

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE OVINO DE  
RAZA CORRIEDALE CON BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS (*Lactococcus  
lactis* y *Lactobacillus bulgaricus*) ENVASADO AL VACÍO”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**OLGA ASUNCIÓN QUISPE NINA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PROMOCIÓN: 2014 - I**

**PUNO - PERÚ**

**2017**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



“EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE OVINO DE RAZA CORRIEDALE CON BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS (*Lactococcus lactis* y *Lactobacillus bulgaricus*) ENVASADO AL VACÍO”

TESIS

PRESENTADA POR:  
OLGA ASUNCIÓN QUISPE NINA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 24 DE ABRIL DE 2017

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE :

Ing. M.Sc. Pablo PARI HUARCAYA

PRIMER MIEMBRO :

Ing. M.Sc. Florentino V. CHOQUEHUANCA CÁCERES

SEGUNDO MIEMBRO:

Ing. M.Sc. Marienela CALSIN CUTIMBO

DIRECTOR DE TESIS :

Dr. Alejandro COLOMA PAXI

PUNO - PERÚ

2017

Área: Ingeniería y tecnologías

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

**DEDICATORIA**

*A Dios por darme la vida y acompañarme en cada uno de mis pasos, por permitirme terminar satisfactoriamente mis estudios e iluminar mi camino.*

*Dedico el resultado del presente trabajo a mis padres quienes además de su apoyo moral y económico, desde muy niña me incentivaron el deseo continuo del aprendizaje y conocimiento, lo que creo en mí un enorme entusiasmo por el estudio, en especial todo aquello relacionado con las ciencias.*

*A mis hermanos por su paciencia y comprensión, por estar conmigo y apoyarme siempre que lo necesite para hacer posible el logro de mis propósitos.*

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano por haberme brindado una formación profesional, y a la plana docente de la Facultad de Ciencias Agrarias, en especial a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por los conocimientos y enseñanzas impartidas durante mi formación profesional.

En especial a mi director de tesis Dr. Alejandro COLOMA PAXI por su acertada orientación y asesoramiento durante la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación.

Al Ing. M.Sc. Pablo Pari Huarcaya, por su disposición de tiempo y recomendaciones desde el inicio hasta la culminación de mi trabajo.

Al Ing. M.Sc. Florentino V. Choquehuanca Cáceres por todo su apoyo y orientación en el presente trabajo.

Al Ing. M.Sc. Marienela Calsin Cutimbo por sus orientaciones, revisiones y disposición de tiempo.

Al Ing. Renzo Linares por contribuir y ser parte del presente trabajo de investigación.

Agradezco la confianza y el apoyo brindado por parte de mis padres, por los valores que me han inculcado y por su esfuerzo realizado para alcanzar mis metas.

Agradezco a mis hermanos y amigos por el ánimo y apoyo que siempre me dieron para lograr este objetivo.

Finalmente agradezco a todas aquellas personas que de alguna u otra manera fueron participes directa e indirectamente en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	
RESUMEN .....	15
CAPÍTULO I .....	16
INTRODUCCIÓN .....	16
CAPÍTULO II .....	18
REVISIÓN DE LITERATURA.....	18
2.1 Aspectos generales de ovinos .....	18
2.1.1 Ovinos ( <i>Ovis orientalis aries</i> ).....	18
2.1.2 Características de ovinos .....	18
2.1.3 Clasificación taxonómica del ovino .....	19
2.1.4 Producción de ovinos en el Perú .....	19
2.1.5 Importancia de la crianza de ovinos .....	20
2.2 Ovino <i>Corriedale</i> .....	20
2.2.1 Características de ovino <i>Corriedale</i> .....	20
2.2.2 Peso de ovinos <i>Corriedale</i> .....	21
2.3 Aspectos generales de la carne.....	21
2.3.1 La carne.....	21
2.3.2 Valor nutricional de la carne .....	22
2.3.3 Color de la carne .....	23
2.3.4 Producción de carne de ovino .....	24
2.3.5 Microbiología de la carne.....	25
2.3.6 Alteración de la carne .....	26
2.4 Bacterias ácido lácticas .....	31
2.4.1 Genero <i>Lactobacillus</i> .....	32

2.4.2 Género <i>Lactococcus</i> .....	33
2.4.3 Metabolitos de las bacterias lácticas .....	33
2.5 La medición del color en los alimentos .....	34
2.6 Envasado al vacío.....	37
2.7 Vida útil .....	38
2.7.1 Vida en anaquel acelerada .....	39
2.7.2 Cinética del deterioro de los alimentos .....	40
2.8 Características de las bacterias a estudiar .....	42
2.8.1 Bacterias ácido lácticas .....	43
2.8.2 Coliformes .....	43
2.8.3. <i>Pseudomonas</i> .....	44
CAPÍTULO III .....	45
MATERIALES Y MÉTODOS .....	45
3.1 Lugar de ejecución.....	45
3.2 Material experimental.....	45
3.3 Materiales y equipos .....	45
3.3.1 Materiales de laboratorio .....	45
3.3.2 Equipos de laboratorio .....	46
3.3.3 Reactivos .....	46
3.3.4 Medios de cultivo .....	46
3.3.5 Otros materiales .....	47
3.4 Metodología experimental.....	47
3.4.1 Metodología para la evaluación de la conservación de carne de ovino <i>Corriedale</i> con bacterias ácido lácticas envasado al vacío .....	48
3.5 Variables de estudio y variables de respuesta.....	51
3.6 Métodos de análisis .....	52
3.6.1 Análisis fisicoquímico .....	52
3.6.2 Análisis microbiológico .....	53

3.7 Diseño de la investigación .....	54
CAPÍTULO IV .....	55
RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	55
4.1 Resultados de la caracterización fisicoquímica y recuento microbiológico de muestra inicial de la carne de ovino .....	55
4.1.1 Caracterización fisicoquímica de muestra la inicial de la carne de ovino.....	55
4.1.2 Caracterización microbiológica en la muestra inicial de carne de ovino.....	57
4.2 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas sobre las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en carne de ovino envasado al vacío .....	58
4.2.1 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la acidez de la carne de ovino envasado al vacío .....	58
4.2.2 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el pH en la carne de ovino envasado al vacío .....	60
4.2.3 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la variación total del color ( $\Delta E$ ) en la carne de ovino envasado al vacío.....	63
4.2.4 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de bacterias ácido lácticas en la carne de ovino envasado al vacío .....	66
4.2.5 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de coliformes totales en la carne de ovino envasado al vacío.....	68
4.2.6 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en la carne de ovino envasado al vacío .....	70
4.3 Determinación de la vida útil de la carne de ovino con bacterias ácido lácticas envasado al vacío.....	73
CONCLUSIONES .....	84



RECOMENDACIONES .....	85
BIBLIOGRAFÍA .....	86
ANEXO .....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Ganado ovino a nivel nacional (cabezas de ganado) .....	19
<b>Tabla 2.</b>	Promedio de peso vivo, carcasa y rendimiento en borregas de saca: Corriedale, Merino precoz alemán y Criollo en el CIP Chuquibambilla.....	21
<b>Tabla 3.</b>	Promedio de peso vivo, carcasa y rendimiento en carneros de 2 y 4 dientes de las razas: Corriedale, Merino precoz alemán y Criollo en el CIP Chuquibambilla.....	21
<b>Tabla 4.</b>	Composición química de 100 g de carne de ovino .....	23
<b>Tabla 5.</b>	Producción departamental de carne ovino (Toneladas).....	24
<b>Tabla 6.</b>	Limites microbiológicos para carnes (con embalaje, película impermeable o atmosfera modificada o al vacío) .....	27
<b>Tabla 7.</b>	Forma de la función de calidad y tiempo de vida útil para reacciones de diferente orden .....	42
<b>Tabla 8.</b>	Formulación y preparación de las bacterias ácido lácticas .....	47
<b>Tabla 9.</b>	Caracterización fisicoquímica de la carne de ovino .....	55
<b>Tabla 10.</b>	Caracterización microbiológica de la carne de ovino .....	57
<b>Tabla 11.</b>	Valores de k y tiempos de vida útil de carne de ovino envasado al vacío en función a valores de coliformes totales .....	74
<b>Tabla 12.</b>	Valores de k y tiempos de vida útil de carne de ovino envasado al vacío en función a valores de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	79
<b>Tabla 13.</b>	Análisis de Varianza para Acidez .....	93
<b>Tabla 14.</b>	Análisis de Varianza para pH.....	93
<b>Tabla 15.</b>	Análisis de Varianza para la Variación total del color ( $\Delta E$ ) .....	94
<b>Tabla 16.</b>	Análisis de Varianza para Bacterias ácido lácticas.....	94
<b>Tabla 17.</b>	Análisis de Varianza para Coliformes totales.....	95
<b>Tabla 18.</b>	Análisis de Varianza para <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	95

<b>Tabla 19.</b> Resultados del análisis de acidez (%) en la carne de ovino .....	96
<b>Tabla 20.</b> Resultados del análisis de pH en la carne de ovino.....	97
<b>Tabla 21.</b> Resultados del análisis de parámetros de color en la carne de ovino.....	98
<b>Tabla 22.</b> Resultados de variación total del color ( $\Delta E$ ) en la carne de ovino .....	100
<b>Tabla 23.</b> Resultados del recuento de Bacterias ácido lácticas (ufc/g) en la carne de ovino.....	101
<b>Tabla 24.</b> Resultados del recuento de coliformes totales (ufc/g) en la carne de ovino.....	102
<b>Tabla 25.</b> Resultados del recuento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> (ufc/g) en la carne de ovino.....	103

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Circulo Cromático: a) Tono, b) Saturación y c) Claridad .....	36
<b>Figura 2.</b>	a) Grafica de color CIELAB y b) el valor de L* se representa en el eje central. Los ejes a* y b* aparecen sobre el plano horizontal .....	36
<b>Figura 3.</b>	Diagrama de flujo para la evaluación de la conservación de carne de ovino Corriedale con bacterias ácido lácticas envasado al vacío..	48
<b>Figura 4.</b>	Gráfica de efectos principales para la acidez .....	59
<b>Figura 5.</b>	Estimación de superficie de respuesta de la acidez .....	60
<b>Figura 6.</b>	Gráfica de efectos principales para el pH.....	62
<b>Figura 7.</b>	Estimación de superficie de respuesta del pH .....	63
<b>Figura 8.</b>	Grafica de efectos principales para la variación total del color ( $\Delta E$ )...	65
<b>Figura 9.</b>	Estimación de superficie de respuesta de la variación total del color ( $\Delta E$ ) .....	65
<b>Figura 10.</b>	Gráfica de efectos principales para bacterias ácido lácticas .....	67
<b>Figura 11.</b>	Estimación de superficie de respuesta de bacterias ácido lácticas ....	68
<b>Figura 12.</b>	Gráfica de efectos principales para coliformes totales .....	69
<b>Figura 13.</b>	Estimación de superficie de respuesta de coliformes totales .....	70
<b>Figura 14.</b>	Gráfica de efectos principales para <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	72
<b>Figura 15.</b>	Estimación de superficie de respuesta de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .	73
<b>Figura 16.</b>	Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=0, a partir del comportamiento del recuento de coliformes totales a través del tiempo .....	76
<b>Figura 17.</b>	Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=1, a partir del comportamiento del recuento de coliformes totales a través del tiempo .....	77
<b>Figura 18.</b>	Gráfico de Ln k en función de 1/T para coliformes totales .....	78

- Figura 19.** Obtención de la velocidad de reacción (k) para  $n=0$ , a partir del comportamiento del recuento de *Pseudomonas aeruginosa* a través del tiempo.....81
- Figura 20.** Obtención de la velocidad de reacción (k) para  $n=1$ , a partir del comportamiento del recuento de *Pseudomonas aeruginosa* a través del tiempo.....82
- Figura 21.** Gráfico de  $\ln k$  en función de  $1/T$  para *Pseudomonas aeruginosa* .....83

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	Análisis de varianza (ANOVA) del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico .....	93
<b>Anexo 2.</b>	Resultados de análisis fisicoquímicos y recuento microbiológico en carne de ovino envasado al vacío .....	96

**ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

Aw	Actividad de agua
a*	Desviación del color de rojo hacia verde
b*	Desviación del color de amarillo hacia azul
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
Ea	Energía de activación
g	Gramos
K	Constante de la velocidad de la reacción
K <sub>o</sub>	Constante de la ecuación de Arrhenius
L*	Luminosidad
Log	Logaritmo
meq	mili equivalente
min	Minutos
ml	Mililitros
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
N	Normalidad de la solución
pH	potencial de Hidrógeno
ufc/g	Unidades formadoras de colonias por gramo
t	Tiempo
T	Temperatura
R	Constante universal de gases
ΔE	Variación total de color
°C	Grado Celsius

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío, donde las variables experimentales fueron: temperatura (5, 15 y 25°C), concentración de bacterias ácido lácticas (0.000, 0.025 y 0.050%). Las mediciones fueron: propiedades fisicoquímicas (Acidez, pH y variación total del color ( $\Delta E$ )) y recuento microbiológico (bacterias ácido lácticas, coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa*). Como resultado se encontró que la temperatura afectó significativamente en la acidez, pH, variación total del color, bacterias ácido lácticas, coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa*. En cuanto a la concentración de bacterias ácido lácticas afectó en la acidez, variación total del color y coliformes totales, mientras que en el pH, bacterias ácido lácticas y *Pseudomonas aeruginosa* no afectó significativamente. Para la determinación de la vida útil de la carne de ovino envasado al vacío se realizó mediante el recuento de coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa*. Como resultado se encontró que el mayor tiempo de vida útil fue con una concentración de 0.050% de bacterias ácido lácticas a una temperatura de 5°C presentando 19.71 días de vida útil. Se prolongó la vida útil en la carne de ovino con adición de bacterias ácido lácticas en 6 días a comparación con la muestra control.

**Palabra claves:** Ovino *Corriedale*, Bacterias ácido lácticas, coliformes totales, *Pseudomonas aeruginosa* y vida útil.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La carne ha formado parte de la dieta humana desde la prehistoria y en la actualidad su consumo sigue siendo importante, sin embargo, puede ser el vehículo en la transmisión de microorganismos patógenos debido a la inadecuada manipulación durante las diferentes etapas de su proceso. Constituye un medio ideal para el crecimiento de microorganismos debido a sus características de pH, humedad y nutrientes. Durante los últimos años el problema microbiológico de los productos cárnicos se ha mejorado mediante el uso de conservadores sin embargo estos compuestos pueden ser toxicológicos para el humano (López y Jiménez, 2008).

A pesar de los recientes logros en la tecnología, la preservación de los alimentos sigue siendo un tema debatido, a nivel mundial. Mejorar las pérdidas económicas debidas al deterioro de alimentos, reducir los costos durante el procesamiento de alimentos y evitar la transmisión de microorganismos alterantes a través de la cadena alimentaria; al tiempo que se satisface la creciente demanda de los consumidores por alimentos frescos, nutritivos, mínimamente procesados y preservados sin el uso de aditivos químicos; son retos importantes para la industria alimentaria actual (Palomino y Tomé, 2012). Esto obliga a la búsqueda de metodologías alternativas para conservar los alimentos. Por ello surge la necesidad de diseñar técnicas de conservación que permitan aumentar la vida útil, sin alterar las características fisicoquímicas, sensoriales y el valor nutricional. Las bacterias ácido lácticas son usadas como cultivos bioprotectores y se han destacado por ser microorganismos que mediante la producción de ácido láctico y otros metabolitos contrarrestan el crecimiento de bacterias no deseadas, ayudando a preservar el alimento (Vásquez et al., 2009).

La preocupación creciente por la inocuidad de los alimentos a nivel mundial ha conllevado al estudio de diferentes alternativas para la obtención de compuestos que favorezcan la conservación de los alimentos. El estudio y aplicación de microorganismos como bioconservantes de alimentos ha venido cobrando relevancia en los últimos tiempos, debido a las tendencias de

mercado en el consumo de productos con ingredientes naturales. Las bacterias ácido lácticas han sido utilizadas por muchos años como conservantes en la industria de alimentos, ya que promueven la producción de sustancias antimicrobianas como el ácido láctico, el etanol, el dióxido de carbono, y sustancias proteicas denominadas bacteriocinas. Estas últimas se han utilizado como bioconservantes en alimentos, ya que contribuyen favorablemente en la preservación de éstos por su capacidad para inhibir el desarrollo de microorganismos alterantes presentes en las materias primas, y que podrían convertirse en la flora predominante de algunos productos fermentados. El desarrollo de estos microorganismos ácido lácticos, y la ausencia de alterantes, contribuyen favorablemente en la preservación de los alimentos permitiendo reducir el uso de conservantes químicos y suavizar los tratamientos a los que se someten los alimentos procesados, sin que esto afecte su calidad y seguridad (Agudelo et al., 2015).

Las bacterias ácido lácticas están presentes en la alimentación del hombre desde hace tiempo y es posible encontrarlos en diferentes productos. Son microorganismos benéficos para la salud debido a que mejora el tracto gastrointestinal de los seres humanos evitando el desarrollo de microorganismos patógenos capaces de producir enfermedades. El uso de bacterias ácido lácticas en la conservación de alimentos ha tomado gran importancia en los últimos años debido a la capacidad para controlar microorganismos alterantes consiguiendo alargar la vida útil de los alimentos y dar seguridad contra bacterias que puedan afectar a la salud del consumidor (Minor et al., 2002). Por lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío.
- Determinar la vida útil de la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío mediante el recuento de coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa*.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Aspectos generales de ovinos

##### 2.1.1 Ovinos (*Ovis orientalis aries*)

La oveja junto con la cabra, fue el primer rumiante domesticado por el hombre en el periodo neolítico. Se sabe muy poco del antecesor salvaje de la oveja doméstica, pero estudios de los cromosomas indican que el antecesor principal de *Ovis musimon* o muflón de Asia Menor, donde fue domesticado en 9 000 a.C.; denominándose oveja mesopotámica; de ahí se desplazó a Egipto y Europa, donde se pudo haber mezclado con muflones Europeos y con el *Ovis orientalis*, que había invadido Europa hasta Suiza. Los machos reciben el nombre de carneros; las hembras, ovejas y corderos para los ejemplares menores de un año de ambos sexos. Su nombre científico es *Ovis aries*, mejor conocido como ovino o borrego. Estos mamíferos se pueden clasificar de acuerdo con su finalidad de su explotación: producción de carne, producción de lana, producción de leche y de doble propósito (Mujica, 2005).

Entre los animales domésticos, el ganado ovino posee gran diversidad biológica debido a los proceso adaptativos que ha tenido en el transcurso de su evolución, así como el proceso de selección desde que se inició su domesticación hasta nuestros días, esta diversidad permite que la especie sea utilizada para diferentes propósitos (López, 2004).

El ovino es una especie que ha acompañado al pequeño y mediano productor agropecuario durante muchos años, siendo una fuente importante de alimentación y sustento (Barrios, 2007).

##### 2.1.2 Características de ovinos

Es un mamífero con extremidades acabados en pezuñas y dotados de un número par de dedos. Rumian la comida, carecen de incisivos superiores. Algunos poseen cuernos no ramificados permanentes; los machos suelen ser robustos, curvados; mientras que las hembras son cortas y menos curvadas. De cuerpo cilíndrico, fuerte, musculoso, cubierto de lana; la cabeza tiene forma

de embudo; las orejas son pequeñas, triangulares, ligeramente alargadas; tiene patas cortas (Mujica, 2005).

### 2.1.3 Clasificación taxonómica del ovino

Según Serrano (2011) la clasificación taxonómica del ovino es:

REINO: Animal.

SUBREINO: Mamífero.

TIPO: Cordados.

CLASE: Mamíferos.

ORDEN: Ungulado.

SUBORDEN: Artiodáctilos (dedos en número par).

FAMILIA: Bóvidos.

SUBFAMILIA: Caprinae.

GÉNERO: Ovis.

ESPECIE: Ovis aries.

### 2.1.4 Producción de ovinos en el Perú

En la Tabla 1 se presenta la distribución de ganado ovino a nivel nacional según el IV Censo Agropecuario 2012.

**Tabla 1. Ganado ovino a nivel nacional (cabezas de ganado)**

Departamentos	Censo 2012	Porcentaje (%)
Puno	2,088,332	21.9%
Cusco	1,251,524	13.1%
Junín	779,297	8.2%
Áncash	680,686	7.1%
Huánuco	706,006	7.4%
Huancavelica	640,242	6.7%
Ayacucho	616,910	6.5%
Otros	2,760,201	29%
<b>Total</b>	<b>9,523,198</b>	<b>100%</b>

Fuente: INEI-IV Censo Agropecuario 2012

De acuerdo al IV Censo Agropecuario 2012, existen alrededor de 9,523,198 cabezas de ganado ovino. A nivel nacional, los departamentos con

mayores cabezas de ovinos se encuentran Puno con 2,088,332, seguido de Cusco con 1,251,524, Junín con 779,297, Ancash con 680,686, Huánuco con 706,006, Huancavelica con 640,242 y Ayacucho con 616,910, como las principales regiones donde existe crianza de ovinos, estos departamentos concentran el 71.0% de la crianza a nivel nacional.

### **2.1.5 Importancia de la crianza de ovinos**

La crianza de la cadena productiva de ovinos a lo largo del territorio nacional es de vital importancia para la economía de la población rural. Actualmente con mayor énfasis en la zona altoandina del Perú entre los 3,000 a 4,200 m.s.n.m. Con características de crianza extensiva y semi-intensiva en Costa y en Selva. El ovino ha logrado mantener su presencia porque se integra con otros tipos de crianzas: vacunos y camélidos encima de los 4,000 m.s.n.m. La importancia en el aspecto económico y social en la cadena productiva de ovinos en el Perú con certeza, es la caja de ahorro del poblador rural andino dentro de su economía familiar (Muro, 2013).

## **2.2 Ovino *Corriedale***

La raza *Corriedale* fue desarrollada en Nueva Zelanda a fines del siglo XVIII, a través de la cruce de carneros Lincoln y, en menor grado, carneros Leicester, con hembras Merino. Por consanguinidad y cuidadosa selección se estabilizó un tipo uniforme, con rendimiento equilibrado de carne y lana. El nombre lo recibió del establecimiento Corriedale en Otago, Nueva Zelanda, donde se realizó el cruzamiento experimental, primeramente por el criador James Little. Distribuida mundialmente, se estima que ocupa el segundo lugar en existencia, luego de la raza Merino (Mujica, 2005).

Es la más difundida en el país, se originó en Nueva Zelanda a inicios del siglo XX a partir de las razas *Lincoln* y *Merino Australiano*. Es una raza de doble propósito (Muro, 2013).

### **2.2.1 Características de ovino *Corriedale***

Se trata de una raza de doble propósito, de tamaño mediano a grande, sin cuernos y con una buena calidad de carcasa; la cara, orejas y patas están

cubiertas de pelo blanco, aunque a veces existen manchas negras. El peso adulto de un carnero fluctúa entre 80 y 130 kg, presentando las hembras un peso promedio mucho menor y que varía entre los 60 y 80 kg (Mujica, 2005).

### 2.2.2 Peso de ovinos *Corriedale*

El peso vivo de ovinos *Corriedale* junto a *Merino Precoz Alemán* y *Criollo* ha sido reportado por Alencastre (2009). En las Tablas 2 y 3 se muestra el peso vivo, carcasa y rendimiento de borregas de saca y carneros criados en CIP Chuquibambilla.

