB heces Fecales)

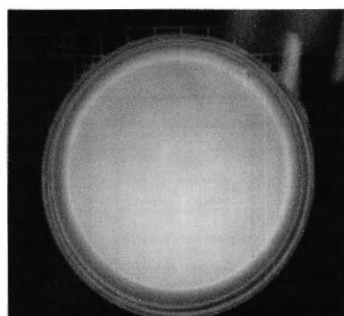


Figura # 3.14. Aerobios Totales (Agar Nutritivo)

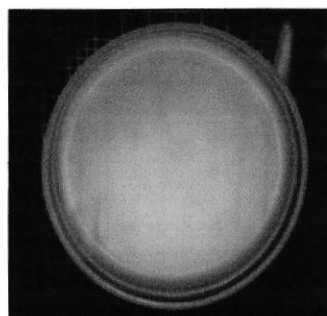


Figura # 3.15. Vibrio cholerae (Agar TCBS)

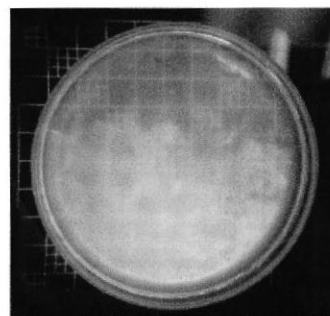


Figura # 3.16. Hongos (Agar PDA)

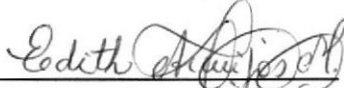
ANALISIS MICROBIOLÓGICO

MUESTRA: "SALAMI DE POLLO AHUMADO"


FECHA: 8 DE SEPTIEMBRE DEL 2010

ENSAYOS		ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Recuento de Coliformes		< 3 UFC/g	< 3 UFC/g
Recuento Totales	Aerobios	< 2 x 10 ⁵ UFC/g	< 2 x 10 ⁵ UFC/g
Recuento de Hongos y Levaduras		< 10 UFE/g	< 10 UFE/g
Recuento de Escherichia coli		< 3 UFC/g	< 3 UFC/g
Investigación de Salmonella	de	AUSENCIA	AUSENCIA
Investigación de Shigella		AUSENCIA	AUSENCIA
Investigación de Vibrio Cólera		AUSENCIA	AUSENCIA

Elaborado por:


 Analista de Laboratorio

Revisado por:


 Jefe de Laboratorio

3.5. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE EQUIPOS

Métodos de Limpieza

a. Equipos

Compuesto de Limpieza: detergente alcalino

Compuesto Desinfectante: Cloro

Compuesto para sustancias residuales: Acido ascórbico

Procedimiento:

1. Eliminación de la suciedad con agua a 55°C.
2. Aplicación del producto químico, detergente, que sea capaz de emulsionar (romper) o disolver la suciedad.
3. El tiempo de remojo debe ser de 10- 15 minutos.
4. Fregado o cepillado de la superficie
5. Enjuague dentro de los 25 minutos después de la aplicación del limpiador, con agua a 55 grados centígrados (°C).
6. Inspeccionar completamente toda la superficie. Si quedaron residuos, repita el procedimiento anterior.
7. Aplicación del compuesto desinfectante clorado. El cual debe ser rociado como una solución que contenga 100 ppm de cloro.
8. Enjuague con agua potable.
9. Neutralización de los residuos del desinfectante con ácido ascórbico (vitamina C).
(ver figura # 3.17)