**Tabla 2. Promedio de peso vivo, carcasa y rendimiento en borregas de saca: *Corriedale*, *Merino precoz alemán* y *Criollo* en el CIP Chuquibambilla**

RAZA	PROMEDIO PESO VIVO (Kg)	PROMEDIO PESO CARCASA (Kg)	RENDIMIENTO (%)
<i>Corriedale</i>	40.188 ± 2.206	15.297 ± 2.27	37.950 ± 3.260
<i>M. Precoz Alemán</i>	47.125 ± 3.982	18.500 ± 1.99	43.142 ± 1.185
<i>Criollo</i>	31.438 ± 3.560	12.500 ± 1.55	39.739 ± 1.552

Fuente: Alencastre (2009)

**Tabla 3. Promedio de peso vivo, carcasa y rendimiento en carneros de 2 y 4 dientes de las razas: *Corriedale*, *Merino precoz alemán* y *Criollo* en el CIP Chuquibambilla**

RAZA	EDAD	PROMEDIO PESO VIVO (Kg)	PROMEDIO PESO CARCASA (Kg)	RENDIMIENTO (%)
<i>Corriedale</i>	2D	41.37 ± 3.54	16.23 ± 1.63	39.20 ± 1.30
	4D	50.00 ± 5.27	19.26 ± 2.60	38.44 ± 1.33
<i>M. Precoz Alemán</i>	2D	40.25 ± 2.27	15.53 ± 0.82	38.65 ± 1.40
	4D	51.10 ± 6.93	19.51 ± 2.27	38.19 ± 2.20
<i>Criollo</i>	2D	43.68 ± 2.89	18.17 ± 1.17	41.64 ± 2.33
	4D	42.43 ± 4.84	18.06 ± 2.21	42.58 ± 2.12

Fuente: Alencastre (2009)

## 2.3 Aspectos generales de la carne

### 2.3.1 La carne

La carne ha formado parte de la dieta humana desde la prehistoria y en la actualidad sigue siendo importante, sin embargo puede ser el vehículo en la

transmisión de microorganismos patógenos debido a la inadecuada manipulación durante las diferentes etapas de sus procesos como la matanza, transporte y venta. Constituye un medio ideal para el crecimiento de microorganismos debido a sus características de pH, humedad y nutrientes (López y Jiménez, 2008).

Con el desarrollo de la ganadería, la carne toma su papel primordial en la dieta humana, no estando exenta sin embargo de manifiestos problemas en su calidad que desde entonces constituye un reto importante para el productor. Es así como a medida que se fueron desarrollando las diferentes civilizaciones sobre la faz de la tierra, el hombre fue dando una gran importancia no solo a la fuente de la carne que consume, sino también al manejo de la misma una vez obtenida. Procesos como la salazón, el ahumado y el secado ya eran comunes en los tiempos prehistóricos y constituían fuentes de conservación básica para el ganadero primigenio (Chacón, 2004).

### **2.3.2 Valor nutricional de la carne**

La carne posee un gran valor nutritivo, ya que proporciona macronutrientes como las proteínas, tanto aminoácidos, ácidos grasos y además proporciona micronutrientes como minerales (principalmente hierro) y vitaminas (vitamina B12, vitamina A, ácido fólico). La carne aporta muy pocos carbohidratos (generalmente en forma de glucógeno) y contiene muy poca fibra (Martín, 2013).

Además de ser fácilmente digestible, la carne magra aporta nutrientes que contribuyen significativamente al equilibrio dietético. Se considera como carne magra todo aquel tipo o corte que contenga menos de 10% de grasa por cada 100 gramos, lo que la convierte en una proteína saludable. Además, el contenido en aminoácidos de la proteína aportada compensa las deficiencias que existen comúnmente en las proteínas vegetales y en los productos cereales (Delgado y Quartino, 2013).

Tabla 4. Composición química de 100 g de carne de ovino

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	TIPO DE CARNE	
	GRASA (g)	MAGRA (g)
Agua	51.0	72.0
Grasa	30.0	7.0
Sales minerales	0.7	0.8
Proteína	15.2	20.0
Carbohidratos	0.1	0.2

Fuente: Serrano (2011)

### 2.3.3 Color de la carne

El color es un atributo que ayuda a inferir en la calidad de un producto causando cierto rechazo por parte del consumidor, al percibir cambios en su coloración. Sin embargo cada consumidor describe el color de un producto de modo distinto, dando como resultado una amplia subjetividad (Cornejo et al., 2012).

El color de la carne es uno de los principales factores que determinan su compra o rechazo por parte del consumidor. El deterioro del color es una de las razones más importantes en la pérdida de calidad de la carne y contribuye al desarrollo de características organolépticas indeseables lo cual es más importante en las carnes almacenadas. Estos cambios son más significativos a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. El consumidor en general prefiere carne de color rojo brillante, mientras que rechaza la de color apagado o pardo, así como aquellas carnes de color púrpura que considera de peor calidad. El envasado al vacío de la carne puede aumentar también la estabilidad del color (Martín, 2013).

Otro factor que puede causar decoloración en los productos cárnicos curados son las bacterias, capaces de crecer a bajas temperaturas y producir peróxido de hidrógeno en condiciones aerobias, fuerte agente oxidante que degrada los pigmentos de la carne. El enverdecimiento superficial de los productos cárnicos se produce cuando estos están contaminados y se mantiene en un ambiente donde la humedad relativa y la temperatura son

elevadas. Estas condiciones de almacenamiento producen el crecimiento de microorganismos que dan lugar al cambio de coloración, acompañada por la presencia del limo superficial. Este problema es consecuencia directa de las malas prácticas higiénicas y de las incorrectas condiciones de almacenamiento de los productos (Pérez y Andújar, 2000).

### 2.3.4 Producción de carne de ovino

La mayor producción de carne de ovino en los últimos seis años se ha dado en el año 2012, con 36,122 toneladas, un crecimiento de 2.46% con respecto a lo producido en el año 2011. La producción está teniendo incrementos sostenidos desde el año 2009 en adelante. Entre el año 2007 al año 2012, existió un incremento del 6.75% (Muro, 2013).

**Tabla 5. Producción departamental de carne ovino (Toneladas)**

<b>Departamentos/Año</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>
Puno	10,431	10,445	10,534	10,653	10,759	10,869
Cusco	3,616	3,766	3,762	4,018	3,929	4,140
Ayacucho	2,001	1,853	2,068	2,102	2,269	2,448
Junín	2,640	2,307	2,013	2,113	2,224	2,322
La libertad	1,994	2,023	2,075	2,111	2,132	2,135
Pasco	1,887	2,262	2,064	2,007	2,101	1,899
Huancavelica	1,357	1,181	1,223	1,225	1,527	1,691
Cajamarca	1,709	1,548	1,618	1,631	1,603	1,544
Huánuco	2,095	1,928	1,810	1,707	1,466	1,454
Lima	1,230	1,220	1,287	1,325	1,308	1,317
Otros	4,880	4,842	5,063	4,979	5,936	6,303
<b>Total</b>	<b>33,839</b>	<b>33,374</b>	<b>33,517</b>	<b>33,870</b>	<b>35,255</b>	<b>36,122</b>
<b>Var %</b>		-1.37%	0.43%	1.05%	4.09%	2.46%

Fuente: Muro (2013)

El departamento de Puno es el principal productor de carne de ovino a nivel nacional, tiene una participación de 30.1%, Cusco con 11.5%, Ayacucho con el 6.8%, Junín con 6.4%, La Libertad con 5.9%, Pasco con 5.3%, Huancavelica con 4.7%, Cajamarca con 4.3%, Huánuco con 4.0%, Lima con 3.6% y otros

departamentos con 17.5%. Todos estos departamentos concentran el 82.5% de toda la producción nacional de carne de ovino (Muro, 2013).

### 2.3.5 Microbiología de la carne

La carne fresca por su contenido nutricional y su alto valor de actividad de agua ( $A_w$ ) está considerada dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos, al igual que la mayoría de los productos elaborados con ella; sin embargo, de acuerdo a sus características particulares, el tipo de microorganismos presentes puede variar. En este tipo de productos, sobre todo frescos los microorganismos se multiplican rápidamente, especialmente a temperaturas por encima de la refrigeración, resultando en pérdidas de calidad y/o problemas de salud pública (Restrepo et al., 2001).

Los tejidos profundos de los animales faenados en condiciones de buenas prácticas de manufactura son estériles. Por ello el perfil microbiológico de la carne fresca presentado a los consumidores es de la suma de las aportaciones durante las operaciones de la faena, condiciones de almacenamiento, transporte y distribución. El estado sanitario de los animales, su piel, vísceras, materia fecal, microflora de la cavidad oral y las operaciones de faena, son las potenciales fuentes de contaminación cruzada de la carne. El crecimiento microbiano se produce en la fase acuosa que rodea el producto, por lo que las capas profundas se consideran estériles. Esto es debido a que aún microorganismos altamente proteolíticos no son capaces de afectar la capa de tejido conjuntivo que rodea las fibras musculares (Signorini, 2007).

El no aplicar las medidas de control de calidad, durante cualquier operación de procesado, aumenta generalmente la velocidad y la extensión de los cambios alterativos que llevan al deterioro y, finalmente, a la putrefacción de la carne. Entre los cambios alterativos se incluyen los debidos a microorganismos (bacterias, mohos y levaduras), enzimas endógenas (presentes naturalmente en los tejidos cárnicos), enzimas exógenas (producidas por los microorganismos), reacciones químicas distintas a las enzimáticas (como la rancidez oxidativa) y acciones físicas (quemadura del frío, exudación, decoloración luminosa, aparición de colores anormales). Las características de las poblaciones de microorganismos que se desarrollen en la carne serán un

reflejo de las condiciones medioambientales que rodean la carne y de la carga microbiana presente en los distintos utensilios y superficies con que la carne está en contacto, pudiendo ocurrir una contaminación cruzada durante su procesamiento. También serán importantes las condiciones de almacenamiento y las reacciones químicas que ocurran en la carne durante este período. La velocidad de deterioro de la carne es mayor cuanto más alto sea el número inicial de microorganismos, la temperatura de almacenamiento y la  $A_w$  de la superficie de los tejidos (Delgado y Quartino, 2013).

### 2.3.6 Alteración de la carne

Los microorganismos que alteran la carne, llegan a ella por infección del animal vivo (contaminación endógena) o por invasión posmortem (contaminación exógena). Aunque ambas son de gran importancia, la alteración de la carne a consecuencia de la contaminación exógena es la más frecuente, así el hombre puede sufrir graves infecciones o intoxicaciones por el consumo de carne procedente de animales. Después del sacrificio y de la evisceración del animal, la carne conserva las características microbianas generales que tenía previo al sacrificio. La superficie del animal está contaminada por microorganismos provenientes del suelo, el aire y el agua. Los contaminantes comunes de las canales son bastones Gram negativos y micrococcos, incluidas *Pseudomonas* spp., *Moraxella* spp., *Acinetobacter* spp., *Flavobacterium* spp., entre otras. Adicionalmente pueden existir bacterias productoras de ácido láctico, hongos, levaduras y virus entéricos en bajas cantidades. La contaminación es muy variable y pueden incluirse algunos microorganismos patógenos como *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*, que provienen ya sea de la microflora intestinal o del medio ambiente (Restrepo et al., 2001).

El tipo de microorganismos y el número de cada uno de estos son factores importantes que influyen la velocidad de alteración de la carne. Los microorganismos que eventualmente pueden crecer lo suficiente como para producir la alteración, serán aquellos para los que las condiciones existentes

sean más favorables, generalmente solo es uno y rara vez más de tres, el o los que se multiplican lo suficientemente rápido como para causar deterioro (Mendoza, 2008).

**Tabla 6. Límites microbiológicos para carnes (con embalaje, película impermeable o atmosfera modificada o al vacío)**

Agente microbiano	Límite máximo permitido
Coliformes	$10^3$ ufc/g
<i>Pseudomonas</i>	$10^4$ ufc/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^2$ ufc/g

Fuente: Norma Sanitaria sobre Criterios Microbiológicos-MINSA/DIGESA-2008

### 2.3.6.1 Factores que influyen en el desarrollo de microorganismos en la carne

Según Delgado y Quartino (2013) los factores que afectan el desarrollo de microorganismos en la carne dependerán de factores intrínsecos como: pH, actividad de agua ( $A_w$ ), potencial redox, entre otros, y de factores extrínsecos como: temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento, presencia o ausencia de oxígeno (como los tres factores más importantes) y estado físico de la carne.

#### 2.3.6.1.1 Factores intrínsecos

##### Actividad de agua

La actividad de agua se define como la presión de vapor de la solución en cuestión dividida por la presión de vapor del solvente puro. La  $A_w$  de la carne fresca tiene un valor aproximado de 0,99 o más, que está cerca de la  $A_w$  óptima para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos, principalmente bacterias. En general las bacterias son las más exigentes en actividad de agua, siendo los menos exigentes los mohos, mientras que las levaduras ocupan una posición intermedia (Delgado y Quartino, 2013).

##### pH

El pH mide la concentración de iones de hidrogeno de un alimento o solución. Los valores de pH oscilan entre 0 -14. Aunque el crecimiento de un microorganismo sea posible a distintas concentraciones de iones de hidrogeno,

la mayor parte de las bacterias tienen su punto óptimo de crecimiento en pH neutro ( $\text{pH}=7$ ). Dependiendo de los cuidados antes del sacrificio del animal (ayuno, estrés, descanso) y de las transformaciones subsecuentes. La alteración de la carne se dará a mayor velocidad en cuanto más elevado sea el pH. El ácido láctico formado en el proceso de transformación de músculo a carne, resultado de la quema de glucógeno influye decisivamente en el pH. Los hongos se desenvuelven bien en valores de pH entre 2.0 y 8.0. Aunque se reproducen mejor en un medio ácido. Las levaduras tienen un buen desarrollo en pH que oscila entre 4.0 y 4.5 pero su preferencia es en un pH ácido (Espinales, 2012).

El pH del músculo vivo está cerca de la neutralidad. Después de la muerte desciende más o menos rápidamente para alcanzar después de la rigidez cadavérica valores entre 5.4 y 5.8 (en condiciones normales y dependiendo de la especie). Los microorganismos son extremadamente sensibles a las variaciones de pH y generalmente cuando este es bajo, suelen producirse un descenso en la velocidad del crecimiento microbiano. Las más afectadas son las bacterias, luego las levaduras y los más resistentes a pH bajos son los mohos. Teniendo en cuenta lo anterior significa que las carnes con valores de pH elevados están más expuestas a las acciones microbianas, sobre todo a la putrefacción. La mayoría de las bacterias crecen a valores de pH entre 5 y 8 (Restrepo et al., 2001).

### **Potencial de óxido reducción**

El potencial redox se refiere a la capacidad de una especie química de donar o aceptar electrones (oxidarse o reducirse). El ambiente en un sistema redox es muy dinámico, pues las reacciones redox ocurren continuamente. Se habla de un potencial redox reductor (o negativo), cuando la estequiometría de una reacción redox se inclina hacia el aumento en la concentración de la molécula que recibe electrones (reducida). Por el contrario, existe un ambiente oxidante (potencial redox positivo) cuando aumenta la concentración de la especie que pierde electrones (oxidada) (Zuñiga y Palomares, 2016).

El potencial de óxido reducción de la carne constituye una indicación de su capacidad oxidante y reductora. Para alcanzar un crecimiento óptimo algunos

microorganismos necesitan condiciones de reducción y otros de oxidación. Los microorganismos aerobios se ven muy favorecidos por un alto potencial de óxido reducción (reactividad oxidante), los potenciales bajos (reactividad reductora) favorecen el crecimiento de los microorganismos anaerobios. Después de la muerte del animal, el potencial redox va bajando paulatinamente hasta que la masa cárnica en su interior se hace anaeróbica (Delgado y Quartino, 2013).

El potencial de oxidación-reducción, depende en primer lugar de la composición química y en segundo, de la presión parcial de oxígeno del alimento, esencialmente del grado de aireación. De esta forma el valor oxido - reductor de un sustrato, representa un importante factor de selección en el crecimiento del microorganismo, originado su clasificación en aerobios y anaerobios, conforme su desarrollo. Los microorganismos anaeróbicos se benefician de un bajo potencial de reducción (Espinales, 2012).

### **Índice de Peróxidos**

Se define como los miliequivalentes (mEq) de peróxido por kilogramo de grasa. Es una determinación volumétrica de la cantidad de grupos peróxidos e hidroperóxidos. La cuantificación se basa en la reacción del yoduro de potasio con los peróxidos para liberar yodo, el cual es titulado con tiosulfato de sodio, empleando almidón como indicador. Evalúa el grado oxidación de los ácidos grasos. Proporciona información acerca del grado de oxidación de la muestra y permite estimar hasta qué punto se ha alterado la grasa. Debe tenerse en cuenta que si la oxidación está muy avanzada, se producirá un aumento progresivo de la degradación de los peróxidos (Chagala, 2012).

La determinación del grado de rancidez de los lípidos de la carne puede efectuarse por determinación del índice de peróxidos. Los compuestos resultantes de la rancidez pueden ser perjudiciales para el consumidor especialmente los peróxidos dependiendo de su concentración final pueden provocar diversos trastornos gastrointestinales siendo uno de los más frecuentes la diarrea. De acuerdo al Codex Alimentarius, se debe considerar un valor máximo de peróxidos en aceites refinados y grasas de 5 a 10 meq de  $O_2$ . Si un aceite tiene valores superiores a estos se le considera de mala calidad. El

valor del peróxido puede indicar un potencial para la formación posterior de descomposición con el tiempo. El valor de los peróxidos no debería ser superior a 10 a 20 meq/Kg de grasa de muestra (Flores, 2012).

### **2.3.6.1.2 Factores extrínsecos**

#### **Temperatura**

La Temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de los microorganismos es de 15 - 40°C. No obstante algunos microorganismos crecen bien a temperaturas de refrigeración, algunos incluso a temperaturas inferiores a 0°C y otros a temperaturas mayores de 100°C. Los microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento es inferior a 20°C se llaman psicrófilos. Los que poseen temperaturas de crecimiento óptimas superiores a 45°C se llaman termófilos, y aquellos cuyas temperaturas óptimas están entre las de los psicrófilos y las de los termófilos se llaman mesófilos. A medida que la temperatura se aproxima a los 0°C son menos los microorganismos que pueden crecer y su desarrollo es más lento. Las temperaturas menores de 5°C retrasan mucho el crecimiento de los más importantes microorganismos causantes de alteración y también previenen el crecimiento de casi todos los patógenos (Delgado y Quartino, 2013).

#### **Humedad**

La humedad relativa del medio en que se realiza el almacenamiento tanto desde el punto de vista de la  $A_w$  en el interior de los alimentos como desde el crecimiento de los microorganismos en las superficies. Cuando la  $A_w$  de un alimento es de 0.6 es importante almacenarlo en condiciones que no le permitan recuperar humedad a partir del aire, pues sin no se hace así, aumentaría su propia  $A_w$  superficial hasta un nivel compatible con la proliferación microbiana. Cuando los alimentos con valores bajos de  $A_w$  se sitúan en ambientes de humedad relativa elevada, los alimentos captan humedad hasta que se ha establecido un equilibrio. Los alimentos con una  $A_w$  elevada pierden humedad cuando se sitúan en un medio de humedad relativa baja, en general cuanto más elevada es la temperatura tanto más baja es la humedad relativa y viceversa (Espinales, 2012).

## Oxígeno

La disponibilidad de oxígeno es importante porque determinan el tipo de microorganismo que se desarrollara; algunos son absolutamente dependientes del oxígeno; otros crecen en ausencia total de este y existen otros que crecen en presencia o ausencia de oxígeno. En la carne almacenada en atmosferas normal (aire), predominan las condiciones aeróbicas, pero solamente en o muy cerca de la superficie, debido a que es muy difícil la difusión del oxígeno en los tejidos; por lo tanto, el crecimiento microbiano que tiene lugar en la superficie de la carne es, en gran parte, el de los aerobios estrictos y facultativos; mientras que las porciones internas de la carne contiene fundamentalmente bacterias anaerobias y facultativas. El empleo de ciertos envases reduce o previene completamente la actividad de los microorganismos aerobios (Mateauda, 2013).

## Estado Físico

El estado físico de la carne es el último factor extrínseco que influencia la actividad microbiana y la velocidad de alteración de este alimento. El estado físico de la carne depende de que se trate de canales, piezas grandes, trozos o carne picada, así como del tratamiento que se haya aplicado durante el proceso (Delgado y Quartino, 2013).

### 2.4 Bacterias ácido lácticas

Desde hace mucho tiempo, se ha reconocido la importancia de las bacterias ácido lácticas como microorganismos benéficos en los alimentos y en la salud, mejora el tracto gastrointestinal de los seres humanos, evitando el desarrollo de microorganismos patógenos capaces de producir enfermedades, por la estimulación del sistema inmunológico y por consiguiente, la producción de anticuerpos. Con la denominación de “bacterias ácido lácticas” (BAL) se generaliza a un grupo de bacterias que fermentan azúcares como glucosa y lactosa para producir ácido láctico. Dentro de este grupo se reconoce la existencia de microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos. Los géneros representativos de las BAL se denominan: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Pediococcus*. Estos microorganismos se pueden clasificar además por su metabolismo, en

homofermentativos y heterofermentativos, los primeros producen exclusivamente ácido láctico, mientras que los segundos, producen además ácido acético, etanol y dióxido de carbono. La actividad antimicrobiana de las bacterias ácido lácticas ha sido atribuida a la acumulación de los productos finales de los procesos de fermentación, como ácido láctico, dióxido de carbono, peróxido de hidrógeno o a la producción de bacteriocinas (Martín del Campo et al., 2008).

Las bacterias ácido lácticas participan en variados procesos de fermentación y conservación de lácteos y carnes, entre otros. En la industria de alimentos fermentados es común la adición de cultivos iniciadores con las bacterias ácido lácticas con el propósito de mantener la calidad del producto evitando que la microbiota natural suspenda su proceso de fermentación y así cuidar la calidad del producto (Amorocho, 2011).

En general las condiciones que favorecen el crecimiento de estas bacterias, resultan en un incremento considerable de la vida útil de la carne refrigerada, ya que inhiben el desarrollo de microorganismos alterantes y patógenos y mejora la calidad microbiológica de la carne. Las bacterias lácticas homofermentativas transforman los hidratos de carbono principalmente en ácido láctico, el cual como ácido no disociado, posee cierta acción bacteriostática (Delgado y Quartino, 2013).

#### **2.4.1 Genero *Lactobacillus***

Pertenece a la familia Lactobacillaceae. Existen actualmente 96 especies y 16 subespecies. Son bacilos largos y finos, algunos curvados o cortos y morfología cocobacilar corniforme, es habitual la formación de cadenas. La longitud de los bacilos y el grado de curvatura está en función de la edad del cultivo, composición y pH del medio. No es común la movilidad, aunque algunos presentan flagelos peritricos. Crecen en la superficie de medios sólidos en condiciones de anaerobiosis o con tensiones de oxígeno bajas y un 5 - 10% de CO<sub>2</sub>, en rangos de temperatura comprendidos entre 2 - 53°C, pH óptimo entre 5.5 – 6.2, la velocidad de crecimiento a menudo se reduce en pH neutro y alcalino. Tienen metabolismo fermentativo, son sacarolíticos y su característica principal es fermentar azúcares con producción de ácido láctico. Son

homofermentadores cuando originan ácido láctico y heterofermentadores al producir ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), etanol, ácido fórmico o succínico. Los requerimientos nutricionales incluyen aminoácidos, péptidos derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos y carbohidratos fermentables (Amarocho, 2011).

#### **2.4.2 Género *Lactococcus***

Son Gram – positivos, células esféricas u ovoides. Aparecen individualmente, en pares o en cadenas, a menudo elongadas en la dirección de la cadena. Produce colonias pequeñas traslucidas o blanquecinas, forma circular, lisas, enteras con 1 -2 días de incubación. Inmóviles, anaerobias facultativas, catalasa negativa, con metabolismo homofermentativo. El producto final de la glucosa es L (+) ácido láctico. Los requerimientos nutricionales son complejos y variables como carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, derivados de ácidos nucleicos y ácidos grasos principalmente. Son mesófilas, crecen entre 10 y 40°C. El género *Lactococcus* tiene 5 especies: *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus piscium* y *Lactococcus plantarum*. La especie tipo es *Lactococcus lactis subsp lactis* y es común en productos lácteos. Se les atribuye numerosas propiedades como el metabolismo de carbohidratos, resistencia a bacteriófagos, producción de proteinasa y bacteriocinas (Amarocho, 2011).