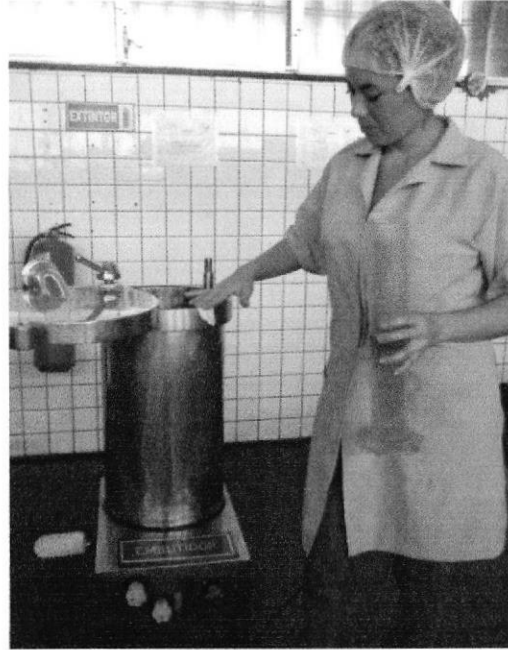


Figura # 3.17. Limpieza y desinfección de equipos

Agua

El agua utilizada en la planta piloto es clorada en una concentración de: 1,5 partes por millón (ppm). Influye directamente en el rendimiento de los productos químicos utilizados para limpiar o desinfectar los equipos y áreas de trabajo.

b. Manos

Compuesto de Limpieza: Jabón yodado líquido

Compuesto Desinfectante: alcohol 97°

Procedimiento:

1. Subirse las mangas del mandil hasta el codo
2. Retirar las alhajas, reloj
3. Mojarse las manos con agua potable
4. Aplicar 3 a 5 ml de jabón yodado líquido

5. Friccionar la superficie de las manos y puño durante 10-15 segundos
6. Enjuagar en agua potable
7. Secar con toalla de papel
8. Desinfectar con alcohol o una solución de cloro, las manos y el antebrazo hasta llegar a los codos

Capitulo # 4

LEGISLACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS A NIVEL INDUSTRIAL

4.1. NORMAS DE BIOSEGURIDAD EMPLEADAS EN EL LABORATORIO

1. Utilizar mandil, gorro o cofia, guantes y mascarilla estériles para evitar contaminación cruzada durante la realización de las pruebas de laboratorio. Garantizando la seguridad tanto de los analistas como de las pruebas efectuadas.
2. Limpiar, desinfectar y esterilizar el área de trabajo y de siembra.
3. Utilizar agua destilada estéril para la preparación de los medios de cultivo, evitando así falsos positivos.
4. Mantener el área de trabajo cerrada para evitar la contaminación cruzada al momento de la preparación de los medios y de siembra en placas.
5. Utilizar desinfectantes apropiados que permitan garantizar su efectividad. En caso de ser alcohol deberá ser industrial y estar entre los 97 y 99°.



Figura # 4.1. Uso correcto de cofia, mascarilla y guantes en el área de trabajo

4.2. NORMAS INEN

La Norma Técnica Ecuatoriana a seguir es la NTE INEN 1 343: 96; 1996 – 11, de cuya información se obtuvo la disposición general y específica de:

1. La materia prima durante el proceso (página 1 y 2, ítem 5 y 6)
2. El uso adecuado del agua (página 1, ítem 5, literal 5.3)
3. Limpieza de equipos (página 1, ítem 5, literal 5.4)
4. Uso adecuado de las envolturas (página 2, ítem 5, literal 5.5 y 5.6)
5. Uso adecuado del humo en la etapa de ahumado (página 2, ítem 5, literal 5.7)
6. Uso de aditivos (página 2, ítem 6, literal 6.7 y 6.8; página 3, tabla # 1)
7. Requisitos microbiológicos (página 2, ítem 5, literal 5.8; página 4, ítem 7, tabla # 3 y # 4)
8. Requisitos bromatológicos (página 3, ítem 7, tabla # 2)

Ver anexo # 1

4.3. BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM)

El siguiente manual, está diseñado bajo los criterios y definiciones del artículo 21 CFR 110, que se elaboró para proteger a los alimentos; ya sean estas materias primas o producto terminado, de cualquier contaminación, adulteración que pudieran sufrir durante su elaboración o almacenamiento.