#### **2.4.3 Metabolitos de las bacterias lácticas**

Las bacterias lácticas producen numerosos compuestos, como ácido láctico, diacetilo, acetaldehído, etanol, dióxido de carbono, peróxido de hidrógeno o bacteriocinas, como resultado de su metabolismo. El nivel final y la proporción de estos metabolitos dependen de la especie, la composición química del sustrato y las condiciones que imperan durante la fermentación. Estos compuestos contribuyen a la textura y al desarrollo de las propiedades aromáticas y características de un determinado alimento fermentado. Otros metabolitos de estas bacterias ejercen una acción antibacteriana, como los ácidos orgánicos, el etanol, el dióxido de carbono, la reuterina, la reuterociclina, el peróxido de hidrógeno y las bacteriocinas. Estas sustancias antimicrobianas son una alternativa muy interesante para sustituir, al menos parcialmente, a

agentes químicos como los nitritos, los sulfitos o los ácidos propiónico, sórbico y benzoico. De entre todas estas sustancias antimicrobianas cabe destacar a las bacteriocinas, cuyo interés para la industria alimentaria se debe a que inhiben a bacterias alterantes y patógenas resistentes a algunos métodos de conservación tradicionales (como, por ejemplo, la refrigeración o la acidificación). Además, son compuestos muy atractivos desde el punto de vista tecnológico, dado que son efectivas a concentraciones muy bajas y no modifican las características organolépticas del producto (Reviriego, 2009).

Las bacteriocinas producidas por las bacterias ácido lácticas, son sustancias antimicrobianas de naturaleza proteica. Estas sustancias actúan inhibiendo el crecimiento de bacterias alterantes, dando lugar de esta manera a productos estables y relativamente seguros para los consumidores. Las bacteriocinas con un amplio espectro de inhibición presentan un importante valor como biopreservantes alimentarios al ser activas frente a microorganismos alterantes presentes en los alimentos (Lama, 2002).

Las bacteriocinas, proteínas sintetizadas a nivel ribosómico y con actividad antimicrobiana, juegan un papel importante en protección y representan una estrategia importante para el control de poblaciones bacterianas patógenas causantes de enfermedades que generan un perjuicio a la salud humana como: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*. La bacteriocina más importante es la nisina producida por *Lactococcus lactis*, de uso legal como aditivo alimentario en muchos países (García, 2012).

## 2.5 La medición del color en los alimentos

El color es un atributo muy importante a la hora de medir la calidad de un alimento y en base a este se identifican muchas de las propiedades del mismo, de hecho, el color es el primer contacto que tiene el consumidor con los productos y posteriormente, los juzga por sus demás características sensoriales. Esto es contundente, ya que cuando el color de un alimento cambia, se obtiene una respuesta de rechazo de parte de los consumidores (Cornejo et al., 2012).

Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos, principalmente orgánicos, algunos que se producen durante el manejo y procesamiento y otros que son pigmentos naturales o colorantes sintéticos añadidos. Las causas que definen la coloración de un alimento son las siguientes: (1) la presencia de pigmentos o colorantes naturales, que son sustancias que tienen una función biológica muy importante en el tejido, (2) la formación de pigmentos colorantes como consecuencia de reacciones químicas o enzimáticas, (3) la adición intencionada de sustancias químicas colorantes para dar color y (4) el efecto físico de los sistemas fisicoquímicos presentes en el alimento y relacionado con la dispersión de la luz (Retting y Hen, 2014).

Con el fin de promover una comunicación objetiva, en la industria de alimentos es imprescindible contar con un sistema de medición de color. Para llevar a cabo la evaluación del color, existen dos procedimientos: medición sensorial, en la que interviene panelistas entrenados, y medición instrumental, que incluye equipos como el colorímetro. La aplicación de un colorímetro en la industria tiene como objetivo encontrar diferencias de color entre una muestra y un patrón, disminuyendo así la subjetividad que conlleva a la evaluación realizada por una persona (Cornejo et al., 2012).

La apariencia del color de un objeto percibido por el observador se basa en tres atributos psicológicos: tono, croma y claridad, que permite identificar un color específico. El tono es el primer atributo que describe un observador y está asociado con la longitud de onda del color dominante sea este espectral o no y comprende matices como el rojo, amarillo, naranja, verde, azul y púrpura. El croma o saturación se refiere a la pureza cromática de un color respecto al gris, es decir, a medida que un color se satura más, puro es y menos gris posee. La claridad o valor es una magnitud que obedece al nivel de intensidad de luz, primaria o secundaria, que percibe el observador. Las variaciones en la claridad de un color a medida que se añade blanco o negro a un tono, pueden alterar la apariencia de dicho color (Cornejo et al., 2012).

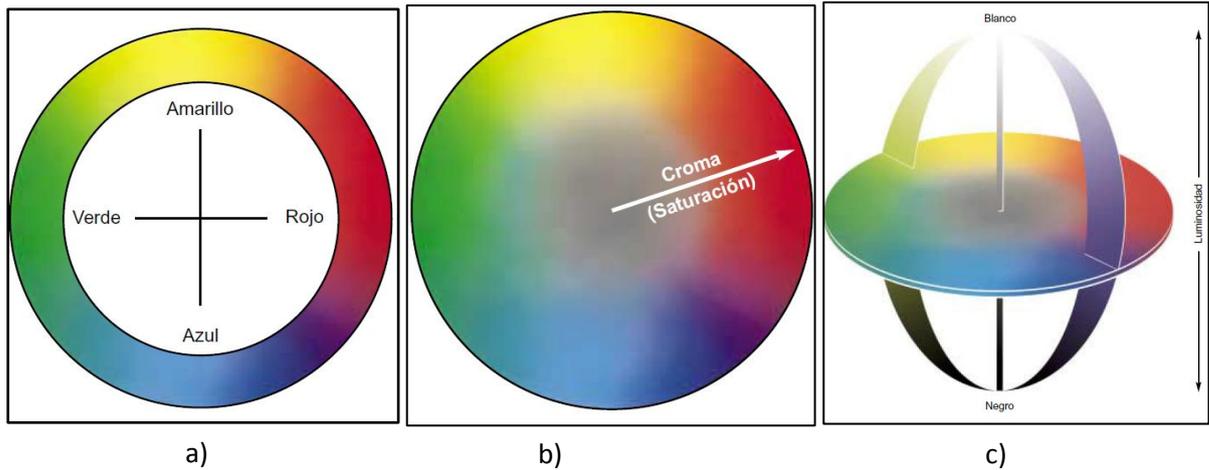


Figura 1. Circulo Cromático: a) Tono, b) Saturación y c) Claridad

Los valores obtenidos por el equipo se dan en las coordenadas del espacio CIELAB formado por un sistema cartesiano definido por tres coordenadas que describen el color de un objeto. Así  $L^*$  que indica luminosidad que va de negro a blanco tomando valores de 0 - 100,  $a^*$  significa un cambio de color rojo ( $+a^*$ ) a verde ( $-a^*$ ) y  $b^*$  un cambio de amarillo ( $+b^*$ ) a azul ( $-b^*$ ). Además de los parámetros anteriormente descritos se encuentran dos parámetros adicionales, ángulo de matiz ( $H^*$ ) y cromaticidad ( $C^*$ ), cuya similitud está íntimamente relacionado con los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ . El ángulo de matiz indica el tono o color predominante y la cromaticidad ( $C^*$ ) indica la relación con la proporción del color puro (Mora, 2014).

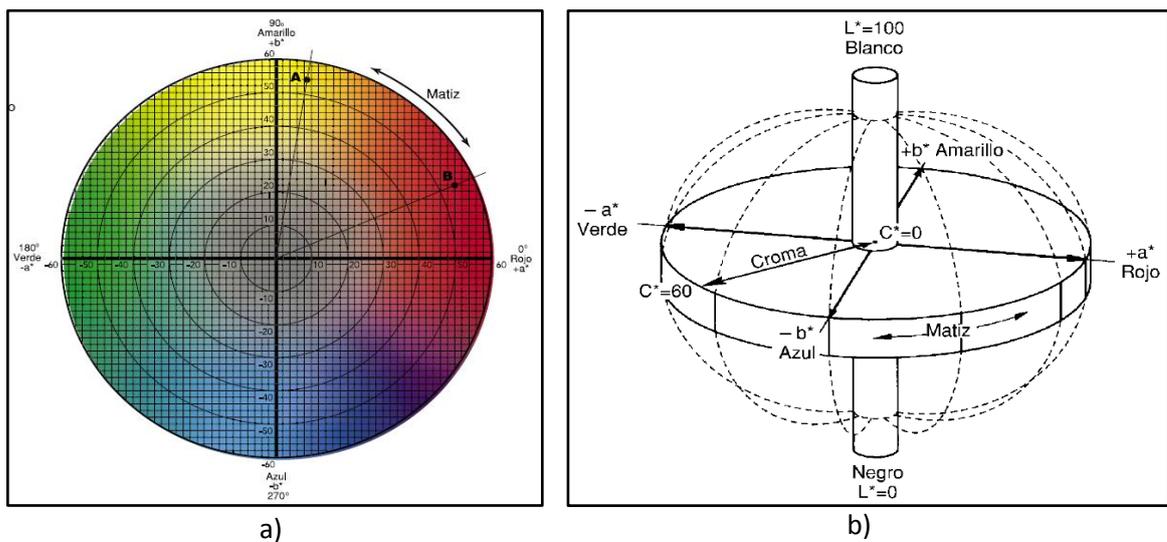


Figura 2. a) Grafica de color CIELAB y b) el valor de  $L^*$  se representa en el eje central. Los ejes  $a^*$  y  $b^*$  aparecen sobre el plano horizontal

## 2.6 Envasado al vacío

El envasado al vacío consiste en la eliminación total del aire del interior del envase sin que sea reemplazado por otro gas, existiendo una diferencia de presión entre el exterior y el interior del envase. Esto inhibe consecuentemente el crecimiento de algunos microorganismos alterantes, extendiendo la vida útil del producto. La técnica del envasado de carne al vacío, ha significado un avance importante en la conservación de este producto por un tiempo prolongado. La función primordial del envasado de la carne y de los productos cárnicos consiste en protegerlos de daños físicos, cambios químicos y de la contaminación microbiana y presentar al consumidor de forma atractiva. El envasado requiere con carácter esencial el conocimiento básico de la química y de la biología de las carnes y sus productos, así como de las propiedades físicas y químicas de los materiales de envasado. Debe tenerse en cuenta que los envases sólo pueden retener, nunca mejorar la calidad del producto envasado (Delgado y Quartino, 2013).

La permeabilidad de la película utilizada en el envasado al vacío también afecta a la vida útil del producto. El sistema de envasado al vacío usa películas como barreras seguras y flexibles que tiene una baja permeabilidad al vapor de agua, los aromas y gases, especialmente oxígeno. La conservación en envasado al vacío se consigue mediante la extracción de aire del interior del envase y el sellado adecuado mediante el uso de máquinas de sellado al calor. Así el envasado al vacío es un microsistema anaeróbico / microaerofílico que retarda el crecimiento de bacterias aeróbicas tales como *Pseudomonas* y promueve el crecimiento de bacterias ácido lácticas (Mateauda, 2013).

Los materiales comúnmente utilizados para este tipo de envase se elaboran por combinación de varios materiales, dando lugar a un material compuesto o multicapa desarrollados para cubrir necesidades específicas. Entre estos materiales se encuentran el cloruro de polivinilo que otorga una barrera contra el oxígeno y el polipropileno, agente utilizado para el proceso de termosellado, que constituye también una barrera contra el oxígeno, entre otros, que además dan resistencia mecánica al envase. Por lo tanto, la calidad del envase utilizado es fundamental para realizar un correcto proceso de

envasado al vacío y está directamente relacionado con la extensión de la vida útil de la carne. Un envase de calidad debe cumplir con ciertas exigencias como, alta resistencia a las perforaciones y buenas propiedades de sellado con el propósito de mantener la impermeabilidad a los gases, produciendo una reducción en la concentración de oxígeno residual al interior del envase, producto del vacío (Hernández, 2013).

## 2.7 Vida útil

La vida útil de un alimento, se define como el tiempo en el cual éste conservará sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y nutricionales. En el instante en que alguno de estos parámetros se considere como inaceptable el producto ha llegado a su fin de vida útil. Este periodo depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad de agua, humedad relativa, luz, concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones. La vida útil se determina al someter al estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de vida útil mediante la utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas (Ccopa, 2014).

Los alimentos son sistemas físico-químicos y biológicamente activos, por lo tanto la calidad de los alimentos es un estado dinámico que se mueve continuamente hacia niveles más bajos. Así pues, para cada alimento en particular, hay un periodo de tiempo determinado, después de su producción, durante el cual mantiene el nivel requerido de sus cualidades organolépticas y de seguridad, bajo determinadas condiciones de conservación. Este periodo se define como la vida útil del alimento (Barrera, 2012).

Para poder evaluar el tiempo de vida útil será necesario definir un indicador de calidad. Este indicador varía en función del tiempo y puede ser medido a

través de pruebas fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del alimento. El estudio de la vida útil se basa en la evaluación de la calidad del indicador en función del tiempo. El tiempo que demora el indicador al llegar al límite crítico es lo que se conoce como tiempo de vida útil. Pasado ese tiempo el alimento se le considera deteriorado o no apto para el consumo. El indicador y su límite crítico dependen de la naturaleza y composición del alimento y la normativa sanitaria vigente (Alvarez, 2011).

### 2.7.1 Vida en anaquel acelerada

Los métodos acelerados de la estimación de la durabilidad son útiles para disminuir el tiempo dedicado a los ensayos de estimación cuando se están estudiando productos no perecederos. Se basa en someter el producto a condiciones de almacenamiento que aceleren las reacciones de deterioro, las que se denominan abusivas, que pueden ser temperaturas, presiones parciales de oxígeno y contenidos de humedad altos. El objetivo de este método es almacenar producto/empaque terminados, bajo condiciones de abuso, examinar el producto periódicamente hasta que ocurra el final de la vida útil, y entonces usar estos resultados para proyectar la vida útil bajo condiciones de verdadera distribución (Chica y Osorio, 2003).

Uno de los modelos más utilizados en la determinación de la vida útil de un producto es el Modelo de Arrhenius. La relación de Arrhenius, desarrollada teóricamente para reacciones químicas moleculares reversibles, ha sido experimentalmente aplicada a un número de reacciones químicas complejas y fenómenos físicos. Las reacciones de pérdida de calidad de los alimentos han mostrado que siguen un comportamiento de Arrhenius con la temperatura, dado por la siguiente ecuación (Chica y Osorio, 2003):

$$K = K_0 e^{(-E_a/RT)} \quad (1)$$

Donde  $K$  es la constante de velocidad de la reacción,  $K_0$  es la constante de la ecuación de Arrhenius y  $E_a$  la energía de activación que se necesita para vencer la degradación de productos. En términos prácticos esto significa que si los valores de  $K$  se obtienen a diferentes temperaturas, y se grafica el  $\ln K$  vs.  $1/T$ , se obtiene una línea recta con pendiente  $-E_a/R$ . ( $R = 1.987 \text{ cal/mol}$ ,

constante universal de los gases). Usualmente, la velocidad de reacción se determina a tres o más temperaturas y  $K$  se grafica contra  $1/T$  en papel semilogarítmico o se emplea un ajuste por regresión lineal de la ecuación.

### 2.7.2 Cinética del deterioro de los alimentos

La cinética de deterioro de los alimentos se puede expresar matemáticamente por medio de ecuaciones de relación, aplicando los principios fundamentales de cinética química. Los cambios en la calidad de los alimentos pueden, en general, expresarse como una función de la composición de los mismos y de los factores ambientales (Coloma, 2006):

$$\frac{dQ}{dt} = F(C_i, E_j) \quad (2)$$

Donde  $C_i$  son factores de composición, tales como concentración de algunos compuestos de reacción, enzimas, pH, actividad de agua, así como población microbiana y  $E_j$  son factores ambientales tales como temperatura, humedad relativa, presión total y parcial de diferentes gases, luz, etc.

Coloma (2006), indica que por la naturaleza compleja de los alimentos, es difícil determinar los mecanismos de las reacciones intermedias que llevan a un particular cambio en la calidad. Para un atributo de calidad  $Q$  se puede escribir la expresión general.

$$\pm \frac{dQ}{dt} = kQ^n \quad (3)$$

Donde  $\pm$  se refiere al incremento o disminución del valor del atributo  $Q$ ,  $k$  es la pseudoconstante de velocidad de reacción cuando esta se desplaza hacia la derecha y  $n$  es el orden aparente de esta reacción.

#### 2.7.2.1 Reacción de orden cero

Coloma (2006) menciona que si consideramos un atributo de calidad  $Q$ , que disminuya de forma lineal durante el periodo de almacenamiento. Una disminución lineal del atributo implica que su variación con respecto al tiempo es constante y que por lo tanto, la pérdida de dicho atributo no depende de su concentración. La relación lineal entre el atributo y tiempo se obtiene cuando la

reacción es de orden cero, por lo tanto si en la ecuación anterior (3) se hace  $n=0$ , tendremos:

$$-\frac{dQ}{dt} = k \quad (4)$$

Integrando la ecuación se obtiene:

$$Q = Q_0 - kt \quad (5)$$

Dónde:  $Q_0$  representa el valor inicial del atributo de calidad y  $Q$  es el valor que toma dicho atributo después de transcurrido el tiempo  $t$ .

Si el final de la vida útil  $t_u$ , se alcanza cuando el atributo toma un cierto valor, llamado  $Q_f$ , tendremos:

$$Q_f = Q_0 - kt_u \quad (6)$$

En consecuencia la vida útil será:

$$t_u = \frac{Q_0 - Q_f}{K} \quad (7)$$

### 2.7.2.2 Reacción de primer orden

Cuando el atributo de calidad  $Q$  disminuye de forma exponencial durante el periodo de almacenamiento. En este caso, el ritmo de pérdidas del atributo de calidad depende de la cantidad que queda el mismo, y esto implica que a medida que el tiempo avanza y el atributo de calidad disminuye la velocidad de reacción es cada vez menos. La relación exponencial entre el atributo de calidad y el tiempo se puede explicar con una reacción de orden,  $n=1$  por lo tanto la ecuación quedara:

$$-\frac{dQ}{dt} = kQ \quad (8)$$

Integrando se obtiene:

$$\ln \frac{Q}{Q_0} = kt \quad (9)$$

Donde Q es la cantidad de atributo que queda en el tiempo t.

$$\ln Q = \ln Q_0 - kt \tag{10}$$

Que en la forma exponencial seria:

$$Q = Q_0 e^{-kt} \tag{11}$$

Como en el caso anterior, el final de la vida útil ( $t_u$ ) se alcanzara cuando el atributo de calidad tome el valor  $Q_f$  por lo que tendremos:

$$\ln Q = \ln Q_0 - kt \tag{12}$$

$$t = \frac{\ln Q_0 - \ln Q_f}{k} \tag{13}$$

Entre las reacciones de deterioro de los alimentos que se rige por ecuaciones de primer orden tenemos las vitaminas, proteínas y el crecimiento microbiano.

Del mismo modo que se han establecido las funciones de calidad y el tiempo de vida para las reacciones de orden cero y de primer orden, pueden calcularse para los otros ordenes como se recoge en la Tabla 7.

**Tabla 7. Forma de la función de calidad y tiempo de vida útil para reacciones de diferente orden**

Orden aparente de la reacción	Función de calidad
0	$Q_0 - Q_f$
1	$\ln(Q_0/Q_f)$
2	$1/Q_f - 1/Q_0$
$n(n \neq 1)$	$\frac{1}{n-1}(Q_f^{1-n} - Q_0^{1-n})$

Fuente: Coloma (2006)

### 2.8 Características de las bacterias a estudiar

Considerando los microorganismos que se van a estudiar, se presentan a continuación sus características más relevantes:

### 2.8.1 Bacterias ácido lácticas

Comprende un diverso grupo de microorganismos Gram - positivos. Son cocos y bacilos de longitud variable y de un grosor de 0.5 - 0.8  $\mu\text{m}$ . Se trata de un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme, de pared Gram - positiva, son anaerobios facultativos, catalasa negativa, y no formadoras de esporas. No necesitan de oxígeno para crecer, toleran la presencia de dióxido de carbono, nitritos, humo y concentraciones de sal relativamente altas y toleran valores de pH bajos. Por ello las condiciones existentes en las carnes envasadas al vacío favorecen el crecimiento de estos microorganismos. Diferentes factores afectan el crecimiento de bacterias ácido lácticas en un medio de fermentación. Además de los requerimientos nutricionales, la temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en el crecimiento de bacterias ácido lácticas. Existe una temperatura óptima a la cual la velocidad crecimiento es más alta y depende de las características del microorganismo utilizado, como también de las condiciones ambientales. Carbohidratos fermentables y alcoholes pueden ser empleados como fuentes de energía para formar principalmente ácido láctico, a través de la degradación de hexosas a lactato (homofermentativas) y productos adicionales como acetato, etanol,  $\text{CO}_2$ , formato o succinato (heterofermentativas) (Delgado y Quartino, 2013).

### 2.8.2 Coliformes

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. *Coliforme* significa con forma *de coli*, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor von Escherich en 1860. Von Escherich la bautizó como *bacterium coli* ("bacteria del intestino", del griego  $\kappa\omicron\lambda\omicron\nu$ , *kolon*, "intestino"). Con posterioridad, la microbiología sistemática nombraría el género *Escherichia* en honor a su descubridor (Mossel et al., 1995).

Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados. Del grupo "coliformes" forman parte varios géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, y *Citrobacter*. Se encuentran en el intestino del

hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: suelo, plantas, etc. Aunque su especificidad como indicadores no es buena, se suelen usar como índice de contaminación fecal por su frecuencia en heces, su fácil detección en laboratorio, y sus características semejantes, en algún aspecto, a las de algunos miembros patógenos de la familia *Enterobacteriaceae*. Dentro de este grupo, son los coliformes fecales los que tienen significado sanitario, y por consiguiente, los que más interesan en el análisis microbiológico de los alimentos. Los Coliformes pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un período de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30 y 37°C (Delgado y Quartino, 2013).

No todos los coliformes son de origen fecal, por lo que se hizo necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos a efectos de emplearlos como indicadores de contaminación. Se distinguen, por lo tanto, los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los *coliformes fecales* aquellos de origen intestinal. La mayor especie en el grupo de coliforme fecal es el *Escherichia coli* (Sueiro, 2001).

### **2.8.3. Pseudomonas**

Son microorganismos Gram negativos, móviles, aeróbicos estrictos aunque a veces pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. No forman esporas. Tienen reacciones positivas a la oxidasa y catalasa. Estas bacterias son una de las principales responsables de la alteración de productos cárnicos almacenados incorrectamente en condiciones de aerobiosis. Algunos miembros del género son psicrófilos, por lo que la alteración de los alimentos que producen también tiene lugar durante la conservación en temperatura de refrigeración. Algunas especies atacan los carbohidratos oxidándolos, algunas reducen los nitratos y el óxido de trimetilamina a dimetilamina, otras son fuertemente lipolíticas. Algunas son pigmentadas produciendo pigmentos amarillos, verdes y azulados. Son muy comunes en el suelo y el agua y son poco resistentes al calor. Producen malos olores en los alimentos cuando se encuentran poblaciones del orden de  $10^7$  ufc/g (Delgado y Quartino, 2013).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de ejecución

En el presente trabajo, la preparación de muestras de carne de ovino con bacterias ácido lácticas envasado al vacío y los análisis fisicoquímicos y recuento microbiológico fueron realizados en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos. La medición de color de las muestras se realizó en el laboratorio de Postcosecha de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, durante el mes de Enero del 2016.

#### 3.2 Material experimental

- **Carne de ovino *Corriedale***

Se utilizó carne de ovino de la raza *Corriedale*, de 7 meses de edad, tomada de la región anatómica pierna. El ovino fue adquirido de la Ganadería Stambury – Posoconi – Orurillo – Melgar – Puno – Perú, como materia prima para su evaluación en la conservación de la carne envasado al vacío.

- **Bacterias ácido lácticas**

Las cepas puras liofilizadas de bacterias ácido lácticas homofermentativas: *Lactococcus lactis ssp. lactis* y *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* fueron adquiridas de la empresa LINROS S.A de la ciudad de Arequipa.

- **Glucosa**

El insumo glucosa fue adquirida de la especería “Agroindustrias Puno” de la ciudad de Puno.

#### 3.3 Materiales y equipos

##### 3.3.1 Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitados de 50 ml
- Vasos Erlenmeyer marca PIREX de 250 y 500 ml
- Tubos de ensayo con tapa rosca
- Placas Petri marca PIREX de 12 cm de diametro
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml de capacidad
- Probeta graduadas con pie hexagonal y pico de 100 ml de la marca PIREX

- Jarra graduada de 500 ml
- Lunas de reloj
- Bagueta
- Espátula de acero inoxidable
- Gradilla
- Pinza
- Piseta de 250 ml
- Mechero

### **3.3.2 Equipos de laboratorio**

- Balanza analítica marca COBOSS/HOUSS modelo XTT23 Cap. de 200 g
- Balanza electrónica marca SARTORIUS CP 3235 sensible al 0.001 a 320 g
- Refrigeradora marca COLDEX MAGIC DEFROST
- pH metro digital marca JENWAY 3510
- Estufa marca LMN tipo LP5-402
- Termómetro marca HANNA de -40 a 150°C
- Empacadora al vacío marca HENKELMAN vacuum systems
- Cuenta colonias marca BIO-TECHNOLOGIES
- Incubadora marca INDER clase 2.0 (300 °C)
- Autoclave modelo LS-BSOL-II, volumen 50 L
- Colorímetro CS - 20
- Equipo para titulación

### **3.3.3 Reactivos**

- Agua destilada
- Solución valorada de Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.1 N
- Hipoclorito de sodio
- Solución de fenolftaleína 1%

### **3.3.4 Medios de cultivo**

- Agar Man Rogosa Sharpe, dosis 64 g / 1 Litro (autoclave 15°C - 121°C), pH:  $6.4 \pm 0.2$  a 35°C.
- Agar Mac Conkey, dosis 50 g / 1 Litro (autoclave 15°C - 121°C), pH:  $7.4 \pm 0.2$  a 35°C.

- Agar Cetrimide, dosis 45.3 g / 1 Litro (autoclave 15°C - 121°C), pH: 7.4 ± 0.2 a 35°C.

### 3.3.5 Otros materiales

- Papel kraft
- Tablero de polietileno
- Cuchillo
- Guantes quirúrgicos
- Bolsas de polietileno de alta densidad

### 3.4 Metodología experimental

Para evaluar el efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío se realizó la activación de bacterias ácido lácticas para lo cual se siguió el procedimiento descrito por Flores (2012) que es el siguiente:

- Se pasteurizó 700 ml de agua y se enfrió hasta 42°C.
- Luego se adicionó glucosa y bacterias ácido lácticas, manteniendo a una temperatura constante de 42°C por 30 minutos. En seguida se dejó en reposo por un tiempo de 2 horas hasta que baje la temperatura hasta 15°C con el ambiente.
- Finalmente se procedió a sumergir las muestras en la solución por un periodo de 30 minutos.

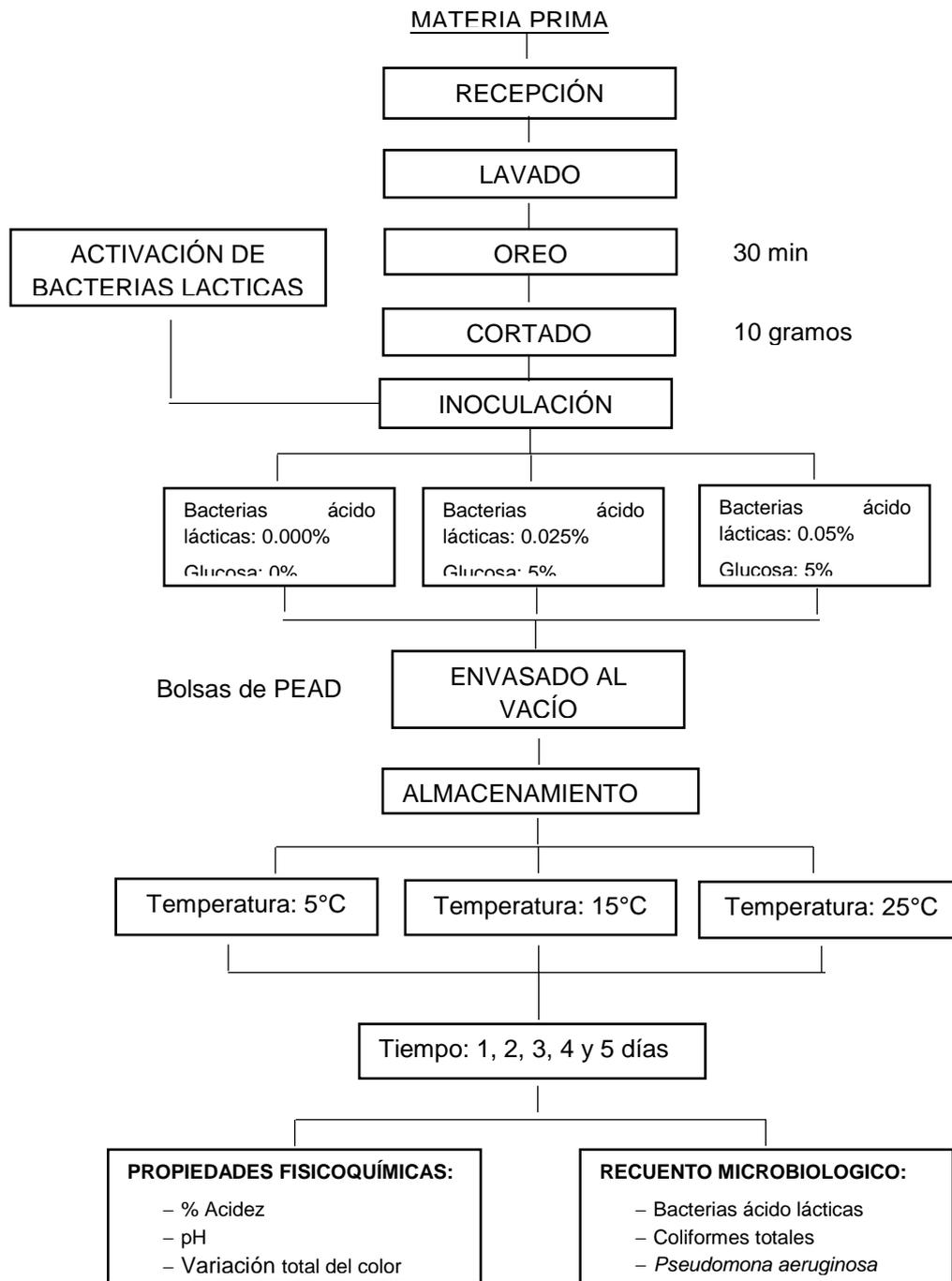
En la Tabla 8, se presenta la formulación de bacterias ácido lácticas, glucosa y agua utilizados para la activación de bacterias ácido lácticas.

**Tabla 8. Formulación y preparación de las bacterias ácido lácticas**

Composición de componentes	Concentración de baterías acido lácticas					
	0.025%		0.050%		0.000%	
	Peso (g)	%	Peso (g)	%	Peso (g)	%
Agua	400	94.975	150	94.95	0	0
Bacterias lácticas	0.1	0.025	0.075	0.050	0	0
Glucosa	20	5	7.5	5	0	0
Total	420.1	100	157.575	100	0	0

Fuente: Elaboración propia

**3.4.1 Metodología para la evaluación de la conservación de carne de ovino *Corriedale* con bacterias ácido lácticas envasado al vacío**



Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Diagrama de flujo para la evaluación de la conservación de carne de ovino *Corriedale* con bacterias ácido lácticas envasado al vacío

## DESCRIPCIÓN DE PROCESO

### a) MATERIA PRIMA

Se utilizó carne de ovino de raza *Corriedale* adquirida de la provincia de Melgar –departamento de Puno.

### b) RECEPCIÓN

La carne fue envasada en un envase impermeable hasta su traslado al laboratorio para evitar la contaminación en el trayecto.

### c) LAVADO

La carne fue lavada con agua potable para eliminar restos de impurezas que pudieron impregnarse a la carne.

### d) OREO

La carne se dejó en reposo por un tiempo de 30 minutos con la finalidad de eliminar agua de la superficie.

### e) CORTADO

La carne se cortó en muestras de 10 gramos.

### f) ACTIVACIÓN DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS

Se pasteurizó el agua destilada de 700 ml y se procedió a su enfriamiento hasta 42°C. Enseguida se adicionó glucosa y bacterias ácido lácticas manteniendo a la temperatura de 42°C por 30 minutos. Luego se dejó en reposo por un tiempo de dos horas hasta que descienda su temperatura a 15°C con el ambiente.

### g) INOCULACIÓN

La inoculación se realizó en una solución de agua pasteurizada con glucosa y cepas liofilizadas de bacterias ácido lácticas homofermentativas por un tiempo de 30 minutos.

### h) ENVASADO

La carne fue envasada con el equipo empacadora al vacío en bolsas de polietileno de alta densidad.

### i) ALMACENAMIENTO

El producto fue almacenado 5°C, 15°C y 25°C durante 5 días.

Luego se procedió a realizar el análisis de las propiedades fisicoquímicas (acidez, pH y variación total del color) y recuento microbiológico (bacterias ácido lácticas, coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa*).

Para determinar la vida útil de la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío. Se utilizó la ecuación de Arrhenius de orden cero y primer orden. Los valores de K1 Y K2 se obtuvieron por regresión lineal y exponencial (para reacciones de orden cero y primer orden respectivamente). Los valores de K representan las constantes de velocidad de crecimiento microbiano de coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa*. Las ecuaciones utilizadas fueron:

Para reacción de orden cero:

$$t = \frac{Q_0 - Q_f}{k} \quad (14)$$

Para reacción de primer orden:

$$t = \frac{\ln Q_0 - \ln Q_f}{k} \quad (15)$$

Donde:

$Q_0$ : Valor inicial del atributo de calidad

$Q_f$ : Valor después de transcurrido el tiempo  $t$

$k$ : Constante de velocidad de reacción

$t$ : Tiempo

### 3.5 Variables de estudio y variables de respuesta

Para evaluar el efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío.

Las variables de estudio fueron:

- Temperatura: 5°C, 15°C y 25°C.
- Concentración de bacterias ácido lácticas homofermentativas (*L. lactis* y *L. bulgaricus*): 0.000%, 0.025% y 0.050%.

Las variables de respuestas fueron:

- Acidez titulable (%)
- pH (0 -14)
- Variación total del color ( $\Delta E$ )
- Bacterias ácido lácticas (ufc/g)
- Coliformes totales (ufc/g)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ufc/g)

Para determinar la vida útil de la carne de ovino *Corriedale* envasado al vacío.

Las variables de estudio fueron:

- Temperatura: 5°C, 15°C y 25°C.
- Concentración de bacterias ácido lácticas homofermentativas (*L. lactis* y *L. bulgaricus*): 0.000%, 0.025% y 0.050%.

Las variables de respuestas fueron:

- Coliformes totales (ufc/g)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ufc/g)

### 3.6 Métodos de análisis

#### 3.6.1 Análisis fisicoquímico

##### 3.6.1.1 Determinación de la acidez titulable

Se siguió lo descrito por Merma (2014), primeramente se licuó 5 g de muestra con 45 ml de agua destilada. Luego se tomó una alícuota de 9 ml al cual se añadió 3 gotas de fenolftaleína como indicador. En seguida se procedió a homogenizar. Finalmente se tituló con NaOH de 0.1 N, hasta que la muestra presente un color rosado fucsia. Para el cálculo de la acidez titulable se aplicó la siguiente formula:

$$\% \text{ Acido lactico} = \frac{V \times N \times \text{meq}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

Dónde:

V =Volumen gastado (ml) de NaOH en la titulación

N = Normalidad de NaOH (0.1 N)

meq = Valor de mili equivalente en gramos de ácido láctico (0.090)

M = Peso de la muestra (g)

##### 3.6.1.2 Determinación del pH

Se licuó 5 g de muestra con 45 ml de agua destilada. Luego se tomó una alícuota de 10 ml el cual se colocó en un vaso precipitado de 50 ml. Finalmente se colocó el pH-metro en la solución y se realizó la lectura (Merma, 2014).

##### 3.6.1.3 Determinación del color

Para su determinación se ha seguido lo descrito por Ripoll et al., (2012) utilizando colorímetro CS - 20, utilizando el espacio CIELAB. Este sistema permite identificar el color con la ayuda de las coordenadas, luminosidad ( $L^*$ ), tonalidades de rojo - verde ( $a^*$ ) y las tonalidades de amarillo - azul ( $b^*$ ) para cada muestra.

En el presente trabajo se obtuvo la variación total del color que es la medida de la diferencia total de color entre el estándar y la muestra (Rafael, 2014).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

### 3.6.2 Análisis microbiológico

#### 3.6.2.1 Determinación de bacterias ácido lácticas

Se siguió la metodología de Flores (2012). Se pesó 5 g de muestra de carne con 45 ml de agua destilada y se procedió a licuar por 2 minutos, esta dilución representa  $10^{-1}$ . De la primera dilución se tomó una alícuota de 1 ml y esta se colocó en un tubo de ensayo de 9 ml de agua destilada obteniendo la dilución  $10^{-2}$  y se procedió hasta obtener la dilución  $10^{-5}$ . De cada dilución se pipeteó una alícuota de 1 ml y se sembró de placas Petri contenido con agar MRS. Luego las placas Petri se llevaron a la estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Finalmente transcurrido este periodo se procedió a contar las colonias formadas con el equipo cuenta colonias.

#### 3.6.2.2 Determinación de coliformes totales

Se siguió la metodología de Delgado y Quartino (2013). Se pesó 5 g de muestra de carne con 45 ml de agua destilada y se procedió a licuar por 2 minutos, esta dilución representa  $10^{-1}$ . De la primera dilución se tomó una alícuota de 1 ml y esta se colocó en un tubo de ensayo de 9 ml de agua destilada obteniendo la dilución  $10^{-2}$  y se procedió hasta obtener la dilución  $10^{-4}$ . De cada dilución se pipeteó una alícuota de 1 ml y se sembró de placas Petri contenido con agar Mac Conkey. Luego las placas Petri se llevaron a la estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Finalmente transcurrido este periodo se procedió a contar las colonias formadas con el equipo cuenta colonias.

#### 3.6.2.3 Determinación de *Pseudomona aeruginosa*

Se siguió la metodología de Delgado y Quartino (2013). Se pesó 5 g de muestra de carne con 45 ml de agua destilada y se procedió a licuar por 2 minutos, esta dilución representa  $10^{-1}$ . De la primera dilución se tomó una alícuota de 1 ml y esta se colocó en un tubo de ensayo de 9 ml de agua destilada obteniendo la dilución  $10^{-2}$  y se procedió hasta obtener la dilución  $10^{-4}$ . De cada dilución se pipeteo una alícuota de 1 ml y se sembró de placas Petri contenido con agar Cetrimide. Luego las placas Petri se llevaron a la estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Finalmente transcurrido este periodo se procedió a contar las colonias formadas con el equipo cuenta colonias.

### 3.7 Diseño de la investigación

Para evaluar el efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la carne de ovino, se utilizó el diseño Superficie de Respuesta, factorial a tres niveles con dos factores experimentales (Temperatura y Concentración de bacterias ácido lácticas) con cinco puntos centrales. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con un 95.0% de significancia.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y$  = Variable de respuesta.

$\mu$  = Media general del experimento.

$\alpha_i$  = Efecto del i-esimo tratamiento (Temperatura).

$\beta_j$  = Efecto del j-esimo tratamiento (Concentración de bacterias ácido lácticas).

$\alpha\beta_{ij}$  = Efecto de la ij-esima interacción de Temperatura y Concentración de bacterias ácido lácticas.

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 Resultados de la caracterización fisicoquímica y recuento microbiológico de muestra inicial de la carne de ovino

##### 4.1.1 Caracterización fisicoquímica de muestra la inicial de la carne de ovino

En la Tabla 9, se presenta los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de la muestra inicial de la carne de ovino, en donde se obtuvo el pH de 5.88, este valor es menor a lo reportado por Ponce et al. (2007) quienes evaluaron los cortes de pierna deshuesada de tres razas de ovino obteniendo un pH promedio de 5.9. Sin embargo, Mateauda (2013) afirma que en el momento del envasado de la carne este debe ser igual o inferior a 5.8 y los productos cárnicos con pH superior a 6 son particularmente riesgosos siendo favorable para el desarrollo de microorganismos patógenos. El efecto de la disminución del pH es debido a que en el proceso de rigor mortis se da la conversión del glucógeno en ácido láctico lo que conduce a la disminución del pH de la carne.

**Tabla 9. Caracterización fisicoquímica de la carne de ovino**

ANÁLISIS	RESULTADOS
pH	5.88
Acidez	0.20%
Color	L*=37.0 , a*= 12.5, b*= 4.0,

Fuente: Elaboración propia

En cuanto a la acidez se obtuvo 0.20 % de ácido láctico, este valor es menor a encontrado por Flores (2012) quien encontró 0.293% de ácido láctico en carne de alpaca. Esta diferencia puede ser atribuido a diversos factores como: edad, especie de animal, raza, alimentación.

En cuanto al color se obtuvieron los siguientes parámetros: L\*=37.0, a\*=12.5, b\*= 4.0, estos valores son similares a lo reportado por Ponce et al. (2007) quienes obtuvieron: L\*=36.0, a\*=11.7 y b\*=11.0. Sin embargo el valor obtenido en el presente estudio es menor comparado con estudios realizado por Díaz

(2001) quien encontró en carne de cordero lechales Machengo,  $L^*=46.62$ ,  $a^*=13.40$  y  $b^*=6.26$  y Desdémona et al. (2012) quienes encontraron en carne de ovino  $L^*=41.10$ ,  $a^*=9.14$  y  $b^*=7.62$ . Cano et al. (2003), estudiaron las características de calidad de la canal de cordero de raza Segureña de 90 días de edad y encontraron a 24 horas *post mortem* en el corte *Longissimus. dorsi*  $L^*= 39.93$ ,  $a^*=12.65$ ,  $b^*=2.91$ . Estas variaciones encontradas en la determinación de color puede ser atribuido a la proporción, distribución y estado químico en que se encuentre la mioglobina, pigmento proteínico que proporciona el color rojo característico. Por otro lado el consumidor en general prefiere una carne de color rojo brillante (oximioglobina) mientras rechaza el color apagado o pardo (metamioglobina).

Cori et al.(2014) mencionan que las diferencias encontradas en el color de la carne podrían deberse al manejo, dieta, genética y colorímetro empleado. También señala que existe una relación entre el pH y la claridad ( $L^*$ ), es así que valores de pH altos las carnes presentan una coloración más oscura que a pH bajos la coloración es más clara.

De la misma forma Valdiviezo (2010) señala que los factores que contribuyen al color de la carne son los pigmentos, formados en su mayor parte por dos proteínas, la *hemoglobina*, que es el pigmento sanguíneo y la *mioglobina*, pigmento muscular. Los pigmentos principalmente tienen una estructura similar, salvo que la molécula de mioglobina es una cuarta parte menor de la hemoglobina. La cantidad de mioglobina en los animales varía con la especie, edad, sexo, musculo de que se trate y actividad física; ello explica la gran variabilidad del color de la carne.

La mioglobina es la fuente principal, aunque no en forma absoluta, del color de la carne. El contenido de la misma puede variar enormemente dependiendo de la especie (bovinos 0,3-1%, porcinos 0,04-0,06 %, ovinos 0,2-0,6 %), raza, sexo, edad (aumenta con la misma), tipo de músculo, ejercicio (los animales de pastoreo tienen un contenido mayor que los estabulados) y tipo de alimentación que recibe el animal (un bajo contenido de hierro en la dieta produce bajo nivel de mioglobina en el músculo). Los valores de  $a^*$  dependen principalmente de la concentración inicial de mioglobina y no del estado que presente la misma,

mientras que la coordenada b\* dependería más de los diferentes estados en que ese pigmento se encuentra (oximioglobina y metamioglobina) (Benzzo, 2005).

#### 4.1.2 Caracterización microbiológica en la muestra inicial de carne de ovino

En la Tabla 10, se presenta los resultados obtenidos de la caracterización microbiológica de bacterias ácido lácticas, coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa* en la muestra inicial de la carne de ovino, en donde se aprecia que el recuento de bacterias ácido lácticas fue 320 ufc/g. Este resultado es similar a lo obtenido por Flores (2012) quien encontró 324 ufc/g en carne de alpaca. Sin embargo nuestro resultado es menor a lo obtenido por Desdémona et al. (2012) quienes obtuvieron 740 ufc/g en carne de ovino. Su crecimiento es deseable, porque impide el crecimiento de otros microorganismos, influyendo directamente sobre la durabilidad de la carne envasada al vacío. Asimismo estas bacterias ácido lácticas están presentes en diferentes productos dentro de ellos la carne, son bacterias benéficas para la salud, las cuales tienen una amplia aplicación como cultivos iniciadores en una variedad de alimentos, se le considera como un principal agente inhibidor del crecimiento de microorganismos patógenos en los alimentos.

**Tabla 10. Caracterización microbiológica de la carne de ovino**

ANÁLISIS	RESULTADOS
Bacterias ácido lácticas	320 ufc/g
Coliformes totales	0 ufc/g
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0 ufc/g

Fuente: Elaboración propia

En cuanto a los microorganismos patógenos estudiados como coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa* no se encontró su presencia en la muestra evaluada en el presente estudio. En el estudio realizado de Delgado y Quartino (2013) en carne de bovino no encontraron presencia de *Pseudomonas* y para coliformes totales obtuvieron 1.80 log ufc/g. Otros autores como Mateauda (2013) encontró 1.82 log ufc/g de coliformes totales y 1.39 log ufc/g de *Pseudomonas* en carne de bovino y Desdémona et al. (2012) obtuvieron 2 x

$10^1$  ufc/g de coliformes totales en carne de ovino. En el presente estudio realizado, la no presencia de estos microorganismos patógenos puede deberse a que la muestra evaluada era estéril (inocua) ya que se trabajó con la parte interior del musculo como lo señalan Schobitz et al. (1990). Por otro lado Hernández et al. (2011) indican que la contaminación microbiana proviene de varias fuentes como puede ser por el agua, instalaciones, equipamiento y personal de manipulación.

#### **4.2 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas sobre las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico en carne de ovino envasado al vacío**

##### **4.2.1 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la acidez de la carne de ovino envasado al vacío**

En la Figura 4, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la acidez de la carne de ovino, en donde se observa que ambos factores dan líneas con pendiente positiva lo que indica que la acidez se mejora cuando el factor se mantiene en el nivel alto, además el efecto más influyente en la acidez fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas. Este efecto observado en el presente estudio es similar comparado con Flores (2012) quien en su estudio en carne de alpaca con adición de bacterias lácticas observo un incremento de la acidez con respecto a la temperatura obteniendo 0.293% a 3°C y 0.401% a 13°C y con respecto a la concentración de bacterias lácticas obtuvo 0.32% de ácido láctico a una concentración de 0% de bacterias lácticas y obtuvo 0.381% a una concentración de 0.002% de bacterias lácticas. Este efecto puede ser atribuido a la conversión del glucógeno presente en la carne de ovino en ácido láctico formado por las bacterias ácido lácticas quienes predominan en el envasado al vacío y tienen acción bacteriostática, inhibiendo o retardando la proliferación de microorganismos indeseables en la carne.