PERSONAL

1. Buen estado de salud

a) Control de enfermedades

1.- Toda persona que tuviere una enfermedad infectocontagiosa o una herida que pudiera estar infectada y que podría contaminar el producto, será separado del área del proceso a un área que no represente peligro de contaminación hasta que esté corregida su situación.

b) Limpieza

- 1.- Toda persona tiene que someterse a unas buenas prácticas de higiene, antes, durante y después del proceso de fabricación, para evitar la contaminación.
- 2.- Deberá tener limpieza personal adecuada.
- 3.- Lavarse y desinfectarse las manos en los lugares designados, antes de entrar al área de proceso, al inicio, durante y después del proceso, también después de salir del baño, y cuantas veces sea necesario, para evitar la contaminación cruzada.
- 4.- Retirar todos los objetos personales como son las joyas, esferográficos, entre otros; para evitar que éstas caigan en los alimentos, recipientes o equipos y se produzca una contaminación.
- 5.- Usar guantes adecuados en áreas que sean necesarias para evitar la adulteración o posible contaminación del producto.
- 6.- Utilizar vestimenta adecuada y limpia para la operación de manera que proteja contra la contaminación de alimentos, utilizando también cofias para el cabello.
- 7.- Almacenar ropa y otros objetos personales en áreas externas y alejadas del área de proceso.
- 8.- No ingerir alimentos durante el proceso.

c) Educación y Entrenamiento

- 1.- Todo el personal deberá estar capacitado sobre las normas de buenas prácticas de manufactura.

PLANTA Y TERRENO**a) Terrenos**

- 1.- Se deberá dar un mantenimiento adecuado a todos los lugares de acceso a la planta incluyendo las carreteras, patios y lugares de parqueo; éstos a su vez deberán estar lejos del área de proceso.
- 2.- Drenar o eliminar todo lugar o recipiente donde se pudiera almacenar cualquier tipo de desecho para evitar la proliferación de plagas que pudieran contaminar los alimentos.

3.- Se deberá dar un tratamiento adecuado a los desperdicios para evitar la contaminación.

b) Planta

1.- Se deberá crear suficiente espacio para el almacenamiento de materiales y ubicación de equipos, asegurando así las operaciones de limpieza.

2.- Proveer suficiente espacio para colocar equipos y almacenar los materiales que son necesarios para las operaciones de limpieza y la producción de alimentos seguros.

3.- Proveer de una iluminación adecuada, en el área donde se procesan los alimentos, vestidores, y otros.

4.- Se deberá proveer una ventilación adecuada, para eliminar todo tipo de olores vapores en el área donde se pudiera contaminar el producto.

OPERACIONES DE SANITIZACIÓN

a) Mantenimiento General

1.- El edificio, equipos, máquinas, utensilios y otros instrumentos físicos de la planta tienen que ser sometidos a mantenimiento frecuente para evitar la contaminación y adulteración de los alimentos.

b) Sustancias usadas para limpiar y desinfectar

1.- Este tipo de sustancias deben estar rotuladas y almacenadas en lugares adecuados alejados de las materias primas y del producto terminado para evitar la adulteración.

2.- Los compuestos para mantener las condiciones de limpieza e higiene tienen que estar libres de microorganismos no deseables y tienen que ser seguros y deben usarse adecuadamente.

c) Control de Plagas

1.- Se debe realizar un chequeo para verificar si existe o no la presencia de roedores o insectos.

2.- Se deberá contratar personal especializado y calificado en exterminación de roedores e insectos como mínimo cada seis meses.

d) Limpieza de Superficies de Contacto con los Alimentos

1.- Todas las superficies de contacto con los alimentos incluyendo los utensilios deberán limpiarse frecuentemente como sea necesario para evitar la contaminación.

2.- Las superficies utilizadas en la manufactura y almacenamiento, deberán mantenerse limpias e higiénicas en el tiempo de uso.

3.- Los compuestos usados para la limpieza y desinfección tendrán que ser adecuados y seguros bajo las condiciones de su uso.

INSTALACIONES SANITARIAS Y SUS CONTROLES

a) Suministro de agua

1.- El agua suministrada tiene que ser suficiente para abastecer a toda la planta y tendrá que provenir de una fuente segura.

2.- Las aguas que se utilizan en el proceso, incluyendo la limpieza, tiene que ser segura y de una calidad higiénica sanitaria.

b) Plomería

1.- Las tuberías tienen que ser de tamaño apropiado, para entregar grandes cantidades de agua para abastecer a toda la planta.

2.- Las tuberías tiene que estar codificadas para saber sus usos.

3.- Las tuberías de aguas negras y líquidos desechables tendrán sus desfuegos fuera de la planta, apropiadamente para evitar la contaminación ambiental.

c) Disposición de Aguas Negras

1.- Las aguas negras tendrán que ser eliminadas a un pozo para realizar el respectivo tratamiento de eliminación de microorganismos y posteriormente eliminadas por medio de las alcantarillas.

d) Instalaciones de Lavado

- 1.- Deben estar ubicados en todas las áreas en donde se las requiera.
- 2.- Tendrá que tener cantidades suficientes de compuestos de limpieza y desinfección para manos.
- 3.- Deben haber toallas desechables.
- 4.- Cada área de lavado deberá tener un instructivo que explique el método de limpieza de las manos.
- 5.- Deben haber recipientes para el almacenamiento de estos desechos y éste tiene que estar bien cerrado y ubicado, de modo que evite la contaminación.

e) Eliminación de Basura y Desechos

- 1.- Todos los desechos y basura tendrán que ser transportados, almacenados y eliminados de una manera que evite la contaminación del producto.
- 2.- El recipiente donde se almacenan los desechos tendrá que estar ubicado lejos del área de proceso, para evitar el desarrollo de malos olores que pudieren contaminar el producto.
- 3.- Se debe realizar una limpieza continua al reservorio de los desechos, así poder evitar la contaminación por plagas.

EQUIPOS Y UTENSILIOS

- 1.- Los equipos tiene que estar diseñados y ubicados de tal manera que facilite su limpieza y desinfección.
- 2.- Todas las máquinas, equipos y utensilios tienen que ser de acero inoxidable y de superficies lisas.
- 3.- Los instrumentos como termómetros, potenciómetros, cronómetros tienen que permanecer en condiciones óptimas.

PROCESOS Y SUS CONTROLES

a) Manejo de Materias Primas y otros Ingredientes

- 1.- Toda materia prima e ingrediente incluyendo material de empaque tiene que ser inspeccionado, para asegurar su buen estado.
- 2.- La materia prima tiene que ser sometida a una adecuada limpieza y desinfección.
- 3.- La materia prima y otros ingredientes incluyendo material de empaque tienen que estar libres de microorganismos que puedan causar algún tipo de infección al consumidor.
- 4.- Todo el material de empaque y materia prima utilizada tiene que estar debidamente identificada para saber su procedencia.

b) Manejo de productos en Proceso

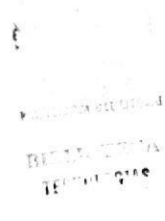
- 1.- Todos los equipos utilizados para el almacenamiento del producto terminado tendrá que estar en buenas condiciones, y para su limpieza se tendrá que desarmar totalmente el equipo.
- 2.- Todo el material que interviene en el proceso incluyendo el material de empaque tiene que ser conducido bajo condiciones y controles como sea necesario para evitar el crecimiento de microorganismos o la contaminación del alimento.
- 3.- El producto final debe ser almacenado en condiciones adecuadas que no permitan el desarrollo de plagas e insectos.

c) Manejo de producto no Conforme

- 1.- Si la materia prima no cumple con los requisitos establecidos, éstos no entran al proceso.
- 2.- Si los análisis microbiológicos realizados al producto final detectan la presencia de microorganismos indeseables; el producto tiene que ser eliminado, esto se lo realiza de tal modo que no se genere una contaminación ambiental.
- 3.- Todos los productos no conformes tienen que ser debidamente identificados por medio de rótulos.