Sin embargo en el estudio realizado por López y Jiménez (2008) quienes estudiaron la acidez en la carne de cerdo inoculada con bacterias lácticas y almacenadas a temperatura 6.88°C, encontraron al tercer día 0.9% de ácido láctico. Comparado este resultado con los resultados del presente estudio es mayor. Este efecto puede ser atribuido factores como; especie de animal,

temperatura de almacenamiento, cantidad de las reservas de glucógeno en las muestras, cepas de bacterias ácido lácticas (puro o mixto) y sus cantidades adicionales a las muestras.

Por otro lado Signorini (2007) señala que el ácido láctico es el principal metabolito producido por las bacterias ácido lácticas (BAL) homofermentativas y ha sido utilizado como agente sanitizante en carnes, con el objetivo de incrementar la seguridad de estos alimentos. El empleo de este ácido orgánico puede reducir la población de microorganismos alterantes y generar menores tasas de crecimiento de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. Este ácido ha sido usado para estos fines, debido a que es un constituyente natural de la carne *post-rigor* y es una sustancia aceptada como segura (GRAS).

Al respecto Mata (1999) menciona que una cualidad deseable es que la producción del ácido láctico sea rápida al comienzo de la fermentación para inhibir el desarrollo de microorganismos indeseables, sin embargo si la formación del ácido es excesiva puede dar lugar a defectos en el color y a la presencia de gas en la carne. El incremento observado de la acidez en la carne de ovino envasado al vacío se debe a que las bacterias ácido lácticas homofermentativas transforman los hidratos de carbono principalmente en ácido láctico el cual posee acción bacteriostática.

Gráfica de Efectos Principales para Acidez

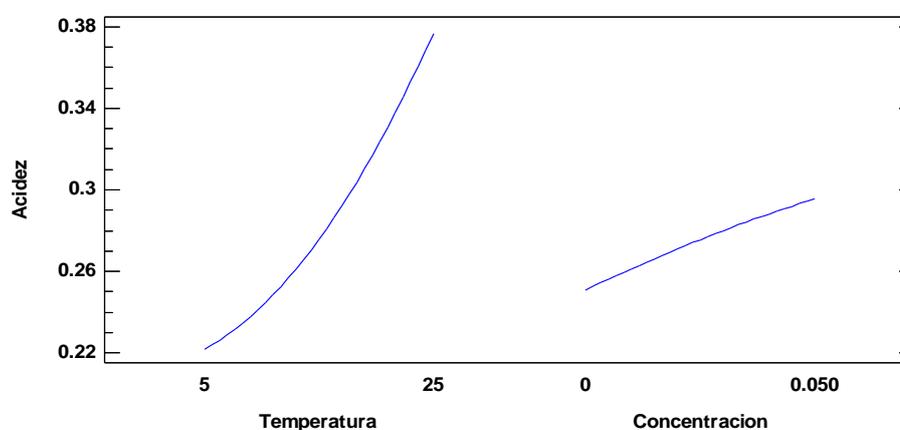


Figura 4. Gráfica de efectos principales para la acidez

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 5, donde se observa un incremento con respecto a la temperatura y un incremento gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose el valor óptimo equivalente a 0.411382% de ácido láctico a una temperatura de 25°C y una concentración de 0.05% de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor temperatura hay un mayor desarrollo de bacterias ácido lácticas por tanto el desarrollo de la acidez es mayor.

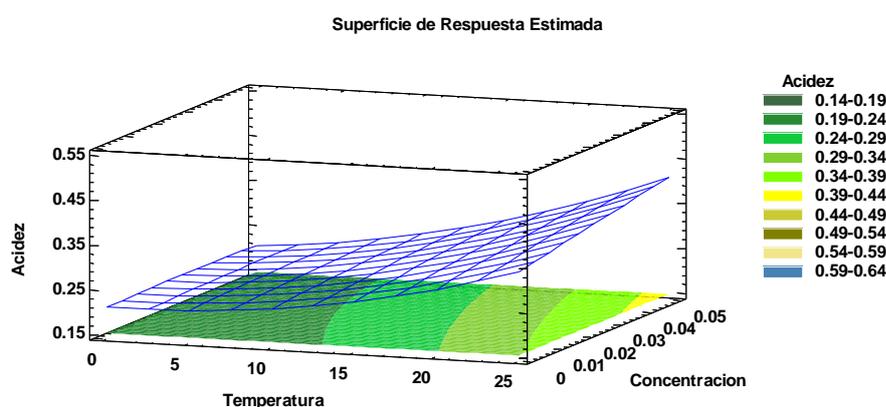


Figura 5. Estimación de superficie de respuesta de la acidez

Con los resultados obtenidos en la Tabla 19 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 13 del Anexo 1, en donde se aprecia que la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas afectaron significativamente.

#### 4.2.2 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el pH en la carne de ovino envasado al vacío

En la Figura 6, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el pH de la carne de ovino, en donde se observa que ambos factores dan línea con pendiente negativa lo que indica que la respuesta pH se mejora cuando los factores se mantienen en el nivel bajo, además el efecto más influyente en el pH fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas. Estos resultados son similares comparado con el estudio de Minor et al. (2002) quienes evaluaron la aplicación de las bacterias lácticas en la conservación de la carne empacada al vacío y mantenida a 4°C y 20°C durante 96 horas, en

donde observaron una disminución del pH con respecto a la temperatura. Y como resultado obtuvieron a 4°C a las 96 horas las muestras inoculadas presentaron 5.54 y en el testigo 6.3. Mientras que a 20°C en muestras inoculadas encontraron 4.79 y en testigo 5.98. Se puede apreciar del presente estudio realizado y del autor antes mencionado que a menores temperaturas el pH es alto y a mayores temperaturas el pH es más bajo. Este efecto puede ser atribuido a la temperatura de almacenamiento, debido a que a mayor temperatura el crecimiento de bacterias ácido lácticas es mayor y por tanto producen mayor nivel de acidez lo que hace que las muestras disminuyan su valor de pH.

En el estudio realizado por Ortega (2012) quien evaluó el pH en carne de oveja Churra Galega empacada al vacío y almacenada a 4°C observo un descenso del pH a través del tiempo, encontrando a 1 hora de 6.71; a 24 horas de 5.85 y a 6 días de 5.74. También indica que este descenso puede deberse al glucógeno que está contenido en los músculos el cual se metaboliza mediante el proceso anaeróbico que conlleva a la formación del ácido láctico y consecuentemente a la disminución de pH.

Asimismo el descenso del pH puede estar relacionado con el crecimiento y la competencia generada por las bacterias ácido lácticas que llegan a ser al final del almacenamiento las cepas predominantes como lo indica Mateauda (2013). Por otro lado Delgado y Quartino (2013); Mata (1999) y Jara (2007) afirman que valores bajos de pH favorecen a las bacterias ácido lácticas y valores de pH inferiores a 5.5 son desfavorables para las bacterias patógenas y en combinación con temperaturas bajas pueden prevenir su desarrollo.

De la misma forma el tiempo de almacenamiento influye en el pH como reporta Flores et al. (2011) quienes en su estudio en carne de res picada, empacada al vacío y almacenada a 5°C obtuvieron un pH inicial de 5.56 y está descendió a 5.37 al séptimo día. Del mismo modo Jara (2007) en su estudio en carne de bovino envasada al vacío almacenado a 0°C obtuvo un pH de 5.56 y está descendió a 5.52 a los 60 días. Este efecto puede ser atribuido a la carga inicial de microorganismos patógenos en la muestra asimismo el tiempo de almacenamiento debido a que a mayor tiempo de almacenamiento de las

muestras en condiciones de anaerobiosis (envasado al vacío) predominan las bacterias ácido lácticas creando un medio ácido es decir disminuyendo el pH.

Al respecto Desdémona et al. (2012) señalan que el pH normal del músculo de ovino en el momento de la muerte es de 7,0 y trascurridos de 6 a 8 horas el pH desciende a 5,7 - 5,8. Por el contrario, cuando los corderos fueron estresados el pH del músculo desciende unas pocas décimas durante la primera hora después del sangrado, hay un descenso del glucógeno almacenado, permaneciendo los valores de pH relativamente altos (6,5 - 6,8) y los valores de pH a las 24 horas son de 6,3 a 6,5. Asimismo señalan que esta carne tiene la característica de ser Oscura Firme y Seca (Carne DFD por sus siglas en inglés *Dark, Firm and Dry*). Por otro lado cuando el pH desciende rápidamente hasta valores de 5,4 - 5,5 en la primera hora después de la sangría y los valores de pH a las 24 horas son de 5,3 a 5,6, la carne se caracteriza por ser Pálida, Suave y Exudativa (Carne PSE). La temperatura interna de la canal con valores altos de pH en la primera hora desciende lentamente, la glucólisis es lenta y limitada.

Gráfica de Efectos Principales para pH

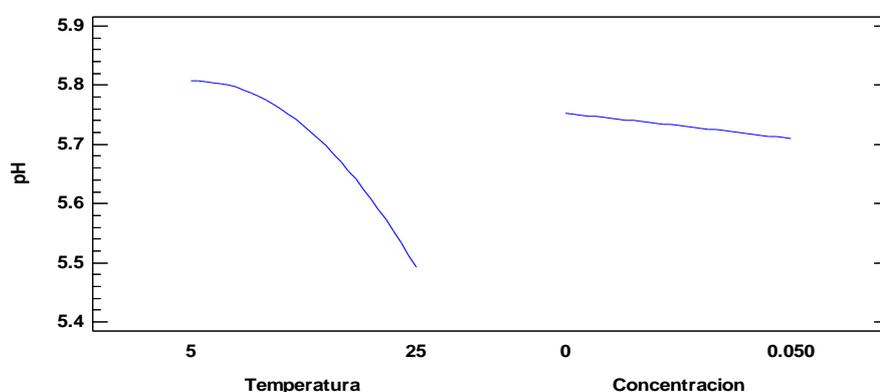


Figura 6. Gráfica de efectos principales para el pH

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 7, donde se observa una disminución en el pH con respecto a la temperatura y una disminución gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose el valor óptimo equivalente a pH 5.45981 a una temperatura de 25°C y una concentración de 0.050% de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a

mayor temperatura hay un mayor desarrollo de bacterias ácido lácticas las cuales acidifican el medio disminuyendo el pH.

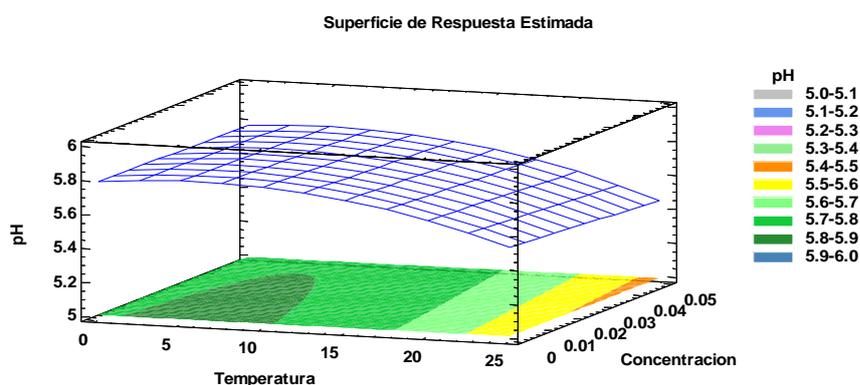


Figura 7. Estimación de superficie de respuesta del pH

Con los resultados obtenidos en la Tabla 20 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 14 del Anexo 1, en donde se aprecia que la temperatura afectó, mientras que la concentración de bacterias ácido lácticas no afectó significativamente.

#### 4.2.3 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la variación total del color ( $\Delta E$ ) en la carne de ovino envasado al vacío

En la Figura 8, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en la variación total del color ( $\Delta E$ ) en la carne de ovino, en donde se observa que el factor temperatura presenta línea con pendiente positiva lo que indica que existe una mayor variación total del color ( $\Delta E$ ) cuando la temperatura se mantiene en el nivel alto, mientras que el factor concentración de bacterias ácido lácticas presenta línea con pendiente negativa lo que indica que existe una mayor variación en el color cuando se mantiene en un nivel bajo, además el efecto más influyente fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas. Estos resultados son similares comparados con Minor et al. (2002) quienes en su estudio de evaluación de la aplicación de bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne de res empacada al vacío y mantenida a 4°C y 20°C, encontraron como resultado que a los 96 horas a la temperatura de 4°C el color no se modificó significativamente, mientras que a 20°C presentó un cambio

significativo. Este efecto puede ser atribuido por diversos factores como la temperatura, presencia de oxígeno, pH de la carne, corte de musculo, presencia de microorganismos y tiempo de almacenamiento. A mayor temperatura el producto se deteriora, porque hay un mayor desarrollo de microorganismos patógenos quienes deterioran el color del producto convirtiéndolos inaceptables. Asimismo Mateauda (2013) menciona que el color de la carne fresca está determinado por la proporción y distribución de la mioglobina, pigmento proteínico que proporciona el color rojo característico. También señala que el color es un importante indicador de calidad de la carne dado que durante el almacenamiento ocurren cambios visibles en la superficie del musculo.

En el estudio realizado por Goenaga (2010) en carne de bovino encontró variación en el color en la carne madurada a 8 días respecto a las 24 horas. Esto puede ser debido a la degradación que se da en la estructura proteica durante la maduración de la carne. El mismo autor afirma que el color de la carne se ve influido por múltiples factores interactuantes entre sí. Los factores *antemortem* como son: la especie, raza y el sexo del animal, la dieta que recibe, edad, así como el transporte y estrés antes del sacrificio; los factores del sacrificio como: el desarrollo del *rigor mortis*, la velocidad de enfriamiento, el sangrado y la estimulación eléctrica; y los factores *postmortem*, derivados del tratamiento tecnológico que se aplique a la carne tanto durante la maduración como en la conservación posterior.

Por otro lado Mata (1999) menciona que el color es una de las características más importantes de la carne ya que es el principal atributo que juzga el consumidor antes de comprar cualquier producto cárnico. Los pigmentos hemoglobina, mioglobina y hemoglobina hemática son proteínas sarcoplasmicas que pueden encontrarse en distintos estados semiestables en la carne y van a ser los principales responsables de la coloración final de la carne.

Asimismo Puentes (2004) menciona que la ventaja del envasado al vacío preserva el color del musculo debido a la exclusión del oxígeno pero el envasado al vacío no siempre es perfecto y que el agotamiento del oxígeno no

siempre es total. También señala que el color de la carne se aclara lentamente, a medida que transcurre el tiempo. Estos cambios pueden deberse a la presencia de microorganismos que producto de su metabolismo forman nuevas interacciones con la mioglobina, cambiando el color de la carne.

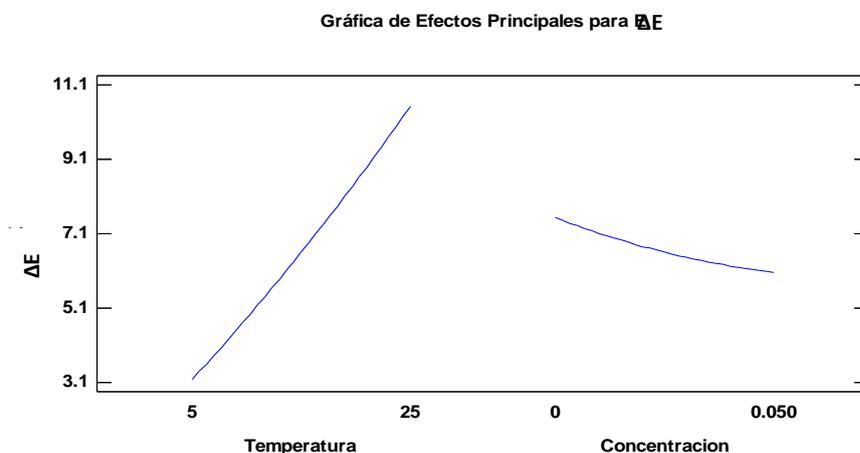


Figura 8. Grafica de efectos principales para la variación total del color ( $\Delta E$ )

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 9, donde se observa un incremento de la variación total del color con respecto a la temperatura y una disminución gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose el valor óptimo equivalente a 2.63897 de variación total del color ( $\Delta E$ ) a una temperatura de 5°C y una concentración de 0.050% bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor concentración de bacterias ácido lácticas cumplen la función de inhibir el desarrollo de bacterias patógenas que alteran la coloración de las muestras.

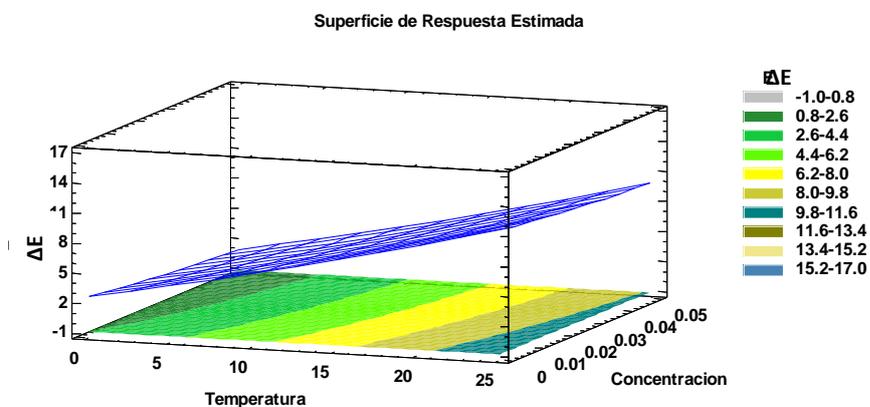


Figura 9. Estimación de superficie de respuesta de la variación total del color ( $\Delta E$ )

Con los resultados obtenidos en la Tabla 22 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 15 del Anexo 1, en donde se aprecia que la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas afectaron significativamente.

#### **4.2.4 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de bacterias ácido lácticas en la carne de ovino envasado al vacío**

En la Figura 10, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de bacterias ácido lácticas en la carne de ovino, en donde se observa que ambos factores dan línea con pendiente positiva lo que indica que el recuento de bacterias ácido lácticas es mayor cuando se mantiene en el nivel alto, además el efecto más influyente en el recuento de bacterias ácido lácticas fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas, a medida que aumenta la temperatura, el recuento de bacterias ácido lácticas también aumenta. Estos resultados son similares comparados con Flores (2012) quien en su estudio en carne de alpaca adicionada con bacterias lácticas, encontró a una temperatura de 13°C de  $1.9 \times 10^4$  ufc/g y a 3°C encontró  $9.3 \times 10^3$  ufc/g. Los resultados del presente estudio y el autor antes mencionado se aprecia que a mayor temperatura se tiene mayor número de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor temperatura, es mayor el desarrollo de bacterias ácido lácticas que a temperaturas bajas.

El crecimiento de bacterias ácido lácticas en la carne envasado al vacío es deseable ya que inhiben el desarrollo de microorganismo alterantes y patógenos de la carne y a la vez son tolerantes a pH bajos como lo indican Delgado y Quartino (2013). Del mismo modo Jara (2007) menciona que las bacterias ácido lácticas en la carne envasado al vacío poseen la capacidad de inhibir a otras bacterias, porque al desarrollarse acidifican el medio con un descenso del pH.

Asimismo estos resultados son similares comparados con Flores (2012) quien encontró a una concentración de 0.002% de bacterias lácticas  $2.1 \times 10^4$  ufc/g, a 0.0003% de  $1.4 \times 10^4$  ufc/g y a 0.000% de  $7.0 \times 10^2$  ufc/g. Los resultados

obtenidos en el presente estudio y del autor antes mencionado se aprecia que a mayor concentración se obtiene mayor número de bacterias ácido lácticas que a menor concentración. Este efecto puede ser atribuido a la concentración utilizada de bacterias ácido lácticas en las muestras ya que a una mayor concentración de bacterias ácido lácticas hay un mayor desarrollo. Al respecto Zamora (2003) afirma que las bacterias ácido lácticas forman parte de la microbiota inicial de muchos alimentos y no existe ninguna indicación de que representa un riesgo para la salud del consumidor y son consideradas como seguras. Además se sabe que pueden tener un efecto positivo en la salud del consumidor.

Por otro lado, Gómez (2013) indica que las sustancias antimicrobianas producidas por las bacterias lácticas, las bacteriocinas son las más interesantes tecnológicamente para la bioconservación de los alimentos ya que por su naturaleza proteica podría ser degradada por las enzimas proteolíticas del tracto gastrointestinal mientras que permanecen activas en los sustratos alimenticios. Del mismo modo Vásquez et al. (2009) mencionan que las bacteriocinas se inactivan al menos por un enzima proteolítica de origen pancreático (tripsina y alfa quimiotripsina) y gástrico (pepsina), característica que hace de estos metabolitos bacterianos, sustancias seguras para ser incluidas como biopreservantes de los alimentos, puesto que serían inactivadas durante su paso por el tracto gastrointestinal sin ser absorbidos como compuestos activos y sin causar por tanto los riesgos.

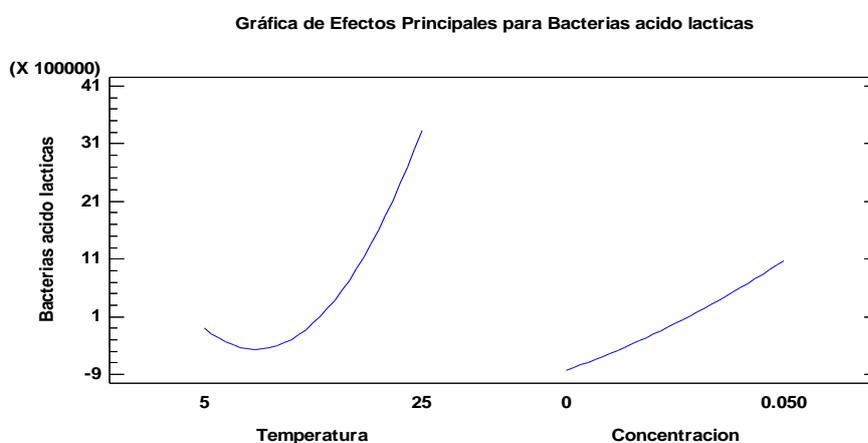


Figura 10. Gráfica de efectos principales para bacterias ácido lácticas

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 11, donde se observa un incremento con respecto a la temperatura y un incremento gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose un valor óptimo equivalente a  $5.83934 \times 10^6$  ufc/g a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  y concentración de 0.05% de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor temperatura el desarrollo de bacterias ácido lácticas es mayor debido a que se convierten en la flora predominante en condiciones del envasado al vacío.

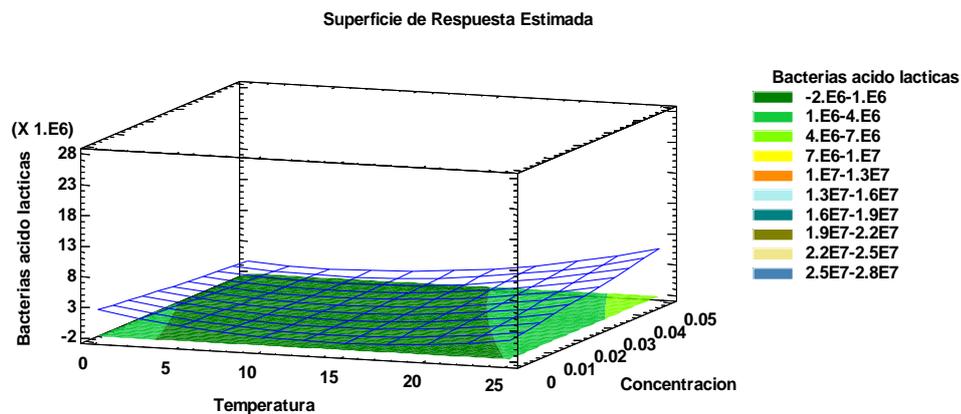


Figura 11. Estimación de superficie de respuesta de bacterias ácido lácticas

Con los resultados obtenidos en la Tabla 23 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 16 del Anexo 1, en donde se aprecia la temperatura afectó significativamente, mientras que la concentración de bacterias ácido lácticas no afectó significativamente.