ALMACENAMIENTO Y DISTRIBUCIÓN

El almacenamiento y el transporte del producto final tienen que ser bajo condiciones que van a proteger los alimentos contra la contaminación física, química y microbiológica, además del deterioro del alimento y del envase.



CAPITULO # 5

5.1. CÁLCULOS Y RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA ELABORACIÓN DEL SALAMI DE POLLO AHUMADO.

A. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA INOCULADA EN LA MATERIA PRIMA

1. Diluciones Seriadas

muestra: 0,01g de cepa de Lactobacillus plantarum

solución madre: 250 ml de agua estéril

cantidad de tubos: 5 con 9.9 ml de agua estéril

muestra para cada tubo: 0,1 ml de la solución madre

tubo para aislar la muestra: 10⁵

contaje de colonias desde la placa #5: 207 colonias

2. Cálculos

$$\begin{array}{rcccl} \text{Factor de} & & \text{volumen total} & & \text{10 ml} \\ \text{-----} = & & \text{-----} = & & \text{-----} = & \text{100} \\ \text{dilución (FD)} & & \text{alícuota} & & \text{0,1 ml} \end{array}$$

$$\text{UFC 5} = \frac{\text{FD5 x colonias contadas caja \# 5}}{\text{volumen alícuota de la caja\# 5}}$$

$$\text{UFC 5} = \frac{100 \times 207}{0,1 \text{ ml}} = 207000 = 2,07 \times 10^5 \text{ ufc 5/ 0,1 ml}$$

$$\text{UFC Matriz A/ ml} = \text{Factor de dilución total x UFC 5}$$

$$\text{UFC Matriz A/ ml} = 100 \times 100 \times 100 \times 100 \times 100 \times 207000$$

$$\text{UFC Matriz A/ ml} = 2,07 \times 10^{15} / 0,1\text{ml}$$

$$2,07 \times 10^{15} \quad 0,1\text{ml}$$

$$X \quad 1\text{ml}$$

$$X = 2,07 \times 10^{16} \text{ ufc matriz A/ml}$$

$$2,07 \times 10^{16} \quad 1 \text{ ml}$$

$$X \quad 250 \text{ ml}$$

$$X = 5,175 \times 10^{18} \text{ población total}$$

5.2. CUADRO EVOLUTIVO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL PRODUCTO

PROCESO DE FERMENTACION DEL SALAMI DE POLLO												
PESO I (g) / 100%	1era SEMANA	% PERDIDA DE HUMEDAD	2da SEMANA	% PERDIDA DE HUMEDAD	3era SEM	% PERDIDA DE HUMEDAD	4ta SEM	% PERDIDA DE HUMEDAD	5ta SEM	% PERDIDA DE HUMEDAD	% PERDIDA AHUMADO	PESO FINAL (g)
175	164,7	5,88	161,1	7,94	X	X	X	X	X	X	X	X
230	220,5	4,13	208,7	9,26	X	X	X	X	X	X	X	X
235	228,5	2,77	211,9	9,83	X	X	X	X	X	X	X	X
245	229,2	6,45	220,5	10,00	X	X	X	X	X	X	X	X
250	235,1	5,96	221,7	11,32	191,7	23,32	160,4	35,80	151,4	39,44	1,6	127,18
290	282	2,75	272,3	6,10	X	X	X	X	X	X	X	X
300	294,4	1,87	280,3	6,56	X	X	X	X	X	X	X	X
305	288,6	5,37	264	13,44	200,7	34,00	200,7	34,00	218,1	34,89	1,45	186,47
310	298,9	3,58	277,6	10,45	243,6	21,41	207,9	33,00	198,7	35,90	1,30	172,87
315	294,6	6,48	275,6	12,50	242,6	22,98	210,8	33,00	179,0	43,00	1,30	155,73
315	296,1	6,31	271,6	13,77	X	X	X	X	X	X	X	X
330	320,3	2,94	293,9	10,93	260,7	21,00	227,5	31,00	218,9	33,66	1,33	189,79
330	287,2	12,96	261,9	20,63	230	30,32	197,4	40,00	188,0	43,00	1,40	161,68
335	324,6	3,1	295,25	11,87	265,9	20,62	227,3	32,00	220,4	35,75	1,55	186,24
350	333,3	4,77	303,2	13,37	270,5	22,70	237,8	32,00	228,1	34,83	1,6	191,6
370	350,4	5,3	338,4	8,54	X	X	X	X	X	X	X	X