#### 4.2.5 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de coliformes totales en la carne de ovino envasado al vacío

En la Figura 12, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de coliformes totales en la carne de ovino, en donde se observa que el factor temperatura presenta línea con pendiente positiva lo que indica que el recuento de coliformes totales es mayor cuando se mantiene en el nivel alto, mientras que el factor concentración de bacterias ácido lácticas presenta línea con pendiente negativa lo que indica que existe una mayor cantidad cuando se

mantiene en nivel bajo, además el efecto más influyente en el recuento de coliformes totales fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser influenciado por diversos factores como; la carga inicial, temperatura, presencia de oxígeno y tiempo de almacenamiento. A temperaturas superiores a la refrigeración hay proliferación de coliformes totales, mientras que a temperaturas bajas su crecimiento es lento. Asimismo una mayor concentración de bacterias ácido lácticas afecta el desarrollo de coliformes totales retardando su crecimiento.

Por otro lado el tiempo de almacenamiento influye en el recuento de coliformes totales como se observa en la investigación realizada por Mateauda (2013) quien en su estudio en carne de bovino a 0°C encontró un valor inicial de 1.82 log ufc/g, a los 14 días 2.33 log ufc/g y a los 142 días 5.87 log ufc/g de coliformes totales. De la misma manera Delgado y Quartino (2013) en su estudio en carne de bovino envasada al vacío y mantenida a 0°C encontraron un valor inicial de coliformes totales de 1.8010 log ufc/g, a los 15 días 1.5396 log ufc/g y esta creció gradualmente hasta el día 120 llegando a 3.1901 log ufc/g. Los resultados obtenidos del presente estudio y de los autores antes mencionados se aprecia un incremento en el recuento de coliformes con respecto al tiempo de almacenamiento. Este efecto puede ser atribuido al tiempo de almacenamiento, cuanto más prolongado sea el tiempo de almacenamiento su desarrollo es mayor ya que se convierte en flora dominante convirtiéndolo en producto inaceptable.

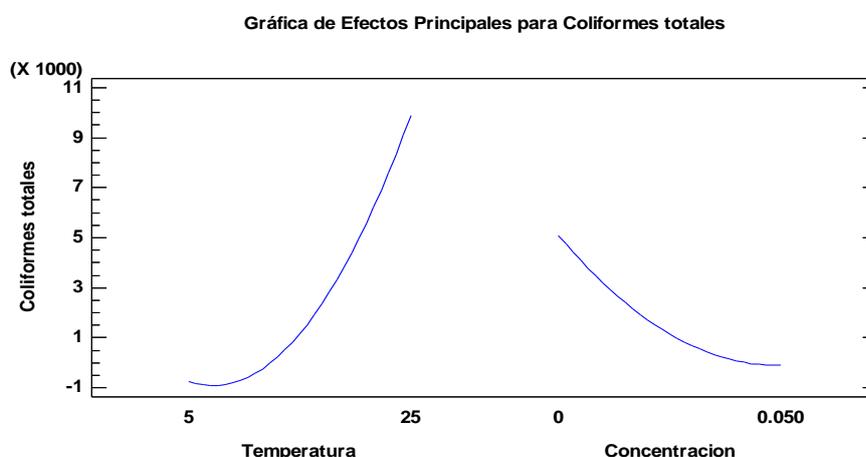


Figura 12. Gráfica de efectos principales para coliformes totales

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 13, donde se observa un incremento con respecto a la temperatura y una disminución gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose un valor óptimo de 915.54 ufc/g de coliformes totales a una temperatura de 7.58°C y una concentración de 0.03% de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor temperatura y días de almacenamiento el desarrollo de coliformes totales es mayor debido a que estas condiciones son favorables para su desarrollo. Mientras que a mayor concentración de bacterias ácido lácticas su desarrollo es lento debido a que se convierten en una barrera.

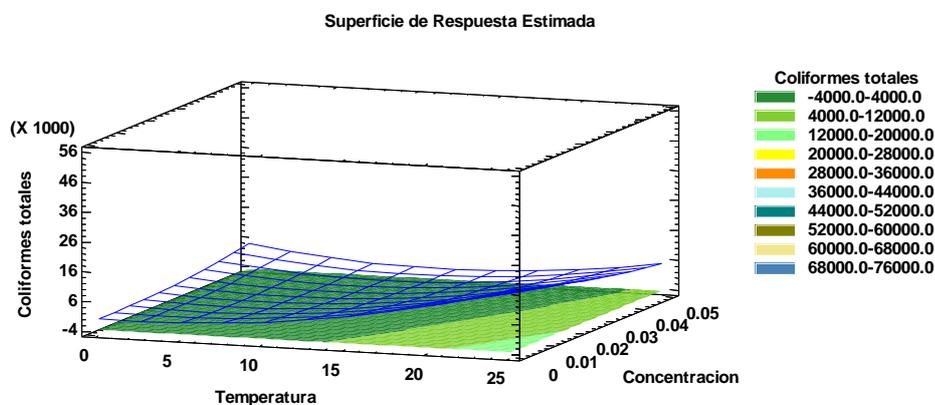


Figura 13. Estimación de superficie de respuesta de coliformes totales

Con los resultados obtenidos en la Tabla 24 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 17 del Anexo 1, en donde se aprecia que la temperatura y la concentración de bacterias ácido lácticas afectaron significativamente.

#### 4.2.6 Efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de *Pseudomona aeruginosa* en la carne de ovino envasado al vacío

En la Figura 14, se presenta la representación gráfica del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en el recuento de *Pseudomona aeruginosa* en la carne de ovino, en donde se observa que el factor temperatura presenta línea con pendiente positiva lo que indica que hay mayor desarrollo de *Pseudomona aeruginosa* cuando se mantiene en el nivel alto, mientras que el factor concentración de bacterias ácido lácticas presenta

línea con pendiente negativa lo que indica que hay un mayor desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa* cuando se mantiene en el nivel bajo, además el factor más influyente fue la temperatura seguido por la concentración de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser debido a que temperaturas superiores a la refrigeración favorecen a la proliferación de *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que a temperaturas bajas con adición de bacterias ácido lácticas su crecimiento es lento. El crecimiento de *Pseudomonas* es lento a temperatura bajas junto con el envasado al vacío ya que hay una disponibilidad limitada de oxígeno como lo afirman Mendoza (2008) y Puentes (2004). En condiciones de refrigeración el crecimiento de microorganismos patógenos es inhibido ya que las bacterias ácido lácticas se transforman en el componente dominante de la flora microbiana durante el almacenamiento de la carne.

Al respecto Gonzáles et al. (2003) afirman que las *Pseudomonas* son responsables del aumento de pH que se observa corrientemente en la fase que sigue a la de agotamiento de la glucosa. También señala que una vez que se han agotado la glucosa, las *Pseudomonas* comienzan a degradar sustratos como los aminoácidos y el ácido láctico, produciendo sulfuros odoríferos, ésteres, ácidos y aminas. Las proteínas de la carne solo son atacadas en una fase avanzada de desarrollo microbiano, cuando ya se han agotado los constituyentes cárnicos más sencillos. Es decir las enzimas proteolíticas no se producen hasta que la población de bacterias psicrotrofas alcanza el final de la fase logarítmica de crecimiento de  $10^8$  ufc/g.

Por otro lado Delgado y Quartino (2013) mencionan que la formación del limo y la producción de malos olores se detectan cuando la población alcanza un valor de  $10^7$  ufc/g. También indica que las *Pseudomonas* son una de las principales responsables de la alteración de productos cárnicos almacenados incorrectamente en condiciones de aerobiosis.

Asimismo el tiempo de almacenamiento afecta en el recuento de *Pseudomonas aeruginosa* como se observa en el estudio realizado por Mateauda (2013) quien encontró un valor inicial de 1.39 log ufc/g, a los 14 días 3.68 log ufc/g y a los 142 días 7.08 log ufc/g de *Pseudomonas*. Sin embargo Delgado y Quartino (2013) en su estudio en carne de bovino mantenida a 0°C

no encontraron presencia de *Pseudomonas* hasta los 30 días y posterior a ello observaron un crecimiento gradual hasta obtener a los 120 días 2.33 log ufc/g de *Pseudomonas*. Los resultados obtenidos del presente estudio y de los autores antes mencionados se aprecia que a mayor tiempo de almacenamiento su desarrollo se incrementa. Este efecto puede ser atribuido al tiempo de almacenamiento, cuanto mayor sea la prolongación del tiempo mayor será su desarrollo.

Sin embargo Mateauda (2013) menciona que las *Pseudomonas* están particularmente involucradas en el deterioro de la carne a temperaturas de refrigeración en condiciones de aerobiosis. También indica que si no se consigue evacuar todo el oxígeno en el envase las *Pseudomonas* proliferaran y alteraran la carne de igual modo que en condiciones aerobias. Por otro lado Rodríguez (2006) indica que inicialmente las *Pseudomonas* utilizan los hidratos de carbono como fuente de carbono y energía. Cuando estos se agotan metabolizan los aminoácidos lo que se traduce en la producción de amoniaco y otro compuesto responsable de un incremento de pH. La utilización de los aminoácidos da lugar a la aparición de los compuestos responsables de olores y sabores desagradables.

Gráfica de Efectos Principales para *Pseudomona aeruginosa*

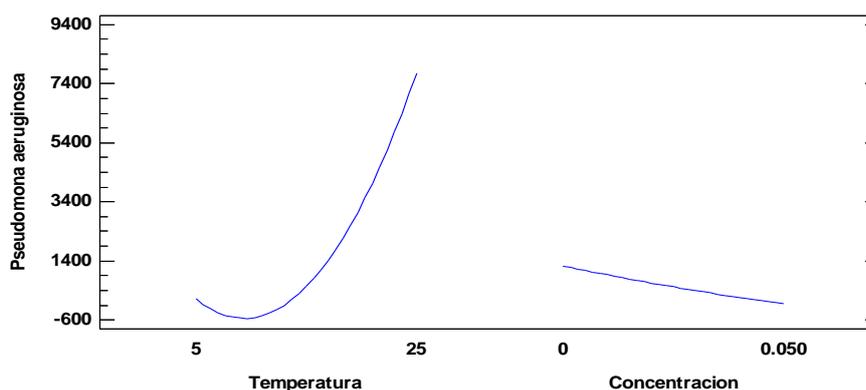


Figura 14. Gráfica de efectos principales para *Pseudomona aeruginosa*

De la misma forma se puede apreciar de mejor forma estos resultados en la superficie de respuesta en la Figura 15, donde se observa un incremento con respecto a la temperatura y una disminución gradual con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas, encontrándose el valor óptimo

equivalente a 686.71 ufc/g de *Pseudomona aeruginosa* a una temperatura de 10.69 °C y una concentración de 0.05% de bacterias ácido lácticas. Este efecto puede ser atribuido a que a mayor temperatura el desarrollo de *Pseudomona aeruginosa* es mayor debido a que estas condiciones son favorables para su desarrollo. Mientras que a mayor concentración de bacterias ácido lácticas su desarrollo es lento debido a que se convierten en una barrera.

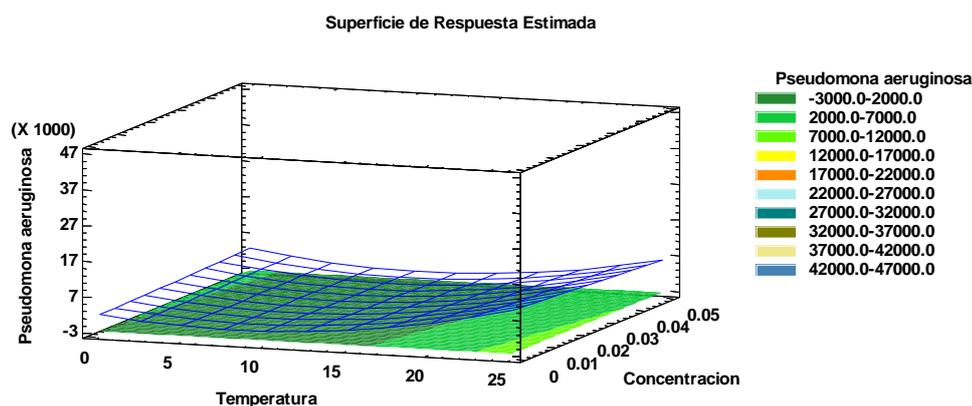


Figura 15. Estimación de superficie de respuesta de *Pseudomona aeruginosa*

Con los resultados obtenidos en la Tabla 25 del Anexo 2, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en la Tabla 18 del Anexo 1, en donde se aprecia que la temperatura afectó significativamente, mientras que la concentración de bacterias ácido lácticas no afectó significativamente.

#### 4.3 Determinación de la vida útil de la carne de ovino con bacterias ácido lácticas envasado al vacío

En la Tabla 11 y 12, se presenta los valores de K1 y K2 obtenidos por regresión lineal y exponencial (para reacciones de orden cero y primer orden respectivamente), son diferentes para cada concentración y temperatura de almacenamiento. Se ajusta mejor ( $R^2 > 0.90$ ) a la reacción de orden cero (K1). Los valores K representan las constantes de velocidad de crecimiento microbiano de coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa*, por tanto está directamente relacionado con la vida útil del producto.

En la Tabla 11, se presenta la vida útil estimado para la carne de ovino envasado al vacío con diferentes concentraciones de bacterias ácido lácticas y diferentes temperaturas, es así que se puede observar a una mayor

concentración de bacterias ácido lácticas presentó mayor tiempo de vida útil como: a 0.000% se logró obtener 12.80 días, mientras con 0.025% se logró alcanzar 16.71 días y con 0.050% 18.48 días.

**Tabla 11. Valores de k y tiempos de vida útil de carne de ovino envasado al vacío en función a valores de coliformes totales**

CONCENTRACION DE BACTERIAS LACTICAS (%)	TEMPERATURA (°C)	VALORES DE K Y R <sup>2</sup>				TIEMPO DE VIDA (días)	
		K1	R <sup>2</sup>	K2	R <sup>2</sup>	K1	K2
0.000%	5	0.2344	0.99	0.0949	0.98	12.80	10.49
	15	0.6335	0.97	0.1832	0.98	4.74	7.36
	25	0.6907	0.94	0.1870	0.92	4.34	5.28
0.025%	5	0.1795	0.99	0.0773	0.99	16.71	13.20
	15	0.4368	0.94	0.1437	0.93	6.87	8.91
	25	0.5736	0.96	0.1646	0.93	5.23	6.17
0.050%	5	0.1623	0.95	0.0709	0.96	18.48	13.20
	15	0.4662	0.90	0.1642	0.85	6.44	8.91
	25	0.5157	0.92	0.1530	0.90	5.80	6.17

Fuente: Estimados en base a la Figura 16 y 17

De este trabajo se puede resaltar que la mayor vida útil (18.48 días) en carne de ovino en función a coliformes totales es con una concentración de 0.050% de bacterias ácido lácticas a una temperatura de 5°C. Este resultado es mayor a comparación con los estudios realizados por otros autores quienes trabajaron en función a coliformes y *Pseudomonas* como de Flores, et al. (2011) quienes determinaron la vida útil en carne de res picada empacada al vacío obteniendo una vida útil de 14 días a una temperatura de 5°C. De la misma forma Mendoza (2008) encontró una vida útil de 16 días a temperatura de 4°C para carne de conejo empacada al vacío. Sin embargo nuestro resultado obtenido es menor comparado con Puentes (2004) quien en carne de res con pH de 5.8 – 6.1, envasado al vacío obtuvo una vida útil de 28 días almacenada a 4°C. De la misma forma Delgado y Quartino (2013) evaluaron el comportamiento microbiológico de cortes de bovinos envasado al vacío a temperaturas de refrigeración de 0°C en donde encontraron que hasta el día 90 los recuentos totales de microorganismos como coliformes y *Pseudomonas* eran inferiores de los límites de aceptación. Las diferencias encontradas en la determinación de vida útil por autores mencionados, puede ser debido a diferentes factores como: la temperatura, pH, Aw, carga microbiana inicial,

especie de animal, tipo de corte, edad del animal y condiciones de envasado así como el envasado al vacío.

Por otro lado Mendoza (2008) indica que la temperatura de almacenamiento es uno de los factores más importantes para ampliar la vida útil de cualquier alimento. Las temperaturas bajas se emplean para retardar las reacciones químicas y la actividad de las enzimas de los alimentos, así como para retardar o detener la multiplicación y la actividad de los microorganismos existentes en los mismos. Asimismo Lama (2002) indica que el envasado al vacío es la tecnología utilizada que pretende extender el periodo de almacenamiento de las carnes de vacuno de 10 - 12 semanas si es mantenida a 0°C.

En la Figura 16 y 17, se observa el comportamiento del recuento de coliformes totales respecto a la temperatura (5, 15 y 25°C), concentración de bacterias ácido lácticas (0.000, 0.025 y 0.050%) y tiempo de almacenamiento (1, 2, 3, 4 y 5 días). Se aprecia que al día 1 no hubo presencia de coliformes totales en las muestras evaluadas, mientras que al día 2 se tuvo su presencia a temperatura de 25°C y a partir del día 3 hubo presencia en las tres temperaturas evaluadas como se muestra en los gráficos. Este efecto puede deberse a que a temperaturas altas su desarrollo es mayor, mientras que a temperaturas bajas su desarrollo es menor debido a que limitan su desarrollo en condiciones de envasado al vacío. De los gráficos se obtiene la velocidad de reacción que es la pendiente obtenida a través del ajuste de regresión lineal para cada temperatura y concentración evaluada en el presente estudio, las cuales fueron útiles para determinar la vida útil de la carne de ovino envasado al vacío.

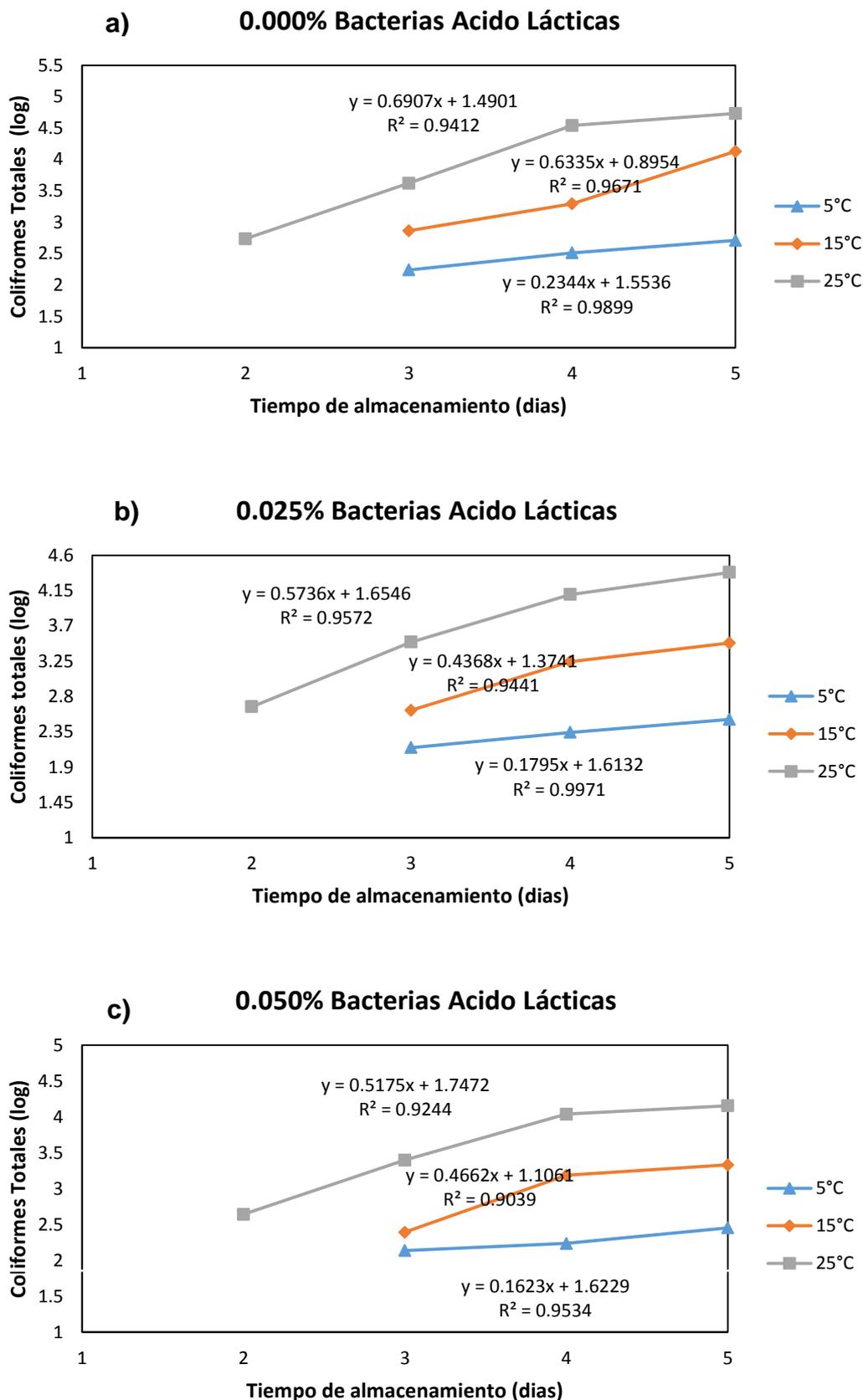


Figura 16. Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=0, a partir del comportamiento del recuento de coliformes totales a través del tiempo

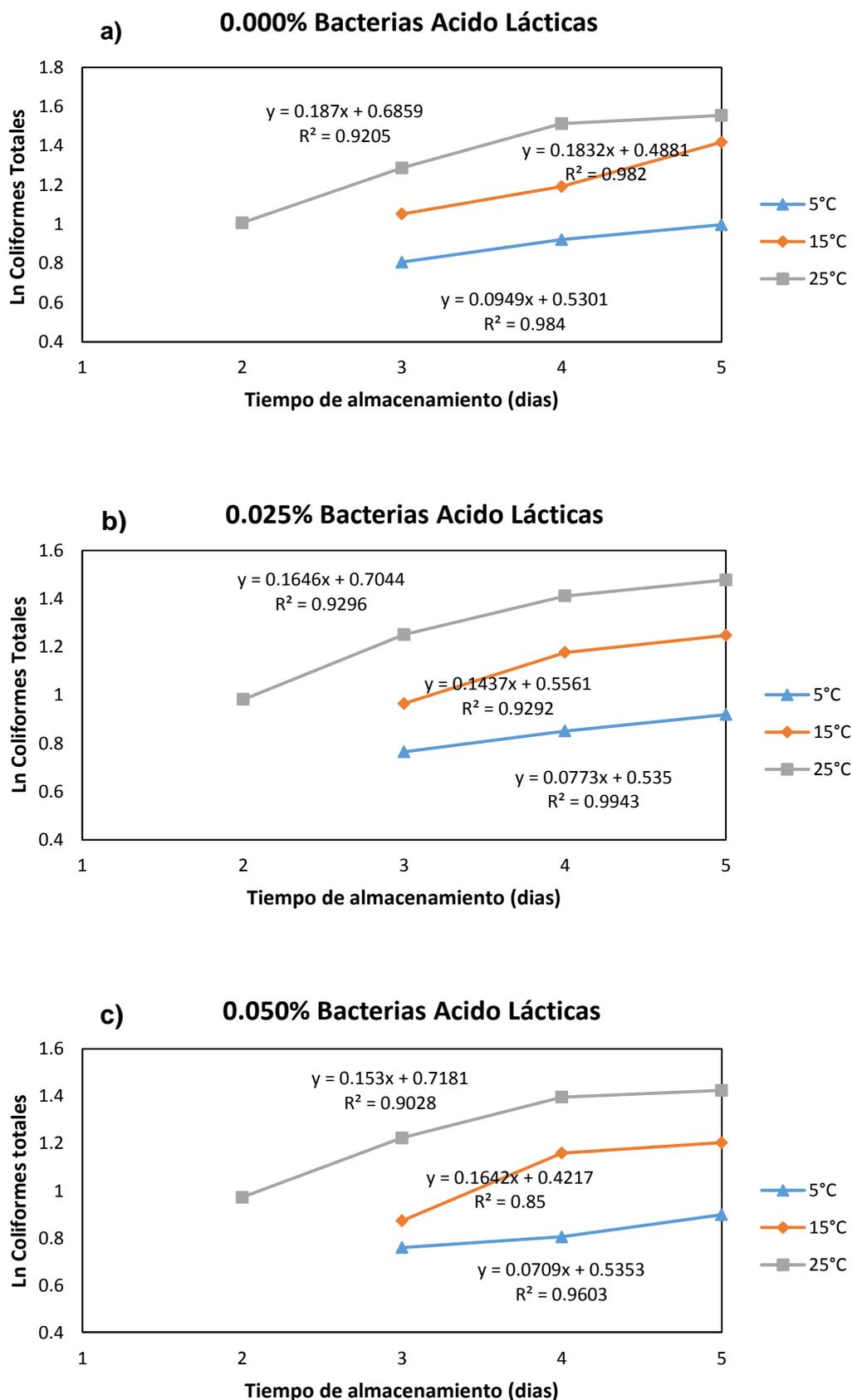


Figura 17. Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=1, a partir del comportamiento del recuento de coliformes totales a través del tiempo

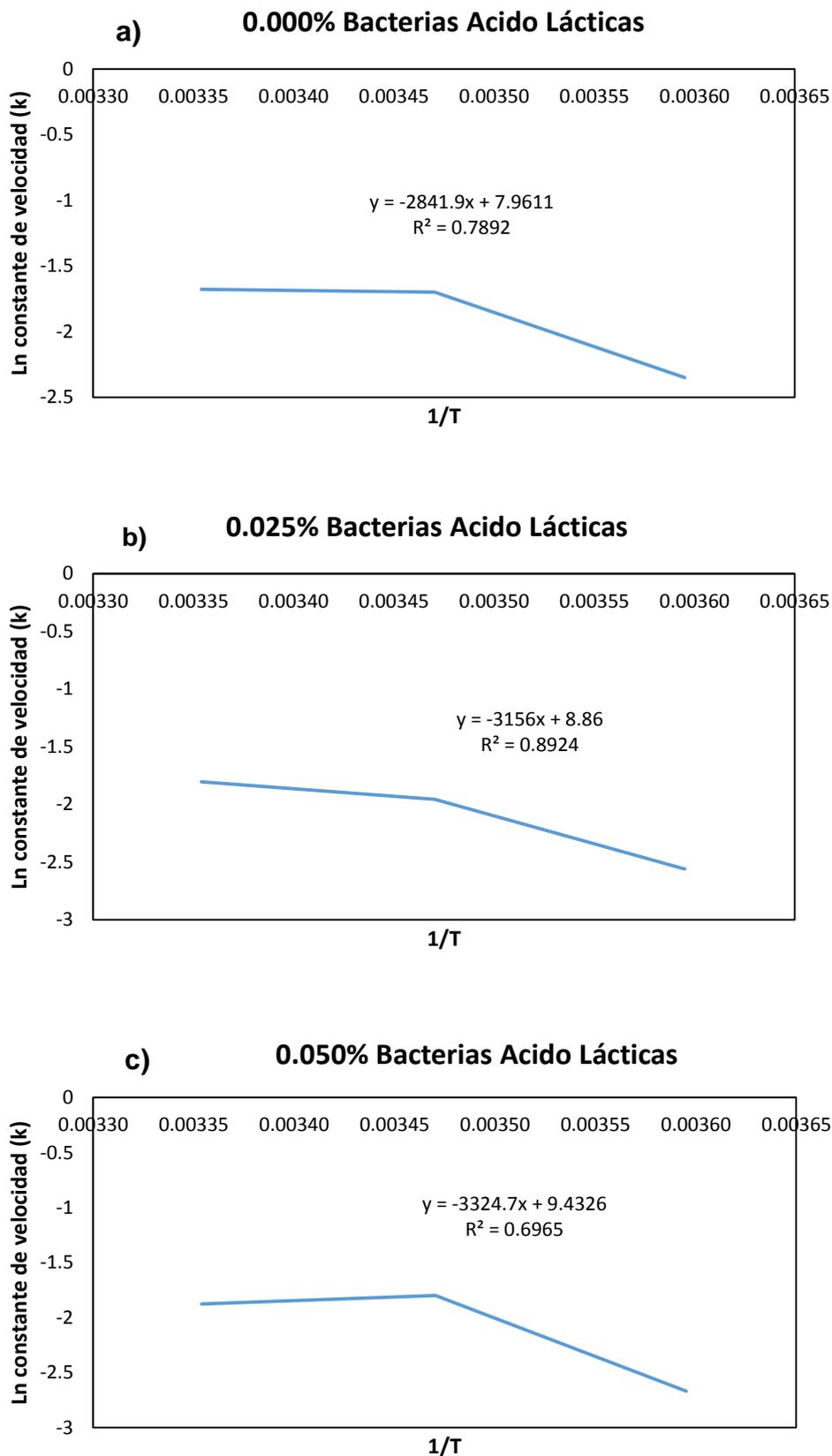


Figura 18. Gráfico de Ln k en función de 1/T para coliformes totales

**Tabla 12. Valores de k y tiempos de vida útil de carne de ovino envasado al vacío en función a valores de *Pseudomona aeruginosa***

CONCENTRACION DE BACTERIAS LACTICAS (%)	TEMPERATURA (°C)	VALORES DE K Y R <sup>2</sup>				TIEMPO DE VIDA (días)	
		K1	R <sup>2</sup>	K2	R <sup>2</sup>	K1	K2
0.000%	5	0.3010	0.95	0.127 2	0.94	13.29	11.23
	15	0.4263	0.90	0.1436	0.81	9.38	9.07
	25	0.6776	0.96	0.1925	0.96	5.90	7.44
0.025%	5	0.2567	0.91	0.1112	0.90	16.21	12.85
	15	0.3937	0.90	0.1373	0.86	10.16	9.48
	25	0.6837	0.94	0.2004	0.94	5.84	7.14
0.050%	5	0.2029	0.92	0.0960	0.82	19.71	15.02
	15	0.4095	0.91	0.1452	0.76	9.77	9.92
	25	0.6705	0.93	0.2018	0.93	5.97	6.73

Fuente: Estimados en base a la Figura 19 y 20

En la Tabla 12, se presenta la vida útil estimada para la carne de ovino envasado al vacío con diferentes concentraciones de bacterias ácido lácticas y diferentes temperaturas, es así que se puede observar a mayor concentración de bacterias ácido lácticas presentó mayor tiempo de vida útil como: a 0.000% se logró obtener 13.29 días, mientras con 0.025% se logró alcanzar 16.21 días y con 0.050% 19.71 días a 5°C. De este trabajo se puede resaltar que la mayor vida útil (19.71 días) en carne de ovino es con una concentración alta (0.050%) de bacterias ácido lácticas a una menor temperatura (5°C). Ese resultado es mayor comparado con Lorenzo et al. (2011) quienes estimaron la vida útil de la carne obtenida a partir de canales de gallina mediante el recuento de aerobios mesofilos totales, psicrotrofos, *Pseudomonas*, bacterias ácido lácticas, *Enterobacteriaceae* y *E. coli*, envasadas en bandejas y termoselladas con film PE, almacenadas a 4°C y encontraron una vida útil de 13 días. Sin embargo nuestro resultado es menor comparado con Jara (2007) quien en su estudio de determinación de la durabilidad de la carne de corte oscuro de bovino almacenado a 0°C en función a *Brochothrix thermosphacta* y Enterobacterias, encontró que la carne mantuvo las condiciones óptimas en cuanto a las características microbiológicas y sensoriales hasta los 45 días. La diferencia en la determinación de vida útil entre los resultados del presente estudio y autores antes mencionados puede ser atribuido a diversos factores como: especie de

animal, microorganismos en estudio, referencia de normas, temperaturas sometidas, tipo de envase.

Por otro lado Mateauda (2013) indica que uno de los parámetros fundamentales para asegurar la vida útil de la carne fresca es la temperatura de refrigeración ya que tiene un efecto directo en la velocidad de crecimiento microbiano el cual es acumulativo en el tiempo. Del mismo modo señala que para tener éxito en la extensión de la vida útil de la carne al vacío y lograr un almacenamiento de ocho a más semanas, la temperatura de la carne deberá ser más cercana a los 0°C. Además los animales antes del sacrificio no deben haber estado sometidos a ningún tipo de estrés y el enfriamiento post mortem debe haber sido adecuado.

De las Tablas 11 y 12 de la estimación de la vida útil para carne de ovino adicionada con bacterias ácido lácticas y sometida a diferentes temperaturas de almacenamiento en función del recuento de coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa*, se observa que las muestras con mayor concentración de bacterias ácido lácticas y menor temperatura de almacenamiento presentaron una mayor vida útil, en este caso se encontró una vida útil de 19.71 días. Este efecto se debe a que las bacterias ácido lácticas poseen propiedades antibacteriales debido a que producen principalmente ácido láctico y bacteriocinas, en condiciones de envasado al vacío son fuertes competidores frente a otros patógenos.

En la Figura 19 y 20, se observa el comportamiento del recuento de *Pseudomona aeruginosa* respecto a la temperatura (5, 15 y 25°C), concentración de bacterias ácido lácticas (0.000, 0.025 y 0.050%) y tiempo de almacenamiento (1, 2, 3, 4 y 5 días). Se aprecia que al día 1 no hubo presencia de *Pseudomona aeruginosa* en las muestras evaluadas, mientras que al día 2 se tuvo su presencia a temperatura de 25°C y a partir del día 3 hubo presencia en las tres temperaturas evaluadas. Este efecto puede deberse a que a temperaturas altas su desarrollo es mayor que a temperaturas bajas debido a que limitan su desarrollo en condiciones de envasado al vacío. De los gráficos se obtiene la velocidad de reacción que es la pendiente obtenida través del

ajuste de regresión lineal para cada temperatura y concentración, las cuales fueron útiles para determinar la vida útil de la carne de ovino envasado al vacío.

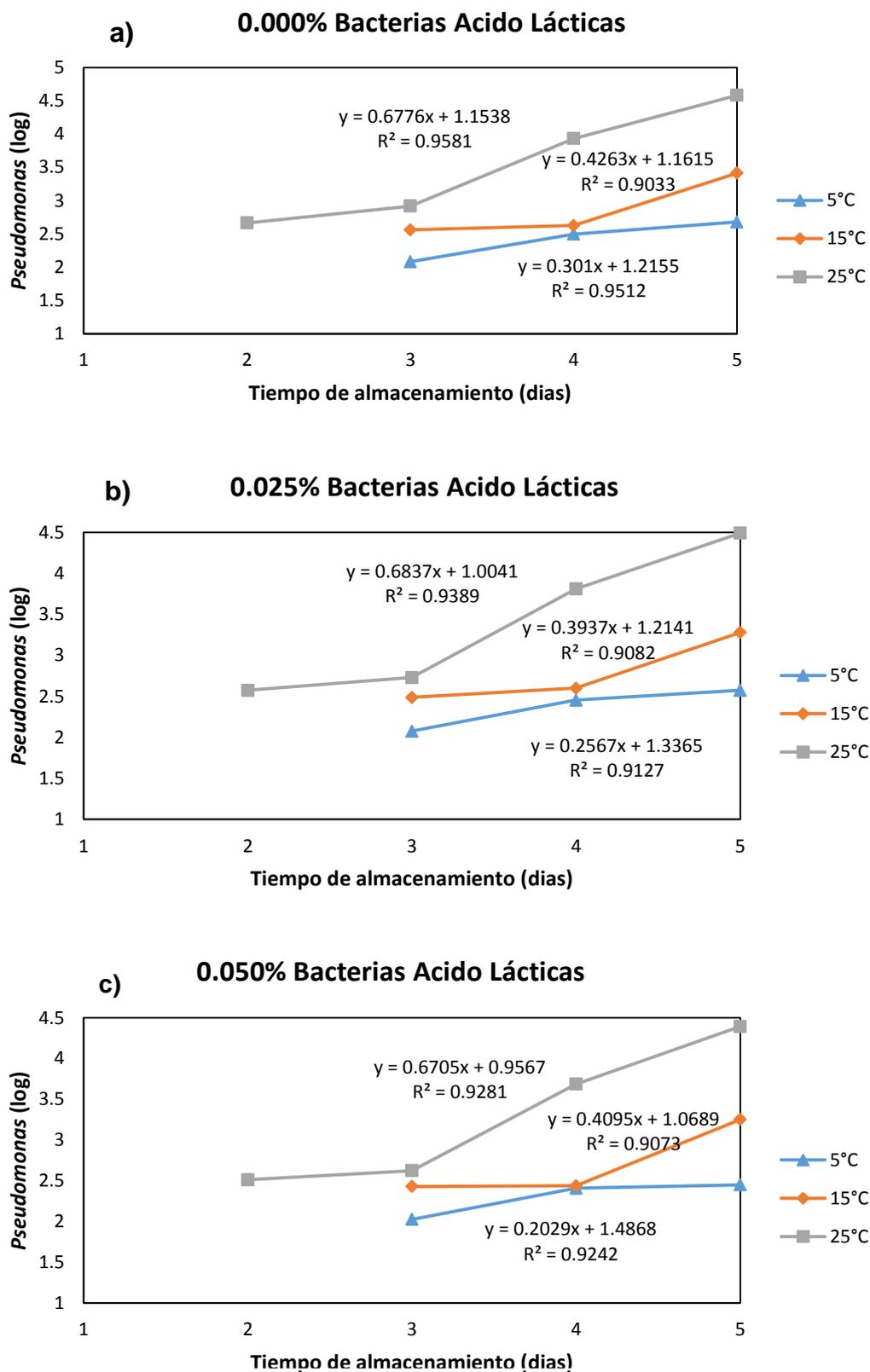


Figura 19. Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=0, a partir del comportamiento del recuento de *Pseudomona aeruginosa* a través del tiempo

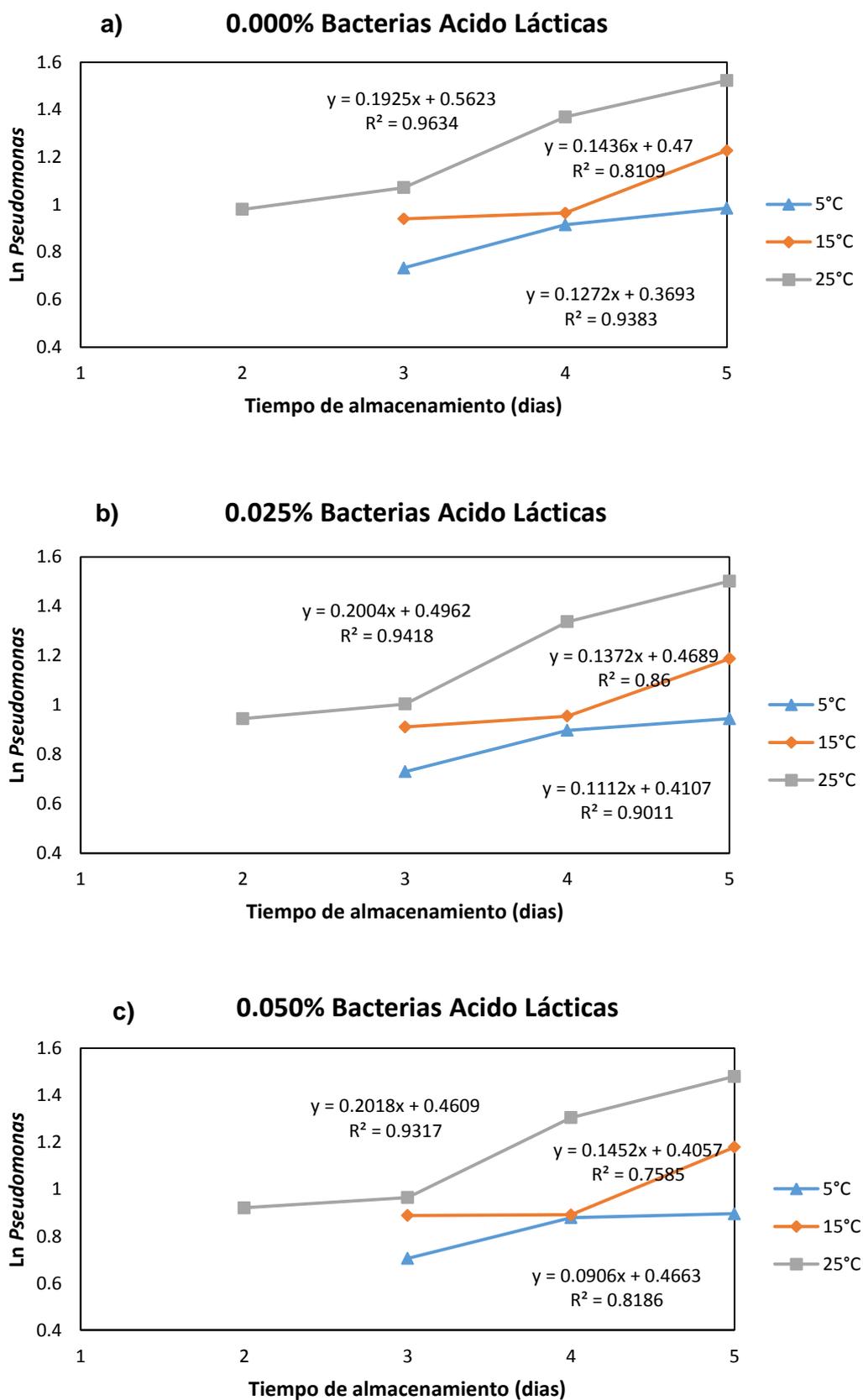


Figura 20. Obtención de la velocidad de reacción (k) para n=1, a partir del comportamiento del recuento de *Pseudomona aeruginosa* a través del tiempo

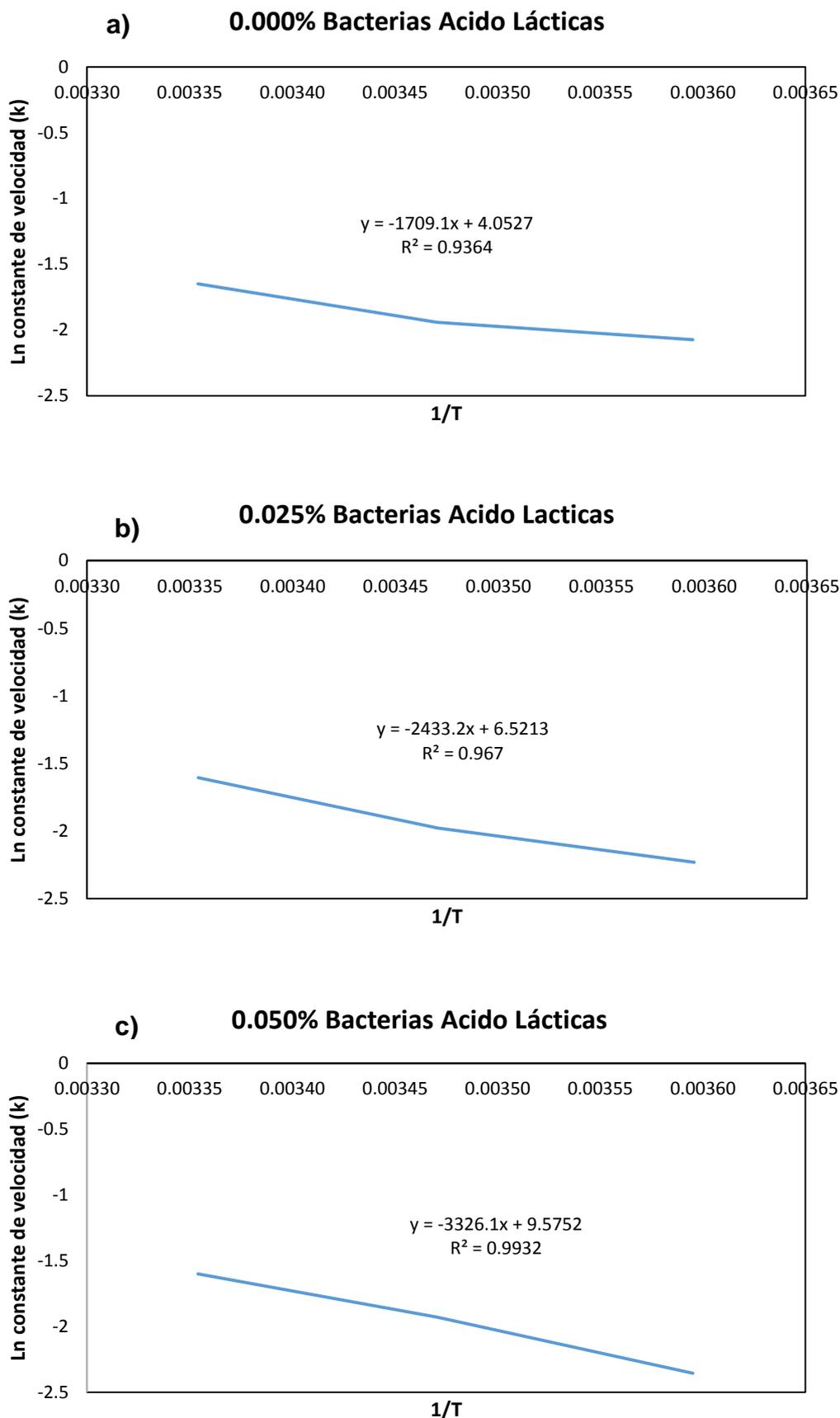


Figura 21. Gráfico de Ln k en función de 1/T para *Pseudomona aeruginosa*

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación de la conservación de la carne de ovino con adición de bacterias ácido lácticas y envasado al vacío se concluye lo siguiente:

- La temperatura afectó significativamente en la acidez, pH, variación total del color, bacterias ácido lácticas, coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa*. En cuanto a la concentración de bacterias ácido lácticas afectó en la acidez, variación total del color y coliformes totales, mientras que en el pH, bacterias ácido lácticas y *Pseudomona aeruginosa* no afectó significativamente.
- El mayor tiempo de vida útil fue con una concentración de 0.050% de bacterias ácido lácticas a una temperatura de 5°C presentando 19.71 días de vida útil. Se prolongó la vida útil en la carne de ovino con adición de bacterias ácido lácticas en 6 días a comparación con la muestra control.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios con la aplicación de bacterias ácido lácticas en diferentes productos y envasados en diferentes tipos de envase con control de las condiciones del envasado (atmosferas modificadas).