5.2.1. TABLA DE PÉRDIDAS DE PESO DURANTE LA FERMENTACIÓN

TIEMPO EN DIAS	% PERDIDA PESO	TIEMPO EN SEMANAS	% PERDIDA PESO
3 a 5	5 - 10%	4	20 - 28%
7	7 - 15 %	6	25 - 32%
14	12 - 20%	8	30 - 35%

5.3. PRUEBA DE EVALUACIÓN SENSORIAL**Metodología**

La metodología utilizada corresponde a la de "Preferencia", la cual es efectiva para determinar la medida de una preferencia relativa, los gustos personales dirigen la respuesta.

Prueba de Escala Hedónica

Es la más utilizada. El termino hedónica significa " tener que hacerlo con placer". Se emplean escalas donde el panelista expresa su grado de gusto o disgusto. (ver anexo # 2)

Resultado # 1:

(ver anexo # 3)

JUECES	MUESTRA # 1 299	MUESTRA # 2 374	DIFERENCIA
1	7	6	1
2	7	4	3
3	8	6	2
4	9	7	2
5	7	9	-2
6	7	8	-2
7	6	9	-3
8	7	8	-1
9	8	9	-1
10	8	9	-1
11	8	9	-1
12	5	6	-1
13	6	7	-1
14	7	8	-1
15	5	6	-1
16	7	8	-1
TOTAL	112	119	-7
PROMEDIO	7	7,44	-0,44

Resultado # 2:

Diferencia promedio (d) = 7,44 - 7 = 0,44

d = 0,44

$$Valor S = \sqrt{\frac{Edi^2 - \left(\frac{Ed^2}{n}\right)}{n - 1}}$$

Edi 2 = Suma de cuadrados de cada diferencia = 41

(Ed)2 = Suma de la diferencia total al cuadrado = 49

n = numero de panelistas = 16

$$\text{Valor } S = \sqrt{\frac{41 - \left(\frac{7^2}{16}\right)}{16 - 1}} = \sqrt{\frac{41 - 3,06}{15}} = \sqrt{2,53} = 1,5$$

S = 1,5

Resultados # 3:

Las muestras son significativamente preferentes si:

$$\frac{d}{S/\sqrt{n}} > t = \frac{0,44}{1,59\sqrt{16}} = \frac{0,44}{0,4} = 1,1$$

d.f. = 41

Ver tabla de "La Distribución de t" (ver anexo # 4):

No existe el valor d.f. correspondiente a 41, por ende se debe interpolar de acuerdo a los datos en dicha tabla:

d.f.	0,05		
40	2,02	5	0,006
41	x	-----	= ----- = 0,048
45	2,014	4	x

$$45-40 = 5$$

$$45-41 = 4$$

$$2,012 - 2,014 = 0,006$$

$$0,006 \times 4 = 0,024$$

$$X = \frac{\quad}{5} = \frac{0,024}{5} = 0,0048$$

$$2,02 + 0,048 = 2,0248$$

$$X = 2,0248$$

$$1,1 < 2,0248$$

Conclusión de la prueba de análisis sensorial:

No existe preferencia para el salami de la muestra # 2 codificada con el número 374, que es la correspondiente al salami de pollo.