Se recomienda realizar investigaciones en carnes de diferentes animales con diferentes cepas de bacterias ácido lácticas homofermentativas a diferentes concentraciones.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Agudelo, N., Torres, M., Alvarez, C. y Velez, L. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 23, 186-205.
- Alencastre, R. (2009). El ovino criollo. Perú: Universidad Nacional del Altiplano.
- Alvarez, E. (2011). *Efectos del Lactobacillus casei ATCC 393 sobre el Escherichia coli durante la vida comercial del queso fresco*. Tesis para optar el título de Ingeniero de Alimentos, Universidad Nacional del Callao, Callao, Perú.
- Amorocho, C. (2011). *Caracterización y potencial probiótico de bacterias lácticas aisladas de leche de oveja Guirra*. Tesis para optar el grado de doctor, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Barrera, J. (2012). *Determinación de vida útil de la leche cruda envasada y después pasteurizada (LTLT) vs. leches pasteurizadas y envasadas por procedimientos tradicionales*. Tesis para optar el grado de Licenciado en Ciencia de los Alimentos, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Barrios, M. (2007). Ovinocultura enfocada hacia la producción de carne BACOM Ltda - Rancho de la oveja - Granja demostrativa de ovinos. Bogotá, Colombia: Empresa del sector Agropecuario y Ambiental.
- Benzzo, M. (2005). *Determinación objetiva del color en la elaboración de pastas modelo de embutidos crudo-curados*. Tesis para optar el grado de Magister en Tecnología y Ciencia de los Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, España.
- Cano, T., Peña, F., Martos, J., Domenech, V., Alcalde, M., García, A., Herrera, M., Rodero, E. y Acero, R. (2003). Calidad de la canal y de la carne de corderos ligeros de raza Segureña. *Archivos de Zootecnia*, 52, 315-326.
- Ccopa, L. (2014). *Evaluación de la conservación de filetes de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) envasada con películas biodegradables con la adición de aceite esencial de muña (Menthostachys mollis)*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

- Coloma, A. (2006). *Estudio de la cinética de deterioro y la estabilidad de tres productos elaborados a base de cañihua (Chenopodium pallidicaule A)*. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Poscosecha y Marketing, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.
- Cori, M., Michelangeli, C., Figueroa, R. y Rivas, N. (2014). Solubilidad proteica, contenido de mioglobina, color y pH de la carne de pollo, gallina y codorniz. *Archivos de Zootecnia*, 63, 133-143.
- Cornejo, F., Chuchuca, G., Dick, A. y Peñafiel, J. (2012). *Implementación y validación de una metodología económica para la medición de color aplicada en alimentos*. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Alimentos, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Chacón, A. (2004). Suavidad de la carne: Implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*, 15, 225-243.
- Chagala, A. (2012). *Obtención de aceite de canchichin (Oecopetalum mexicanum) aplicando tecnología emergente*. Tesis para optar el Título de Ingeniero de Alimentos, Universidad Veracruzana, Orizaba, México.
- Chica, B. y Osorio, S. . (2003). *Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en una película de polipropileno biorientado*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
- Delgado, V. y Quartino, L. (2013). *Evaluación de la calidad microbiológica de cortes bovinos envasados al vacío y mantenidos a temperatura de refrigeración*. Tesis para optar el grado de Título de Doctor en Ciencias Veterinarias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Desdémona, E., Soto, S., Santos, E. y Ortega, J. (2012). Características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de la carne de ovino con diferente tiempo de reposo. *Sitio Argentino de Producción Animal*.
- Díaz, M. (2001). *Características de la canal y de la carne de corderos lechales Manchegos*. Tesis para optar el grado de Doctor en Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España.
- Espinales, K. (2012). *Análisis microbiológico para control cualitativo de carne ovina y caprina, seca y salada*. Tesis para optar el grado de Maestría en

Tecnologías en las Ciencias Animales, Instituto Politécnico de Braganca, Braganza, Portugal.

Flores, F. (2012). *Evaluación de la vida útil de filetes de carne de alpaca (Lama pacos) con adición de bacterias lácticas (Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus) envasada al vacío*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

Flores, C. Leal, M. Ruiz, J. Sánchez, E. Moreno, M. Castro, G. y Barboza, Y. (2011). Tiempo de almacenamiento e identificación de bacterias ácido lácticas en carnes de res picada empacada al vacío. *Revista Científica*, 21, 425 - 433.

García, C. (2012). *Evaluación de la acción antimicrobiana de bacteriocinas aisladas a partir de bacterias lácticas*. Tesis para optar el Título de Ingeniero en Ciencias y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma Agraria, Coahuila, México.

Goenaga, I. (2010). *Estabilidad del color de la carne de ternera*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Pública de Navarra, España.

Gómez, B. (2013). *Aislamiento, identificación y actividad antimicrobiana de bacterias lácticas bacteriocinogénicas de origen marino: caracterización bioquímica y genética y producción heteróloga de las curvacinas G14 YG15 de Lactobacillus Curvatus BCS35*. Tesis para optar el grado de Doctor, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

González, B. Gómez, M. y Jiménez, Z. (2003). Bacteriocinas de Probióticos. *Revista salud pública y nutrición*, 4, 2.

Hernández, M. (2013). *Estudio de la durabilidad de cortes de carne envasados al vacío en una planta faenadora del sur de Chile*. Tesis para optar el grado de Título de Médico Veterinario, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Hernández, M., Barancelli, G. y Contreras - Castillo, C. (2011). Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1-11.

- INEI. (2012). *IV Censo Nacional Agropecuario*. Perú.
- Jara, J. (2007). *Efecto del pH sobre la conservación de carne de bovino de corte oscuro (DFD) envasada al vacío, almacenada a 0°C*. Tesis para optar el grado de Licenciado en Ciencia de los Alimentos, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Lama, P. (2002). *Caracterización de una Bacteriocina producida por una bacterias ácido láctica de carne envasada al vacío*. Tesis para optar el grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- López, A. y Jiménez, R. (2008). Bioconservación de carne molida de res y cerdo. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*, 3-9.
- López, C. (2004). *Evaluación de la diversidad genética de razas de ovinos en México el uso de marcadores microsatélites*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias de la Biotecnología Genómica, Instituto Politecnico Nacional, Reynosa, México.
- Lorenzo, J., Garcia, G., Garrido, E., Bermudez, R., Purriños, L. y Garcia, C. (2011). Efecto del tipo de despiece sobre la vida útil de carne de gallinas de desvieje. *XLVIII Simposio Científico de Avicultura*.
- Martín del Campo, C., Gómez, H. y Alaníz, R. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad antagonica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *Red de Revistas Científicas de America Latina, el Caribe, España y Portugal*, 6, 1-17.
- Martín, M. (2013). *Aptitud de distintos sistemas de conservación para la prolongación de la vida útil de carne fresca de cerdo ibérico para el consumo directo y de productos derivados*. Tesis para optar el grado de Doctor, Universidad de Extremadura, Extremadura, España.
- Mata, C. (1999). *Empleo de fermentos lácticos en la fabricación de productos cárnicos*. Tesis para optar el grado de Doctor en Veterinaria, Universidad de Cordoba, Cordoba, España.
- Mateauda, J. (2013). *Estudio de la microflora bacteriana y cambios fisicoquímicos en carne bovina envasada al vacío y almacenada en frío*. Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica, Universidad de la republica Uruguay, Uruguay.

- Mendoza, B. (2008). *Conservación de carne de conejo empacada a vacío*. Tesis para optar el Título de Químico en Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.
- Merma, A. (2014). *Conservación del ketchup de tomate de árbol (Cyphomandra betacea) mediante la utilización de aceite esencial de muña (Menthostachys spicata)*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.
- Minor, H., Ponce, E., Macias, S. y Guerrero, I. (2002). Conservación de la carne fresca de cerdo por fermentación láctica: efecto sobre el color, la textura y la formación de los ácidos grasos libres. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 1, 73 - 80.
- MINSA/DIGESA. (2008). *Norma Sanitaria sobre Criterios Microbiológico de calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano*.
- Mora, I. (2014). *Evaluación de características químicas, físicas y sensoriales relacionadas con la calidad alimenticia de los callos de hacha Pinna rugosa y Atrina maura*. Tesis para optar el Título de Ingeniero en Pesquerías, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Baja California Sur, México
- Mossel, D., Moreno, B. y Struijak, c. (1995). *Microbiología de los Alimentos*. (2da ed). España: Editorial Acribia.
- Mujica, F. (2005). *Razas ovinas y caprinas en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias*. Chile.
- Muro, José (2013). *Cadena Productiva de Ovinos*. Perú.
- Ortega, R. (2012). *Caracterización física de mantas elaboradas con carne de cabra Serrana y oveja Churra Galega Braganzana*. Tesis para optar el grado de Maestro en Tecnologías de Ciencia Animal, Escuela Superior Agraria de Braganza, Braganza, Portugal.
- Palomino, C. y Tomé, E. (2012). Biopreservación de productos pesqueros por bacterias ácido lácticas (BAL). *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 19, 108-110.

- Pérez, D. y Andújar, G. (2000). Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Revista Cubana*, 14, 14-23.
- Ponce, E., Hernández, V., Fernández, R., Robledo, K., Espinoza, I. y Cordero, K. (2007). Composición química, características fisicoquímicas de pierna de cordero. *Memorias del Coloquio Nacional en Ciencia y Tecnología de la Carne*.
- Puentes, J. (2004). *Caracterización microbiológica, sensorial y estimación de la durabilidad de carne de bovino con la anomalía de corte oscuro, envasada al vacío*. Tesis para optar de grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Rafael, A. (2014). *Evaluación de la a-ciclodextrina como inhibidor del pardeamiento enzimático en pasta de palta (Persea americana Miller) variedad Fuerte*. Tesis para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.
- Restrepo, D., Arango, C., Amézquita, A. y Restrepo, R. (2001). *Industria de carnes: Microbiología de la carne*. (1ra ed). Medellín, Colombia: Editorial Acribia.
- Retting, M. y Hen, A. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42, 2-7.
- Reviriego, C. (2009). *Lactococcus lactis productores de pediocina PA-1 y enterococos aislados de leche materna como agentes bioconservantes en quesos*. Tesis para optar el grado de Doctor, Universidad Complutense de Madrid, España.
- Ripoll, G., Panea, B. y Alberti, P. (2012). Apreciación visual de la carne bovina y su relación con el espacio de color CIELab. *Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)*, 108, 222-232.
- Rodríguez, J. (2006). *Calidad microbiológica de la carne de conejo y estimación de la eficacia de algunos tratamientos tecnológicos de conservación*. Tesis para optar el grado de doctor en Tecnología en Alimentos, Universidad de león, Castilla y León, España.
- Schobitz, R., De la Vega, J. y Tamayo, R. . (1990). *Calidad microbiológica y sensorial de la carne de vacuno envasada al vacío almacenada a*

*diferentes temperaturas*. Tesis para optar el grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos, España.

Serrano, B. (2011). *Evaluación del comportamiento reproductivo de ovinos de pelo bajo un manejo silvopastoril de la finca San Julian*. Tesis para optar el Título de Médica Veterinaria, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Signorini, M. (2007). Microbiología de carnes envasadas al vacío y la biopreservación como medio para prolongar la vida de anaquel. *Nacameh*, 1, 26-40.

Sueiro, R. (2001). Evaluation of Coli-ID and MUG Plus media for recovering *Escherichia coli* and other coliform bacteria from groundwater samples. *Water Science and Technology*, 43, 213-216.

Valdiviezo, V. (2010). *Estudio del efecto de diferentes niveles de carragenato en la jugosidad de la hamburguesa de carne de res*. Tesis para optar el Título de Licenciado en Gestión Gastronómica, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Vásquez, S., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, 36, 64-71.

Zamora, L. (2003). *Aislamiento, identificación y conservación de cultivos de bacterias lácticas antagonistas de microbiota contaminante de sangre de matadero*. Tesis para optar el grado de doctor, Universidad de Girona, Girona, España.

Zuñiga, F. y Palomares, L. (2016). El potencial redox intracelular y su importancia en biotecnología. *BioTecnología*, 20.

## ANEXO

### Anexo 1. Análisis de varianza (ANOVA) del efecto de la temperatura y concentración de bacterias ácido lácticas en las propiedades fisicoquímicas y recuento microbiológico

**Tabla 13. Análisis de Varianza para Acidez**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Sig.</i>
A:Temperatura	0.180963	1	0.180963	173.40	0.0000	*
B:Concentracion	0.0149633	1	0.0149633	14.34	0.0004	*
AA	0.00792176	1	0.00792176	7.59	0.0078	*
AB	0.004205	1	0.004205	4.03	0.0492	*
BB	0.0000784314	1	0.0000784314	0.08	0.7849	NS
bloques	0.135309	4	0.0338271	32.41	0.0000	*
Error total	0.062618	60	0.00104363			
Total (corr.)	0.406944	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Acidez en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 5 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 14. Análisis de Varianza para pH**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Sig.</i>
A:Temperatura	0.73947	1	0.73947	55.53	0.0000	*
B:Concentracion	0.0136533	1	0.0136533	1.03	0.3153	NS
AA	0.0953934	1	0.0953934	7.16	0.0096	*
AB	0.002205	1	0.002205	0.17	0.6855	NS
BB	0.0000158824	1	0.0000158824	0.00	0.9726	NS
bloques	0.949066	4	0.237266	17.82	0.0000	*
Error total	0.79897	60	0.0133162			
Total (corr.)	2.62006	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de pH en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 15. Análisis de Varianza para la Variación total del color ( $\Delta E$ )**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Sig.</i>
A:Temperatura	403.773	1	403.773	385.97	0.0000	*
B:Concentracion	16.1333	1	16.1333	15.42	0.0002	*
AA	0.846276	1	0.846276	0.81	0.3720	NS
AB	0.000045	1	0.000045	0.00	0.9948	NS
BB	0.524482	1	0.524482	0.50	0.4816	NS
bloques	234.669	4	58.6672	56.08	0.0000	*
Error total	62.7676	60	1.04613			
Total (corr.)	719.674	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de la Variación total del color ( $\Delta E$ ) en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 16. Análisis de Varianza para Bacterias ácido lácticas**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>Sig.</i>
A:Temperatura	8.77278E13	1	8.77278E13	11.76	0.0011	*
B:Concentracion	2.70475E13	1	2.70475E13	3.62	0.0617	NS
AA	3.77641E13	1	3.77641E13	5.06	0.0282	*
AB	4.03909E13	1	4.03909E13	5.41	0.0234	*
BB	2.85836E11	1	2.85836E11	0.04	0.8455	NS
bloques	8.0526E13	4	2.01315E13	2.70	0.0390	*
Error total	4.47714E14	60	7.46189E12			
Total (corr.)	7.32763E14	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Bacterias ácido lácticas en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 17. Análisis de Varianza para Coliformes totales

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>	<b>Sig.</b>
A:Temperatura	8.487E8	1	8.487E8	22.25	0.0000	*
B:Concentracion	2.02774E8	1	2.02774E8	5.32	0.0246	*
AA	1.66255E8	1	1.66255E8	4.36	0.0411	*
AB	2.10309E8	1	2.10309E8	5.51	0.0222	*
BB	2.54656E7	1	2.54656E7	0.67	0.4171	NS
bloques	9.8751E8	4	2.46877E8	6.47	0.0002	*
Error total	2.28829E9	60	3.81381E7			
Total (corr.)	4.83519E9	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Coliformes totales en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 5 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 18. Análisis de Varianza para *Pseudomonas aeruginosa*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>	<b>Sig.</b>
A:Temperatura	4.37657E8	1	4.37657E8	16.12	0.0002	*
B:Concentracion	1.24163E7	1	1.24163E7	0.46	0.5014	NS
AA	1.64675E8	1	1.64675E8	6.07	0.0167	*
AB	1.56645E7	1	1.56645E7	0.58	0.4504	NS
BB	63426.8	1	63426.8	0.00	0.9616	NS
bloques	6.40345E8	4	1.60086E8	5.90	0.0005	*
Error total	1.62865E9	60	2.71442E7			
Total (corr.)	2.93734E9	69				

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de *Pseudomonas aeruginosa* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Anexo 2. Resultados de análisis fisicoquímicos y recuento microbiológico en carne de ovino envasado al vacío**

**Tabla 19. Resultados del análisis de acidez (%) en la carne de ovino**

T °C	Bact. Lact.	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5
5°C	0.000%	0.20	0.21	0.21	0.22	0.23
5°C	0.025%	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23
5°C	0.050%	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24
15°C	0.000%	0.20	0.21	0.25	0.28	0.30
15°C	0.025%	0.22	0.24	0.29	0.30	0.34
15°C	0.050%	0.24	0.26	0.29	0.33	0.36
25°C	0.000%	0.24	0.27	0.33	0.36	0.49
25°C	0.025%	0.25	0.30	0.39	0.45	0.50
25°C	0.050%	0.26	0.34	0.42	0.50	0.53
15°C	0.025%	0.23	0.23	0.27	0.30	0.33
15°C	0.025%	0.22	0.23	0.26	0.28	0.34
15°C	0.025%	0.22	0.25	0.28	0.30	0.32
15°C	0.025%	0.24	0.26	0.27	0.32	0.35
15°C	0.025%	0.23	0.25	0.27	0.31	0.33

**Tabla 20. Resultados del análisis de pH en la carne de ovino**

<b>T °C</b>	<b>Bact. Lact.</b>	<b>DÍA 1</b>	<b>DÍA 2</b>	<b>DÍA 3</b>	<b>DÍA 4</b>	<b>DÍA 5</b>
5°C	0.000%	5.88	5.85	5.82	5.79	5.77
5°C	0.025%	5.86	5.84	5.80	5.77	5.75
5°C	0.050%	5.85	5.83	5.79	5.75	5.74
15°C	0.000%	5.87	5.81	5.70	5.69	5.66
15°C	0.025%	5.83	5.79	5.73	5.66	5.65
15°C	0.050%	5.80	5.78	5.75	5.66	5.61
25°C	0.000%	5.86	5.84	5.64	5.01	5.27
25°C	0.025%	5.83	5.79	5.59	5.11	5.18
25°C	0.050%	5.80	5.76	5.47	5.10	5.13
15°C	0.025%	5.84	5.80	5.71	5.63	5.60
15°C	0.025%	5.85	5.79	5.74	5.70	5.64
15°C	0.025%	5.84	5.80	5.74	5.66	5.62
15°C	0.025%	5.82	5.76	5.70	5.63	5.59
15°C	0.025%	5.85	5.81	5.73	5.68	5.62



T °C	Bact. Lact.	DÍA 4					DÍA 5				
		L	a*	b*	C	H	L	a*	b*	C	H
5°C	0.000%	39.5	12.3	7.6	14.4	31.9	39.6	14.2	8.0	16.3	39.5
5°C	0.025%	39.4	14.0	3.5	14.6	13.7	39.4	8.8	3.9	9.7	39.4
5°C	0.050%	39.2	12.7	3.9	13.2	16.9	39.0	13.7	2.8	13.9	39.2
15°C	0.000%	43.9	12.6	9.3	15.6	36.7	45.8	12.1	11.5	17.2	43.9
15°C	0.025%	43.8	14.7	3.6	15.5	15.3	44.9	12.3	6.8	14.2	43.8
15°C	0.050%	43.2	17.0	2.9	17.3	9.7	44.5	14.2	4.4	15.2	43.2
25°C	0.000%	48.6	12.6	7.3	14.6	29.1	52.1	11.0	7.5	13.9	48.6
25°C	0.025%	47.3	12.8	6.2	14.2	26.4	51.1	10.6	6.4	12.8	47.3
25°C	0.050%	47.7	12.7	2.3	12.9	11.3	50.4	11.5	6.9	13.6	47.7
15°C	0.025%	43.9	9.0	4.5	20.4	26.6	45.1	16.7	5.0	17.4	16.7
15°C	0.025%	44.9	19.8	6.1	30.4	17.1	43.0	12.2	11.7	16.9	43.8
15°C	0.025%	43.4	13.5	8.9	25.8	33.4	44.5	14.1	6.8	15.7	25.7
15°C	0.025%	43.0	14.6	6.7	25.9	24.7	44.3	10.9	5.4	12.2	26.4
15°C	0.025%	42.9	12.4	8.7	24.7	35.1	44.4	18.3	5.6	19.1	17.0

**Tabla 22. Resultados de variación total del color ( $\Delta E$ ) en la carne de ovino**

T °C	Bact. Lact.	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5
5°C	0.000%	1.94	3.61	4.02	4.53	5.10
5°C	0.025%	1.56	3.07	3.86	3.78	4.96
5°C	0.050%	1.46	2.66	3.33	2.18	3.54
15°C	0.000%	4.76	6.67	6.92	9.10	12.18
15°C	0.025%	3.38	5.81	5.85	7.98	8.57
15°C	0.050%	2.70	4.57	6.17	7.77	8.51
25°C	0.000%	6.89	10.75	10.51	12.56	15.83
25°C	0.025%	6.80	10.20	9.99	10.64	15.01
25°C	0.050%	6.56	8.75	9.93	11.33	13.91
15°C	0.025%	4.54	4.25	5.52	7.76	9.18
15°C	0.025%	3.40	5.18	5.93	10.96	9.77
15°C	0.025%	3.64	5.05	7.50	8.12	8.16
15°C	0.025%	4.84	5.33	7.70	6.91	7.60
15°C	0.025%	3.92	5.91	6.84	7.54	9.54

**Tabla 23. Resultados del recuento de Bacterias ácido lácticas (ufc/g) en la carne de ovino**

T °C	Bact. Lact.	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5
5°C	0.000%	320	460	490	1630	2140
5°C	0.025%	340	510	640	2110	2540
5°C	0.050%	410	695	825	2840	3210
15°C	0.000%	395	5310	7290	20500	42100
15°C	0.025%	430	6110	10530	24700	54400
15°C	0.050%	500	6620	13410	45300	67300
25°C	0.000%	895	35800	45500	121000	3690000
25°C	0.025%	9310	37800	132000	3130000	11800000
25°C	0.050%	9865	63400	485000	8660000	23100000
15°C	0.025%	410	5890	7440	35500	56100
15°C	0.025%	465	5630	8310	21300	45500
15°C	0.025%	425	5020	7400	24000	48500
15°C	0.025%	510	5300	7680	38500	53000
15°C	0.025%	540	6350	8920	28700	51400

**Tabla 24. Resultados del recuento de coliformes totales (ufc/g) en la carne de ovino**

T °C	Bact. Lact.	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5
5°C	0.000%	0	0	175	330	515
5°C	0.025%	0	0	140	220	320
5°C	0.050%	0	0	135	170	285
15°C	0.000%	0	0	730	1970	13500
15°C	0.025%	0	0	420	1755	3140
15°C	0.050%	0	0	250	1530	2140
25°C	0.000%	0	545	4180	34700	54000
25°C	0.025%	0	470	3120	12600	24100
25°C	0.050%	0	440	2500	10900	14300
15°C	0.025%	0	0	410	1650	5680
15°C	0.025%	0	0	550	1730	5060
15°C	0.025%	0	0	515	1770	4530
15°C	0.025%	0	0	485	1680	3890
15°C	0.025%	0	0	435	1685	3980

**Tabla 25. Resultados del recuento de *Pseudomonas aeruginosa* (ufc/g) en la carne de ovino**

T °C	Bact. Lact.	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5
5°C	0.000%	0	0	120	315	480
5°C	0.025%	0	0	115	285	375
5°C	0.050%	0	0	110	255	280
15°C	0.000%	0	0	365	420	2600
15°C	0.025%	0	0	310	395	1900
15°C	0.050%	0	0	270	275	1780
25°C	0.000%	0	460	835	8570	38400
25°C	0.025%	0	370	540	6450	31000
25°C	0.050%	0	325	420	4850	24700
15°C	0.025%	0	0	390	395	1950
15°C	0.025%	0	0	320	390	1940
15°C	0.025%	0	0	295	455	1840
15°C	0.025%	0	0	310	405	1900
15°C	0.025%	0	0	290	400	1920

**GALERÍA DE FOTOS**

Imagen 1. Activación de bacterias de ácido lácticas



Imagen 3. Preparación de agares



Imagen 2. Envasado de la carne



Imagen 4. Autoclavado de materiales



Imagen 5. Plaqueado de agares



Imagen 8. Siembra de las muestras en placa



Imagen 6. Licuado de la muestra



Imagen 9. Titulación de la muestra



Imagen 7. Preparación de las diluciones



Imagen 10. Medición de pH

